

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} BENMADI ZAHIA

Et M^{elle} ABIDA HAYET

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité: MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE

THÈME

*Effet des extraits de Thymus vulgaris
chez Escherichia coli
Responsable des infections uro-génitales.*

Soutenu publiquement le 03 /07/2018

DEVANT LE JURY

Président	M. BEKADA A	Professeur	C .U. Tissemsilt
Encadreur :	M ^{me} AIT CHABANE O	M.C.B	U. Mostaganem
Examineur	M AIT SAADA D	M.C.A	U. Mostaganem
Invité:	M ^{me} NAAS A	Doctorante	C.U.Tipaza

Thème est réalisé au Labo. De Technologie Alimentaire et Nutrition de l'univ. Mostaganem

Année universitaire: 2017/2018.

Résumé :

Ce travail a porté sur l'étude de l'effet des extraits de *Thymus vulgaris* récolté dans deux régions du pays (Mostaganem et Naama) sur la croissance du germe *Escherichia coli* responsable des infections uro-génitales chez la femme. L'extraction des principes actifs de la plante a été effectuée par macération du végétal dans les solvants aqueux à 80/20, (solvant/eau, v/v) à différentes polarités (hexane – méthanol – éthanol et eau). Les extraits de *Thymus vulgaris* obtenus après évaporation du solvant ont été dilués à 20, 40, 60, 80, 100%, respectivement. Plusieurs techniques de mesures ont été effectuées en triples essais chez *Escherichia coli* dont : méthode de contact direct, méthode des disques, Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides (CMI et CMB). Il apparaît, que tous les extraits à différentes polarité de *Thymus vulgaris* ont présenté, notamment à l'état pur des activités antimicrobiennes intéressants et proche de la gentamicine vis -à- vis *d'E. Coli*. Le mode d'action de ces extraits à l'encontre du germe étudié est de type bactéricide.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, *E. Coli*, infection, urogénital, effet, antibactérienne

Abstract :

This work focuses on the effect of hexane, methanol, and ethanol *Thymus vulgaris* in two regions, Mostaganem and Naama, on the germ responsible for uro-genital infection. *Escherichia coli* Natural extracts from plants contain a range of bioactive compounds that are attributed to an inhibitory potency of microorganisms and antioxidants In this work, we investigated the antibacterial effects of *Thymus vulgaris* a plant widely used in medicine, traditional, also in agribusiness industry around the world. Extracts of *Thymus vulgaris* were tested on the germ *Escherichia coli* responsible for uro-genital infection, using the method of direct contact, the disk method, to determine the minimum inhibitory and bactericidal concentration. Our study is summarized in the following points: Extraction by maceration of bioactive compounds extracts of *Thymus vulgaris* from the two regions of Mostaganem and Naama with hexane, methanol, ethanol and water. The inhibitory effects of *thymus vulgaris* extract on *Escherichia coli* bacteria. Finally, from the CMB / MIC reports obtained, the extracts of *Thymus vulgaris* exert an inhibitory effect of bactericidal type on *Escherichia coli*.

Key words: *Escherichia coli*, antibacterial effects, bioactive compounds, *Thymus vulgaris*

الملخص

هذا البحث يعمل على تأثير مستخلصات الغدة الصغرى الشائع المحصودة في منطقتين من البلاد (مستغانم و نعامة) على نمو جرثومة الإشريكية القولونية المسؤولة عن العدوى التناسلية البولية لدى النساء. تم تنفيذ استخراج المكونات الفعالة للنبات عن طريق التعطين للنبات في 80/20 مذيبات مائية (مذيب / ماء ، v / v) بأقطاب مختلفة (هكسان - ميثانول -

إيثانول وماء). تم تخفيف مستخلصات الثيمية الشائع الناتجة بعد تبخر المذيب إلى 20، 40، 60، 80، 100 ٪ ، على التوالي. تم إجراء العديد من تقنيات القياس في ثلاث تجارب في الإشريكية القولونية بما في ذلك: طريقة الاتصال المباشر ، طريقة القرص ، الحد الأدنى من تركيزات المثبطة و Bactricidal (MIC و CMB). يبدو أن جميع المستخلصات ذات القطبية المختلفة من الغدة الصعترية الشائكة قد عرضت ، خاصة في الحالة النقية للأنشطة المضادة للميكروبات المثيرة للاهتمام والقريبة من الجنتاميسين في مقابل E. القولونية. طريقة عمل هذه المستخلصات ضد الجراثيم المدروسة هي من النوع الجرثومي.

الكلمات الرئيسية : الغدة الزعترية ، البولي التناسلي، مضاد الجراثيم، العدوى

Remerciements

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

En second lieu, nous tenons à remercier très chaleureusement notre

Encadreur Madame : **Ait chabane Ouiza**, et M **Ait Saada** pour ces précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

On remercie aussi les techniciens de laboratoire monsieur **Mohammed** et monsieur **Sowane Abd al Kader, Arabi abed**, pour leurs soutiens lors du stage

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

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants impliqués dans notre fermal durant les 5 années des études.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention, consciente, d'un grand nombre de personnes en particulier le personnel excercant département et à la bibliothèque de la faculté snv SNV ainsi que à la scolarité sons oublier les agents de sécurité.

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

Sommaire

Dédicaces	
Remerciement	
Résumé	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01

Partie 1 : synthèse bibliographique

Chapitre I : Les infections uro-génital

1. Appareil urinaire	03
1.1. Les éléments constituant l'appareil urinaire	03
1.1.1. Haut appareil urinaire	03
1.1.1.1. Les reins	03
1.1.1.2. L'uretère	03
1.2. Bas appareil urinaire	03
1.2.1. La vessie	03
1.2.2. L'urètre	03
1.3. Urine	03
1.3.1. Définition	03
1.3.2. Composition de l'urine	04
1.3.3. Urine normale et anormale	05
1.4. La flore normale de l'appareil urinaire	07
1.5. L'infection urinaire	07
1.5.1. Types d'infections urinaires	07
1.5.1.1. Les infections du bas appareil	07
1.5.1.1.1. Cystite	07
1.5.1.1.2. La Prostatite	07
1.5.1.2. Les infections du haut appareil	08
1.5.1.2.1. La pyélonéphrite	08
1.5.1.2.2. Urétrite	08
1.6. Les germes pathogènes responsables de l'infection urinaire	08
1.7. Facteurs favorisant l'infection urinaire	08

1.8. Cause de l'infection urinaire-----	09
1.9. Symptômes généraux d'une infection urinaire-----	09
1.10. Diagnostic bactériologique-----	09
1.10.1. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) -----	09
2. L'appareil génital féminin-----	10
2.1. Les organes génitaux externes-----	10
2.1.1. Les ovaires -----	10
2.2. Les voies génitales-----	10
2.2.1. Les trompes utérines -----	10
2.2.2. L'utérus-----	11
2.2.3. Le vagin-----	11
2.2.4. La vulve -----	11
2.2.5. Le périnée-----	11
2.2.6. Les glandes mammaires-----	11
2.3. Infection génital féminin -----	11
2.3.1. Flore normale-----	11
2.3.2. Les types des infections génitales-----	12
2.3.2.1. Les infections basses-----	12
2.3.2.1.1. Les signes associés aux l'infections génitales basses-----	12
2.3.2.2. Les infections hautes-----	12
2.3.2.2.1. Les types d'infections génitales hautes-----	13
2.3.3. Les microorganismes responsables des infections génitales féminines -----	13
2.3.4. Diagnostic des infections génitales féminines-----	13

Chapitre II : *Escherichia Coli*

1. Historique -----	14
2. Caractères biologique -----	14
3. Classification-----	15
4. Caractères antigéniques <i>d'E. coli</i> -----	15
5. Habitat-----	15
6. Groupement des souches de Pathogénicité-----	16
7. Pouvoir pathogènes-----	18
7.1. Infection extra-intestinales-----	18
7.2. Infections intestinales-----	18

8. Facteurs de pathogénicité-----	18
9. Traitement-----	19

Chapitre III : *Thymus vulgaris*

1. Généralité sur les plantes médicinales -----	20
2. Généralité sur la famille des lamiacées -----	20
3. Historique -----	20
4. Description morphologique -----	21
5. Classification Taxonomique -----	21
6. Nom vernaculaire-----	22
7. Habitat -----	22
8. Répartition géographique de la plante -----	22
8.1. Dans le monde -----	22
8.2.En Algérie -----	23
9. Propriétés du thym -----	23
10. Composition chimique-----	24
11. Les valeurs nutritionnelles de thym -----	26
12. Utilisation-----	27
13. Activité antioxydants -----	27
14. Activité antibactériennes -----	28

Partie 2 : Méthodologie expérimental

1. Objectif -----	29
2. Matériel -----	29
2.1. Matière végétale-----	29
2.2.Traitements préliminaires du matériel végétal -----	29
2.3.Souche microbienne-----	30
2.4.Milieu de culture-----	30
2.5.Antibiotiques -----	30
2.6. Solvants -----	30
3. Méthodes expérimentales -----	30
3.1. Extraction des composés bioactifs-----	30
3.2 Etude des effets antimicrobiens des extraits de thym -----	32

3.2.1. Activation des inocula microbiens -----	32
3.2.2. Etude de l'effet antimicrobien-----	33
3.3. Méthode de contact direct-----	33
3.4.Méthode des disques par diffusion sur gélose-----	34
3.5.Concentration Minimale inhibitrice (CMI) -----	35
3.6.Concentration Minimale Bactéricide (CMB) -----	36
3.7.Traitement statistique-----	37

Résultats et discussion

1. Résultats -----	38
1.1 Test de croissance du germe <i>E. coli</i> -----	39
1.2 Taux de croissance -----	40
1.3. Méthode de Disque -----	43
1.4. Taux d'inhibition du germe <i>E. Coli</i> -----	45
1.5. Concentration minimal inhibitrice(CMI) -----	48
1.6. Concentration minimal bactéricide (CMB) -----	49
1.7. Le rapport CMB/CMI-----	52
2. Discussion-----	53
Conclusion -----	57
Références -----	58
Annexes	

Abréviation	Signification
%	Pourcentage
Mmol	micro mol
AAF	Aérobic -anaérobic facultatif
ADEC	Adhésion diffuse E. Coli
Cm	Centimètre
C	Carbone
°C	Degré Celsius
CFA	Colonizing Factor Antigen
E. coli	Escherichia coli
ECBU	Examen Cytobactériologique Bactériologique des urines
EPEC	Entéro- Pathogènes Escherichia Coli
ETEC	Entéro Toxinogènes Escherichia Coli
EIEC	Entéro Invasives Escherichia Coli
EHEC	Entéro Hémorragique Escherichia Coli
EAEC	Entéro Agrégants Escherichia Coli
G	Gramme
g/l	Gramme par litre
H	Heure
HLM	Hématies Leucocytes Minute
HSV	Virus de l'Herpès Simplex
Kg	Kilogramme
LPS	Lipo Poly Saccharides
LT	Thermo Labile
Mm	Millimètre
Mg	Milligramme
Mmol	milli mol
MEq	Milliéquivalent
ml/min	Millilitre par minute
ml	Millilitre
ORAC	Oxygène Capacité d'Absorption Radicale
Ph	Potentiel Hydrogène
RC	Red Child
SHU	Syndrome Hémolytique et Urémique
St	Shega-Like Toxine
ST	Thermo Stable
TSA	Trypticase-caséine-soja
UFC	Unité Formant Colonie
VTEC	Verocyto Toxigenic Escherichia Coli
VT	Véro Toxines
IUG	Infection uro-génital
IUB	Infection génital basse
IUH	Infection génital haute
UFC	Unité Formant Colonie
BMH	Boillon Muller Hinton
VTEC	Escherichia Coli Verotoxine

RDA	
IU	
EMB	Eosine Bleu de Méthylène
GMH	Gélose Muller Hinton
BN	Boillon Nutritif
GN	Gélose Nutritif
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
CMB	Concentration Minimal Bactericide
IST	Infection Transmises Sexuellement
DPPH	Diphenylpicryl-hydrazyl

Listes des figures

Titre de figure	page
Figure 01. L'appareil urinaire	04
Figure 02. L'appareil génital féminin	10
Figure 03. <i>Escherichia coli</i> sous microscope	14
Figure 04. <i>Escherichia coli</i> sur milieu TSA	16
Figure 05. <i>Escherichia coli</i> sur milieu EMB	16
Figure 06. Aspect morphologiques de <i>Thymus vulgaris L</i>	21
Figure 07. Répartition géographique des espèces de thym dans le monde	23
Figure 08. Carte géographique des régions de récolte de l'espèce <i>Thymus Vulgaris</i> (willaya de Mostaganem et Naama)	29
Figure 09. Matière végétal sèche	30
Figure 10. Les extraits sous agitation Pendant 6 heures.	31
Figure 11. Filtration des extraits	31
Figure 12. Evaporation sous vide à 45°C	32
Figure 13. Etapes d'extraction des composés bioactifs du <i>Thymus vulgaris</i>	32
Figure 14. Etape de l'activation de souche bactérienne étudiée	33
Figure 15. Méthode des disques par diffusion sur gélose	35
Figure16. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>Thymus vulgaris</i> prélevée de région de Mostaganem sur la croissance d' <i>E. Coli</i>	38
Figure 17. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>Thymus vulgaris</i> prélevée de région de Naama sur la croissance d' <i>E. Coli</i>	39
Figure 18. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>thymus vulgaris</i> prélevée à régions de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition d' <i>E. Coli</i>	43
Figure 19. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>thymus vulgaris</i> prélevée à régions de Naama sur le diamètre d'inhibition d' <i>E. Coli</i>	44
Figure 20. Détermination de CMB des extraits aux <i>Thymus vulgaris</i> de région de Mostaganem sur <i>E. coli</i>	50
Figure 21. Détermination de CMB des extraits aux <i>Thymus vulgaris</i> de région de Naama sur <i>E. coli</i>	51

Liste des tableaux

Titre de tableau	page
Tableau 01 : Composition de l'urine	05
Tableau 02 : Caractères généraux des urines normales et anormales	06
Tableau 03 : Classification de <i>Escherichia coli</i>	15
Tableau 04 : Classification taxonomique de <i>Thymus vulgaris</i>	22
Tableau 05 : Teneur en poly phénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i>	24
Tableau 06 : Les principaux flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de <i>Thymus vulgaris</i>	25
Tableau 07 : Les valeurs nutritionnel dans le <i>Thymus Vulgaris</i>	26
Tableau 08 : Effets des extraits de <i>thymus vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et de Naama sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i>	41
Tableau 09 : Effets des extraits de <i>thymus vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le taux de croissance d' <i>Escherichia coli</i>	42
Tableau 10 : Effets des extraits de <i>thymus vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le diamètre d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i>	46
Tableau 11 : Effets des extraits de <i>thymus vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le taux d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i>	47
Tableau 12 : Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de <i>Thymus vulgaris</i> de région Mostaganem et Naama sur la croissance d' <i>Escherichia Coli</i>	49
Tableau 13 : Type d'inhibition des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> chez <i>E. Coli</i> .	52

Introduction

L'infection uro-génitale communautaire est un motif très fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante. Les voies uro-génitales représenteraient, en effets, le second site d'infection bactérienne communautaire après l'appareil respiratoire.

Le terme infection-uro-génital (IUG) regroupe un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants du tractus uro-génital ou de ses annexes. Ces différentes situations cliniques justifient une prise en charge spécifique. L'IUG peut être symptomatique ou non, haute ou basse, compliquée ou non, en fonction du terrain sur lequel elle survient.

le recours aux ressources naturelles, surtout aux plantes médicinales, devient très important et intéressant pour la recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces (**Cheurfa et al., 2013**)

Les plantes médicinales sont devenues importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**OMS, 1998**). Ainsi, malgré le développement des médicaments de synthèse, les médicaments végétaux sous leurs différentes formes continue à occuper une place de choix. Environ 20.000 à 25.000 plantes médicinales sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale ; soit un total de 120 composés provenant de 90 plantes différentes (**Adossides, 2003**).

L'Algérie, de par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phytogénétique de très grande importance vu leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique (**Senoussi et al., 2003**). La valorisation de ces ressources est devenue indispensable. A cet effet, nous nous sommes intéressés à connaître l'effet de l'utilisation de l'extraits du *Thymus vulgaris* sur la croissance d'*Escherichia coli* qui est le principale agent responsable de l'infection uro-génitale chez la femme.

L'objectif de notre travail vise en particulier à étudier l'effet antibactérien des composés bioactifs de cette plante extraits par usage des solvants à différentes polarités (Hexane, Ethanol, Méthanol et l'eau) sur le germe *Escherichia coli*.

Plusieurs méthodes microbiologiques et approches techniques ont été utilisées lors de cette étude :

- 1- Procéder à des extractions à l' Hexane, Ethanol, Méthanol et à l'eau des principaux composés bioactifs de la plante.
- 2- Suivre les effets antibactériens des extraits de *Thymus vulgaris* cultivés in vitro par la méthode de contact direct sur milieu solide.
- 3- Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits de la plante effectuée en comparaison à un ATB (Gentamicine).
4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).
5. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

Chapitre I : Les infections uro-génital

Le système uro-génital est composé de deux appareils qui ont chacun une fonction bien Précise :

- ✓ **L'appareil urinaire** : chargé de purifier le sang et de maintenir constante sa composition. Grâce à un triple mécanisme de filtration, de sécrétion et de réabsorption.
- ✓ **L'appareil génital** : chargé de la reproduction de l'espèce (**Eline, 2008**)

1. Appareil urinaire :

L'appareil urinaire se compose de deux volumineux organes **les reins** : Grâce à leurs fonctions de filtration, de sécrétion et de réabsorption, ils forment l'urine qui est acheminée vers **la vessie** grâce aux deux **uretères**. Une fois dans la vessie, l'urine est évacuée hors de l'organisme par **l'urètre** (**Eline, 2008**) (**figure.01**)

1.1. Les éléments constituant l'appareil urinaire :

1.1.1. Haut appareil urinaire :

1.1.1.1. Les reins :

Ce sont deux organes en forme de haricot qui mesurent environ 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur. Chaque rein pèse en moyenne 150 gr, ils sont situés en arrière du péritoine, de part et d'autre de la colonne vertébrale entre la 11ème vertèbre dorsale et la 3ème vertèbre lombaire. À cause de la présence du foie, le rein droit est un peu plus bas que le gauche

1.1.1.2.L'uretère :

Un conduit musculo-membraneux d'environ 4 à 5 mm de diamètre et de 25mm de long qui véhicule les urines du bassin et à la vessie

1.2. Bas appareil urinaire :

1.2.1. La vessie :

Est un réservoir musculo-membraneux, qui reçoit et emmagasine l'urine dont l'évacuation est assurée par l'urètre.

