



**République algérienne démocratique et populaire**

**Ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique**

**Université Des Frères Mentouri Constantine1**

**N° d'ordre**

**N° Série :**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département de Biologie animale**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER II**

**Option : Génétique moléculaire/option 2**

**L'activité antibactérienne des huiles  
essentielles du *Rosmarinus officinalis* et  
de *Origanum vulgare* sur la bactérie  
*E.coli***

**Présenté par :**

- TAYEB-CHERIF Yamina

- MENACER Imen

**Sous la direction de :**

Mr : GHORIBI Loutfi

**Soutenu publiquement devant le jury composé de :**

**Président : Mr MADACI Brahim**

**Examinatrice: Mme DIB Leïla Amira**

**Session 2016**

## *Remerciements*

*A travers ces humbles lignes, nous tenons en premier lieu à remercier Dieu le tout puissant, le miséricordieux, de nous avoir guidé vers la lumière. Nos vifs remerciements, vont ensuite à Mr GHORIBI Loutfi pour sa gentillesse et son sacrifice durant toute l'année, ainsi que Mr BRARHI Lhacen pour son aide précieuse, malgré les connaissances plutôt légères que nous avons.*

*Nos remerciements vont également à Mr MADACI Ibrahim le chef de département de Biologie animale, pour sa grande patience qu'il a manifesté à notre égard. Egalement tous nos professeurs qui se reconnaîtront à travers ce remerciement; sans qui, ce mémoire ne serait pas ce qu'il est.*

*Enfin, nous remercions nos parents et tous ceux qui, de prêt ou de loin ont apporté leur contribution dans ce modeste travail.*

***Dédicace :***

*Je tiens à dédier ce humble travail à mes chers parents  
pour leur soutien. Ceci m'a bien sûr facilité la tâche.*

*Egalement, ce dédicace est orienté vers tous ceux qui, de  
prés ou de loin ont contribués à ce mémoire.*

*Pendant toute la durée de mes études, tous ceux qui m'ont  
apporté aide et assistance que je viens de citer plus haut  
et à qui ce dédicace est adressé, je leur dis merci.*

***Yamina***

***Dédicace :***

*Je dédie ce modeste travail, à mes parents*

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour*

*Dont ils ne cessent de me combler,*

*Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A toute ma famille, et mes amies*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que*

*ce Mémoire soit réalisé, je leur dis merci.*

***Imen***

## Liste des tableaux

	<i>Pages</i>
❖ Tableau 1 : la représentation des contenus des tubes	<b>21</b>
❖ Tableau 2 : Diamètre d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i>	<b>26</b>

## Liste des figures

	<b>Pages</b>
❖ Figure 1 : Structure d'Escherichia coli	<b>06</b>
❖ Figure 2 : Le génome d'E.coli K12	<b>10</b>
❖ Figure 3 : Le génome de l' <i>E.coli O157:H7</i>	<b>11</b>
❖ Figure 4 : Structure de base d'un flavonoïde	<b>14</b>
❖ Figure 5 : Les principales classes de flavonoïdes	<b>15</b>
❖ Figure 6 : Photo Représente La Plante Du Romarin	<b>18</b>
❖ Figure7 : Photo représente l'origan	<b>19</b>
❖ Figure 8 : Représente le rotavapor	<b>20</b>
❖ Figure 9 : La coulée des boites de pétrie	<b>22</b>
❖ Figure 10 : Le prélèvement d'une colonie d' <i>E.coli</i>	<b>22</b>
❖ Figure 11 : L'ensemencement de la suspension d' <i>E.coli</i>	<b>23</b>
❖ Figure12 : L'élimination des chutes de la gélose à l'aide d'une anse de platine	<b>23</b>
❖ Figure13 : Le dépôt des extraits dans les trous	<b>24</b>
❖ Figure14 : L'ori 1 et 2 (ET)	<b>25</b>
❖ Figure15 : L'ori 3 et 4 (EM)	<b>25</b>
❖ Figure16 : :Le rom 1 et 2 (ET)	<b>25</b>
❖ Figure17 : Le rom 3 et 4 (EM)	<b>25</b>

## Liste d'abréviations

❖ ADN	→	Acide désoxyribonucléique
❖ ARN	→	Acide ribonucléique
❖ A/E	→	Attachement-Effacement
❖ APEC	→	Escherichia Coli Avian pathogenic
❖ C	→	Carbones
❖ DAEC	→	Escherichia Coli à adhésion diffuse
❖ E.coli	→	Escherichia Coli
❖ E. blattae	→	Escherichia blattae
❖ E.fergusonii	→	Escherichia fergusonii
❖ E.hermanii	→	Escherichia harmanii
❖ E.vulneris	→	Escherichia vulneris
❖ ExPEC	→	Escherichia coli pathogènes extra-intestinaux
❖ ETEC	→	Escherichia coli entero-toxinogènes
❖ EIEC	→	Escherichia coli entero-invasives
❖ EaggEC ou EAEC	→	Escherichia coli entero-agrégatives
❖ EPEC	→	Escherichia coli entero-pathogènes
❖ EHEC	→	Escherichia coli entero-hémorragiques
❖ ET	→	Extrait traditionnel
❖ EM	→	Extrait méthanolique
❖ Gram (-)	→	Gram négatif
❖ Gram (+)	→	Gram positif
❖ H	→	Hauch
❖ HE	→	Huile Essentielle
❖ H <sub>2</sub> S	→	Hydrogène Sulfuré
❖ IS	→	Séquence d'Insertion
❖ K	→	Kauffman
❖ Kb	→	Kilo base
❖ LEE	→	Locus d'effacement des enterocytes
❖ M-H	→	Mueller-Hinton

❖ NMEC	→	<b>Escherichia Coli Neanatal meningitis</b>
❖ O	→	<b>OhneKapsel</b>
❖ ONPG	→	<b>Ortho-nitrophyényl-β-galactoside</b>
❖ ORI	→	<b>Origan</b>
❖ PAI	→	<b>Les ilots de pathogénicité</b>
❖ ROM	→	<b>Romarin</b>
❖ STEC	→	<b>Shiga-toxines</b>
❖ UPEC	→	<b>Escherichia Coli uropathogènes</b>
❖ VP	→	<b>Vosges-Proskauer</b>

# La table des matières

	Pages
<b>Introduction</b>	<b>03</b>
<b>Première partie : Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Présentation de l'Escherichia Coli</b>	
<b>I.1. Généralités sur les Entérobactéries</b>	<b>04</b>
<b>I-2. Caractères généraux de la bactérie <i>Escherichia</i></b>	<b>04</b>
<b>I.2.1. Description de l'<i>Escherichia coli</i></b>	<b>04</b>
<b>I.2.2. Morphologie de l'<i>E. coli</i></b>	<b>05</b>
<b>I.2.2.1. Structure extracellulaire de l'<i>E.coli</i></b>	<b>05</b>
<b>I.2.2.2. Structure intracellulaire de l'<i>E.coli</i></b>	<b>05</b>
<b>I.2.3. Caractères bactériologiques</b>	<b>06</b>
<b>I.2.3.1. Caractères culturaux</b>	<b>06</b>
<b>I.2.3.2. Caractères biochimiques</b>	<b>07</b>
<b>I.2.4. Subdivisions de l'espèce <i>E. coli</i></b>	<b>07</b>
<b>I.2.4.1. Le biotype</b>	<b>07</b>
<b>I.2.4.2. Le sérotype</b>	<b>07</b>
<b>I.2.4.3. Le lysotype</b>	<b>07</b>
<b>I.2.5. Les souches pathogènes de l'<i>E. Coli</i></b>	<b>08</b>
<b>I.2.5.1. Les <i>E. coli</i> pathogènes extra-intestinaux (ExPEC)</b>	<b>08</b>
<b>I.2.5.2. Les <i>E. coli</i> pathogènes intestinaux</b>	<b>08</b>
<b>I.2.6. Génome de l'<i>E.coli</i></b>	<b>09</b>
<b>I.2.6.1. Comparaison entre le génome de l'<i>E.coli</i> O157 :H7                 et <i>E.coli</i> K12</b>	<b>10</b>
<b>I.2.7. Supports génétiques des facteurs de virulences         (les éléments génétiques mobiles)</b>	<b>11</b>
<b>I.2.7.1. Les plasmides</b>	<b>11</b>
<b>I.2.7.2. Les prophages</b>	<b>11</b>
<b>I.2.7.3. Les transposons</b>	<b>12</b>

I.2.8. Les inhibiteurs de l' <i>E.coli</i>	12
I.2.8.1. L'ADN gyrase	12

## **Chapitre II : L'activité antibactérienne des huiles essentielles et des flavonoïdes**

III.1. Le matériel végétal	18
III.1.1. Le <i>Rosmarinus officinalis</i> (le romarin/اكليل الجبل)	18
III.1.1.1. Description de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
III.1.1.2. La systématique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
III.1.2. <i>Origanum vulgare</i> (origan/زعرتر)	19
III.1.2.1. Description de l'espèce <i>Origanum vulgare</i>	19
III.1.2.2. La systématique de l'espèce <i>Origanum vulgare</i>	19
III.2. Le matériel bactériologique et milieu	19
III.3. Méthode	20
III.3.1. Test de sensibilité	20
III.3.2. Les techniques d'extraction	20
III.3.2.1. Extraction traditionnelle (ET)	20
III.3.2.2. Extraction méthanolique (EM)	20
III.3.3. La préparation des souches	21
III.3.3.1. Lecture et analyse	24
III.4. Résultats et discussions	25
III.4.1. Résultats après une incubation de 24h	25
III.4.2. La discussion	26
III. 5. Conclusion	27

## INTRODUCTION

Les maladies infectieuses causées par les bactéries, les moisissures et d'autres organismes parasites affectent quelques 582 millions de personnes à travers le monde et entraînent des milliers de décès. Les agents pathogènes responsables de la plupart d'entre eux sont: *les norovirus* (35.000 décès), *Salmonella Typhi* (52.000 décès) et *Escherichia coli* (37.000 décès) (Anonyme 1).

