

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت

UNIVERSITE IBN KHALDOUN – TIARET

معهد علوم البيطرة

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

قسم الصحة الحيوانية

DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire.

Présenté par : DJENDOUBI Mohammed Haytem

MOUZGHARIT Ahmed

Thème

**Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de
Thymus fontanesii vis-à-vis des souches multirésistantes
d'*Escherichia coli* d'origine aviaire**

Soutenu le 21/06/2023

Jury:

Grade

Président : Dr. HEMIDA Houari

MCA

Encadrant: Dr. BOUMEZAG Assia

MCA

Examineur: Dr. ABDELHADI Fatima Zohra

MCB

Année universitaire 2022-2023

Remerciements

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

*Nos remerciements s'adressent tout particulièrement à notre promotrice **Dr. BOUMEZRAG Assia**, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et son aide à rédiger ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également au **Dr. HEMIDA Houari** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider ce jury.*

*Nous remercions également **Dr. ABDELHADI Fatima Zohra** qui a accepté d'examiner ce travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à l'ingénieur de laboratoire de microbiologie, Mademoiselle **AIT NAMANE Karima** pour sa sympathie, son accueil et l'aide qu'elle nous a apportée durant la réalisation de ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce travail à mon modèle éternel, mon soutien moral et source de ma joie et de mon bonheur, la personne qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que Dieu te protège dans son vaste paradis, père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, ma mère que j'adore.

Je remercie tous mes frères et sœurs qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ma carrière universitaire, en particulier mon frère Hocine et ma sœur Nasrin.

A mes petits chéris youness et mouhamed

A mes amis proches qui ont partagé avec moi les journées avec leur douceur et leur amertume .