1.2.2. L'urètre :

Possède une tunique musculaire et des sphincters lisses et striée (**Eline, 2008**)

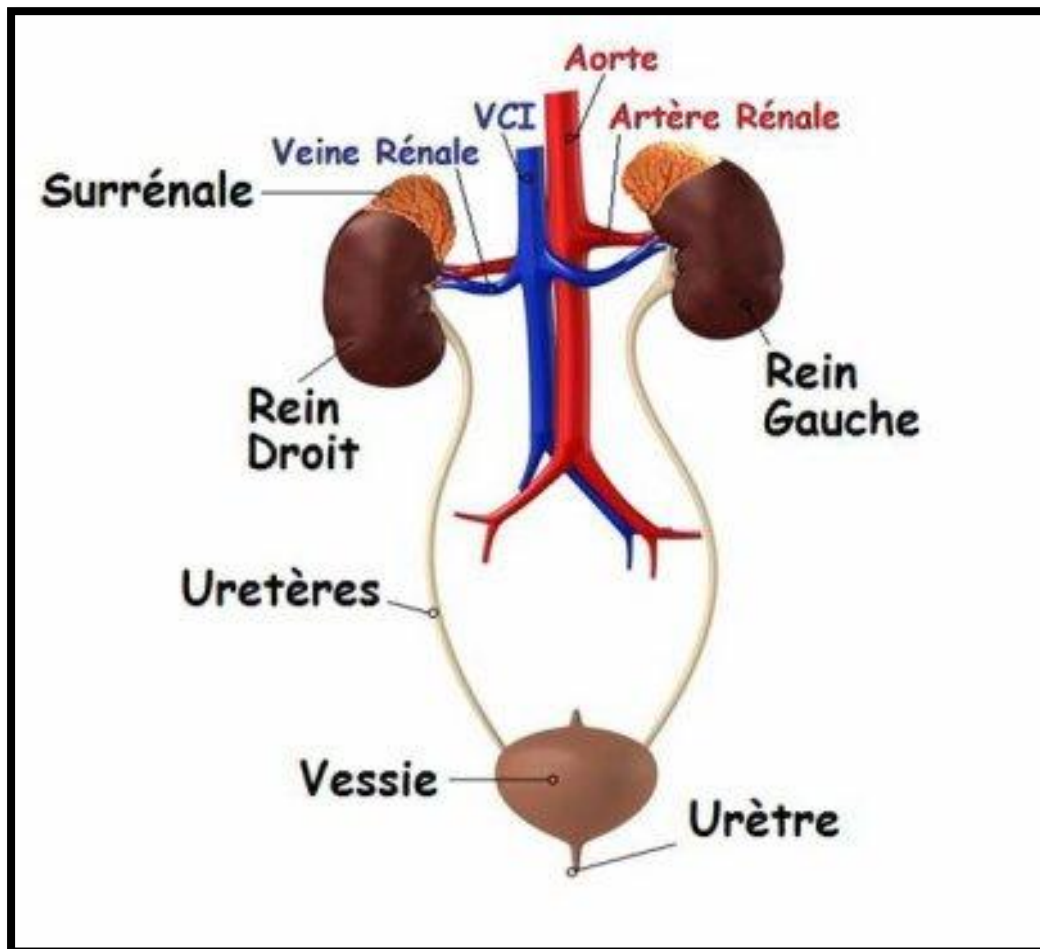


Figure 01. L'appareil urinaire (Tortora et Derrickson, 2006)

1.3. Urine :

1.3.1. Définition :

L'urine normale est un liquide jaune pâle, elle est foncée lorsqu'elle est concentrée par insuffisance d'apport d'eau ou en cas de perte hydrique par transpiration, par exemple. Sa coloration est due à des pigments produits par le métabolisme de l'hémoglobine. Sa production est le résultat de la fonction excrétrice du rein. Sa composition est liée à celle du plasma, dont elle est un filtrat. (Flèche, 2012).

1.3.2. Composition de l'urine :

Chimiquement, l'urine contient en solution des éléments très varié provenant tous du plasma (**Tableau 01**)

Tableau 01 : Composition de l'urine

Paramètre	Unités traditionnelles	Unités SI
Acide urique (adulte)	0.2 à 0.65 g/l	1.5 à 4.8mmol/24h
Acide vanyl-mandélique (adulte)	1 à6 mg/24 h	5 à 3mmol/24h
Calcium	0.100à0.25g/24h	2.5 à 6.5mmol/24h
Clairance de la créatinine endogène		
Homme	120 plus ou moins 20 ml/min	
Femme	115 plus ou moins 16 ml/min	
HLM		
Hématies	< 5000	
Leucocyte	<5000	
pH	4.6 à 8	
Potassium	40 à 100 mEq/24h	40 à 100mmol/24h
Sodium	100à300 mEq/24h.	100 à 300 mmol/24h
Urée	15à30g/24h	250à500mmol/24h

(Caquet, 2008)

1.3.3. Urine normal et anormal

Les caractères généraux des urines normales et anormales sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 02**)

Tableau 02. Caractères généraux des urines normales et anormales

Caractère	État normal	État anormal	
		Diminution	Augmentation
Volume	20ml par kg de poids corporel soit 1300 à 1500 par 24 h (le plus souvent les examens portent sur la totalité des urines émises pendant 24h)	< 500ml constitue l'oligurie s'observe dans toutes les maladies infectieuses. 0 ml constitue l'anurie : s'observe, en particulier, dans l'obstruction biliaire (Anurie calculeuse)	> 2 000 ml constitue la polyurie : tous les diabètes, ainsi que dans les néphrites interstitielles.
Couleur	Jaune citron plus ou moins foncé	Jaune paille ou incolore : néphrite interstitielle chronique	Brun acajou dans le cas d'un ictère, rouge sanglant dans l'hématurie.
Odeur	Peu prononcée		Odeur de pomme au cours de l'acétonurie
Air	Chez les sujet normal, il n'aya pas démission d'air au cours de la diurèse		L'émission d'air au cours de la diurèse constitue la pneumaturie. Celle-ci est due, le plus souvent, à une diverticulite sigmoïdienne qui atteint la vessie.
pH	5 à 8	S'abaisse (Acidité augmentée) chez les diabétiques.	Augmente (Acidité diminuée) dans les insuffisances rénales.

(caquet, 2008)

1.4. La flore normale de l'appareil urinaire :

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la flore des derniers centimètres de l'urètre distal. Cette dernière est variée, et reflète à la fois la flore digestive (Entérobactéries, *Streptocoques*), la flore cutanée (*staphylocoques* à coagulase négative, *Corynebacterium*), la flore génitale (*Lactobacilles* chez la femme), et la flore anaérobie.

✓ Les micro-organismes atteignent l'appareil urinaire par différentes voies :

Ascendante essentiellement, mais aussi hématogène, ou lymphatique. Le mécanisme principal est la voie ascendante, spécialement pour les bactéries d'origine intestinale (*Escherichia coli* et autres entérobactéries), La voie hématogène est plus rare et limitée à quelques rares microbes, tels que *Staphylococcus aureus*, *Candida* spp et *Mycobactérium tuberculosis* (Gonthier, 2000).

1.5. L'infection urinaire :

L'infection urinaire est une maladie infectieuse très répandue. Il s'agit d'une colonisation des voies urinaires par un et ou plusieurs germes. Les bacilles à Gram d'origine entérique (colon), dans une première étape vont coloniser la peau et les muqueuses génitales externes, Ensuite colonisent l'urètre distal. (Gonthier, 2000).

E. coli, est considérée comme étant la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires, elle représente 85% des cas positifs (Minor et Veron, 1989)

1.5.1. Types d'infections urinaires :

L'appareil urinaire est un vaste système de filtration, composé notamment des reins et de la vessie. Mais ce réseau peut être victime d'infections, de malformations ou d'autres maladies.

1.5.1.1. Les infections du bas appareil :

1.5.1.1.1. Cystite :

Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli*, qui est nombreuses aux environs de l'anus. Les bactéries passent de la région vulvaire à la vessie en remontant l'urètre. Tout ce qui gêne la vidange de la vessie augmente le risque de cystite. La cystite s'accompagne normalement d'une urétrite, l'inflammation de l'urètre (Minor et Veron, 1989)

1.5.1.1.2. La Prostatite :

Une prostatite est une inflammation de la prostate, affection fréquente chez l'homme

Âgé (hypertrophie ou hyperplasie bénigne de la prostate). Si la prostate se développe trop, elle peut resserrer l'urètre et ainsi perturber l'écoulement de l'urine, ce qui rend la miction difficile et douloureuse, voire complètement impossible dans des cas extrêmes (Pilly, 2008)

1.5.1.2. Les infections du haut appareil :

1.5.1.2.1. La pyélonéphrite :

La pyélonéphrite est un état plus grave. Elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein. Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë survient surtout chez la femme, et principalement la femme enceinte. (Minor et Veron, 1989)

1.5.1.2.2. Urétrite :

Il est classique de distinguer les urétrites gonococciques, due à *Neisseria gonorrhoeae* et les urétrites non gonococciques due à *Chlamydia trachomatis*, à certains mycoplasmes génitaux (*Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*) et à *Trichomonas vaginalis* (Minor et Veron, 1989)

1.6. Les germes pathogènes responsables de l'infection urinaire :

L'infection urinaire sont les infections nosocomiales les plus fréquentes et sont observées chez 3 à 4 des patients en hospitalisation, l'agent pathogène le plus commun de l'arbre urinaire est *Escherichia coli* ; il est responsable de 80% de toutes les infections urinaires contractées à l'extérieur de l'hôpital mais seule une petite fraction des nombreux clones bactériens existants entraîne des infections urinaires. D'autres entérobactéries peuvent être la cause d'infection chez les garçons et les hommes et aussi chez les femmes avec des complications. Le *Staphylococcus saprophyticus* est commun chez les jeunes femmes (Minor et Veron., 1989)

1.7. Facteurs favorisant l'infection urinaire :

Plusieurs facteurs favorables rentrent en ligne de compte et favorisent l'installation des infections urinaires chez particulièrement la femme dont:

- ✓ Sexe féminin ;
- ✓ Grossesse ;
- ✓ Activité sexuelle ;
- ✓ Utilisation de spermicides ;

- ✓ Troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retenues, incomplètes) ;
- ✓ Diabète déséquilibré et /ou compliqué (neuropathie vésicale) ;
- ✓ Anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire ;
- ✓ Modifications de la flore vaginale (antibiothérapie, spermicides, diaphragmes, ménopause) (**Tattwin, 2003**)

1.8. Cause de l'infection urinaire :

Pour que l'appareil urinaire soit infecté par un germe, il faut une interaction entre ce germe et son hôte. les facteurs liés à l'hôte comportent les voies de contamination, l'immaturation vésicale et les facteurs urétéraux.

Certaines bactéries, comme les colibacilles (ex : *Escherichia coli*), possèdent la capacité d'adhérence, par les organelles filamenteuses, à l'épithélium urinaire.

Certains enfants surtout les fillettes sont plus susceptibles de développer des infections urinaires et cela est probablement lié à la densité et la disponibilité des récepteurs aux fimbriae (**Tattwin, 2003**)

1.9. Symptômes généraux d'une infection urinaire :

- ✓ Des douleurs et des brûlures au moment d'uriner ;
- ✓ Une fréquence anormalement élevée de mictions durant le jour et parfois le besoin d'uriner survient aussi la nuit ;
- ✓ Des urines troubles qui dégagent une odeur désagréable ;
- ✓ Une pression dans le bas-ventre ;
- ✓ Des fois du sang dans l'urine ;
- ✓ Des douleurs lombaires ;
- ✓ Une fièvre élevée ;
- ✓ Des vomissements ;
- ✓ Des pleurs au moment d'uriner chez les enfants (**Tattewin, 2003**)

1.10. Diagnostic bactériologique :

1.10.1. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :

En théorie, la ponction suspubienne de l'urine intravésicale fournit les prélèvements les plus représentatifs.

En pratique, un prélèvement dit à la volée en milieu de jet a un niveau de fiabilité acceptable après toilette du méat urétral et des organes génitaux externes (écartement des lèvres chez la femme, eau et savon associé éventuellement à un antiseptique).

D'autres méthodes de prélèvement (recueil par sondage urinaire chez les femmes incontinentes ou les porteurs de stomies urinaires, chez les hommes par étuis péniens), doivent être adaptées aux différentes situations cliniques. La méthode de recueil, influant sur le niveau de contamination du prélèvement, doit être précisée, pour une meilleure interprétation des résultats (Bruyère, 2008)

2. L'appareil génital féminin :

L'appareil génital féminin est l'ensemble des organes chargés de la reproduction chez la Femme et comporte trois parties :

- ✓ Les organes génitaux internes représentés par deux ovaires ;
- ✓ Les voies génitales formées par la trompe utérine, l'utérus et le vagin ;
- ✓ Les organes génitaux externes comprenant la vulve. (Figure.02)

2.1. Les organes génitaux externes :

2.1.1. Les ovaires :

Les ovaires sont les gonades de la femme, ces glandes paires dont la forme et la taille ressemblent à celles des amandes non écalées sont homologues aux testicules. Les ovaires produisent : Les gamètes, des hormones telles que progestérones et les œstrogènes.

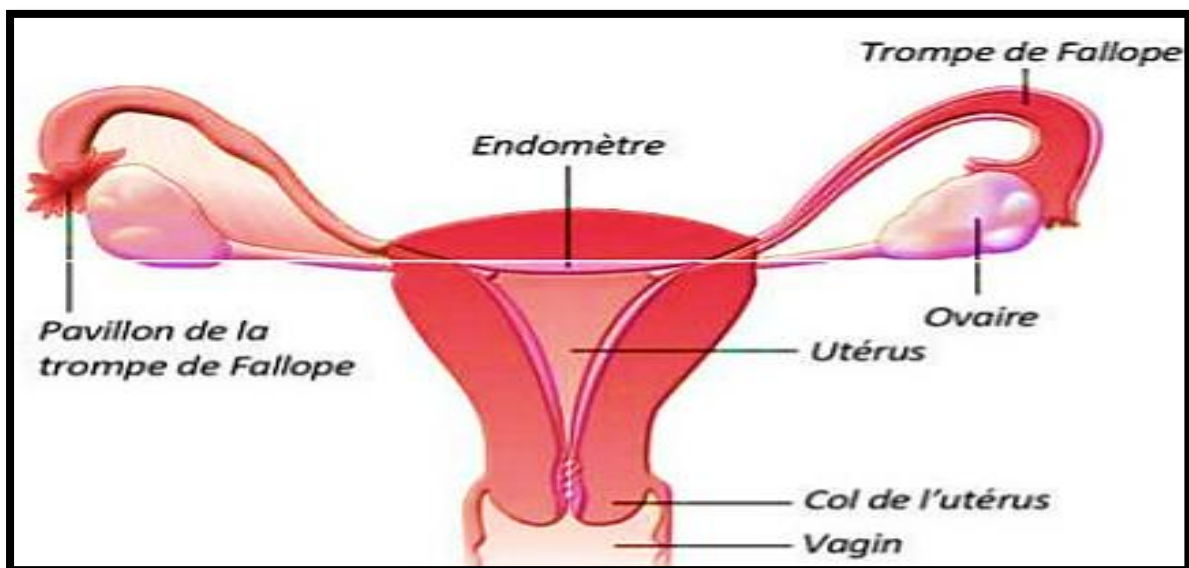


Figure 02. Appareil génital féminin (Tortora et Derrickson, 2007)

2.2. Les voies génitales :

2.2.1. Les trompes utérines :

La femme possède deux trompes utérines, aussi appelées trompes de Fallope, situées de part et d'autre de l'utérus. Enfoncées dans les plis des ligaments larges de l'utérus, ces tubes mesurent environ 10 cm de long.

2.2.2. L'utérus :

L'utérus est un organe que parcourent les spermatozoïdes déposés dans le vagin, pendant qu'ils cheminent les trompes utérines. Il constitue également le siège de l'implantation de l'ovule fécondé. Situé entre la vessie et le rectum, l'utérus a la taille et la forme d'un poire reposant sur la pointe. Sa taille varie selon les étapes de la vie sexuelle de la femme.

2.2.3. Le vagin :

Est un tube fibromusculaire de 10 cm de long tapissé d'une muqueuse qui s'étend de l'extérieur du corps jusqu'au col de l'utérus.

2.2.4. La vulve :

Le terme vulve désigne l'ensemble des organes génitaux externes de la femme. La vulve comprend les éléments suivants :

- ✓ Le mont du pubis ;
- ✓ Les grandes lèvres ;
- ✓ Les petites lèvres ;
- ✓ Le clitoris ;
- ✓ Le vestibule du vagin ;
- ✓ Le bulbe du vestibule.

2.2.5. Le périnée :

Le périnée est une région anatomique comprise entre les organes génitaux externes et l'anus.