*Escherichia coli* abrégé *E. coli* est un microorganisme modèle largement utilisé pour les recherches en génétique, biologie moléculaire et biotechnologie. Il est subdivisé en de nombreuses souches dont la majorité sont commensales et ne présentent aucun danger pour l'humain, mais quelques-unes sont pathogènes car porteuses de gènes leur permettant de provoquer certaines pathologies. Les *E. coli* qui sont résistantes à certains antibiotiques, peuvent être parfois inhibées par des composés extraits de plantes en raison de leurs propriétés biologiques. Parmi ces molécules bioactives, les flavonoïdes et les terpènes des huiles essentielles ont été particulièrement étudiés en raison de leurs effets bénéfiques en tant qu'antibactériens. En effet, plusieurs équipes de chercheurs ont démontré que certains flavonoïdes et extraits de plantes présentent une activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli*.

(Cushine T.T.P. & Lamb A.J. 2005), (Martini A. 2004) et (Ergun F. 2008).

L'objectif de notre travail consiste à réaliser une étude sur l'inhibition d'*Escherichia coli* par des composés naturels *in vitro*. De ce fait, dans ce volet seront testés les solutions d'huiles essentielles distillées à la manière traditionnelle (ET) et les extraits méthanoliques (EM) de deux plantes (origan, romarin) récoltées dans la région de Tidis (Constantine, Algérie), afin d'évaluer leur activité antibactérienne. Ce travail comporte trois chapitres répartis en deux parties :

### **Première partie** : étude bibliographique

- Le premier chapitre est consacré à une présentation d'*Escherichia coli*, ses souches types et ses inhibiteurs.
- Le second chapitre porte sur la description des flavonoïdes, des huiles essentielles (HE) et leur activité antibactérienne.

### **Deuxième partie** : Expérimentation

- Dans ce troisième chapitre qui porte sur l'inhibition *in vitro* de *E.coli*, sont exposés le matériel et les étapes employés dans les différentes manipulations ainsi que les résultats obtenus à partir des tests de sensibilité effectués sur *E.coli* avec les divers extraits de l'origan et du romarin, en utilisant la méthode des puits.

# Chapitre I: Présentation de *l'Escherichia coli*

## I.1. Généralités sur les Entérobactéries

Etymologiquement, le terme *Entérobacteriaceae* vient de deux mots grecs : *enatron* « intestin » et *bactérion* « petit bâton ». Il signifie bacilles intestinaux. Les entérobactéries sont des bactéries très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont généralement des hôtes commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux.

Ils peuvent cependant devenir pathogènes et sont alors responsables d'infections humaines parfois graves, telle que la fièvre typhoïde par exemple. Les espèces les plus communément étudiées en bactériologie clinique appartiennent aux genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

(Ben Abdalah H. 2008). La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- Bacilles à Gram négatif (-) (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large).
- Mobiles avec ciliature péritriche.
- Poussant sur milieux de cultures ordinaires.
- Aérobie-anaérobie facultatif.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réduisant les nitrates en nitrites.
- Dépourvu d'oxydase.
- Possédant une catalase. (Jaureguy F. 2009).

## I.2. Caractères généraux de la bactérie *Escherichia*

Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques spécifiques, permettant de les différencier. (Mainil J. 2003).

### I.2.1. Description de *l'Escherichia coli*

*Escherichia Coli* abrégé *E. Coli* a été dénommée par le médecin allemand *Theodor Escherich* (1857-1911). En 1885, il publia ses travaux sur un court bâtonnet à Gram (-) aux extrémités arrondies, présent dans les matières fécales et l'intestin d'enfant et qui vivent normalement dans l'intestin des humains et des animaux (organisme commensal). Cette espèce bactérienne

fut baptisée *Bacillus* (ou *bactérium*) *coli* commune, puis renommée en 1958 officiellement *Escherichia coli*.

Certaines souches d'*Escherichia coli* sont susceptibles de provoquer des maladies lorsque le système immunitaire est défaillant, il y a une maladie pouvant résulter de l'exposition environnementale (Sojkaw J. 1965). Sa classification est :

- **Règne** : *Procaryotae*
- **Domain**: *Bacteria*
- **Phylum**: *Proteobacteria*
- **Class**: *Gammaproteobacteria*
- **Ordre** : *Enterobacteriales*
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*
- **Genre** : *Escherichia*
- **Espèce** : *Escherichia coli*. (Anonyme 2).

### **I.2.2. Morphologie de l'*E. coli***

*E. coli* est un bacille de forme cylindrique (bâtonnets) ou coccobacillaire, uniformément coloré, non sporulé, de 2 µm à 3 µm de long sur 0.7 µm de large. Il se présente soit seul ou groupé le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement ils sont rencontrés en amas. Ils sont mobiles grâce à une ciliature péri-triche.

Les bactéries contiennent une grande concentration de solutés dissous. Ceci cause une pression considérable, près de deux atmosphères chez *E. coli*, ce qui correspond à la pression des pneus d'une automobile. Pour contenir cette pression, la bactérie possède une paroi de peptidoglycanes. (Madigan M. 2007).

#### **I.2.2.1. Structure extracellulaire de l'*E.coli***

Elle se compose de **flagelles**, fins filaments, qui lui permettent de se déplacer et de **pilis**, petits « poils » fins qui couvrent la bactérie. Ces derniers ne jouent aucun rôle dans la locomotion, mais interviennent dans les processus d'adhésion ou dans le phénomène de conjugaison (reproduction sexuée). (Bousseboua. H. 2005).

#### **I.2.2.2. Structure intracellulaire de l'*E.coli***

Elle est constituée des éléments suivants (Bousseboua. H. 2005):

- **La paroi cellulaire :** elle a environ 2 nm d'épaisseur et ne contient qu'une ou deux couches de peptidoglycane Elle est située immédiatement à l'extérieur de la membrane cytoplasmique.
- **La membrane cytoplasmique :** c'est elle qui entoure le cytoplasme, elle agit comme un filtre sélectif qui laisse passer les nutriments, la lumière, la chaleur, etc.
- **Le cytoplasme :** Il est composé d'un gel aqueux appelé cytosol, dans lequel se trouvent les molécules de réserve (protéines, glucides, lipides), le matériel génétique et les autres composants cellulaires qui flottent librement à l'intérieur. Son pH est compris entre 7 et 7.2.
- **Le chromosome bactérien :** L'*E. coli* contient un chromosome bactérien qui est le support de l'hérédité. Il est composé d'ADN (80%) associé à de l'ARN et à des protéines.

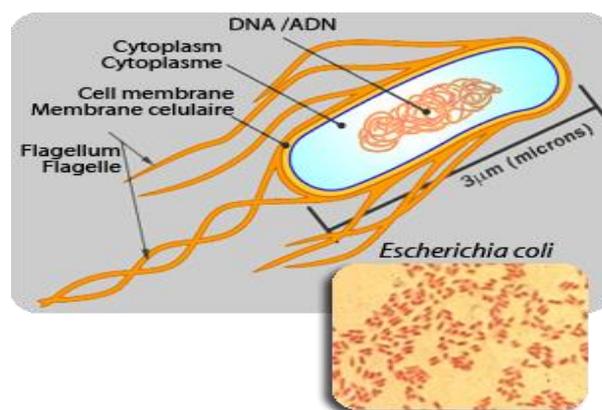


Figure 1 : Structure d'*Escherichia coli* (Anonyme 3).

### I.2.3. Caractères bactériologiques

#### I.2.3.1. Caractères cultureux

*E. Coli* pousse sur milieu ordinaire à une température optimale de 37°C. Incubées 24 heures sur gélose agar à 37°C, les colonies sont convexes, lisses et incolores. Elles ont en général un diamètre compris entre 1 et 3 mm avec une structure granulaire et une marge intacte. La surface est brillante et la consistance gluante (Anonyme 4).