2.2.6. Les glandes mammaires :

Les glandes mammaires ou seins se développent au moment de la puberté sous l'influence des hormones. Elles sont constituées d'un tissu glandulaire (lobes et canaux galactophores) et d'un tissu adipeux. Elles sont considérées comme étant des organes génitaux externes (Tortora et Derrickson, 2007)

2.3. Infection génital féminin :

2.3.1. Flore normale :

Le tractus génital féminin comprend une partie haute stérile (utérus, trompes, ovaire) et une partie basse très riche en bactéries commensales (vulve et vagin et partie externe de col de l'utérus) (Gaillard et al., 1988)

La flore vaginale normale compte des bactéries tant aérobiques qu'anaérobiques, les microorganismes de l'espèce *Lactobacillus* occupant une place prédominante et constituant plus de 95 % de toutes les bactéries présentes. On estime que les lactobacilles offrent une

défense contre l'infection, ce qui s'explique en partie par le fait qu'ils maintiennent un pH acide dans le vagin et qu'ils assurent la présence de peroxyde d'hydrogène au sein du milieu génital (Spigel *et al.*, 1980)

La flore vaginale résidente varie selon l'âge, le stade du cycle ovarien, la grossesse et l'état immunitaire (Gaillard *et al.*, 1988)

2.3.2. Les types des infections génitales :

2.3.2.1. Les infections basses :

Sont dues, soit à des pathogènes spécifique exogènes contracte notamment lors des rapports sexuelles soit à la prolifération anormal d'une partie à la flore commensale du vagin (Céruvites, vulvites, vaginites) (Gaillard *et al.*, 1988)

Les infections génital basses sont des infections vulvo-vaginales, c'est- à -dire touchant la vulve ou le vagin. On exclu de cette définition les cystites qui concernant la vessie. Elles se manifestent par des pertes vaginales qui peuvent éventuellement être malodorantes et pouvant s'accompagner de rougeurs de la vulve ou de démangeaisons. L'infection peut avoir différents origines avec une conduite à tenir différente.

Une IGB peut toucher le col de l'utérus (on parle alors de cervicite) éventuellement le franchir pour se propager aux organes génitaux profond (utérus, trompes.....) donnant une Infection Génital Haute (IGH) (Linnet *et Nizard*, 2010).

2.3.2.1.1. Les signes associés aux l'infections génitales basses :

Les pertes vaginales représentent les principaux signés. On suspecte une IGB en cas de pertes vaginales inhabituelles que ce soit par leur couleur, leur consistance, leur abondance ou leur douleur. Il peut également y avoir un aspect irrité de la vulve (rouge, sensible, douloureuses) et du vagin avec parfois un prurit (=démangeaison). Même lorsqu'elle ne se propage pas vers les organes génitaux profonds, l'IGB risque de récidiver et d'avoir un retentissement psychologique et émotionnel. Il est donc important d'insister sur la réduction des facteurs de risques. (Chaine *et Janier*, 2009)

2.3.2.2. Les infections hautes :

Sont dues à l'extension d'une infection basse ou surviennent à la suite d'une manœuvre chirurgicale ou lors de l'accouchement. (Salpingites, Endométrite, Pelvipéritonites) (Gaillard *et al.*, 1988)

L'infection génitale haute englobe les infections touchant l'utérus, les trompes de Fallope, les ovaires. Elles sont souvent une complication d'infection transmises sexuellement

(IST), bien qu'elles puissent aussi être secondaires à une procédure médicale ou à une grossesse (Legris, 2008)

2.3.2.2.1. Les types d'infections génitales hautes :

A. Salpingite : C'est l'infection génitale qui touche les trompes utérines, il se traduit chez une femme par l'apparition de douleurs pelviennes bilatérales et de leucorrhée anormale. L'examen clinique recherche les stigmates d'une infection des voies génitales basses (Gaillard *et al.*, 1988)

B. Endométrite : infection de l'utérus, elle se traduit par une fièvre, et une douleur pelvienne spontanée, augmentée par la mobilisation utérine et des écoulements plus au moins puriforme au niveau du col utérin (Pilly, 2008)

C. Pelvipéritonite : infection du péritoine (Pilly, 2008)

2.3.3. Les microorganismes responsables des infections génitales féminines :

Peuvent être :

- ✓ Des bactéries pathogènes spécifiques exogènes (*Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi*, *Mycoplasmes*, *Chlamydiae*), ou des champignons et des parasites ou des virus (Herpès virus).
- ✓ De nombreux cas de vaginites (dites alors non spécifiques) sont associés à un déséquilibre de l'écosystème bactérien du vagin. Le plus souvent, il s'agit d'une diminution du nombre de lactobacille accompagnée d'une augmentation du nombre de certaines bactéries (*Gardnerella vaginali*, anaérobies strictes, entérobactéries) (Gaillard *et al.*, 1988)

2.3.4. Diagnostic des infections génitales féminines :

La diagnostique repose sur plusieurs critères :

- ✓ Il peut s'agir d'une lésion visible des muqueuses (chancre, ulcères, etc.) Et peut s'agir aussi d'une inflammation des muqueuses (vaginite, urétrite, vulvite, bartholinite, cervicite) avec Prurit et leucorrhée chez une femme sans symptômes mais qui est suspecte d'être porteuse d'un pathogène spécifique (partenaire sexuel infecté) (Gaillard *et al.*, 1988).

Chapitre II : *Escherichia Coli***1. Historique :**

En 1885, allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*, bactérie isolée à partir de celles de nourrissons, qu'il nommé tout d'abord Bactérium coli puis renommé de *Escherichia coli* (*E. coli*) en 1895 par Migula. (Denis *et al.*, 2007) (figure.03)

Il existe au sein du genre *Escherichia* cinq autres espèces : *E. albertii*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris* (Denis *et all.*, 2007)

2. Caractères biologique :

Escherichia coli est :

- ✓ Un bacille à coloration de Gram négative ;
- ✓ Aérobie -anaérobie facultatif (AAF) ;
- ✓ Possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'Oxydase et non halophile ;
- ✓ *E. coli* est une bactérie immobile a gazogène ou mobile gazogène avec une structure flagellaire péritrich et non-sporulée (Fauchère et avril, 2002)
- ✓ Il croit après 24h d'incubation à 37°C en donnant des colonies de 2 à 3mm de diamètre typique de celles des Entérobactéries ;
- ✓ *E. coli* est capable de fermenter le glucose avec production du gaz possède une nitrate réductase (Guillard et Simonet ; 1988)

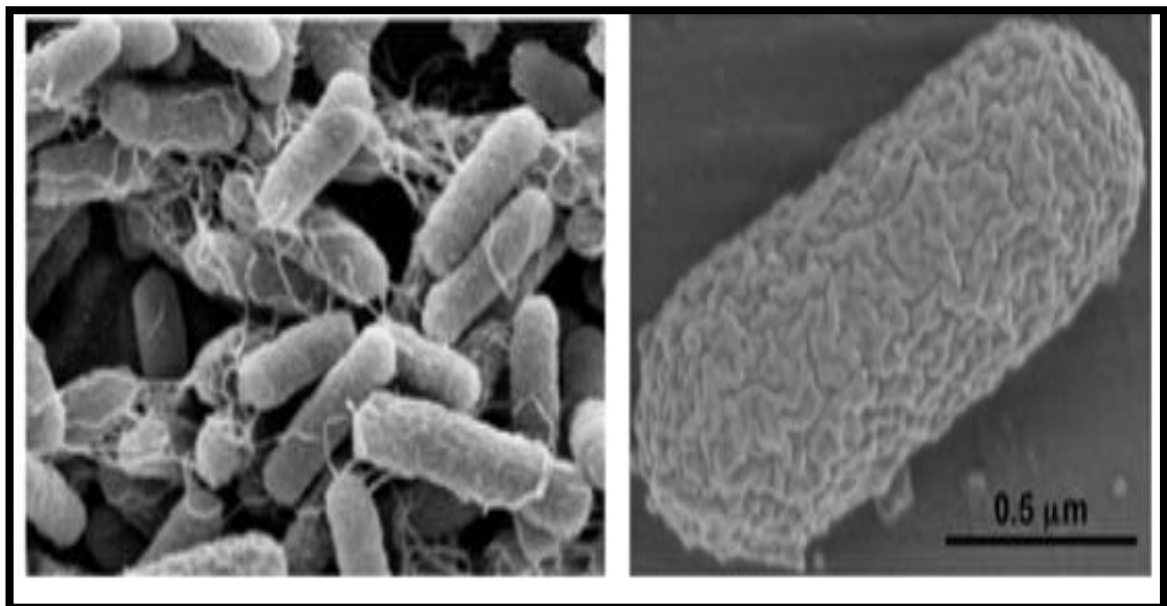


Figure 03. *Escherichia coli* sous microscope (perscant *et al.*, 2005)

3. Classification :

Le tableau ci-dessus permet de classer la bactérie *E. Coli*. (**Tableau. 03**) (**Perscant et all., 2005**)

Tableau 03 : Classification de *Escherichia coli* (perscant et all., 2005)

Règne	Bacteria
Embranchement	Protéobacteria
Classe	Gamma Protéobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

4. Caractères antigéniques d'*E. coli*

Les caractères antigénique permettre de reconnaître chez *E. coli* plusieurs sérotype :

- ✓ **Antigène O** : (ou somatique) .il existe environ 160 antigènes O différents. au moyen d'immunsérums spécifique de ces antigènes O, Il est possible de classé sérologiquement les *E. coli*.
- ✓ **Antigène K** : (ou capsulaire). Environ 70 antigènes d'enveloppe différents sont reconnus, la majorité des souches responsable de méningites néonatales possèdent l'antigène K1
- ✓ **Antigène H** : ou flagellaire On en connait 52 type les *E. coli* possèdent aussi leur surface des fins filaments, les pilis ou fimbriae qui jouent un rôle dans l'adhérence des bactéries à certaines souches de *E. coli* peuvent produire des hémolysines et des entérotoxines qui sont facteurs de virulence (**Fauchère et avril, 2002**)

5. Habitat :

a. Habitat primaire :

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme il est présent à raison de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de celles. Cependant, ce nombre est très inférieure à celles des anaérobies qui constituent la flore dominante.

Le tractus digestif constitue son habitat primaire. Cette bactérie est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations environ $> 10^6$ UFC (Unité Formant Colonie) / g de contenu intestinal.

E. coli se niche plus particulièrement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif qui constitue une niche écologique propice à son développement

de par ses conditions de température, d'humidité et de disponibilité en nutriment. (Smati *et al.*, 2015).

b. Habitat secondaire

E. coli est rejeté dans l'environnement via les fèces à une concentration d'environ 10^8 UFC/ g de fèces.

Il se retrouve dans les eaux environnementales par le biais des effluents, tels que les eaux usées, les lisiers ou les fumiers des animaux d'élevage ou par les déjections des animaux. D'élevage ou des animaux sauvages

La présence d'*E. Coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale. C'est pourquoi on procède systématique à sa détection dans les eaux d'alimentaire ou de baignades (colimétrie) (Smati *et al.*, 2017)

E.coli est capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (Trypticase-caséine-soja) (figure.04) et milieu EMB (Eosine Bleu de Méthylène) (figure.05)

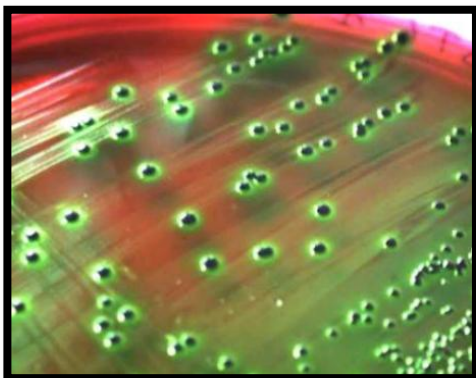


Figure 05. *Escherichia Coli* sur Milieu EMB(Smati *et al.*, 2017)

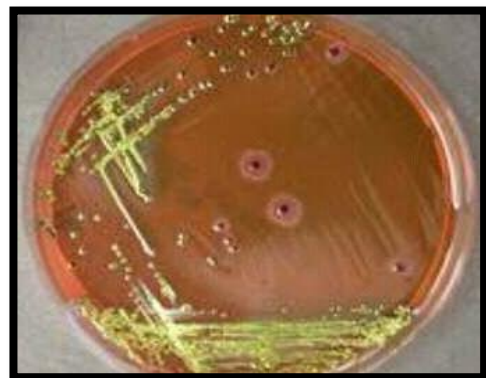


Figure 04. *Escherichia Coli* sur Milieu TSA(Denis *et al.*, 2007)

6. Groupement des souches de Pathogénicité :

a. Les souches entéro-pathogènes dites EPEC :

Ces souches sont aujourd'hui rarement rencontrées dans les pays développés mais elles sont une cause majeure de diarrhées sévère chez les jeunes enfants , les EPEC colonisent la muqueuse intestinal et adhèrent très fortement aux anthérocytes. Ils produisent des lésions d'attachement et d'effacement caractérisé par la destruction localisée des microvillosités de la bordure en brosse et induisent des altérations du cytosquelette des cellules épithéliales. (Gaillard *et al.*, 1988)

b. Les souches entéro-toxinogènes dites ETEC :

Ces souches ETEC déclenchent des diarrhées aiguës chez les enfants de moins de deux ans, surtout dans les pays en voie de développement, et sont également considérées comme responsables d'un nombre important de diarrhées des voyageurs, de plus, elles seraient à l'origine de graves syndromes cholériques chez les enfants et les adultes dans les régions d'endémie de choléra. . (Gaillard *et al.*, 1988)

c. Les souches entéro-invasives dites EIEC :

Ces souches sont responsables de syndromes dysentériques. Elles peuvent être confondues avec des *shigella* avec lesquelles elles ont des antigènes en commun et en raison de caractères biochimiques souvent atypiques (absence de fermentation du lactose, de production de gaz et de mobilité) le sérotype O 124 est le plus souvent en cause dans ces syndromes dysentériques.

Les *E. coli* invasives ne produisent pas d'entérotoxines, mais pénètrent dans les cellules de l'épithélium intestinal, la capacité d'envahir l'épithélium est démontrée par le test de séreny (kérato conjonctivite après instillation de la bactérie dans l'œil du cobaye) et par la pénétration de la bactérie dans les cellules. (Gaillard *et al.*, 1988)

d. Les souches entéro-hémorragiques dites EHEC ou VTEC productrices de vérotoxine :

Les souches décrites dans les années quatre-vingts sont responsables de cas épidémiques ou sporadiques de colites hémorragiques pouvant se compliquer, surtout chez l'enfant, d'un syndrome hémolytique et urémique (SHU) caractérisé par une anémie hémolytique microangiopathique avec thrombopénie, insuffisance rénale et des signes nerveux centraux. Le pouvoir pathogène de ces souches est due à la production de grandes quantités de vérotoxine VT1 et/ou VT2. Ces toxines provoquent une thrombose de la microcirculation intestinale et rénale (Fauchère et al., 2002)

e. Les souches entéro-agrégants EAEC :

Ce sont des souches qui adhèrent aux cellules en formant des agrégats, grâce à des fimbriae, dont les gènes plasmidiques elle augmente la sécrétion de mucus par les entérocytes. Elle provoquant des diarrhées prolongées sont rencontrées surtout dans les pays en voie de développement. (Denis *et al.*, 2007)

7. Pouvoir pathogènes :

7.1. Infection extra-intestinales :

E. coli est responsable d'infections diverses :

a. Infection urinaire :

La majorité des infections sont dues à *E. coli*. L'anatomie du bas appareil urinaire féminin permet facilement aux souches d'*E. Coli* de la flore fécale d'atteindre la vessie par voie ascendante. De plus, certaines souches de *E. coli* sont dotées à leur surface de structures, les adhesines qui leur permettent d'adhérer spécifiquement aux épithéliums de l'appareil urinaire (Gaillard *et al.*, 1988)

b. Infection abdominales :

Ce sont des cholécystites, péritonites ou salpingites (Gaillard *et al.*, 1988)

c. Infection méningées néonatales et la septicémie :

Certains sérotypes d'*E. Coli* (k1 en particulier) sont capables d'induire des infections néo-natal graves. Ce sont des septicémies éventuellement compliquées de méningites. *E. Coli* est tenu pour responsable de près de 20 % des septicémies et de 40% de méningites du nouveau-né. Ces infections sont plus fréquentes chez les prématurés ou les enfants ayant eu un accouchement difficile et long. Parmi les complications, la plus grave est la ventriculite, à l'origine de décès des hydrocéphalies ou de séquelles neurologiques définitives (Nauciel et Villedé., 2005)

d. Les bactériémies :

Consécutives à une infection localisée peuvent évoluer vers un choc septique grave due à l'action du lipopolysaccharides (LPS) ou endotoxine. (Nauciel et Villedé., 2005)

7.2. Infections intestinales :

Les diarrhées infectieuses à *E. coli* peuvent revêtir des formes différentes en fonction des facteurs de virulence codés par les gènes hébergés par ces souches, les mécanismes physiopathologiques varient selon les pathovars. (Nauciel et Villedé., 2005)

8. Facteurs de pathogénicité :

Parmi les facteurs de pathogénicité on cite :

a. Le Capsule :

Elle est de nature Polysaccharidique. On en connaît 80 variétés immunologiques différentes (antigène k). La capsule rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action de complément, La capsule de type k1 est peu immunogène (elle a la même structure de capsule de méningocoque du groupe B). Ce sont les *E. coli* de type k1 qui sont responsable de la majorité des infections néo-natales.

b. L'adhesines :

Des multiples adhesines ont été décrites. Elles peuvent induire l'adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales en culture. L'aspect que revêt l'interaction avec les cellules épithéliales peut donner une interaction sur le type d'adhesines en cause. La plupart des adhesines sont présentent se forme de fimbriae.

c. Les toxines :

Certaines souches peut produire des hémolysines, une Entérotoxines Thermolabile ou thermostable ou bien une toxine analogue à la toxine de *Shigella dysenteriae* (**Nauciel et Villdé, 2005**)

9. Traitement :

Le traitement des diarrhées à *E. coli* est essentiellement basé sur la réhydratation du malade. L'emploi des antibiotiques est une thérapeutique d'appoint, certainement nécessaire dans les cas graves. Le traitement est habituellement basé sur l'utilisation d'un seul antibiotique non résorbable par la muqueuse digestif et administré par vois buccale. Les dérivés des furanes ou certains sulfamides sont habituellement utilisés avec succès. Le traitement de l'infection urinaire, vise à stériliser les urines rapidement et évité les surinfections ou les rechutes, il est nécessaire d'utilisé des antibiotiques bactéricides à bon diffusion urinaire, tels que notamment le triméthoprime-sulfaméthoxazole (6mg / 30mg/ kg / j) chez l'enfants ; 480/2mg/j chez l'adulte),les dérivés des quinolones (acide nalidixque :60-100mg/kg/j chez l'adulte) ou l'ampicilline (100mg/kg/j chez l'enfants ; 2g/j chez l'adulte). La durée du traitement est d'au moins 7jours pour une cystite et doit être prolongé en cas de pyélonéphrite (15- 21jours). En fin les septicémies à *E. coli* doivent être traitées en urgence par vois parentérale, en utilisant au moins deux antibiotiques bactéricides et synergique tels que l'association d'un aminoside (gentamicine ; 3-5 mg/ kg/ jours) et d'une pénicilline type ampicilline (200 - 300 mg/kg/j). La durée de ce traitement est en général prolongée 2 à 3 semaines. (**Gaillard et al., 1988**)

Chapitre III : *Thymus vulgaris***1. Généralité sur les plantes médicinales :**

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour la prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Fransworth et al., 1986**)

Environ 35000 plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent à répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**)

2. Généralité sur la famille des lamiacées :

La famille des Lamiacées, anciennement appelée Labiées en raison de la corolle en deux lèvres de ses petites fleurs (**Couplan, 2000**), est l'une des familles les plus larges dans le règne végétal. Elle comprend approximativement 240 genres et 7200 espèces (**Harley et al., 2010**) qui sont plus ou moins cosmopolites mais particulièrement répandus depuis le bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (**Judd et al., 2002**). Elle est divisée en sept sous-familles : Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Prostantheroideae, Scutellarioideae, Symphorematoideae et Viticoideae (**Harley et al., 2004**).

C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Ghermanet, 2006**)

3. Historique :

Le genre *Thymus* est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées avec comme forte diversité dans la partie occidentale du bassin méditerranéen (**Morales, 2002**)

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

4. Description morphologique :

Thymus vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (**figure.06**). Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille. Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes.

Le calice est velu, hérissé de poils durs, vert, souvent avec des taches violettes, en forme de tube ventru à la base, mesurant de 3 à 4 mm de long. (**figure.06**) Il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée. La corolle est bilabiée, blanchâtre à violet pâle et de taille variable. Le fruit est un tétramère brun clair à brun foncé qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm). La période de floraison de de l'espèce a lieu, mai à août (**Prasanth et al., 2014**)

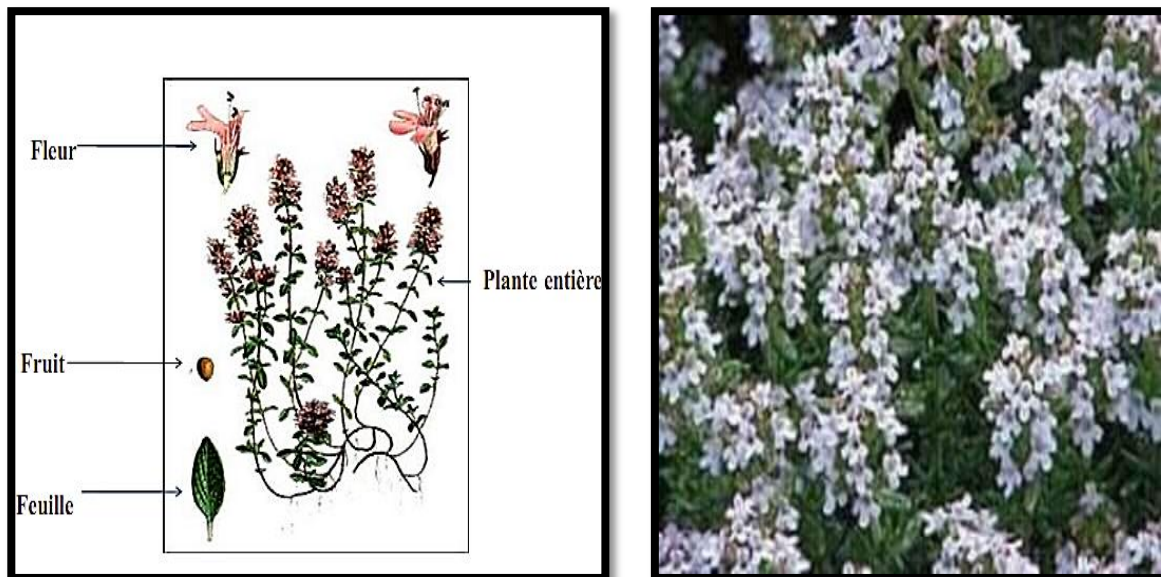


Figure.06 Aspect morphologiques de *Thymus* (Iserin, 2001).

5. Classification Taxonomique :

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée ci-dessous (**Tableau. 04**) (Goetz et Ghédira ., 2012)

Tableau 04 : Classification taxonomique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghédira, 2012)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris L.</i>

6. Nom vernaculaire :

Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants :

- ✓ **Arabe** : saatar, zaatar (en arabe *صعتر* ou *زعترا*)
- ✓ **Français** : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule, farigoule et barigoule.
- ✓ **Allemande**: Thymian, Echter Thymian, Garten thymian, RÖmischer thymian, romischer quendel, welscher thymian kutteelkraut.
- ✓ **Anglais** : common thym, garden thym, (Teuscher et al., 2005).

7. Habitat :

Le thym pousse bien sur des endroits naturels, sur sol légers et calcaires mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux mais non détrempés. Et Il nécessite des endroits bien la sécheresse .C'est d'ailleurs sur sols pauvres que se développe le mieux son arôme .Dans des endroits de fortes gelée , une protection est recommandés durant l'hiver sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière) , réalisé mi-avril ou plus rarement en aout ,en rangées encarrées environ 20 à 30 cm ; de préférence sur sol léger et sablonneux (Eberhard et al., 2005)

8. Répartition géographique de la plante :

8.1. Dans le monde :

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (Mabberley, 1997) Il est très répandu dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. (figure.07). Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries,

Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu'aux bords du Groenland (Morales, 1997)

La région de l'ouest méditerranéen est considérée comme étant le centre de l'origine du

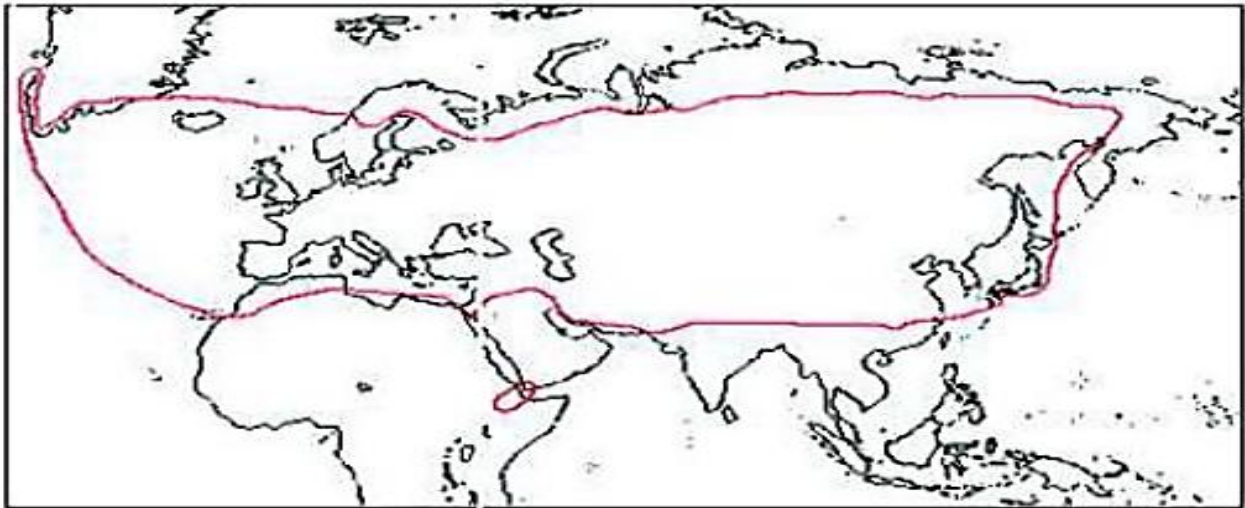


Figure 07. Répartition géographique des espèces de thym dans le monde (Morales, 1997)

genre *Thymus* ; l'espèce *T. vulgaris* provient particulièrement du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie (Morales, 1997; Peter, 2004). Le thym est maintenant très cultivé au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie, Angleterre et les Etats-Unis d'Amérique (Wilson, 2002; Raghavan, 2006).

8.2. En Algérie :

Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (Quezel et Santa, 1962). Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (Kabouche *et al.*, 2005).

9. Propriétés du thym :

Le thym est souvent utilisé dans l'assaisonnement des aliments et des boissons ; et aussi Antiseptique, et comme désinfectant dermique et c'est un spasmolytique bronchique dont il est Indiquée pour traiter les infections des voies respiratoire supérieur. Les principaux constituants du thym montrent également des propriétés vermifuges et vermicide

(Bazylo et Strzelecka., 2007) et des propriétés antivirales, antifongique, anti-inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoïque et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *mycobacterium tuberculosis*; (Jiminer et al.,2006) et aussi Propriétés anthelminthique; (Al-Bayati, 2008) et des Propriétés anti oxydantes qui lui permette d'être utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thymus vulgaris* durant leur stockage. (Selmi et Sadok., 2008).

10. Composition chimique :

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riche en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des condition géographiques, climatiques, de séchage ,de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection)L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intraspécifique ,qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique (Amiot,2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton ,1999); l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (CM), 30 composés ont identifiés et caractérisés , les plus abondant sont respectivement : thymol (44.4_58,1%) p-cymene (9.1- 18.5 %) , terpiène (6.9 -18.0%), carvacrol (2.4 – 4.2 %) , linalol (4.0 -6.2 %) . La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* étaitsa teneur élevée en thymol (Bouhdid et al ., 2006) .

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *Thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (Kulišić et al., 2006) est représentent dans le tableau suivants :

Tableau05. Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* (Kulišić et al. ,2006).

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

La méthodologie habituelle pour étudier les dérivés flavonoïdiques dans les plantes implique les extractions successives employant plus d'un solvant étapes de fractionnement et différentes techniques de chromatographie pour extraire, séparer, isoler, épurer et identifier les composés d'intérêt. Le tableau 3 énumère les flavonoïdes trouvés dans les feuilles *Thymus vulgaris*, par plusieurs auteurs, en utilisant la méthodologie ci-dessus mentionnée.

Tableau 06. Les principaux flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de *Thymus vulgaris* (Kulišić et al. ,2006).

Flavonoïde	Références
✓ -Cirsilineol (5,4'-dihydroxy-6, 7,3'-triméthoxyflavone)	Adez et al. ,1988, Morimitsu et al, 1995
✓ -Thymonine (5, 6,4'-trihydroxy-7, 8,3'-triméthoxyflavone)	Morimitsu et al ,1995 Adez et al. ,1988, Morimitsu et al, 1995
✓ -Eriodictyol (5, 6,4'-tetrahydroxyflavone)	
✓ -Sideritoflavone (5,3',4'-trihydroxy-6,7,8 triméthoxyflavone)	Adzet et al, 1988 Guillén et Manzanos, 1998
✓ -Desmethylnobiletine (5-hydroxy-6, 7, 8,3',4'-pentaméthoxyflavone)	
✓ Apigénine (5, 7,4'-trihydroxyflavone)	Adzet et al, 1988 Guillén et Manzanos, 1998
✓ Lutéoline (5, 7,3',4'-tetrahydroxyflavone)	Adzet et al., 1988
✓ Xanthomicrol (5,4'-dihydroxy-6, 7,8-triméthoxyflavone)	Kulišić et al, 2006 Adzet et al, 1988 Kulišić et al, 2006
✓ -Desmethylinensetine (5-hydroxy-6, 7,3',4'--tetraméthoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998 Guillén et Manzanos, 1998
✓ Quercétine (3, 5, 7,3',4'-pentahydroxyflavone)	Morimitsu et al, 1995 Kulišić et al, 2006

De nombreuses études ont confirmé que les espèces qui appartiennent à la famille des Lamiaceae sont une bonne source d'acide rosmarinique l'identification des composés poly phénoliques dans l'infusion aqueuse de *Thymus vulgaris* par analyse HPLC a montré

une présence dominante d'acide rosmarinique (17.45 mg/g=1.7% de la masse sèche de *Thymus vulgaris*) et un autre composé significatif est l'eriocitrin (1.96 mg/g) (Kulišić et al. ,2006).

D'autres composants ont été détectés seulement en traces, l'acide caféique (0.02 mg/g) et l'acide hydrox benzoïque. La composition en vitamine a été déterminée et révèle la présence de la vitamine E (α -tocophérol) (4.4mg/Kg) (Guillén et Manzanos, 1998 ; Kulišić et al. ,2006).

11. Les valeurs nutritionnelles de thym :

Les avantages (allocations) de Thym étonnants peuvent être attribués à sa valeur nutritionnelle riche. Les substances nutritives dans le Thym ont des propriétés empêchant et de promotion de la santé .Cette herbe aromatique est chargée de phytonutrients, des minéraux et les vitamines qui sont essentielles (vitales) pour la bonne santé (Dauqan, 2017) (tableau.07)

Tableau 07 : Les valeurs nutritionnel dans le *Thymus Vulgaris*

Principe	Substance nutritive	Pourcentage de RDA
d'acide nicotinique	1.824 mg	11 %
acides Pantothenic	0.409 mg	8 %
Pyridoxine	0.348 mg	27 %
de riboflavine	0.471 mg	36 %
Thiamine	0.48 mg	4 %
Vitamine-A	4751IU	158 % IU
Vitamine-c	160.1mg	266
Electrolytes	/	/
Sodium	9 mg	0.5%
Potassium	609 mg	13 %
Minéraux	/	/
calcium	405 mg	40.5 %
repasser	17.45 mg	218%
magnésium	160 mg	40 %
manganèse	1 .719 mg	75 %
zinc	1.81 mg	16.5 %
carotène -B	2851 μ g	/
Phyto-substances nutritives	/	/

12. Utilisation :

Thymus vulgaris est l'un des plus populaires plantes aromatique utilisé dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et al., 2009). Le thym est consommé en tisane, condiment ou épice (Stahl-Biskup et Sàez, 2002). En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussive, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, anthelminthique, diaphorétique et diurétique (Johnson, 1998). En usage interne, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires (Polese, 2006). En usage externe, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs (Namsa et al., 2009). Elles peuvent s'employer en gargarismes, inhalations, bains de bouche et comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine soulageant de ce fait, la dépression nerveuse (Özcan et Chalchat, 2004)

13. Activité antioxydants :

Thymus vulgaris se situait parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydants. Différents composant du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide caféique et la vitamine E (Guillén et Manzanos, 1998 ; Kulisic et al., 2006). Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite in vitro au niveau des mitochondries et des microsomes. Il inhibent également partiellement la production de l'anion super oxyde (Bruneton, 1999)

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été testée pour son activité antioxydant par deux méthodes différents : la technique de décoloration de la β carotène et le test du DPPH (Diphenylpicryl-hydrazyl). Les résultats obtenus montrent que l'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une grande activité antioxydant in vitro (Bouhdid et al., 2006).

A côté de l'huile, qui a été largement étudiée pour ses propriétés antioxydants, l'extrait aqueux des feuille de *Thymus vulgaris* a présenté une activité antioxydant importante, et les caractéristiques antioxydants observées n'étaient entièrement liée à la

teneur en phénols de l'huile essentielle dans n'importe quelle méthode analytique, mais vraisemblablement fortement dépendantes de l'acide rosmarinique, composé phénolique principal dans l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (**Thuille et al., 2003**).

14. Activité antibactériennes :

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**)

1. Objectif :

Notre travail vise en particulier à étudier l'effet antibactérienne des composés bioactifs du *Thymus vulgaris* extrait de la plante par usage des solvants a différents polarités sur le germe *Escherichia coli* responsable des 'infections urogénitales chez la femme .

2. Matériel :

2.1. Matière végétale :

La matière végétale est constituée des parties aériennes de la plante *Thymus vulgaris* , à été récolté d'une manière aléatoire dans chaque région expérimentale Mostaganem et Naama (**Figure. 08**) dont les conditions climatiques, édaphiques et écologiques différentes peuvent sans doute faire varier la composition en principes composés bioactifs de plante.



Figure 08. Carte géographique des régions de récolte de l'espèce *Thymus Vulgaris* (willaya de Mostaganem et Naama)

2.2. Traitements préliminaires du matériel végétal :

Un échantillon de 2 à 3 kg de matière végétale pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudiée. La matière végétale à été ensuite étalée sur du papier aluminium, puis séchée à l'air ambiant. Les échantillons séchés ont été enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité (**Figure.9**).



Figure 09. La Matière végétal sèche.

2.3. Souche microbienne :

Notre étude à concerné une souche de référence d'*Escherichia coli* ATCC 25922 lyophilisé et conservé aux froids à 4°C.

2.4. Milieu de culture :

Les milieux de culture utilisés sont : Muller Hinton (MH), boillon Muller Hinton, boillon nutritif, gélose EMB, gélose nutritif.

2.5. Antibiotiques :

Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), notamment pour comparer les zones inhibition un antibiotique de référence dont la gentamicine à été utilisé.

2.6. Solvants :

L'extraction des composés bioactifs de la plante a été effectuée avec des solvants suivants : éthanol, hexane, méthanol, (a, b, c) respectivement et eau.

3. Méthodes expérimentales :

3.1. Extraction des composés bioactifs :

L'extraction des principaux composés bioactifs tels les poly phénols contenus dans le *Thymus vulgaris* est effectuée par la méthode décrite par (Sultana et al. 2009). Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui

consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

L'extraction des composés bioactifs à été réalisée par usage de plusieurs solvants à polarité croissante (Hexane, Méthanol, Ethanol et Eau). Elle à été effectuée séparément pour chaque solvant d'extraction sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v).

L'extraction par macération à froid de chaque mélange à été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. (**Figure.10**) La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

Les extraits à l'hexane, à l'eau et hydro alcooliques obtenus ont été filtrés en utilisant un papier filtre Wattman N°5 ayant une Porosité de 0,6µm(**Figure.11**)



Figure 10. Les extraits sous agitation Pendant 6 heures.