### **I.2.3.2. Caractères biochimiques**

*E. coli* est réagit aux rouge de méthyle (+), lactose (+), ONPG (+) est un composé chimique qui est le « Ortho-nitrophényle-B-galactoside », mannitol(+) et Indole (+++) et elle ne réagit pas aux uréase (-), acétone (-), citrate (-) et H<sub>2</sub>S(-), désaminase(-) et VP « Vosges-Proskauer » (Anonyme 5).

### **I.2.4. Subdivisions de l'espèce *E. coli***

Les microbiologistes identifient les souches grâce aux antigènes de surface de l'*E. coli* (structures biochimiques complexes) qui sont facilement reconnaissables par des anticorps spécifiques (Diallo. A.A. (2013)). L'espèce *E. coli* est constituée d'une multitude de souches de différents paramètres parmi lesquels :

**I.2.4.1. Le biotype** : est le profil biochimique des souches. A côté des caractères d'espèces, les souches d'*E. coli* varient, en effet, par différents autres caractères biochimiques (Bergan T. 1984), (Brenner D. 1984) et (Bettelheim K. 1994).

**I.2.4.2. Le sérotype** : est défini par la combinaison de certains antigènes de surface que l'on peut mettre en évidence :

- ✓ Les antigènes somatiques O (de l'Allemand "**OhneKapsel**") de nature lipopolysaccharidique (LPS).
- ✓ Les antigènes capsulaires K (ou antigènes de Kauffmann) de nature polysaccharidique.
- ✓ Les antigènes flagellaire (ciliaires) H (de l'Allemand "**Hauch**") de nature protéique.

Les bases du schéma d'identification par sérotypie ont été définies par Kauffmann (Orskov F. 1984), (Lior H. 1994) et (Kaeckenbeeck A. 1993).

**I.2.4.3. Le lysotype** : est le spectre de sensibilité d'une souche à une collection de bactériophages. Cependant, contrairement au sérotypage, il n'existe pas de collection internationale de référence de bactériophages à utiliser. (Lior H. 1994).

Aussi, la lysotypie est-elle relativement peu appliquée, sauf pour certaines souches particulièrement importantes en pathologie.

Actuellement, environ 180 groupes O, 80 groupes K et 70 groupes H ont été reconnus. L'espèce *E. coli* peut être subdivisée en sérotype par la combinaison des deux antigènes somatique O et flagellaire H (ex : O157: H7 ou O111: H8), ou sérogroupes si l'antigène somatique O seul a été déterminé (ex : O157, O111). Les souches d'*E. coli* sont si nombreuses

qu'il est difficile de connaître exactement leur nombre. Il est probable que des milliers de souches de *E.coli* aient été identifiées à ce jour. (Orskov F. 1992).

### **I.2.5. Les souches pathogènes de l'*E. Coli***

Dès la fin du 19e siècle, il est apparu qu'*E.coli* est associée à diverses pathologies. Cette observation était très perturbante à une époque où l'on pensait qu'une espèce bactérienne était soit pathogène, soit commensale. La grande majorité des souches sont dites commensales ou non-pathogènes comme *E. coli* K12. Malheureusement, certaines souches *E. coli* peuvent être responsables d'infections plus ou moins graves (on parle de souches pathogènes), *E. coli* peut devenir pathogène acquiert des facteurs de virulence particuliers. (Lior H. 1994), (Anonyme 6), (Cooke E. 1985) et (Sussman M. 1997). Les souches *E.coli* pathogènes sont responsables de divers infections intestinales ou extra-intestinales (urinaires, septicémiques, méningées, cutanées et même pulmonaires. (Kaper J.B et al ., 2004). Ces souches sont classées suivant les infections qu'elles sont capables d'entraîner. On dit qu'elles appartiennent à des pathotypes (ou pathovars) différents:

#### **I.2.5.1. Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC)**

Ces bactéries représentent un risque sanitaire plus élevé que celui des *E. coli* pathogènes intestinaux. On parle souvent de (Kaper J.B., et al ., 2004) :

- *Escherichia coli* uropathogènes (UPEC)
- *Escherichia coli* neonatal meningitis (NMEC)
- *Escherichia coli* Avian Pathogenic (APEC).

#### **I.2.5.2. Les *E. coli* pathogènes intestinaux**

Elles sont reconnues comme des agents responsables du syndrome diarrhéique d'origine alimentaire ou hydrique. Il existe six principaux pathovars dans ce groupe (Kaper J.B., et al., 2004) :

- *Escherichia coli* entéro-toxinogènes (ETEC). (Stenutz A., 2006).
- *Escherichia coli* entéro-invasives (EIEC). (Servin A. 2005).
- *Escherichia coli* à adhésion diffuse (DAEC). (Strockbine N. 1988).
- *Escherichia coli* entéro-agrégatives (EaggEC, ou EAEC). (Croxen M. 2010).
- *Escherichia coli* entéro-pathogènes (EPEC). (Campos L., 2004).
- *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC). (Riley L. 1983).

Certaines d'entre elles, les plus fréquemment rencontrées, les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC), se trouvent chez l'homme et également chez beaucoup de mammifères. (Anonyme 6).

Elles sont des agents pathogènes et zoonotiques importants en santé publique qui se retrouvent dans l'eau et parfois dans les aliments. En effet, ces bactéries sont responsables d'infections humaines graves, de diarrhées, de colite hémorragique et de syndrome urémique et hémolytique grave, parfois mortel surtout chez les jeunes enfants. Cinq sérotypes dominants d'EHEC (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 et O145:H28) ont été recensés jusqu'à présent [23, 33, 34]. Ils constituent un sous-groupe dont les souches sont productrices de shiga-toxine (STEC), toxines codées par le gène *Stx*. (Caprioli A. and Morabito S. 2005).

Le sérotype O157 : H7 est le plus fréquent et le plus virulent pour les souches EHEC (Anonyme 6), (Anonyme 7) et (Tarr P.I. and Gordon C.A. 2005).

#### **I.2.6. Génome de l'*E.coli***

Parmi les 1000 souches identifiées et caractérisées chez *E.coli*, une soixantaine ont été entièrement séquencées (on trouve entre 4300 et 5300 gènes dans un génome de *E. coli*). Dans notre travail nous nous intéressons à *E. coli* K12 et *E. coli* O157:H7. *E. coli* O157:H7 et *E. coli* K12 sont les souches types de l'espèce *E. coli*, l'une est pathogène et l'autre commensale. *E. coli* O157:H7 est identifiée comme agent responsable des maladies gastro-intestinales inhabituelles et graves infectant chaque année plus de 75.000 personnes et causant la mort. Actuellement, *E. coli* K12 est utilisée dans un grand nombre d'applications industrielles, y compris la production de composés tels que le L-aspartate ou l'insuline. Elle est le modèle d'étude en génie génétique. (Bao-Linh L.E. 2000).

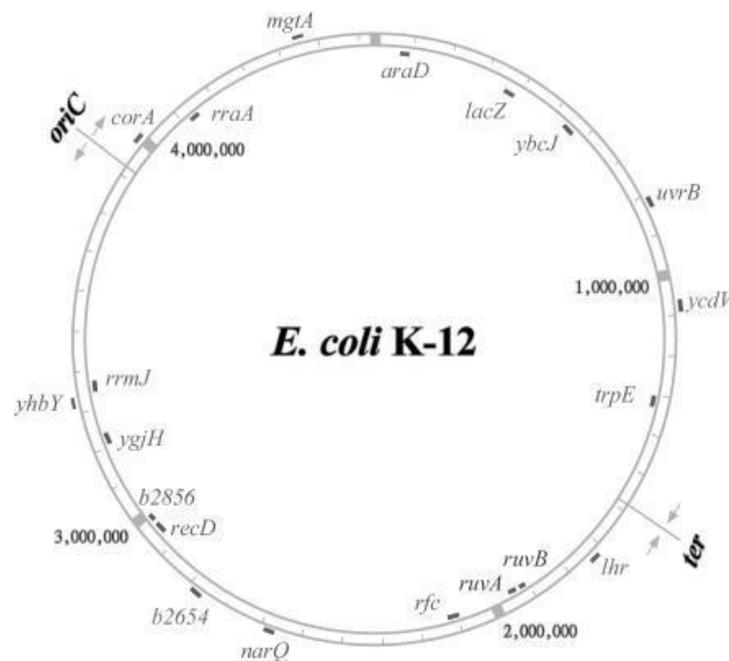
Le directeur du Génome Center de l'université du Wisconsin, Frederick R. Blattner a supervisé en 1997, le séquençage du génome de la forme commensale *E. coli* K12. Il est composé de 4,6 millions de paires de bases codant environ 4200 protéines. ([Blattner FR. 2001](#)), (Fredrik R, 1997) et (Kying Ah. L. 2010).

Le génome d'une souche *E. coli* O157:H7, avait déjà été séquencé par la même équipe, il comprend quant à lui 5,5 millions de paires de bases codant 5400 protéines ([Blattner FR. 2001](#)), (Fredrik R, 1997) et (Kying Ah. L. 2010).