Figure 11. Filtration des extraits

Puis débarrassés des solvants par évaporation sous vide à 45 °C, voir la (Figure.12)



Figure12. Evaporation sous vide à 45°C

Les étapes d'extraction des composés bioactifs ont résumés dans la figure suivante :

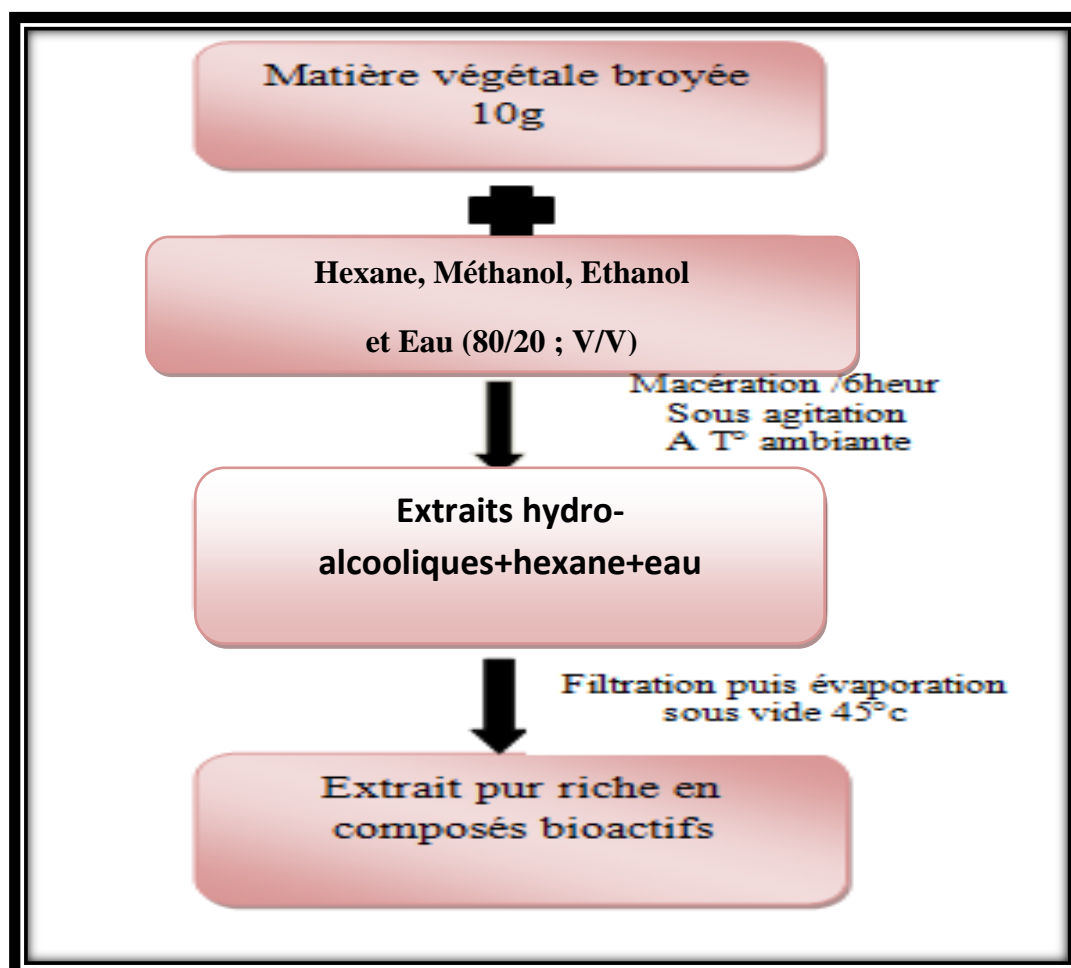


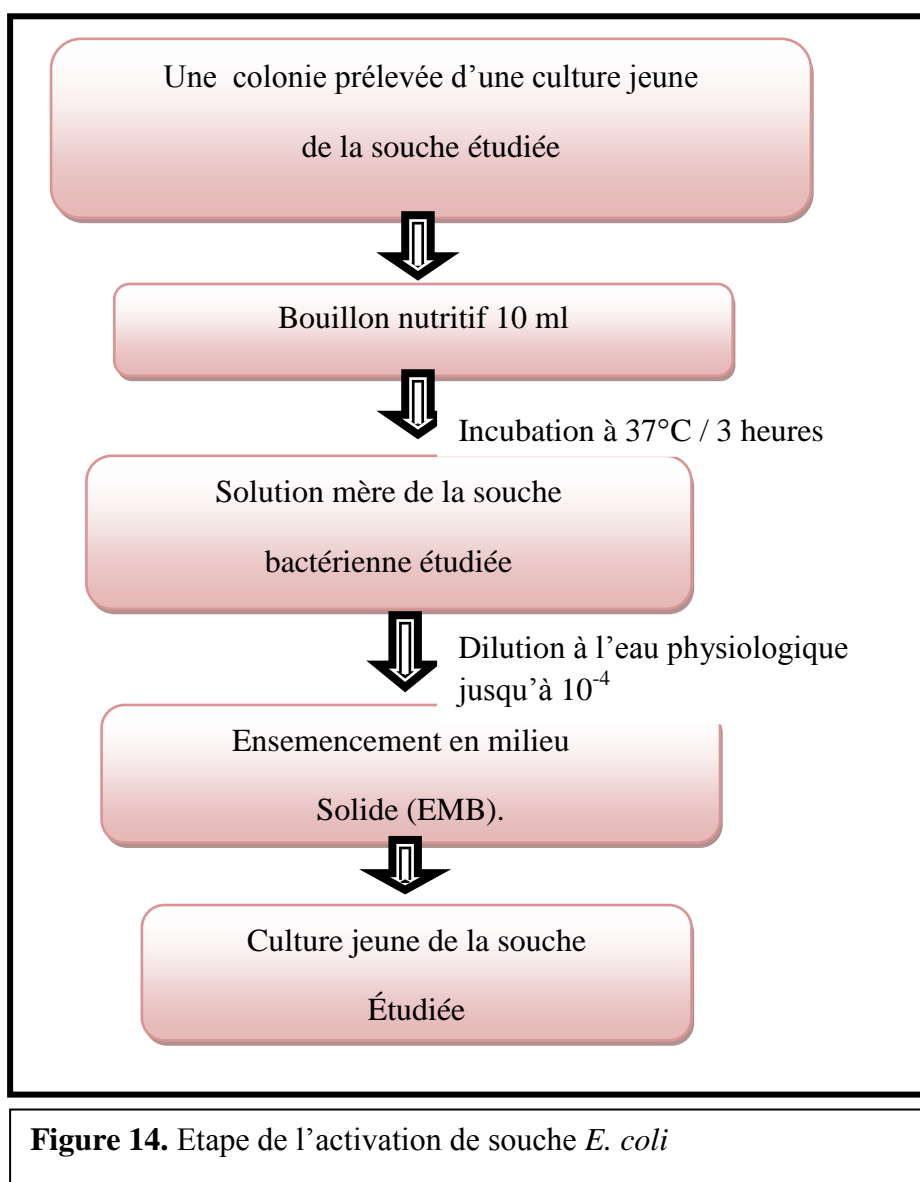
Figure13. Etapes d'extraction des composés bioactifs de *Thymus vulgaris* selon le protocole de (Sultana *et al.* , 2009)

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés seront enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement.

3.2 Etude des effets antimicrobiens des extraits de thym :

3.2.1. Activation des inocula microbiens :

Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C est au préalableensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution constituant l'inoculum bactérienne à été pris pour êtreensemencée en surface d'une boîte de Petri contenant un milieu spécifique gélosé de croissance Eosine bleu de méthyle (EMB) puis le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures. (Figure.14)



3.2.2. Etude de l'effet antimicrobien :

Quatre méthodes différentes ont été employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait brut des feuilles de *Thymus vulgaris* :

- Méthode de contact direct ;
- Méthode des disques par diffusion sur gélose qui permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait ;
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ;
- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).

3.3. Méthode de contact direct :

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique EMB à été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune à été ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures.

A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue une solution mère d'une espèce de bactérie donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-5} pour le germe étudié (*Escherichia coli*)

Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait des plantes testés dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boîtes de Petri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance.

La lecture du nombre de colonies développé à été effectuée après incubation des milieuxensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (**Bourgeois et Leveau., 1980**).

3.4. Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir du papier filtre (Whatman n° 5), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination au germe exogène au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Une colonie de chaque espèce bactérienne prélevée du milieu gélosé spécifique après activation à étéensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange constitue la solution mère. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu, EMB

Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Petri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe approprié (Prescott et al., 2003).

La lecture des diamètres d'inhibition à été effectuée après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'un pied à colis (Figure.15) (Guignar, 1998).

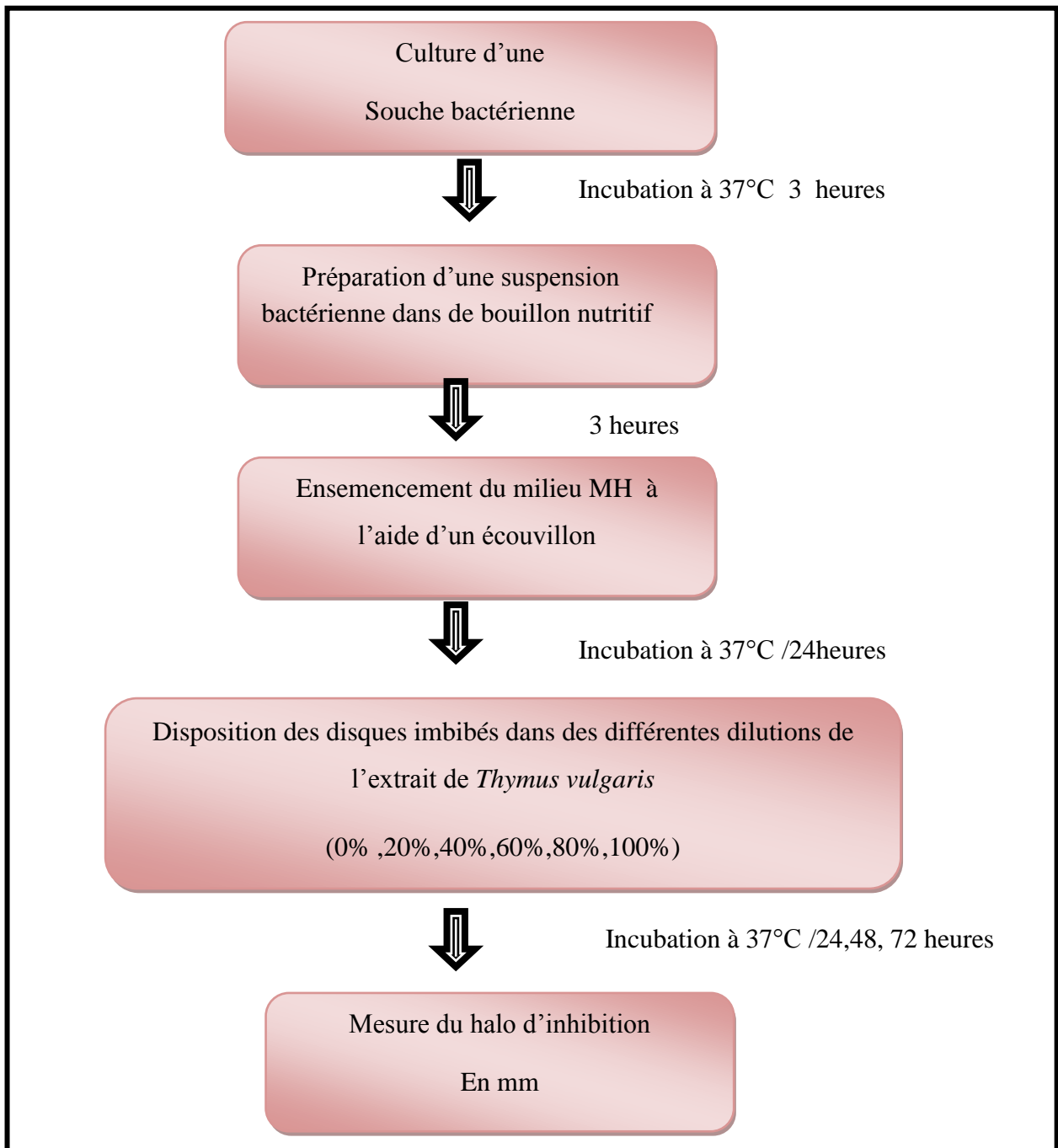


Figure 15. Méthode des disques par diffusion sur gélose

3.5. Concentration Minimale Inhibitrice CMI :

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

Une colonie jeune d'*E. coli* est prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif à été incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum ont été introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

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

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

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

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

- S : Taux de survie du microorganisme en %.
- $d_f - d_i$: différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
- $D_f - D_i$: différence de densité optique sans extraits deMentheavant et après incubation à 37°C durant 18 heures (Kra *et al.*, 2001 ; Zrihi *et al.*, 2007).

3.6. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :

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

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle estensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, égalementensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB.

3.7. Traitement statistique :

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyses de variance bifactorielles en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de NEWMAN KEULS (STAT BOX 6.4).

1. Résultats :

1.1. Test de croissance du germe *E. coli* :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* prélevée des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur la croissance d'*Escherichia coli* sont illustrés dans les (figures 16 et 17).

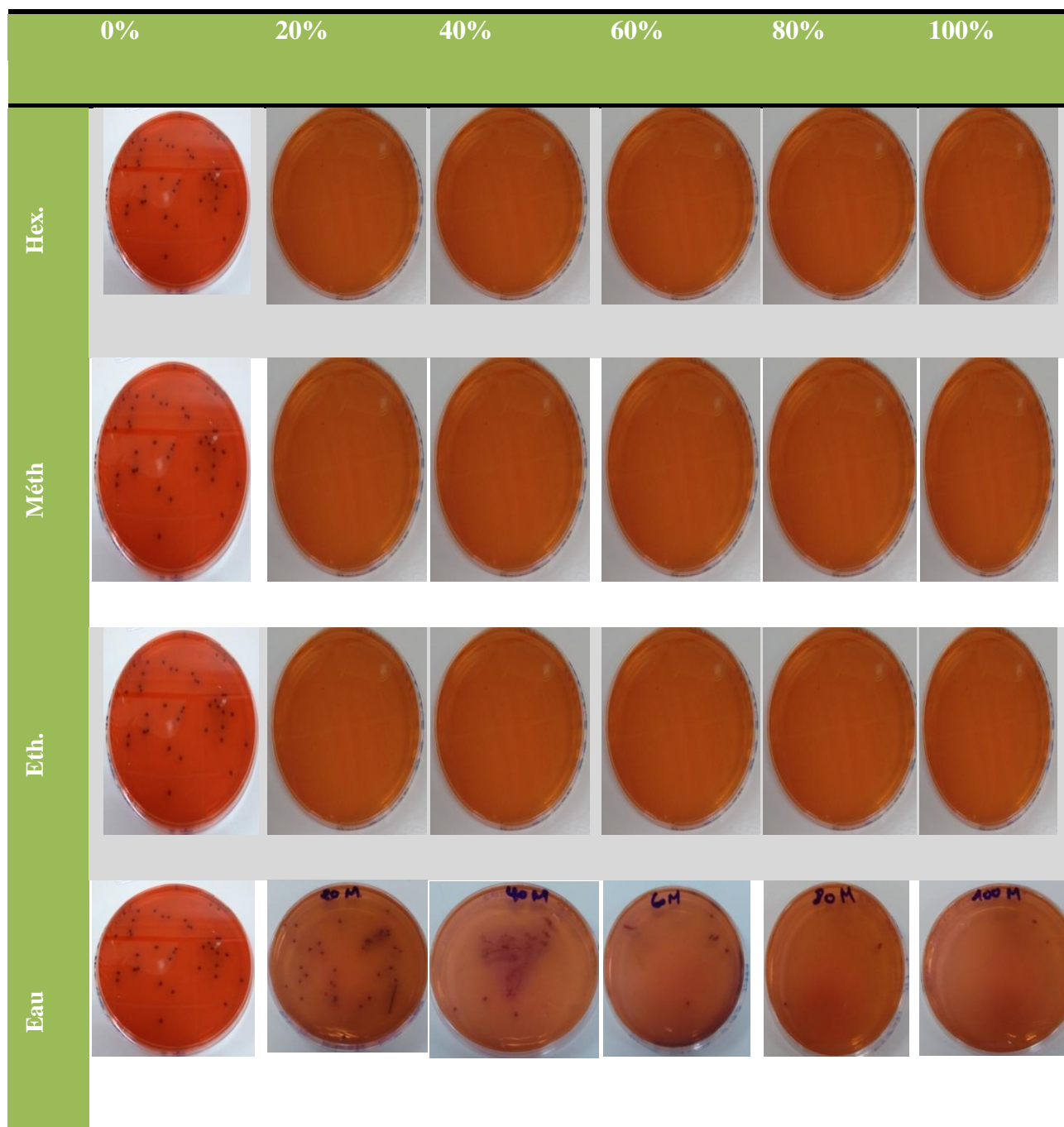


Figure 16. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités du *Thymus vulgaris* prélevé de la région de Mostaganem sur la croissance d'*E. Coli*.