Le génome de l'*E.coli* O157:H7 diffère de celui de K12 par suppression de certains gènes. Les deux bactéries ont 3.500 gènes identiques, mais *E. coli* O157:H7 possède 1.387 gènes supplémentaires. ([Blattner FR. 2001](#)). Ces deux études nous permettent de comparer facilement les deux souches.

### I.2.6.1. Comparaison entre le génome de l'*E. coli* O157:H7 et *E. coli* K12

La comparaison de souches commensales (dont le chef de file est la souche *E. coli* K12) et de souches pathogènes met en évidence des différences de taille. La taille du génome des *E. coli* pathogènes est plus grande que celle des *E. coli* commensaux (5500 kb pour les souches O157 contre 4600 pour les souches de laboratoire classique *E. coli* K12 du génome).



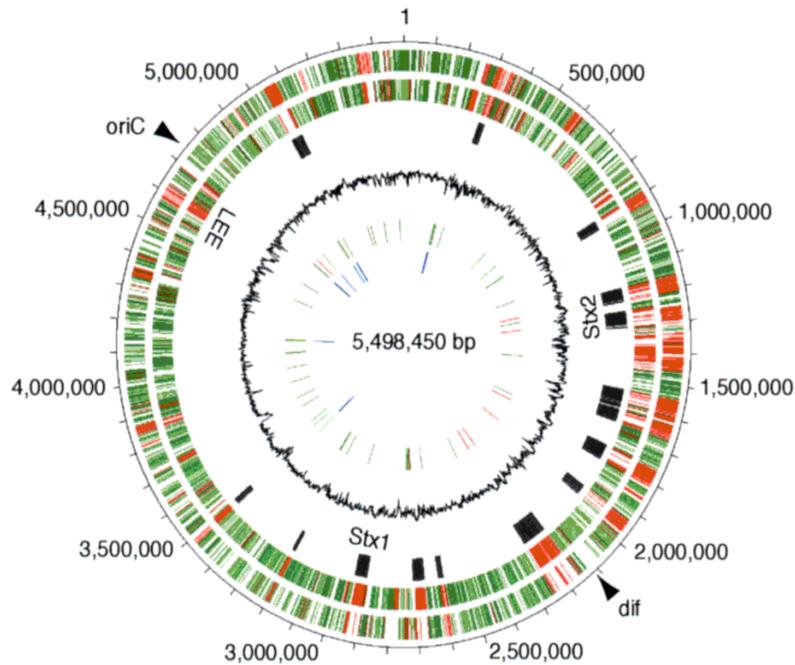
**Figure 2: Le génome d'*E. coli* K12 (Hayashi T. and Makino. K. 2001).**

Ainsi, l'évolution des différents pathovars s'est faite au gré de l'acquisition de séquences nouvelles, insérées sur le chromosome ou sur des plasmides. Ces séquences se retrouvent en majeure partie sur des PAI, conférant la virulence des pathovar. (Estelle M and Kern B. 2006).

Les deux génomes possèdent les régions *oriC* et *ter*, celles de *E. coli* O157:H7 peuvent également correspondre à des îlots de pathogénicité désignés *LEE* (locus d'effacement des entérocytes) qui induisent des lésions dites « attachement-effacement (A/E) » dans le colon (lésion caractéristiques effaçant les microvillosités des entérocytes et en s'enchantant dans la membrane cellulaire sans pénétrer dans les cellules). (Anonyme 7).

Ces lésions sont notamment provoquées par l'*intimine*, une protéine de membrane codée par le gène *eae* qui est porté par le *LEE*, est responsable de l'adhérence bactérienne intime.

L'expression de l'intimine, régulée par locus per, est influencée par la phase de croissance et par la température ambiante. (Oswald E. and Schmidt H. 2000).



**Figure 3: Le génome de l'*E.coli* O157:H7 (Anonyme 8).**

### **I. 2.7. Supports génétiques des facteurs de virulence (les éléments génétiques mobiles)**

Les éléments génétiques ainsi échangés peuvent se regrouper en 4 catégories :

**I.2.7.1. Les plasmides :** sont des éléments génétiques circulaires repliables et transférables qui peuvent porter des centaines de gènes. La plupart des systèmes de résistance aux antibiotiques sont portés par des plasmides. Les plasmides peuvent également porter de nombreux gènes de virulence (toxines, adhésines, capsules, systèmes de sécrétions...). (Snyder L., 1997). La presque totalité des EHEC O157:H7 portent un plasmide de virulence pO157 de 92 kb. (Diallo. A.A. (2013).

**I.2.7.2. Les prophages :** sont des éléments génétiques intégrés dans le chromosome bactérien, Certains d'entre eux emportent dans leur génome des gènes codant pour des facteurs de virulence bactériens (en particulier divers toxines). Ces gènes (sorte de voyageurs clandestins) sont ainsi transférés de bactérie à bactérie lors de l'infection par le phage (phénomène appelé conversion lysogénique). (Snyder L., 1997) et (Toth I. 2000).

**I.2.7.3. Les transposons** : sont constitués d'une séquence d'insertion (appelée IS) flanquant une région d'ADN plus ou moins grande (ces fragments d'ADN peuvent porter des gènes de résistance aux antibiotiques et/ou des facteurs de virulence). (Snyder L., 1997).

**Les îlots de pathogénicité (PAI)** : sont des segments d'ADN chromosomique de grande taille, portant des gènes de virulence. La virulence d'une souche peut être associée à l'acquisition d'un ou de plusieurs PAI. (Dozois C. 1999).

### **I.2.8. Les inhibiteurs de l'*E.coli***

*Escherichia coli* était initialement sensible à des huiles essentielles, à des composés organiques comme les terpènes, les alcaloïdes, les flavonoïdes et à beaucoup d'antibiotiques à toutes les bêta-lactamines, aux aminosides, aux fluoroquinolones. Cependant, certaines des souches types d'*E.coli* sont résistantes à ces antibiotiques et d'autres médicaments. Il est devenu nécessaire de parler à L'ADN gyrase, qui est essentielle à la survie de bactérie.

#### **I.2.8.1. L'ADN gyrase**

L'ADN gyrase a été d'abord découvert en 1976 par Gellert et des collaborateurs. La découverte de gyrase avait été précédée par le travail sur deux classes d'inhibiteurs de synthèse d'ADN, les quinolones (nalidixic acide, oxolinic acide et ciprofloxacine) et les coumarins (novobiocin, coumémeycin, chlo-robiocin). (Richard J. 1991).

L'ADN gyrase ou gyrase appartient à la classe d'enzymes connues comme topoisomérases qui est impliqué dans le contrôle des transitions topologiques de l'ADN. C'est une enzyme bactérienne essentielle qui catalyse super-enroulement d'un double brin fermé ADN circulaire. Elle possède la capacité unique de catalyser l'introduction de tours super-hélicoïdaux négatif. Depuis lors, cette enzyme fait l'objet de nombreuses études concernant sa structure, son mécanisme d'action, son interaction avec les agents antibactériens.

Elle assure le maintien du niveau particulier de surenroulement négatif, qui active le chromosome pour tous les processus impliquant la séparation de recombinaison et de faciliter aussi le mouvement de reproduction et transcription. (Richard J. 1991) et (Karl D. and Xilin Z. 1997).

## **Chapitre 2 : L'activité antibactérienne des huiles essentielles et des flavonoïdes**

### **II.1. Les huiles essentielles**

#### **II.1.1. Définition des huiles essentielles**

Plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle convergent sur le fait que les huiles essentielles, sont appelées aussi « essences ». Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolés des plantes par hydro distillation ou par expression mécanique. (Delarras C. 2007).

#### **II.1.2. L'activité antibactérienne des huiles essentielles**

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix. (Boyle W. 1955). De nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes. (Burt S. 2004). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. ( Kalembe D. 2003). Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire. (Burt S. 2004). Les bactéries qui sont résistantes à certains antibiotiques, peuvent être parfois inhibées par les huiles essentielles.

D'après l'équipe de *May*. (May J. 2000), l'huile essentielle d'origan et de romarin se révèlent particulièrement efficaces contre *E. coli*. Ce résultat est confirmé par Tohidpour et *al.* (Tohidpour A. 2010).

L'action antibactérienne des H.E. se déroule en trois phases (Caillet S. 2007) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'H.E, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

### **II.2. Les flavonoïdes**

### II.2.1. Définition des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires qui englobent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly-phénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, responsables de la coloration des fleurs et des fruits. (Ghestem A. 2001). On les trouve d'une manière très générale dans toutes les plantes vasculaires où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles. ( Marfak A. (2003). Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques : deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle appelé C.

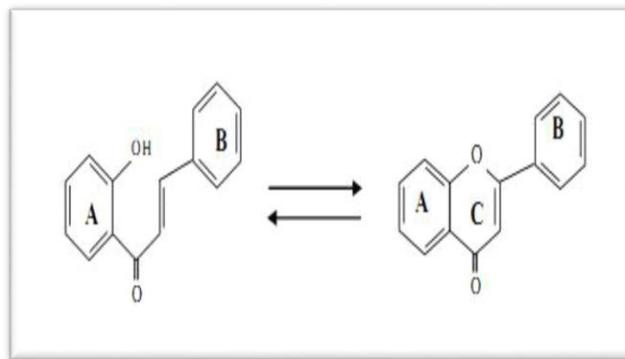
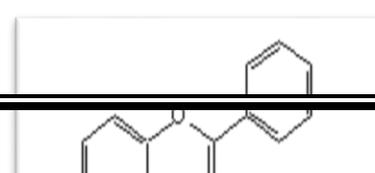
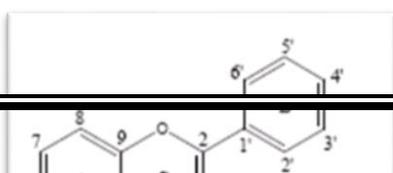


Figure 4 : Structure de base d'un flavonoïde. (Heller W G. (1993).

### II.2.2. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques : deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle appelé C. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. (Harborne J. B. 1964), dont les plus importantes sont : *les flavones*, *les flavonols*, *les flavanols*, *les isoflavones* et *les anthocyanidines* (Figure 5). (Lhuillier A. 2007).

Ces diverses substances, on les retrouve dans toutes les plantes vasculaires où elles peuvent être localisées dans divers organes : racines, tiges, feuilles et fruits. (Bruneton J. 1999).



**Figure 5 : Les principales classes de flavonoïdes. (Lhuillier A. (2007)).**

**II.2.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes. Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne. (Galvez J., Crespo J., Jimenez, J., Suarez, A., Zarzuelo, A., 1993a) et (Galvez, J., Zarzuelo, A., Crespo, J., Lorente, M.D., Acete, M.A., Jimenez, J., 1993b). Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés :

- Antioxydant (Sokol-Letowska A., Oszmianski J., Wojdylo A., 2007)
- Inhibiteurs enzymatiques (Bruneton J. 1999)
- Anti-inflammatoire (Milane H. (2004)
- Antidiabétique (Goodarzi M.T., Zal F., Malakooti M., Safari M.R., Sadeghian S. 2006) et (Ouali K., Trea F., Toumi L., Bairi A., Maurel D., Guellati M.A. 2007)
- Anti-cardiovasculaire (Formica J.V. et Regelson W. 1995)
- Anticancéreux (Jodoin J., Demeule M., Béliveau R. 2002)
- Antibactérienne (Petit P., Granier T., Langlois d'Estaintot B., Manigand C., Bathany K., Schmitter J.M. Lauvergeat V., Hamdi S., Gallois B. 2007).

#### **II.2.4. Activité antibactérienne des flavonoïdes**

Différents groupes de recherche ont isolé et identifié des structures flavonoïdes et ont mesuré et indiqué leur importance antibactérienne. En raison de la capacité répandue, les flavonoïdes inhiber la germination des spores pathogènes, on les a proposés pour l'usage contre les microbes pathogènes de l'homme (Martini A., Katerere D.R., Eloff, J.N., 2004).

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase. Ainsi que d'autres flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces. (Martini A., Katerere D.R., Eloff, J.N., 2004), Cushnie T.P., Hamilthoh V.E.S., Lamb A.J. 2003) et (Galeotti F., Barile E., Curir P., Dolci M., Lanzotti V. 2008).

Le mécanisme des effets antibactériens des flavonoïdes est sans doute très complexe mais certaines hypothèses sont avancées parmi lesquelles (Hilliard J. J., Krause H. M., Bernstein J. I., et al. 1995), (Tsuchiya et Iinuma., 2000) et (Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. 1998) :

- L'Inhibition de la synthèse d'acide nucléique.

- L'Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique.
- Séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne.
- L'Inhibition du métabolisme énergétique microbien.

## Chapitre 3 : étude in vitro

### III.1. Le matériel végétal

Plante sèches du *Rosmarinus officinalis* (romarin) et de l'*Origanum vulgare* (origan) - Extrait de romarin – extrait d'origan.

#### III.1.1. Le *Rosmarinus officinalis* (le romarin/كليل الجبل)

##### III.1.1.1. Description de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

Le genre *Rosmarinus* appartient à la famille des *Lamiacées*. L'espèce appelée romarin est un arbrisseau qui peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. (Delbano M.J. 2004).

##### III.1.1.2. La systématique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

- Règne : *Plantes*
- Embranchement : *Spermaphytes*
- Sous-embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Dicotylédones*
- Ordre : *Lamiales*
- Famille : *Lamiaceae*
- Genre : *Rosmarinu*
- Espèce : *Rosmarinus officinalis* (Anonyme 9).



Figure 6 : photo représente la plante du Romarin

### III.1.2. *Origanum vulgare* (origan/زعتر)

#### III.1.2.1. Description de l'espèce *Origanum vulgare*

C'est une herbacée vivace de la famille des Lamiacées. La plante atteint généralement une taille variant entre 30 et 80 cm. Les tiges rouges, à section carrée, sont velues avec des feuilles arrondies, vertes, légèrement dentées. Les fleurs sont roses ou pourpres, et sont regroupées en petits panicules (Anonyme 10).

#### III.1.2.2. La systématique de l'espèce *Origanum vulgare*

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Asteridae*
- Ordre : *Labiées*
- Famille : *Labiatae*
- Genre : *Origanum*
- Espèce : *Origanum vulgare* (Anonyme 11).



Figure 7: photo représente l'origan (Anonyme 12)

### III.2. Le matériel bactériologique et milieu

La souche testée est un bouillon d'E. Coli obtenu au laboratoire de microbiologie de l'Université Mentouri Constantine 1. Le milieu de culture utilisé est une Gélose M-H (Mueller-Hinton) qui est un milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes.

### III.3. Méthode

#### III.3.1. Test de sensibilité

L'inhibition de la croissance bactérienne est étudiée par la méthode des puits, technique utilisée en bactériologie médicale. Celle-ci consiste à découper des trous circulaires de 2 mm de diamètre d'une hauteur de la gélose uniformément ensemencée avec une suspension d'*E. coli*. Les extraits à étudier sont versés dans les cavités ainsi formées.

Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des puits appelées zones d'inhibitions. Le diamètre de ces derniers est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'extrait sur la souche testée. Plus il est grand, plus la souche est dite sensible. Cette activité peut s'exprimer directement en indiquant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre.

#### III.3.2. Les techniques d'extraction

##### III.3.2.1. Extraction traditionnelle (ET)

La distillation de nos plantes a été faite à l'aide d'un alambic (القطار).

##### III.3.2.2. Extraction méthanolique (EM)

Les extraits du romarin et de l'origan sont obtenus par macération du matériel végétal pulvérisé dans un mélange méthanol/eau (80/ 20). Plusieurs macérations sont nécessaires pour récupérer le maximum de composés naturels.

- Les différents extraits sont réunis et évaporés à sec à l'aide d'un rotavapor (figure 13) à 40°C.



**Figure 8 : représente le rotavapor**

Leur poids respectif est :

**Origan** = 0,1246g

**Romarin**=0,1323g

Pour la suite de notre travail, les extraits traditionnels sont pris tels quels, alors que les EM seront solubilisés dans 4 ml de DMSO. Tous les échantillons seront conservés au réfrigérateur à 4°C. Avant la réalisation des tests antibactériens, nous avons préparé des solutions à différente dilution.

Le tableau suivant (tableau1) représente les contenus des tubes

**Tableau 1** : la représentation des contenus des tubes

<b>L'origan</b>		<b>Le romarin</b>	
<b>Tubes</b>	<b>Dilutions</b>	<b>Tubes</b>	<b>Dilutions</b>
1	ET brute	1	ET brute
2	50% brute + 50% eau distillée	2	50% brute + 50% eau distillée
3	31.15 mg/ml	3	33.07 mg/ml
4	15.57 mg/ml	4	16.53 mg/ml

### III.3.3. La préparation des souches

La gélose MH est coulée dans 8 boites de pétri sur une épaisseur de 8mm. En attendant que les souches se solidifient, nous procédons à la préparation de nos 8 solutions dans des tubes secs : 4 pour l'origan et 4 pour le romarin (tableau 1).

- Le 1<sup>er</sup> tube pour les 2 plantes: extrait brute (extraction traditionnelle)
- Le 2<sup>ème</sup> tube pour les 2 plantes: extrait brute dilué à ½ d'eau distillé
- Le 3<sup>ème</sup> tube pour les 2 plantes: extrait méthanolique dissous dans 4ml de DMSO (extraction méthanolique)
- Le 4<sup>ème</sup> tube pour les 2 plantes: ½ de l'extrait 3 diluée à ½ de DMSO.

Après tous sa nous retournons a notre boites de pétri qui serve pour cultures bactériennes sur milieux gélosés.