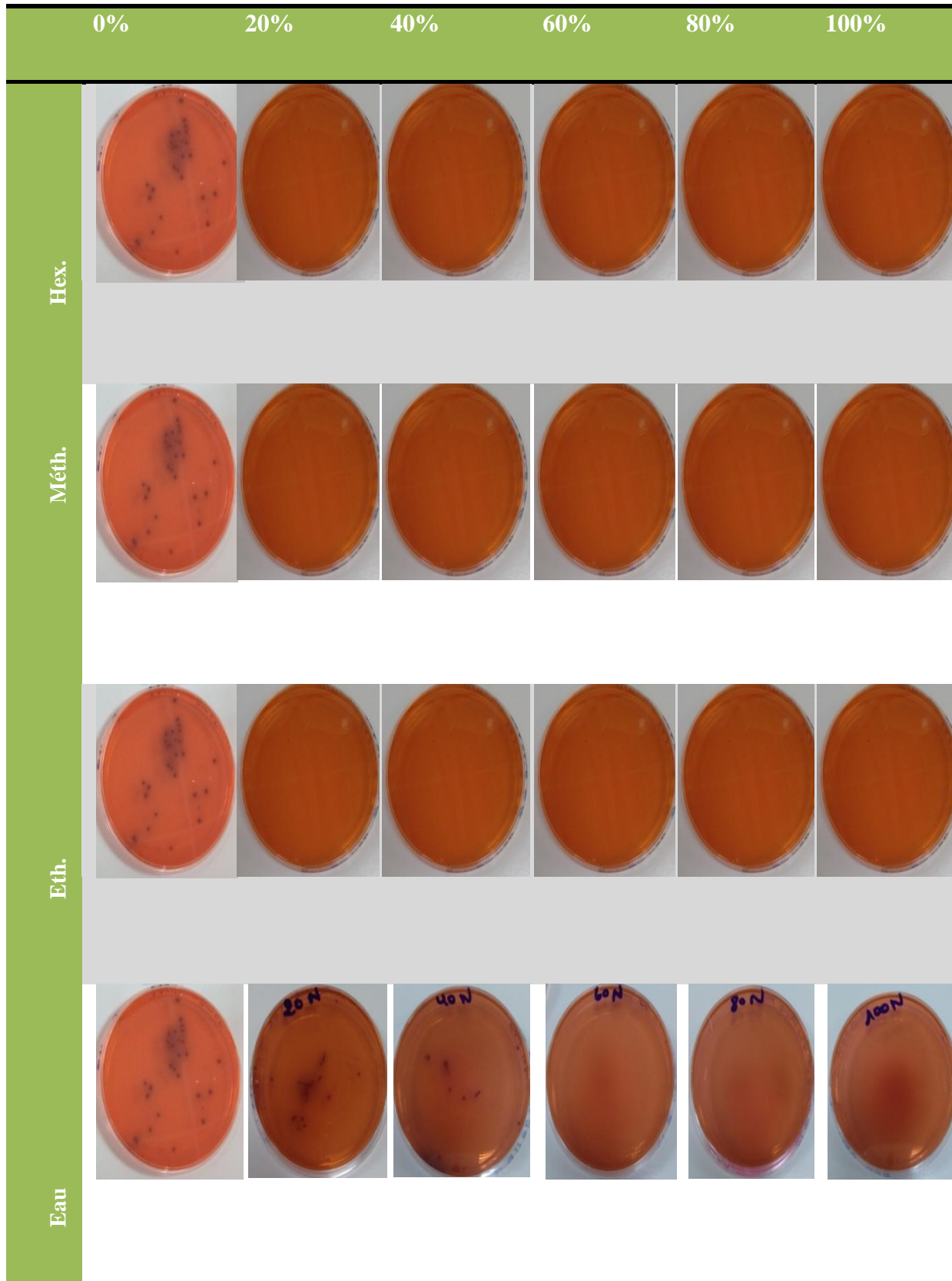


Figure 17. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités du *Thymus vulgaris* prélevé de région de Naama sur la croissance d'*E. Coli*.

Les extraits à l'hexane, au méthanol à l'éthanol de *Thymus vulgaris* prélevé de la région de Mostaganem ont engendré une croissance identique et faible par rapport à l'extrait aqueux de la plante (**p<0,01**); (95.10^4 vs 95.10^4 vs 95.10^4 vs 230.10^4 UFC/ml).

En revanche, tous les extraits de Naama ont induit un même effet sur la croissance du germe étudié.

Apparemment, l'élévation de la concentration en extraits de Mostaganem de (0,20, 40 60,80 et à 100) s'est traduit par une nette baisse ($p < 0,01$) de la croissance du germe *E. coli* ; 57.10^5 , 10.10^5 à 46.10^4 à 35.10^4 à 12.10^4 et à 25.10^3 UFC/ ml en moyenne. (**Figure.16 et 17**)

Concernant le *Thymus* de Naama, les extraits préparés à de fortes concentrations de 60, 80, et 100% ont occasionné une inhibition totale de la croissance microbienne (**Tableau.08**).

1.2. Taux de croissance :

La croissance d'*E. Coli* est plus élevée (**p<0.01**) dans les extraits à l'eau par comparaison aux autres extraits aux solvants organiques.

Les extraits de Naama préparés à des concentrations sévères de 60, 80, et 100% ont engendré des taux d'inhibitions nulles de la croissance du germe étudié.

En fonction des concentrations variables de 0, 20, 40, 60, 80, et 100% en extraits de Mostaganem, les taux d'inhibitions du germe ont diminué significativement (**p<0.01**) de 100, à 18.60, à 8.13, à 6.10, à 2.17 et à 0.43%, respectivement (**tableau.09**)

Tableau08. Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et de Naama sur la croissance d'*Escherichia coli*

		Facteurs		Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)					F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)
		Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0	20	40	60	80			
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	57.10 ^{5 a}	57.10 ^{5a}	57.10 ^{5 a}	57.10 ^{5a}	95.10 ^{4b}	95.10 ^{4b}	95.10 ^{4b}	230.10 ^{4a}	57.10 ^{5 a}	10.10 ^{5 b}	46. 10 ^{4b}	35.10 ^{4b}	12.10 ^{4b}	25.10 ^{3b}	p<0.01	p<0.01	p<0.05
		20%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	42.10 ^{5 a}													
		40%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	18.10 ^{5 b}													
		60%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	14.10 ^{5 b}													
		80%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	5.10 ^{5 b}													
		100%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	1.10 ^{5 b}													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	35.10 ⁵	35.10 ⁵	35.10 ⁵	35.10 ⁵	58.10 ⁴	58.10 ⁴	58.10 ⁴	130.10 ⁴	35.10 ^{5 a}	54.10 ^{4 b}	56.10 ^{4 b}	00 ^b	00 ^b	00 ^b	p>0.05	p<0.01	p> 0.05
		20%	00	00	00	21.10 ⁵													
		40%	00	00	00	22.10 ⁵													
		60%	00	00	00	00													
		80%	00	00	00	00													
		100%	00	00	00	00													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes; * * p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ; * p<0.05 : Effet significatif du facteur ; int.f1 x f2 interaction des deux facteurs étudiés ; étudié; a, b, c, d :groupe homogène(comparaison des valeurs moyens) ; F1 : facteur étudiée type de solvant d'extraction , f2 : facteur étudié concentration.(Type des solvants et concentration d'extraits) ; S : Effet significatif du facteur étudié ;NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, cetc.; n ; nombre de répétitions. Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol.

Tableau09. Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et de Naama sur **Le taux de croissance d'*Escherichia Coli***

		Facteurs	Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)					F ₁	F ₂	(F ₁ ×F ₂)	
		Solvants	Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0	20	40	60	80				100
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	16,667 ^b	16,667 ^b	16,667 ^b	40,308 ^a	100 ^a	18,604 ^b	8,138 ^c	6,104 ^c	2,179 ^c	0,436 ^c	p<0.01	p<0.01	p<0.01
		20%	00 ^d	00	00 ^d	74,417 ^b													
		40%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	32,553 ^c													
		60%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	24,41 ^{cd}													
		80%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	8,71 ^d													
		100%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	1,743 ^d													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	16,667 ^b	16,667 ^b	16,667 ^b	37,579 ^a	100 ^a	15,331 ^b	16,038 ^b	00 ^c	00 ^c	00 ^c	p<0.01	p<0.01	p<0.01
		20%	00 ^c	00 ^c	00 ^c	61,32 ^b													
		40%	00 ^c	00 ^c	00 ^c	64,15 ^b													
		60%	00 ^c	00 ^c	00 ^c	00 ^c													
		80%	00 ^c	00 ^c	00 ^c	00 ^c													
		100%	00 ^c	00 ^c	00 ^c	00 ^c													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes; * * p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ; * p<0.05 : Effet significatif du facteur ; int.f1 x f2 interaction des deux facteurs étudiés ; étudié; a, b, c, d :groupe homogène(comparaison des valeurs moyens) ; F1 : facteur étudiée type de solvant d'extraction , f2 : facteur étudié concentration.(Type des solvants et concentration d'extraits) ; S : Effet significatif du facteur étudié ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, cetc.; n ; nombre de répétitions. Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol.

1.3. Méthode de contact indirect :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* prélevé des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur le diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* sont représentés dans les (figures 18 et 19)

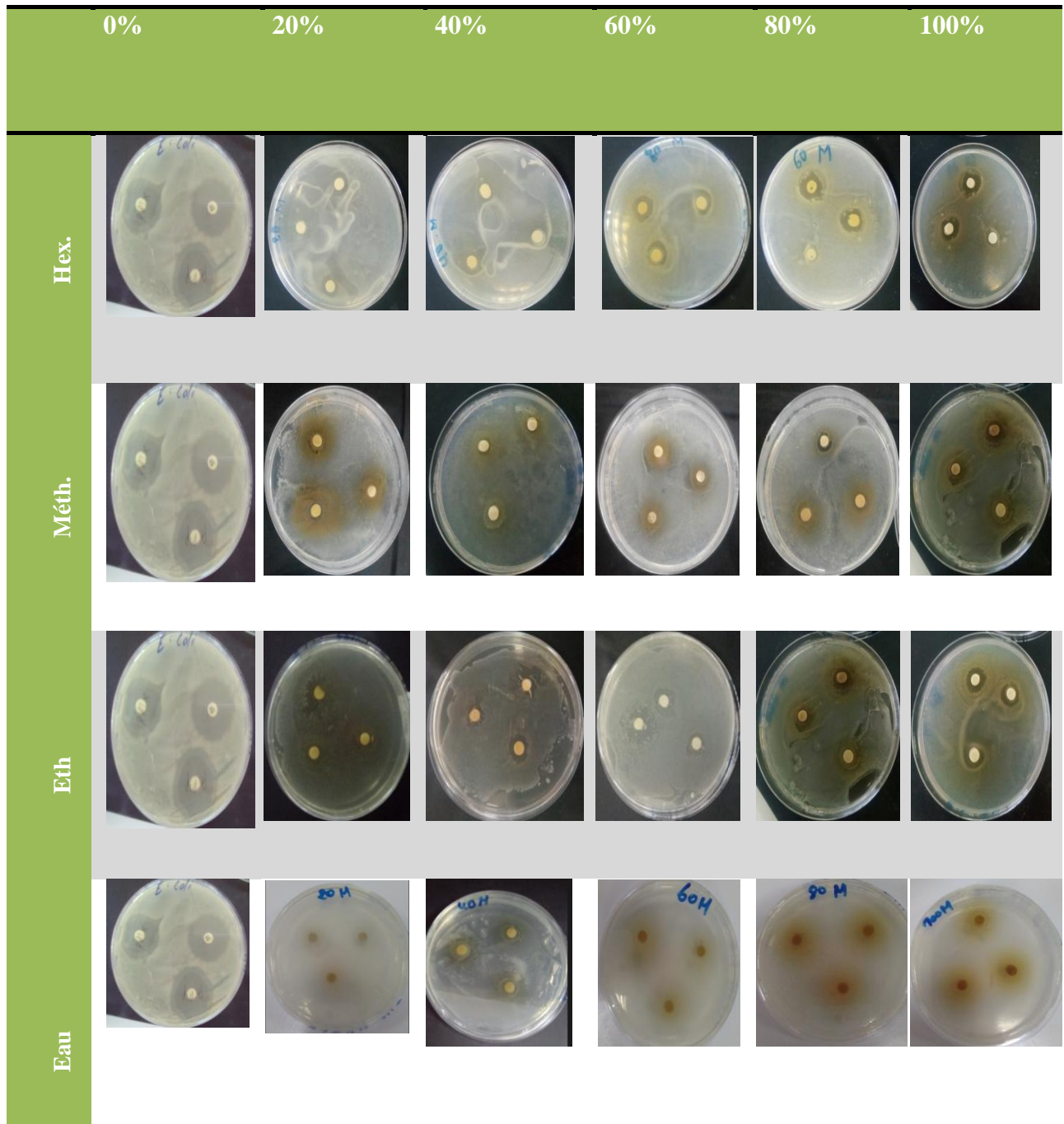


Figure 18. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* prélevé de la à région de Mostaganem sur les diamètres d'inhibitions chez *E. Coli*

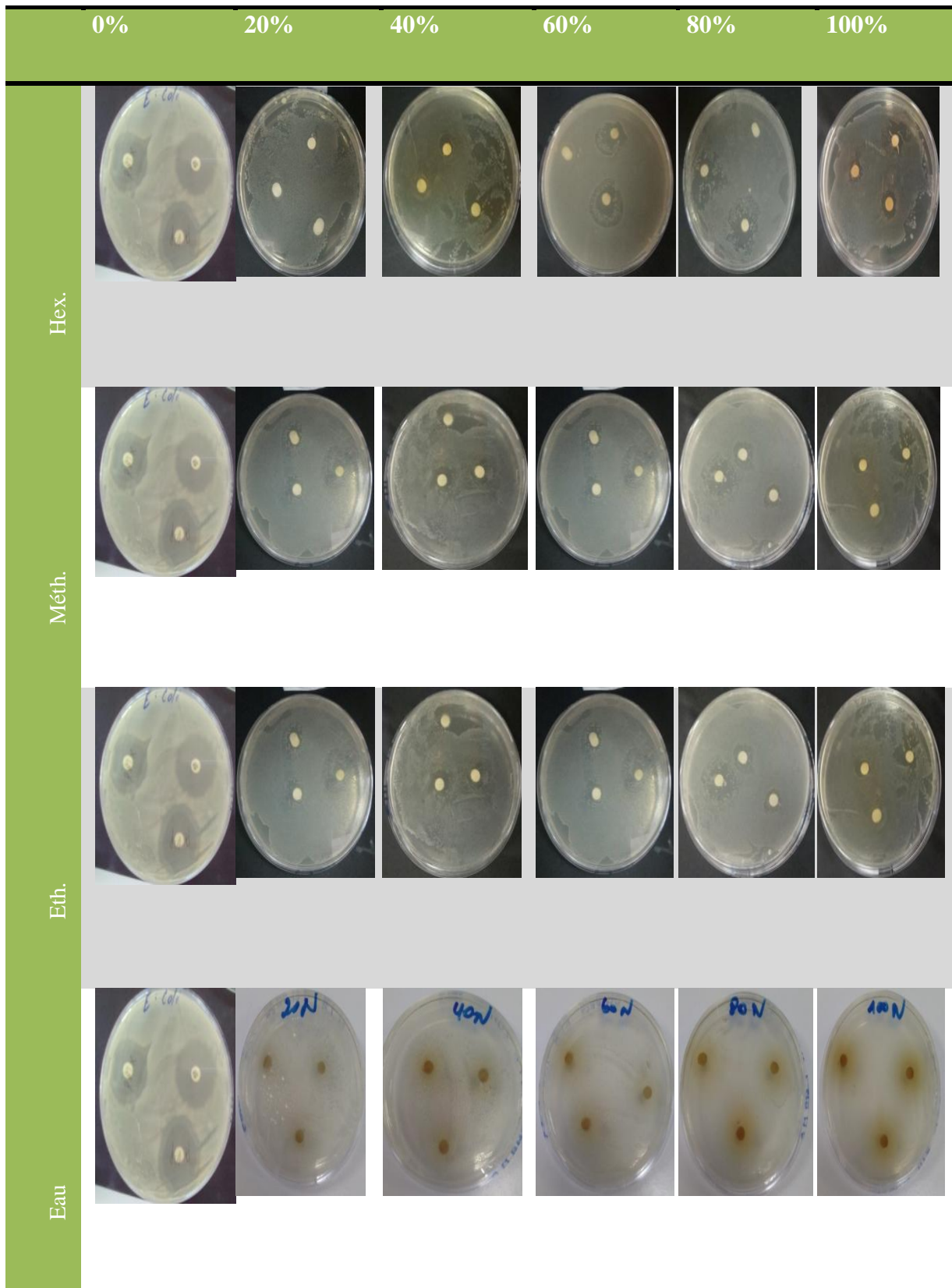


Figure 19. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités du *Thymus vulgaris* prélevé de la région de Naama sur les diamètres d'inhibitions chez *E. Coli*

Les effets d'inhibition effectués par la méthode des disques montrent que le diamètre de la zone d'inhibition est d'autant plus remarquable que la solution est plus concentrée à l'extrait de thym.

Les extraits au méthanol, éthanol et à l'eau de Mostaganem présentent presque le même effet inhibitrice ($p>0,01$) (12,444, 13,333, 12,056 mm) par rapport à l'extrait à l'hexane qui a montré un effet inhibiteur plus élevé 15,389 ($p>0,01$) (**Figure 18 et 19**)

Les extraits de Naama au méthanol ont accusé des diamètres d'inhibitions supérieurs à ceux préparés à base d'éthanol et à l'hexane ($p>0,01$) 21.38 et 20.16 mm, contre 16.44 et 18.27mm en moyenne (**Tableau.10**)

1.4. Taux d'inhibition du germe *E. Coli* :

Les extraits à l'hexane et au méthanol de Mostaganem ont présenté de forts taux d'inhibitions contre *E. Coli* par comparaison à ceux des extraits éthanolique et aqueux de la même région de récolte de *Thymus vulgaris* ($p<0.01$) ; 57et 45.7% contre 49.4et 45.06%

En revanche, les extraits aqueux et méthanolique de Naama ont présenté les meilleurs résultats que ceux à l'hexane et à l'éthanol ($p<0.01$) ; 74.21 et 79.69vs 67.7et 60.90%, en moyenne.

La gentamicine a présente le taux d'inhibition le plus élevé de 100% du germe étudié. En fonction de la concentration des extraits de la plante variable de 20à 100%, les taux d'inhibitions ont tendance à augmenter de 34.56 à 44.78% dans les extraits de mostaganem et de 57.40 à 75.64% dans ceux de Naama qui semblent plus inhibiteurs de la prolifération du germe étudié (*E. Coli*) (**Tableau. 11**)

Tableau10. Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et de Naama sur **diamètre d'inhibition** chez *Escherichia*

	Facteurs	Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)					F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)		
		Solvants	Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	Gent.	20	40	60				80	100
Mostaganem	Concentrations des Extraits	Gent.	27± 1,732	27± 1,732	27± 1,732	27± 1,732	15,389^a ± 3,036	12,444^b ± 1,12	13,333^b ± 1,358	12,056^b ± 1,826	27^a ± 1,477	9,333^c ± 2.892	9,417^c ± 1.393	10,417^b ± 2.27	11,583^b ± 1.809	12,083^b ± 1.809	p<0.01 **	p<0.01 **	P>0.05 *
		20%	12,667± 6,351	8,333± 1,528	9,333± 1,528	7± 1													
		40%	13± 6,351	10± 1	7,333± 2,309	11,333± 0,577													
		60%	10,333± 3,055	8,333± 1,528	10,667± 0,577	8,333± 4,041													
		80%	13,667± 3,055	12± 1	13,333± 1,528	7,333± 2,309													
		100%	15,667± 3,512	9± 1	12,333± 1,528	11,333± 1,528													
Naama	Concentrations des Extraits	Gent.	13± 6,351	10± 1	7,333± 2,309	11,333± 0,577	18,278^{ab} ± 4,963	20,167^{ab} ± 4,967	16,444^b ± 3,193	21,389^a ± 4,806	27^a ± 1,477	15,5^b ± 3,766	16,583^b ± 5,263	16,75^b ± 7,006	18,167^b ± 3,576	20,417^b ± 4,658	p<0.01 **	p<0.01 **	p<0.01 **
		20%	10,33± 3,055	8,333± 1,528	10,667± 0,577	8,333± 4,041													
		40%	13,66± 3,055	12± 1	13,333± 1,528	7,333± 2,309													
		60%	15,66± 3,512	9± 1	12,333± 1,528	11,33± 1,528													
		80%	13± 6,351	10± 1	7,333± 2,309	11,333± 0,577													
		100%	10,333± 3,055	8,333± 1,528	10,667± 0,577	8,333± 4,041													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes; * p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ; * p<0.05 : Effet significatif du facteur ; int.f1 x f2 interaction des deux facteurs étudiés ; étudié; a, b, c, d :groupe homogène(comparaison des valeurs moyens) ; F1 : facteur étudiée type de solvant d'extraction , f2 : facteur étudié concentration.(Type des solvants et concentration d'extraits) ; S : Effet significatif du facteur étudié ;NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, cetc.; n ; nombre de répétitions. Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol.

Tableau 03 : Effets des extraits de *thymus vulgaris* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le **taux d'inhibition** d'*Escherichia coli*

	Facteurs	Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)	
		Solvants	Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0	20	40	60	80				100
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	100	100	100	100	57,012 ^a	45,674 ^a	49,379 ^b	45,058 ^b	100 ^a	34,562 ^c	35959 ^{b c}	37,489 ^{b c}	42,897 ^{b c}	44,778 ^b	p<0.01**	p<0.01**	p>0.05
		20%	46,91	30,857	34,563	25,92													
		40%	48,143	34,563	27,157	41,973													
		60%	38,267	30,857	39,503	33,33													
		80%	50,613	44,44	49,377	27,157													
		100%	58,14	33,327	45,677	41,97													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	67,712 ^{a b}	79.687 ^{a b}	60,902 ^b	74.212 ^a	100 ^a	57,402 ^b	67,278 ^b	61,413 ^b	62,032 ^b	75,643 ^b	p<0.05*	p<0.01**	p<0.05*
		20%	41,97 ^a	75,30 ^a	59,257 ^a	53,08 ^a													
		40%	56,78 ^a	93,82 ^a	64,193 ^a	54,317 ^a													
		60%	62,96 ^a	49,37 ^a	55,553 ^a	77,763 ^a													
		80%	65,42 ^a	50,61 ^a	44,44 ^a	87,65 ^a													
		100%	79,13 ^a	79,00 ^a	41,97 ^a	102,46 ^a													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes, suivit de leurs écart type ; **effet hautement significatif de facteur étudié ; * : Effet significatif du facteur étudié ; a, b, c, d :groupe homogène(comparaison des valeurs moyens), F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extrait, f₂ : facteur étudié concentration.(Type des solvants et concentration d'extraits) ; S : Effet significatif du facteur étudié ;NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, cetc.; n ; nombre de répétitions. Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol.

1.5. Concentration minimal inhibitrice(CMI) :

Les variations de la turbidité du germe *E. coli* étudié après incubation à 37° pendant 24h dans les différents extraits de *Thymus vulgaris* de Naama et Mostaganem sont mentionnées dans le (**Tableau 12**)

La Concentration minimal inhibitrice du germe étudié *E. Coli* a été obtenu de la plante de Mostaganem avec les extraits à l'hexane, au méthanol concentrés à 20% et avec des extraits aqueux concentré à 80%.

Concernant la région de Naama, la CMI est établie avec les extraits à l'hexane, au méthanol, et à l'éthanol concentrés à 20% et avec l'extrait à l'eau concentré à 60%.

1.6. Concentration minimal bactéricide (CMB) :

La (**Figure 16**) représente d'un côté les repiquages en stries sur gélose Mueller Hinton des différentes dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum bactérien d' *Escherichia coli* après incubation à 37° C pendant 24 heures , et d'un autre côté les repiquages en strie sur gélose Mueller Hinton des différentes concentrations d'extrait de *Thymus vulgaris*ensemencées après culture durant 18 à 24 heures à 37° C.

La CMB à été obtenue de la plante *Thymus vulgaris* récolté a Mostaganem à partir des extraits à l'hexane, à éthanol et au méthanol concentré à 20%, et des extraits purs aqueux concentré à 100%.

Tableau12. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de *Thymus vulgaris* chez *d'Escherichia Coli*.

Région	Solvants	Paramètres	Concentration d'extraits bioactif de <i>Thymus vulgaris</i>					
			Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
Mostaganem	Hexane	df	0.328	0.414	0.277	0.264	0.200	0.191
		di	0.75	0.400	0.261	0.245	0.179	0.169
		df-di	0.422	-0.004	-0.016	-0.019	-0.021	-0.022
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI						
	Méthanol	df	0.323	0.538	0.315	0.233	0.062	0.030
		di	0.75	0.237	0.237	0.197	0.059	0.025
		df-di	0.422	-0.301	-0.078	-0.036	-0.003	-0.005
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI						
	Ethanol	df	0.328	0.905	0.663	0.460	0.206	0.116
		di	0.75	0.895	0.645	0.402	0.140	0.009
		df-di	0.422	0.01	-0.018	-0.059	-0.066	-0.107
		S%	100	7.3	3.11	1.9	0	0
		CMI						
	Eau	Df	0.520	0.498	0.416	0.202	0.152	0.120
		Di	0.689	0.522	0.510	0.253	0.101	0.092
		df-di	0.169	0.024	0.094	0.051	-0.051	-0.030
		S%	100	14.20	55.62	30.17	0	0
		CMI						
Naama	Hexane	Df	0.077	0.562	0.430	0.229	0.200	0.181
		Di	0.739	0.491	0.352	0.211	0.118	0.096
		df-di	0.662	-0.071	-0.078	-0.079	-0.082	-0.085
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI						
	Méthanol	Df	0.077	0.632	0.542	0.420	0.422	0.336
		Di	0.739	0.589	0.498	0.474	0.372	0.279
		df-di	0.662	-0.043	-0.044	-0.046	-0.050	-0.057
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI						
	Ethanol	Df	0.077	0.210	0.100	0.100	0.100	0.100
		Di	0.739	0.185	0.100	0.100	0.100	0.100
		df-di	0.669	-0.025	0	0	0	0
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI						
	Eau	Df	0.872	0.785	0.696	0.536	0.333	0.333
		Di	0.964	0.822	0.731	0.420	0.333	0.333
		df-di	0.092	0.037	0.035	-0.116	0	0
		S%	100	40,21	38,04	0	0	0
		CMI						

Di : densité optique initiale avant l'incubation ; df : densité optique finale après incubation ; S : Taux de survie ; CMI : concentration minimale inhibitrice.

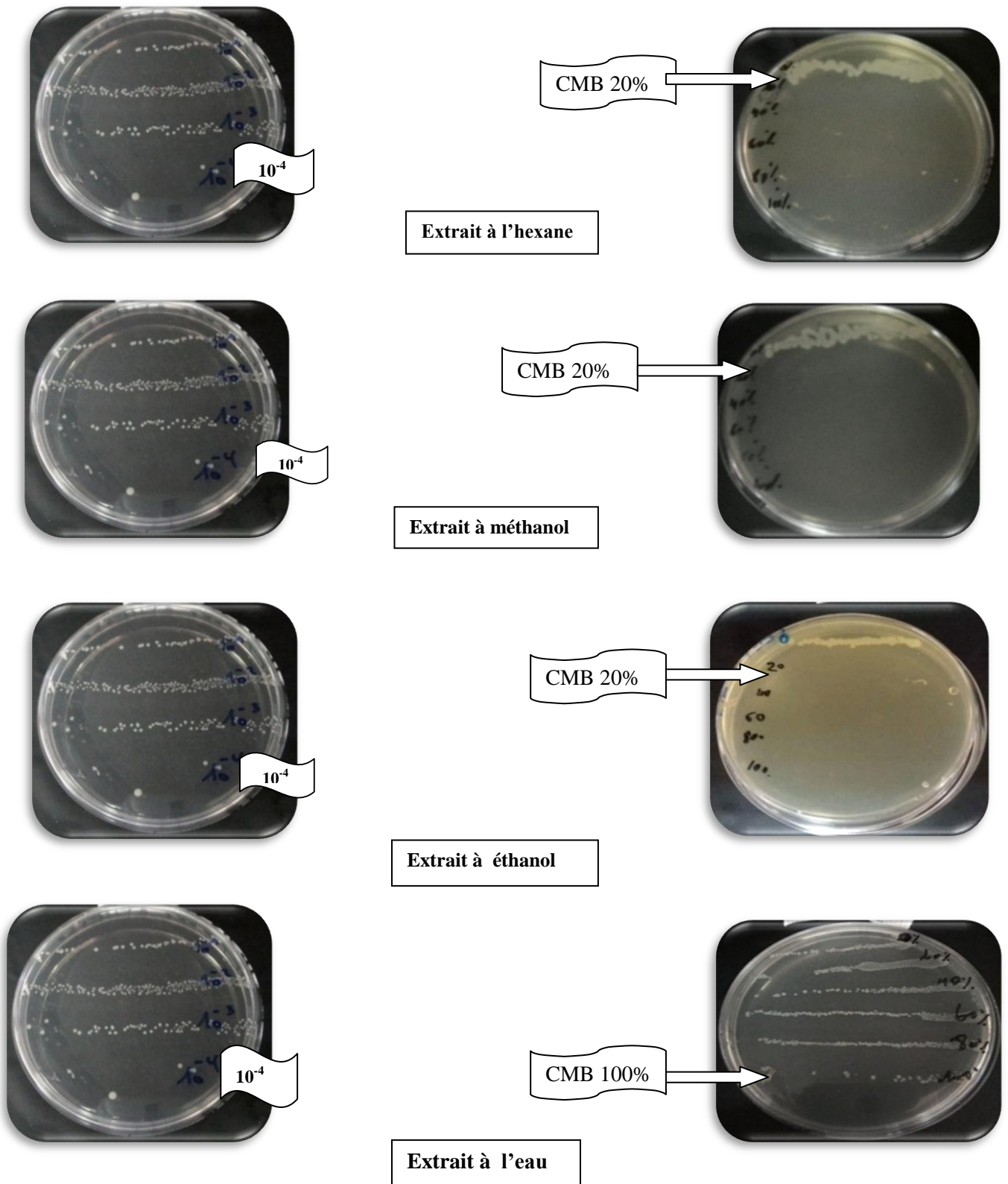


Figure 20. Détermination de CMB des extraits aux *Thymus vulgaris* de région de Mostaganem sur *E. coli*

Concernant la *Thymus vulgaris* de Naama la CMB à été démontré : Dans les extraits à l'hexane et éthanolique et méthanolique concentré à 20% et l'extrait aqueux concentré à 60%.

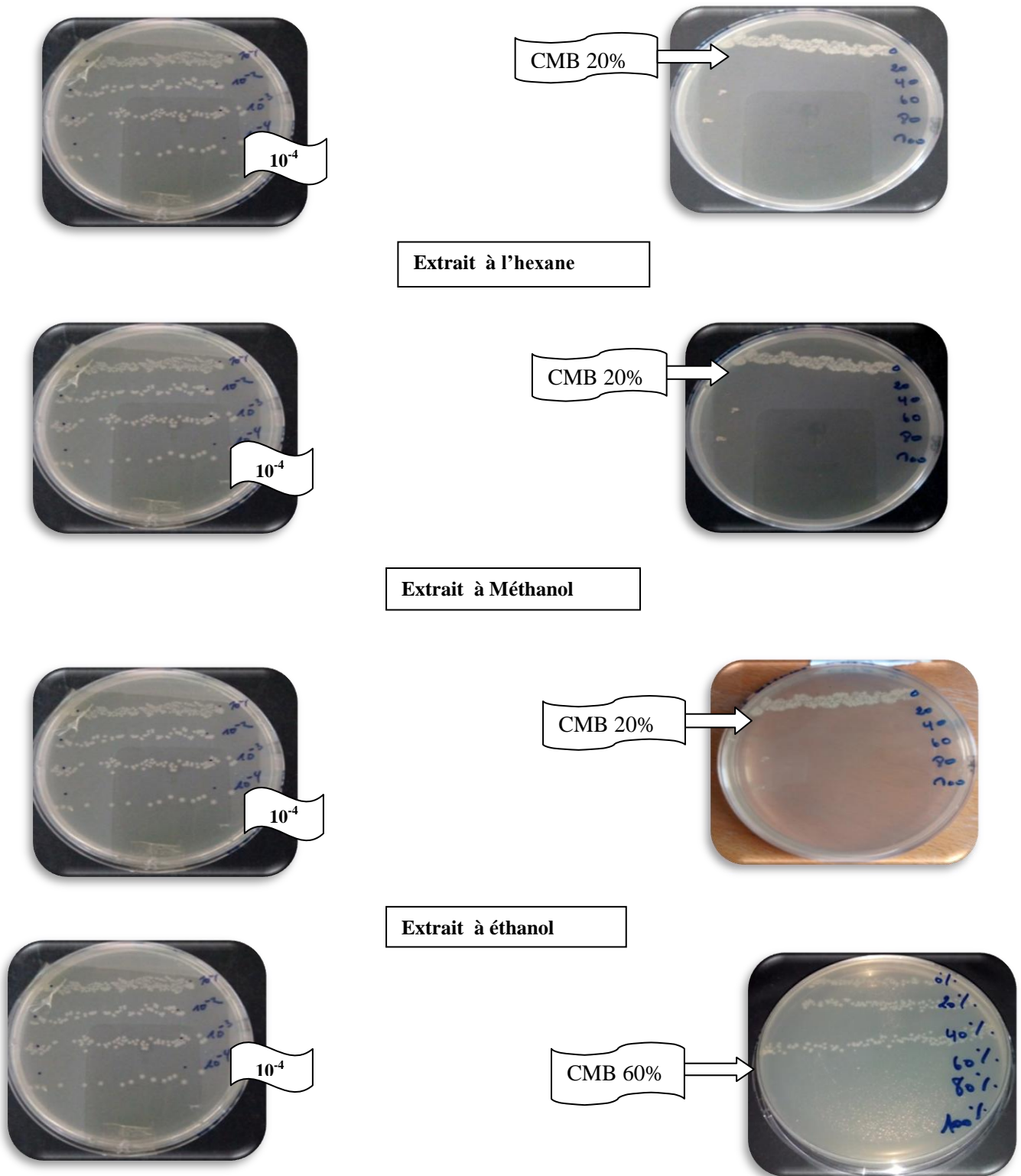


Figure 21. Détermination de CMB des extraits aux *Thymus vulgaris* de région de Mostaganem sur *E. coli*

1.7. Type d'inhibition expérimentaux des extraits :

Tous les extraits de *Thymus vulgaris* ont montré un effet inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis du germe *E. Coli* (Tableau .13)

Tableau 13. Type d'inhibition des extraits de *Thymus vulgaris* chez *E. Coli*.

	Solvants	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
Mostaganem	Hexane	20%	20%	1	Bactéricide
	Méthanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Ethanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Eaux	80%	100%	1.25	Bactéricide
Naama	Hexanes	20%	20%	1	Bactéricide
	Méthanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Ethanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Eaux	60%	60%	1	Bactéricide
Normes	CMB/ CMI \leq 2(Effet bactéricide) CMB/ CMI $>$ 2(effet bactériostatique) *D'après (<i>Olivier 2007</i>) CMB/ CMI \leq 4(Effet bactéricide) CMB/ CMI $>$ 4(effet bactéristatique) * D'après (<i>Marmonier 1990</i>)				

2. Discussion :

Les plantes médicinales constituent une source riche et diversifiée de métabolites secondaires, qui ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux(Haddouchi et al., 2016).

Des études réalisées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1999) et d'autres auteurs (Dorman et Deans., 2000 ; El Ouali Lalami et al., 2013) ont montré que les composés phénoliques de *Thymus vulgaris* possède une forte activité antibactérienne et antifongique contre de nombreuses espèces microbiennes, dont *S. aureus*, *E. coli* et *Aspergillus sp.* Les extraits de *Thymus vulgaris* de notre étude ont également montré une activité antimicrobienne importante contre *E. Coli*.

En effet, l'analyses des donnes expérimentales à montré que comparativement au témoin a basse de l'eau distillé tous les extraits ont réagi positivement sur la croissance du germe étudié et qui à été inhibée totalement à la concentration en extraits particulier de Naama de 60%.

Les résultats de la méthode des disques sur milieu solide, montrent aussi que tous les extraits de thym présentent des diamètres d'inhibition élevée variables entre 9 à 20 mm et proches de la gentamycine (27mm).

Boubakeur et al., (2017) rapportent aussi une forte activité antibactérienne des extraits de thym avec des diamètres variable de 22,00 à 45,00 mm. Ceux-ci suggèrent que l'utilisation des principes actifs de thym permettrait de mieux protéger l'homme contre les bactéries responsables de gastroentérites à *E. Coli* et bien d'autres maladies infectueuses.

Par ailleurs, (Bourgou et al., 2016) dans une autre étude ont montré que les huiles essentielles de *Thymus* Algérien ainsi que de leurs dilutions présentent des activités antimicrobiennes intéressantes ; avec des diamètres des zones d'inhibition variables allant de 7 à 26 mm.