-Numéroter la base de chaque boite de pétri avec des numérotations convenant au nombre de dilution (1-2) ou (3- 4).



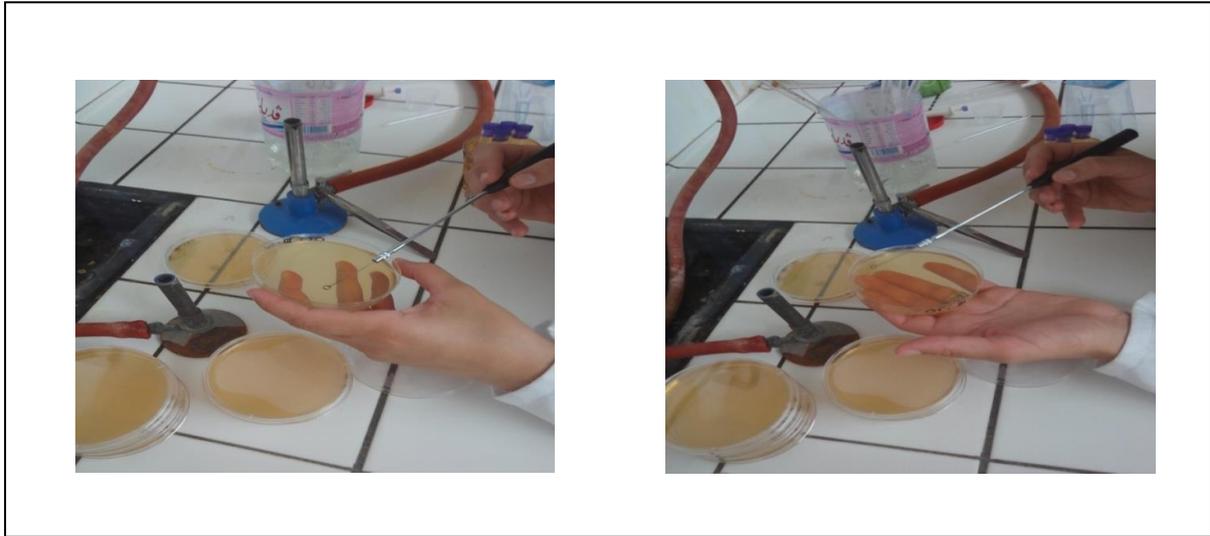
**Figure 9 : la coulée des boîtes de pétrie**

- Nous prélevons avec une anse de platine, c'est une tige et un fil rigide quelque fois en platine iridié ou en une autre matière telle nickel chrome (moins onéreux), se terminant par une boucle fermée de 2 mm ou plus de diamètre intérieur à l'aide de cette boucle nous avons prélevé une colonie d'*e.coli* dans une boîte de pétri et en déposons une goutte sur le milieu gélosé.



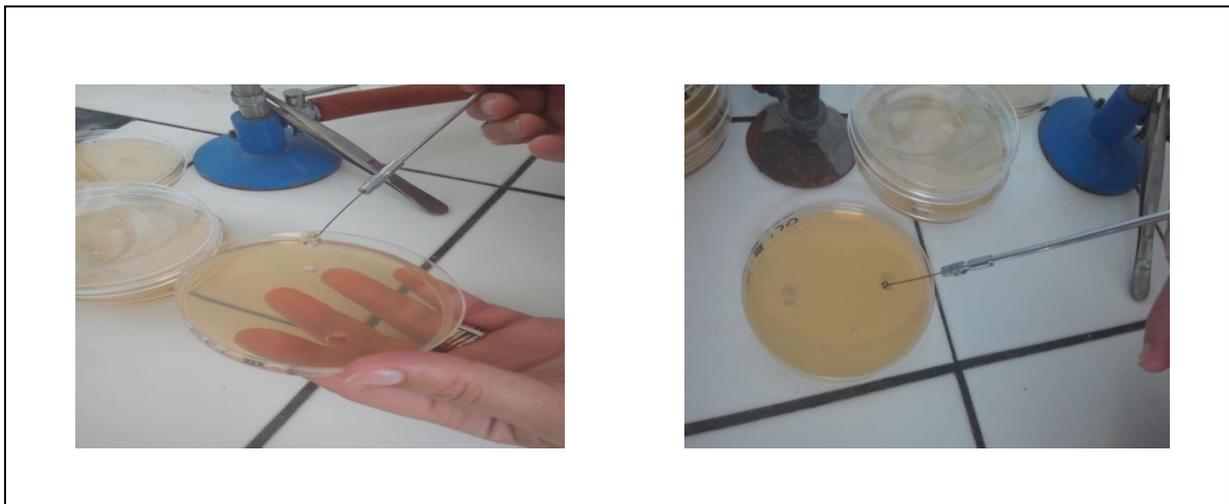
**Figure 10 : le prélèvement d'une colonie d'*E.coli***

-Nous avons étalé la goutte de la suspension *d'E.coli* uniformément sur l'ensemble de la boîte (étape d'ensemencement).



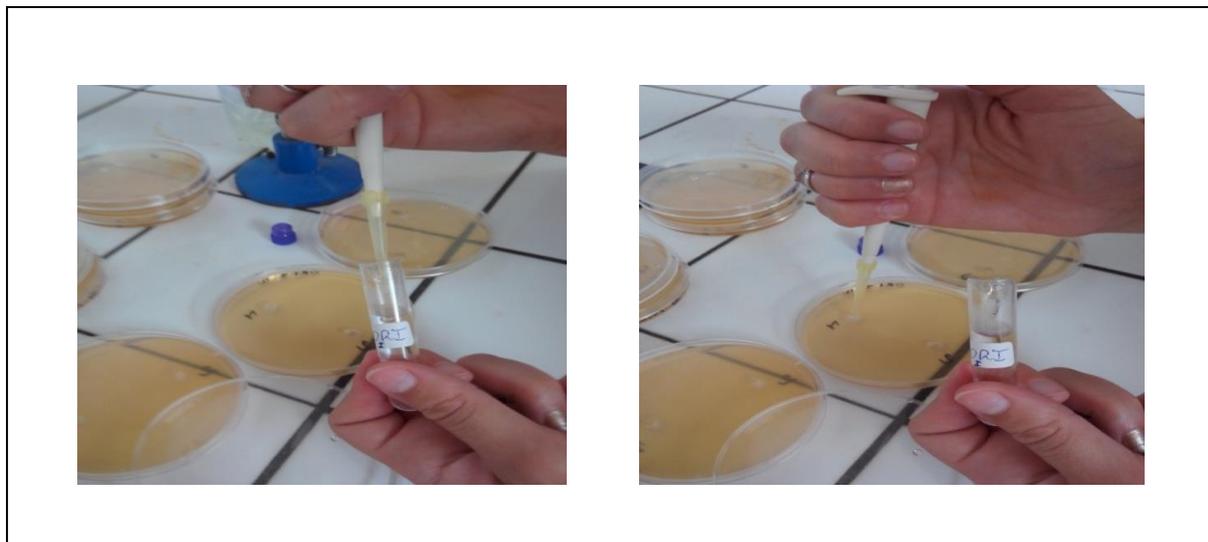
**Figure 11 : l'ensemencement de la suspension *d'E.coli***

-Nous avons pris une pipette pasteur cotonnée, boutonnée que nous avons stérilisé. Elle sert à faire des puits dans la gélose, ensuite nous avons pris l'anse de platine et nous avons enlevé les chutes de la gélose (figure 17).



**Figure 12 : L'élimination des chutes de la gélose à l'aide d'une anse de platine**

-A l'aide d'une micropipette de 50  $\mu$ L, on a déposé 150  $\mu$ l de l'extrait dans les trous (figure 18).



**Figure 13 : Le dépôt des extraits dans les trous**

Pour la fiabilité des résultats, chaque extrait est dupliqué. Les boîtes sont refermées pour éviter la contamination. Elles sont laissées pendant 45 min à température ambiante sur la paillasse, pour une pré-incubation, ensuite elles sont incubées dans une étuve à 37°C pour une durée de 24 heures.

### **III.3.3.1. Lecture et analyse**

L'activité antibactérienne, quand elle existe, se manifeste par des zones d'inhibition autour des puits, le diamètre de ces zones est proportionnel à l'intensité de l'activité antibactérienne. La lecture s'effectue par les mesures des diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne autour des puits.

### III.4. Résultats et discussions

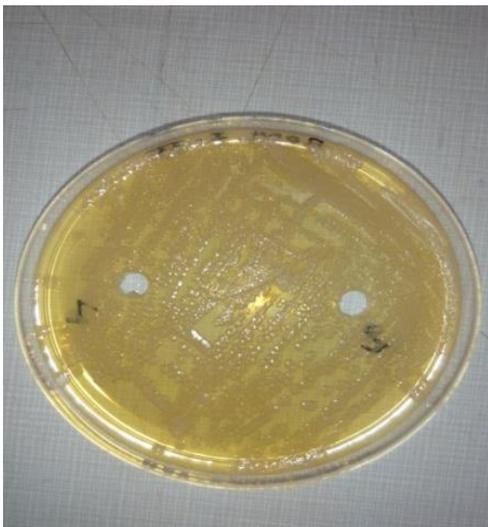
#### III.4.1. Résultats après une incubation de 24h



**Figure 14 : L'ori 1 et 2 (ET)**



**Figure 15 : L'ori 3 et 4 (EM)**



**Figure 16 : Le rom 1 et 2 (ET)**



**Figure 17 : Le rom 3 et 4 (EM)**

- Dans le tableau ci-dessous (tableau 2) représente le diamètre d'inhibition de la croissance d'E.coli.

**Tableau 2** : Diamètre d'inhibition de la croissance d'*E. coli*.

Extraits	Romarin	Origan
Extrait1 (ET)	0 mm	0 mm
Extrait 2 (ET)	0 mm	0 mm
Extrait 3 (EM)	11,43 mm	9,64 mm
Extrait 4 (EM)	10,40 mm	7,36 mm

### III.4.2. La discussion

Nous avons étudié le pouvoir antibactérien des extraits qui ont été obtenus à partir du *Rosmarinus officinalis* et d'*Origanum vulgare* par la méthode des puits sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton).

L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits qui contient ces extraits à tester vis-à-vis à *Escherichia coli*. Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent qu'*Escherichia coli* apparaît sensible vis-à-vis des extraits testés

Les résultats du test de l'activité antibactérienne sont présentés dans le tableau 2. Il apparaît que chacune des deux plantes a une activité assez bien définie sur la croissance d'*E. coli*. Les diamètres d'inhibition varient de 7,36 mm à 11,43 mm, pour les extraits méthanoliques (3 et 4) des 2 plantes. Par contre, les extraits traditionnels (1 et 2) n'ont aucun effet sur *E. coli*, ceci peut s'expliquer par le fait que L'EM contient plus de molécules. En effet, l'extraction au méthanol entraîne plus de composés appartenant à de nombreuses familles chimiques. La différence de sensibilité entre les extraits 3 et 4 est due à la concentration. En effet, l'extrait 3 est plus concentré que le 4. Pour conclure

En comparant notre travail avec les travaux de (*Baratta. M.T et al.*), qui ont testé l'effet d'huiles essentielles de romarin, de Laurier, de coriandre et d'origan contre 25 bactéries. Ils ont observé que l'huile essentielle d'origan manifestait l'activité la plus large et la plus élevée contre presque toutes les bactéries testées. En fait, elle inhibait 19 des 25 souches bactériennes étudiées et montrait une bonne activité contre quatre d'entre elles et était inefficace à stopper la croissance de deux d'entre elles. Ils ont aussi constaté que les huiles essentielles de coriandre et d'origan avaient l'activité la plus élevée contre le champignon *Aspergillus niger*. Les zones d'inhibition étaient généralement beaucoup plus grandes pour l'huile essentielle

d'origan que pour les autres huiles. Ainsi, la zone d'inhibition de l'huile d'origan contre la bactérie *salmonelle* atteignait 46,8 mm contre 7,6 à 12,6 pour les quatre autres huiles essentielles ; 29,8 contre *Yersinia versus* 6,7 à 12,3 pour les autres ; 31,1 mm contre *Citrobacter versus* 9,7 à 13 mm pour les autres. Seules, les huiles essentielles d'origan et de romarin détruisaient *Pseudomonas aeruginosa* (Baratta M.T. et al.,1998).

### **III.5. Conclusion**

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a eu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part, du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

La plupart de ces composés ont été mis en évidence dans les extraits, ce qui permet d'expliquer son importante activité aussi bien sur *E. coli*.

## Références

1. Bao-Linh L.E. (2000). Modélisation de l'instabilité plasmidique ségrégationnelle de souches recombinées. Application à *Escherichia coli*. Université Henri Poincaré - NANCY 1
2. Baratta M.T. et al., (1998). Chemical composition and antioxidative activity of laurel, sage rosemary, oregano and coriander essential oils, *J. Essent. oil Res*, 10: 618-27.
3. Ben Abdalah H. (2008). Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. *Rev Tun Infectiol*. 2(2), 5-8.
4. Bergan T. (1984). Classification of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol*. 14, 1-41.
5. Bettelheim K. (1994). Biochemical characteristics of *Escherichia coli*. In: Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International: Wallingford, 3-30.
6. [Blattner FR](#). (2001). Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. 409(6819):529-33.
7. Bousseboua. H. (2005), *Elément de microbiologie*. 2<sup>ème</sup> édition. Constantine (Algérie) : Edition Campus-Club304p.
8. Boyle W. (1955). Spices and essential oils as preservatives. *Am. Perfumer Essent. Oil Rev.*
9. Brenner D. (1984). Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family I: *Enterobacteriaceae*. In: Krieg N.R., Holt J.G. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1. Williams & Wilkins: Baltimore, 408-420.
10. Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie-phytochimie-plante-médicinales* 3<sup>ème</sup> éd. Technique et documentation Lavoisier, Paris. 310-800.
11. Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3<sup>ème</sup> édition. Paris, Editions TEC & DOC Lavoisier. 1120-1127.
12. Burt S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *Int. J. Food Microbiol*. 94: 223-253.
13. Caillet S. (2007). *Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobienne et leurs application potentiels en alimentaire*. Laboratoire de recherche en science appliqué a l'alimentation (RESALA) INRS-institut Armand-Frappier, université de Laval (Québec).

14. Campos L., (2004). Diarrheagenic *Escherichia coli* categories among the traditional enteropathogenic *E. coli* O serogroups--a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99:545-52.
15. Caprioli A. and Morabito S. (2005). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res.* 36(3):289-311.
16. Cooke E. (1985). *Escherichia coli* : an overview. *J. Hyg. Cambr.*, 95:523-530.
17. Croxen M. (2010). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat. Rev. Microbiol.*, 8:26-38.
18. Cushine T.T.P. & Lamb A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids (Review), *International Journal of Antimicrobial Agents* 26 : 343–356
19. Cushnie T.P., Hamilthoh V.E.S., Lamb A.J. (2003)- Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res*, 158 (4): 281-9.
20. Delarras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier (Editeur), 476p.
21. Delbano M.J. (2004). Flavonoid distribution the development of leaves, flower, stems and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of biosynthetic pathway. *J Agric food*, 32(16): 4987-92.
22. Diallo. A.A. (2013). *Escherichia Coli* pathogène et résistante aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale: Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse en Microbiologie., Université Toulouse 3, Paul Sabatier
23. Dozois C. (1999). CURTISS R. III. Pathogenic diversity of *Escherichia coli* and the emergence of «exotic " islands in the gene stream. *Vet. Res.*, 30, 157-180.
24. Ergun F. (2008). Antimicrobial activity of flavonoids against extended-spectrum lactamase (ESL)-producing *Klebsilla pneumonia*. *Trop. J. pharme. Res.* 7 (4), 1151-1157.
25. Estelle M and Kern B. (2006). *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme : Synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission à l'homme par la contamination de l'environnement. Thèse, Université Paul-Sabatier, Toulouse.
26. Formica J.V. et Regelson W. (1995). Review of the Biology of quercetin and related Bioflavonoids. *FdChem. Toxic*, 33, 1061-1080.

27. Fredrik R, (1997).- The Complete Genome Sequence of Escherichia Coli K12. Science 277, 1453, DOI : 10.1126/Science.277.5331.1453
28. Galeotti F., Barile E., Curir P., Dolci M., Lanzotti V. (2008). Flavonoids from carnation (*Dianthus cayophyllus*) and their antifungal activity. *Phytochemistry Letters*, 1, 44-48.
29. Galvez J., Crespo J., Jimenez, J., Suarez, A., Zarzuelo, A., (1993a). Antidiarrhoeic activity of quercetin in mice and rats. *J. Pharmacol.* 45: 157-9.
30. Galvez, J., Zarzuelo, A., Crespo, J., Lorente, M.D., Acete, M.A., Jimenez, J., (1993b). Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta Med.* 59: 333-6.
31. Ghestem A. (2001). Le préparateur en pharmacie: Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 273p.
32. Goodarzi M.T., Zal F., Malakooti M., Safari M.R., Sadeghian S. (2006). Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats. *Acta Med. Iran*, 44(1): 41-5.
33. Guinvisseau E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Life Science. Université de Cors. French. <tel-00595051>.
34. Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*. 48 : 125-129.
35. Harborne J. B. (1964). Biochemistry of phenolic compounds. Ed Academic press, London: 46- 143.
36. Hayashi T. and Makino. K. (2001). Complete Genome Sequence of Enterohemorrhagic Escherichia Coli O157:H7 and Genomic comparison with laboratory strain K12. *DNA RESEARCH* 8 : 11-22.
37. Heller W G. (1993). The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 399-425.
38. Hilliard J. J., Krause H. M., Bernstein J. I., et al. (1995). A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv. Exp. Med. Biol.* 390: 59-69.
39. Jauregui F. (2009). Déterminants cliniques et bactériens au cours des infections extra-intestinales dues à *Escherichia coli*. *Médecine/science (Paris)*. 25(3), 221-223.
40. Jodoin J., Demeule M., Béliveau R. (2002). *J Biochem. Biophys. Acta*, 1542, 149-159.