Yakhlef et all., (2011) ont un d'autre part trouvé des diamètres d'inhibition plus élevés de 34.3 ± 1.2 mm avec l'extrait méthanolique.

Selon les travaux de (Haddouchi et al., 2016 ; Mouas et al., 2017) les extraits, à l' hexane au méthanol, ainsi que l'extrait aqueux accusent des diamètres d'inhibitions variables entre 11 et 13 mm, chez *E. Coli*.

Les CMI chez *E. Coli* ont été obtenues avec les extraits à l'hexane, au méthanol et à l'éthanol de *Thymus vulgaris* récolté des régions de Mostaganem et de Naama et concentré à 20%.

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) rapportées par plusieurs auteurs montrent un large éventail des valeurs en comparaison avec les zones d'inhibition (**Haddouchi et al., 2016**).

Selon (**Kaloustian et al., 2008**) la CMI représente la plus faible concentration en extraits ne donnant pas de croissance visible à l'œil nu ; alors que d'après (**Khadir et al., 2013**) la CMI est la concentration du premier tube dans lequel aucun trouble n'apparaît.

La CMI, de façon générale, est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible d'un microorganisme après un temps d'incubation de 18 à 24 heures (**Haddouchi et al., 2016**).

A cet effet, les CMI chez l'espèce *E. Coli* ont été réalisées avec les extraits aux solvants dilués à 20%. Par ailleurs, ces CMI ont été obtenues dans les extraits aqueux de Mostaganem et de Naama aux dilutions de 80 et 60%, successivement.

La concentration minimale bactéricide CMB est enregistrée aux concentrations d'extraits aux solvants de 20% ; Les concentrations ont engendré un pourcentage de survie proche de 0.01% d'inoculum d'*Escherichia Coli* dilué à 10^{-4} . Ils représentent donc les concentrations minimales bactéricides du germe étudié. Alors que pour l'extrait aqueux de la plante, la CMB a été réalisée avec l'extrait pur de Mostaganem à 100% et l'extrait de Naama dilué à 60%. Ces CMB représentent les plus petites concentrations aboutissant à la destruction notable de l'inoculum bactérien et laissent de 0,01% de survivants (**Khadir et al., 2013**).

Ces propos confirment ceux de plusieurs études portées sur la détermination du pouvoir antimicrobien des extraits de *Thymus vulgaris*, (**Yakhlef et al., 2011 ; Bouhdid et al., 2006 ; Giordani et al., 2008 ; Kaloustian et al., 2008 ; Bourgou et al., 2016**) et qui ont tous révélé en particulier une importante activité des huiles essentielles de la plante chez *Escherichia Coli*.

Apparemment, tous les extraits expérimentaux de *Thymus vulgaris* ayant fait l'objet d'extractions aux solvants à différentes polarités et qui ont accusé des rapports CMB /CMI inférieurs à 2 ont montré qu'ils exercent des effets antimicrobiens de type bactéricide vis-à-vis d'*E. Coli* (**Olivier, 2007 ; Marmonier, 1990**). D'après plusieurs auteurs, ces effets se

manifestent chez la majorité des germes microbiennes surtout par une destruction de la paroi bactérienne et une inactivation d'enzymes, ainsi que de certains facteurs de virulence de germe *E. Coli* étudié. (*Marmonier, 1990*).

Conclusion :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparait que les extraits au *Thymus vulgaris* récolté dans les deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) selon n'importe quels type de solvants à différentes polarités utilisés ont inhibé efficacement la croissance du germe de référence testé *E. Coli*.

Apparemment, les extraits utilisés à l'état pur manifestent une plus grande efficacité antimicrobienne vis-à-vis de ce germe, connus comme étant le plus responsable d'infections uro-génital.

La méthode des disques a confirmé aussi que le diamètre d'inhibition du germe *E. coli* est d'autant plus augmenté que la solution inhibitrice est fortement concentrée en extrait de la plante.

Par ailleurs, tous les extraits ont montré un effet de type bactéricide l'encontre du germe de référence étudié *E. Coli*.

L'ensemble des résultats obtenus sur la mise en évidence de l'activité antibactérienne d'extraits de *Thymus vulgaris* vis-à-vis de la souche testée (*E. Coli*) ne constitue qu'une première ébauche dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives de la plante. D'autres recherches sont donc nécessaires pour compléter les informations déjà acquises. Les études doivent être orientées surtout à l'étude sélectives des principaux composés actifs de la plante (poly phénoliques – huiles essentielles et les Alcaloïdes) sur la croissance des principaux germes à l'origine des infections uro-génitales tels (*Candida albicans*, *S. aureus*, *E. coli*...ect).

Référence

- **Adossides A, 2003**, La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole, 70p
- **Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F, 2006**, Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turk. J. Biol*, 30, 239-242p.
- **Adzet T., Vila R., Cafiigueral S. (1988)** Chromatographic analysis of polyphénols of some Iberian *Thymus*. *J. Ethnopharm.* 24 : 147-154
- **Al-Bayati F. A. 2008**. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, 166 (3) : 403-406.
- **Alilou H., Hassani L. M. I., Barka N., Bencharki B., 2014**. Screening photochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus gravelons* subsp. *Odorus* ., *Afrique Science* 10(3) 316 – 328.
- **Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.
- **Balladin D.A; Headley, O. (1999)**. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. 17: 523-531.
- **Bazylo A. et Strzelecka H. 2007**. A HPTLC densitometry determination of lutéoline in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia.*, 78 : 391-395.
- **Boubakeur. H, Rebbas. K, Belhattab. K, 2017** ; Activités antioxydant et antibactérienne des extraits d'*Helichrysum stoechas*
- **Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006)** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies*, Agadir. 324-327.
- **Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau, 1980**. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.
- **Bourgou, R. Serairi Beji, F. Medini1. , F. Ksouri. R. (2016)**. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités

antioxydants d'Euphorbia helioscopia S. R Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, Volume 28(12). 28(12), 1649-1655 1649

- **Bruneton J, 1999**, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3 ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p
- **Caquet R., 2008** ; 250 examens de laboratoire ; 10 édition 420 page.
- **Carillon A, 2009**, Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. In: Conférence SIPAM, Djerba, Tunisie, Mars 2009, 7p
- **Chaine, B. Janier, M, 2009**. Maladies sexuellement transmissible. Maladies vénériennes. EMC (Elsevier Masson SAS, paris), traité de médecine akos ,3-0695
- **Chourfa. M, R. Allem, M. Sebahia, S. Belhireche 2000** , Effet de l'huile essentielle de Thymus vulgaris sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites ; Laboratoire de bioressources naturelles, faculté des sciences, université H.-B.-Chlef, , Chlef, Algérie
- **Couplan F, 2000**, Dictionnaire d'étymologie de botanique : Comprendre facilement tous les noms scientifiques. Edition Lausanne : Delachaux et Nestlé, Paris, 238p
- **Cowan, M.M, 1999**, Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev, 12(4), 564- 582p
- **Dauqan EMA, Abdullah A. 2017**; Medicinal and Functional Values of Thyme (Thymus vulgaris L.) Herb.JApp Biol Biotech. 5 (02): 017-022. DOI: 10.7324/JABB.2017.50203
- **De Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., Vlietinck A, 1999**, Condensed vegetables tannins: Biodiversity in structure and biological activities. Biochemical System Ecology, 27, 445- 459p
- **Denis F., Ploy M-C., Martin C., Bingin É., et Quentin R., 2007**, Bactériologie médicale édition Masson.
- **Dorman HJD et Deans SG**. Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. : 2000, 88, 308-316.
- **Duplan B., Marty M, 2001**, Bien soigner le mal de dos. Odile Jacob, Paris, 346p
- **Eberhard T, Robert A , Annelise I. 2005** Plantes aromatiques p 475-480
- **El Ouali Lalami. A , El-Akhal .F , Ouedrhiri .W , Ouazzani C.F. Guemmouh R. Greche H. 2013**. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : Thymus vulgaris et

Thymus satureioïdis LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE -, Volume 8, N°31

- **Eline, 2008**, biologie humain. 8 éditions. canada, p 7-544
- **Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. 2007.** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- **Eqbal D, Aminah A, Halimah AS.** Review Article: Natural antioxidants, lipid profile, and antioxidant enzyme of vegetable oils. Advance Journal of Food science and technology. 2011; 3(4): 308- 316.
- **Ettayebi K, E.I. Yamani J, Rossihassani. B.D.**2000 Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities Listeria monocytogenes and Bacillus subtilis, FEMS microbial Lett: , 183, 191-195.
- **Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé 64(2) : 159-164.
- **Fauchiere j. l. et avril .j. l, 2002** Bactériologies General et médicale p. 239-242 chapitre : les bacilles a gramme négatifs de la famille des entérobactéries
- **Flèche C., 2012,** Décodage biologique immunité, hématologie, andrologie et urologie ; le Souffle d'Or ISBN 978 2 84058 434 6.
- **Gaillard j. l. berche, simonet M, 1988,** bactériologie, chapitre 8 : *E. Coli* P.101-111
- **Giordani R, Hadeif Y, Kaloustian J (2008)** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia 79: 199–203
- **Goetz P., Ghédira K, 2012,** Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Science & Business Media, 394p
- **Gonthier R., 2000,** Infection de sujet âge gériatrie, 25 :95-103, Paris
- **Guillén M. D., Manzanos M. J. (1998)** Study of the composition of the different parts of a Spanish Thymus Vulgaris L. plant. Food chemistry. 63 (3): 373-383.
- **Haddouchi. F. Zerhouni. Kh, Sidi-Yekhelef. A, Et Chaouche. M. T, 2016.** Evaluation of antimicrobial activity of different extracts of Helichrysum stoechas subsp. Rupestre Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 85, , p. 152 - 159

- **Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.H., Conn B., Grayer R., Harley M.M., Kok R., Krestovskaja T., Morales A., Paton A.J., Ryding O., Upson T., Labiatae.** In: **Kadereit, J.W. 2004**, The families and genera of vascular plants (Kubitzki, K: ed). Volume 7, p 167-275
- **Hudaib M., Speroni E., Pietra A. M. D., Carvin V. (2002)** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29: 691-700.
- **Iserin P. Vican P, 2001**, Encyclopédie des plantes médicinales/ Identification, préparations, soins. Larousse édition, Paris, 335p
- **Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J., Molina – Salinas G. et Saïd-Fernández S. 2006.** *Thymus vulgaris* as a potential source of anti tuberculosis compounds. *Pharmacology online.*, 3 : 569-574
- **Johnson T, 1998**, CRC ethno botany desk reference. CRC Press, 1224p
- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P, 2002**, Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. De Boeck université, Paris-Bruxelles, 467p
- **Kaloustian, J. Chevalier. J, Mikail. C, Martino. M, Abou. L, Vergnes. M.F.** étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité' antibactérienne, *Phytothérapie* (2008) 6: 160–164 © Springer 2008
- **Khadir. A, Bendahou. M., Benbelaid, F. Abdoune, M.A. Abdelouahid D.E.** Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie othérapie © Springer-Verlag France 2013
- **Kra, A.K.M., 2001.** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. *Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences.Univ. Abidjan.*, pp: 126.
- **Kulisic T., Radonic A., Milos M, 2005**, Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian J. Food Sci*, 17(3), 1-10p
- **Legris, ME, 2008.** Guide de traitements des infections génitales hautes (pelvic inflammatory disease-PID). Comité de pharmacologie et exécutif du CMDP, novembre 2008,1-2
- **Linnet, T. Nizard, J, 2010.** Suspicion d'infection génitale basse .EMC (Elsevier Masson SAS, paris), traité de médecine akos ,3-1190

- **Mabberley D.J, 1997**, the plant-book: A portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press, 858p
- **Mahmoudi. S, Khali. M, Et Mahmoudi. N, 2013.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013. Pages 35 à 40
- **Minor L, Veron M, 1989** ; Bactériologie médicale 2eme édition.
- **Morales R, 1997**, Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. Lagascalia, 19(1- 2), 249-262p
- **Morales, R. (2002)**, the history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Thyme: the genus *Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- **Morimitsu Y., Yoshida K., Esaki S., Hirota, A. (1995)** Protein glycation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris*). Biosci. Biotech. Bochum. 59 : 2018-2021.
- **Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, 2008.** Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides*(Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77: 44-61.
- **Morrissey J.P., Osbourn A.E, 1999**, fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiological and Molecular Biological Reviews*, 63(3), 708-724p
- **Mouas. Y, Benrebiha. F. Z, Chaouia. C. 2017.** évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. revue agrobiologie. 7(1): 363-370
- **Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi M.S., Ghorbani A 2005**,labiatae family in folk medicine in Iran: from ethno botany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79p
- **Namsa N.D., Tag H., Mandal M., Kalita P., Das A.K, 2009**, an ethno botanical study of traditional anti-inflammatory plants used by the Lohit Community of Arunachal Pradesh, India. *Journal of Ethno pharmacology*, 125, 234-245p
- **Nauciel C., Vildé J.-L, 2005**, Bactériologie médicale : Abrégés. Connaissances et pratique. 2^{ème} édition, Elsevier Masson, Paris, P.121-126
- **Nickavar B, Mojab F, Dolat-Abadi R 2005** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry* 90: 609-611.

- **Olivier G. 2007.** Caractéristique et mode d'action des antibiotiques.
- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998,** Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde. WHO/TRM/98.1, Genève, Suisse, 65p
- **Özcan M. et Chalcha J. C. 2004.** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L growing wild in Turkey. Bulgarian journal of plant physiology. 30 (3-4) : 68-73.
- **Özcan M., J.-C. Chalchat (2004)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. Bulg. J. Plant Physiol. 30 (4) : 68-73.
- **Pariente L. (2001)** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- **Perscott, L.M.J, P Harley and D. A. Klein,** microbiology 6th ed.2005 ,Dubuque, IA: Mc Graw-Hill Higher education IV (varicose pagings)
- **Peter K.V, 2004,** Handbook of herbs and spices. Elsevier, 376p
- **Pilly E., 2012,** Maladies infectieuses tropicales éducation web.
- **Prasanth, R, Ravi, V.K, Varsha, P.V, Satyam S. 2014;** Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. Med Aromat Plants. 3 (4):1-3.
- **Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein, 2003.** Microbiologie. De Boeck-Supérieur., pp: 1137.
- **Quezel P., Santa S, 1962,** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 636p
- **Raghavan S, 2006,** Handbook of spices, seasonings, and flavorings. 2 nd edition, CRC Press, 330p
- **Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
- **Selmi S. et Sadok S. 2008.** The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus* Linnaeus) during chilled storage. Pan-American Journal of aquatic sciences., 3 (1) : 36-45
- **Senoussi S.A., Djazouli. Z.E, Aroun M.E.F., Sahli Z, 2003,** Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31
- **Spiegel CA, Amsel R, Eschenbach D, Schoenknecht F, Holmes KK. 1980** « Anaerobic bacteria in nonspecific vicinitis », N Engl J Med, vol. 303, , p. 601–7.

- **Stahl-Biskup E., Sàez F, 2002**, Thyme: The genus Thymus. CRC Press, 346p
- **Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf, 2009**. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.*, 14: 2167-2180.
- **Tattevin P., 2003**, maladies infectieuses, Ellipses Edition Marketing S.A, ISBN : 2-7298-1497-3
- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A, 2005**, Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 521p
- **Thuille N., Fille M., Nagl M. (2003)** Bactericidal activity of herbal extracts. *Int .J.Hug .Environ. Health.* 206: 217-221.
- **Tortora et Derrickson. B,** Principe d'anatomie et de physiologie en paris 2006 by Biological Sciences Texbooks p.1169-1176
- **Valero M, Salmerón MC (2003)** Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus creus* in tyndallized cravot broth. *Inter J Food Microbiol* 85: 73–81
- **Wilson R, 2002**, Aromatherapy: Essential oils for vibrant health and beauty. Penguin edition , 340p
- **Yakhlef G , S. Laroui1 , L. Hambaba1 , M.-C. Aberkane2 , A. Ayachi 2011** ,Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle
- **Zrihi, G.N., A.K.M. Kra and D.T. Etien, 2007**. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, 20: 9-17.

Les milieux de culture❖ **Muller Hinton agar**

Infusion de viande de bœuf déshydraté.....	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs.....	5g
Agar Agar	13g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Bouillon nutritif**

Peptone	05g
Extrait de viande	01g
Extrait de levure.....	02g
Chlorure de Sodium.....	05g
Eau distillé.....	1000ml

❖ **Eau physiologique**

Chlorure de Sodium.....	09g
Eau distillée	950g

PH=autoclavage 120°pendent 20min

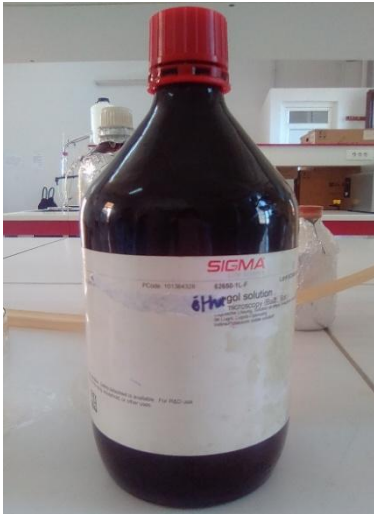
❖ **Gélose EMB (Eosine Bleu de Méthylène)**

Pour 1 litre de milieu :

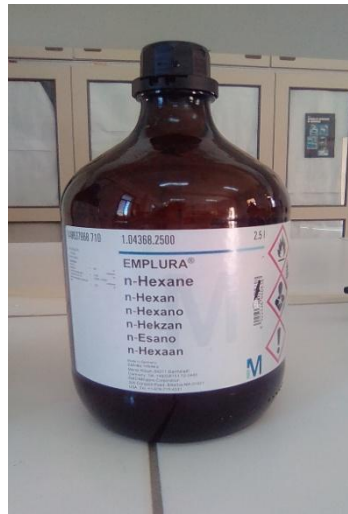
Peptone.....	10g
Lactose.....	10g
Phosphate dipotassique	0.2g
Eosine jaunâtre	0.4g
Bleu de Méthylène.....	0.065g
Arar agar	13.5g

pH du milieu pret_à_l'emploi à 25C° :7.0 ± 0.2.

Les solvants utilisés :



Ethanol



Hexane



Méthanol



Spectrophotomètre