41. Kaeckenbeeck A. (1993). Le diagnostic des souches pathogènes d'*Escherichia coli* : petites et grande histoires. *Ann. Méd. Vét.* 137, 337-340.
42. Kalemba D. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr.Med. Chem.* 10: 813-829.
43. Kaper J.B., Nataro J.P. and Mobley H.L.T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*,. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2:123-140.
44. Karl D. and Xilin Z. (1997). DNA Gyrase, Topoisomerase IV, and the 4-Quinolones: Reviews. *Microbiology and molecular biology* 61(3): 377–392p.
45. Kyng Ah. L. (2010). Antimicrobiol effects of various flavonoids on *Escherichia Coli* O157 :H7 cell growth and lipopolysaccharide production. *Food.Sci.Biotechnol.* 19(1) : 257-261.
46. Lhuillier A. (2007). Contribution a l'étude pharmacologique de quatre plantes malgaches : *Agauria salcifolia hook.* F ex oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tombourissa trichiphylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse : 200 p.
47. Lior H. (1994). Classification of *Escherichia coli*. In: Gyles C.L. (Ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International : Wallingford, 31-72.
48. Madigan M. (2007). Biologie des micro-organismes. 11<sup>ème</sup> édition. Paris : Pearson Education France 1047 p.
49. Mainil J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli*. *Ann. Med. Vét.* 147, 105-126.
50. Marfak A. (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat- Université de LIMOGES.187 p.
51. Martini A. (2004). Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol.* 93(23): 207-12.
52. Martini A., Katerere D.R., Eloff, J.N., (2004). Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol.* 93 (2-3): 207-12.
53. May J. (2000). Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 45: 639-643.

54. Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur en science. Université Louis Pasteur. Strasbourg.
55. Orskov F. (1984). Serotyping of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol*, 14, 43-112.
56. Orskov F. (1992). *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can. J. Microbiol*, 38, 699-704.
57. Oswald E. and Schmidt H. (2000). Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. *Infect. Immun.*, 68:64-71.
58. Ouali K., Trea F., Toumi L., Bairi A., Maurel D., Guellati M.A. (2007). L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental. *Phytothér*, 5 (4): 204-9.
59. Petit P., Granier T., Langlois d'Estaintot B., Manigand C., Bathany K., Schmitter J.M. Lauvergeat V., Hamdi S., Gallois B. (2007). Crystal Structure of grape dihydroflavonol 4- reductase, a key enzyme in flavonoid biosynthesis. *J. Mol. Biol*, 368:1345-1357.
60. Richard J. (1991). DNA Gyrase: Structure and Function, *Critical Reviews., Biochemistry and Molecular Biology*, 26(3/4):335-375.
61. Riley L. (1983). Hemorrhagic Colitis Associated with a rare *Escherichia coli* Serotype. *N. Engl. J. Med.*, 308:681-685.
62. Servin A. (2005). Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 18:264-92.
63. Snyder L., (1997).- *Molecular Genetics of Bacteria*. Chapter 7: Bacteriophages. ASM Press: Washington D.C, 161-193.
64. Sojkaw J. (1965). *Escherichia coli* in domestic animals and poultry. Part I: General characteristics and biochemical behavior of *Escherichia coli*. Commonwealth Agricultural Bureaux: Farnham Royal, 1-63.
65. Sokol-Letowska A., Oszmianski J., Wojdylo A., (2007). Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn pine and skullcap. *Food chemistry*. 103:853-859.
66. Stentz A., (2006). The structures of *Escherichia coli* Opolysaccharide antigens. *FEMS, Microbiol. Rev.*, 30:382-403.
67. Strockbine N. (1988). Cloning and sequencing of the genes for Shiga toxin from *Shigella dysenteriae* type 1. *J. Bacteriol.*, 170:1116-22.

68. Sussman M. (1997). *Escherichia coli* and human disease. In: Sussman M. (Ed.), *Escherichia coli : mechanisms of virulence*. Cambridge University Press: Cambridge, 3- 48.
69. Tarr P.I. and Gordon C.A. (2005). Shiga-toxin producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*; 365(9464):1073-86.
70. Tohidpour A. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Phytomedicine*. 17: 142-145.
71. Toth I. (2000). Phages and their role in virulence of bacteria. In : Duffy G., Garvey P., Coia J., Wasteson Y., Mc Dowell D.A. (Eds), Verocytotoxigenic *Escherichia coli* in Europe. 3. Pathogenicity and Virulence (Proceedings). Concerted Action CT98-3935, The National Food Centre: Dublin, 1-10.
72. Tsuchiya et Iinuma., (2000).- Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine* 7:161–5.
73. Anonyme1: [www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/food-safety/fr/](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/food-safety/fr/)
74. Anonyme 2: [https://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli](https://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli).
75. Anonyme 3: [www.reflexions.ulg.ac.be](http://www.reflexions.ulg.ac.be).
76. Anonyme 4: [www.microbe-edu.org/etudiant/staph.html](http://www.microbe-edu.org/etudiant/staph.html)
77. Anonyme 5: <http://Fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Api20e.jpg>
78. Anonyme 6: Publié par Bernanose D. de publication le 17/06/2011  
See more at: <http://blog.santelog.com/2011/06/17/escherichia-coli-et-moi-emois-un-nouveau-defi-sanitaire/#sthash.Zi83mnhE.dpuf>.
79. Anonyme 7: Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Avis du 15 juillet 2008 relatif aux souches d'Escherichia coli productrices de shiga-toxines considérées comme pathogènes pour l'homme. Maisons-Alfort: Afssa ; (2008). 14 p.  
Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC2008sa0122.pdf>
80. Anonyme 8: [www.openi.nlm.nih.gov](http://www.openi.nlm.nih.gov)
81. Anonyme 9: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus>.
82. Anonyme 10: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Origanum>.
83. Anonyme 11: [https://fr.wikipedia.org/wiki/Origanum\\_vulgare](https://fr.wikipedia.org/wiki/Origanum_vulgare).
84. Anonyme 12: [www.surersmart.com](http://www.surersmart.com)

## ***Résumé***

Depuis des millénaires, l'utilisation des plantes médicinales a été une source importante d'agents thérapeutiques pour guérir les pathologies humaines.

Notre travail a porté sur des extraits des deux plantes médicinales, le romarin (*Rosmarinus officinalis*) et l'origan (*Origanum vulgare*), utilisées en thérapie et cuisine.

Nous avons complété notre étude par une évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique de notre plante contre la bactérie de l'E.coli.

L'inhibition de la croissance bactérienne est étudiée par la méthode des puits.

L'activité antibactérienne, quand elle existe, se manifeste par des zones d'inhibition autour des ces puits. Les résultats montrent une inhibition importante de l'activité de la bactérie.

Mots clés : Escherichia coli- huiles essentiels- romarin (*Rosmarinus officinalis*)- origan (*Origanum vulgare*)- Activité antibactérienne

## *Summary*

For millennia, the use of medicinal plants has been an important source of therapeutic agents for curing human pathologies.

Our work focused on extracts of the two medicinal plants, Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Oregano (*Origanum vulgare*), used in therapy and cooking.

We completed our study with an evaluation of the antibacterial power of the methanol extract of our plant against *E. coli* bacteria.

Inhibition of bacterial growth is studied by the well method. The antibacterial activity, when it exists, is manifested by zones of inhibition around these wells. The results show a significant inhibition of the activity of the bacterium

Key words: *Escherichia coli*-essential oils-rosemary (*Rosmarinus officinalis*) - oregano (*Origanum vulgare*) -Antibacterial Activity

## المخلص

منذ آلاف السنين، قد تم استخدام النباتات الطبية مصدرا رئيسيا من العوامل العلاجية لعلاج الأمراض التي تصيب الإنسان. وقد ركز عملنا على مقتطفات من اثنين من النباتات الطبية، إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) والزعرتر (*Origanum vulgare*)، والتي تستعمل محليا للعلاج والطبخ. إستكملنا دراستنا بإجراء تقييم للقوة المضادة للبكتيريا التي يتمتع بها مستخلص الميثانول من هذا النبات ضد بكتيريا إي كولاي. تدرس تثبيط نمو البكتيريا من خلال طريقة الأبار. النشاط المضاد للبكتيريا، عندما كان موجودا، و يتجلى من مناطق تثبيط حول الأبار. النتائج بينت قدرة كبيرة لتثبيط النشاط البكتيري

كلمات مفتاحية : كولاي- الزيوت الضرورية - إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*)- الزعرتر (*Origanum vulgare*) -النشاط المضاد للبكتيريا