**Messouad Zaid*

**Saad Ahmed*

**Djendobi Mohammed haytem*

**Hadji Abderaouf*

**Assam Nassim Massinissa*

**Hadjali Mohamed*

**Atallah mohammed*

**Doumi Abdelmalek*

**Hemerlain Houssein*

**Meftouh Abdelkader*

Aux personnes les plus chères

**Boutaiba Farouk*

** Hadji Abderaouf*

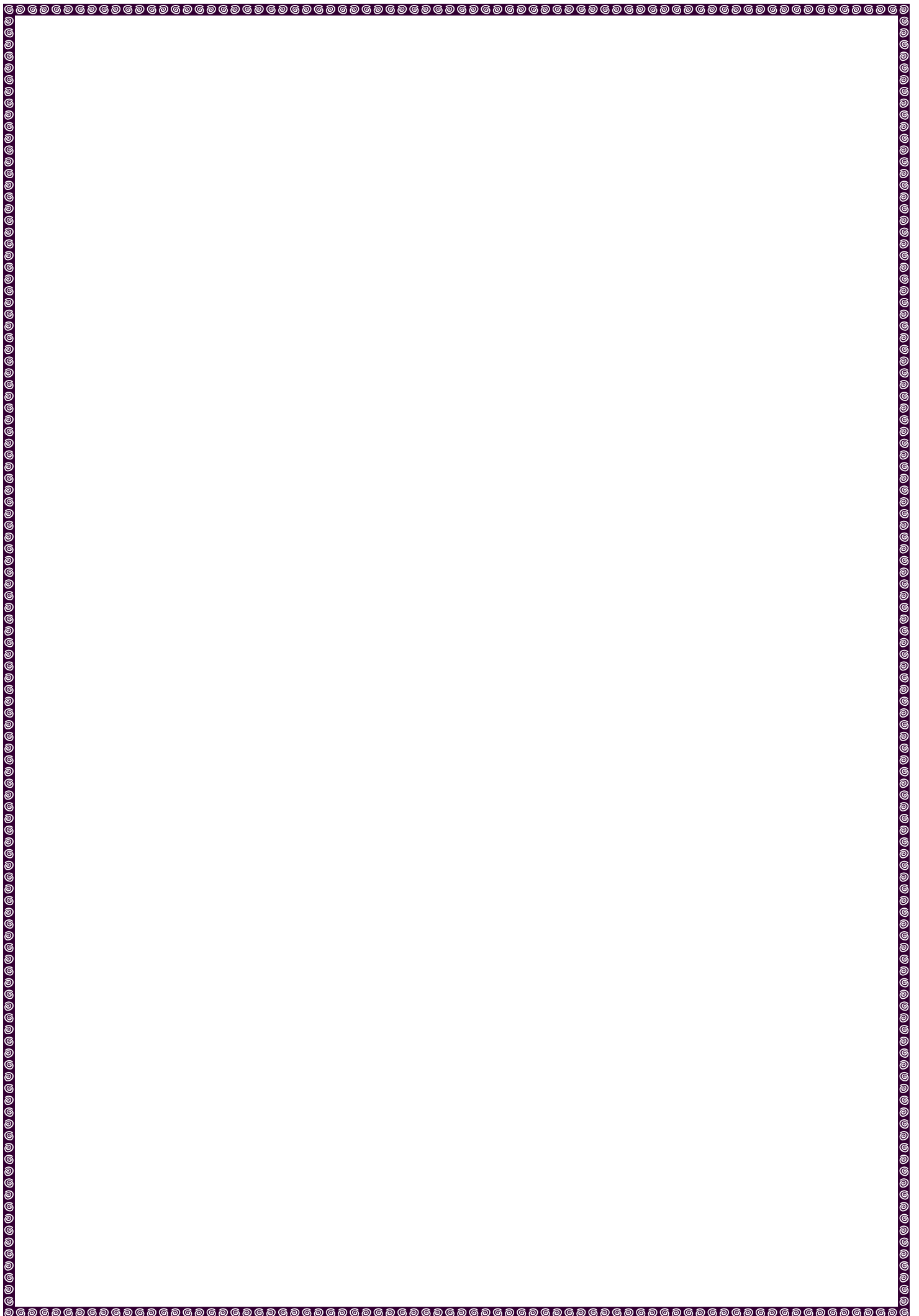
**Amrou Amine*

**Belmaira Djamel*

**Belabbase Ahmed*

** Bochir Aymen*

Ahmed mouzgharit



Dédicace

Avant tout, je tiens à remercier le bon dieu et l'unique qui m'a offert le courage et la volonté nécessaire pour affronter les différentes épreuves de la vie.

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager.

Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices et les efforts que tu n'as jamais cessé de me donner.

A mon très cher père, en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les soutiens, les sacrifices et la tendresse tout au long de mes études,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous m'avez donné pour mon éducation et ma formation.

A mon très cher frère : Adel

A mes très chères sœurs, pour leur grand amour, leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes amis : Oussama ,Ahmed , Raouf , Nassim , mouhammed , Mouad , Zaid Bibou, Hichem , Housseem, Madjid et a tous ceux qui m'ont accompagné durant cette aventure ,milles mercis.

A toute ma famille, pour leur patience et leur encouragement même de loin.

A tous ceux que j'aime, qui ont cru en moi, qui ont répondu présent à chaque fois que j'avais besoin d'eux et qui me donnent l'envie d'aller en avant.

Ainsi qu'à tous mes amis.

Djendoubi mouhammed haytem

Table des matières

TABLE DES MATIERES

| | |
|-------------------------------|----|
| Listes des abréviations | i |
| Liste des illustrations..... | ii |
| Introduction..... | 1 |

PARTIE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur l'antibiorésistance

| | |
|---|---|
| I.1. Définition | 2 |
| I.2. Mécanismes de la Résistance..... | 2 |
| I.2.1. Résistance naturelle..... | 2 |
| I.2.2. Résistance acquise | 3 |
| I.2.2. 1. Inactivation enzymatique..... | 3 |
| I.2.2.2. Diminution de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie | 3 |
| I.2.2.3. Modification de la cible de l'antibiotique..... | 4 |
| I.2.2.4. Substitution de cible | 4 |
| I. 3.Support génétique de la résistance et dissémination : cas d' <i>Escherichia coli</i> | 4 |
| I.3.1. Résistance chromosomique | 4 |
| I.3.2. Résistance plasmidique..... | 5 |
| I.3.2. 1. Transformation et transduction..... | 6 |
| I. 3.2. 1. 1. Transposons | 6 |
| I. 3.2. 1.2. Intégrons | 6 |
| I.4. Multirésistance..... | 7 |

Chapitre II : Généralités sur *Thymus fontanesii*

| | |
|--|---|
| II.1. Définition..... | 8 |
| II. 2. Taxonomie | 8 |
| II. 3. Description botanique..... | 8 |
| II. 4. Répartition géographique..... | 8 |
| II. 5. Propriétés du thym..... | 9 |
| II. 5. 1. Propriétés thérapeutiques..... | 9 |
| II. 5. 2. Propriétés industrielles..... | 9 |

| | |
|---|----|
| II. 6. Composés phénoliques du Thym..... | 10 |
| II. 6. 1. Définition..... | 10 |
| II. 6. 2. Biosynthèse des composés phénoliques..... | 10 |
| II. 6. 3. Classification..... | 10 |
| II. 6. 4. Propriétés biologiques des polyphénols..... | 11 |
| II.6.5. Activités des composés phénoliques..... | 12 |
| II. 6. 5. 1. Activités thérapeutiques..... | 12 |
| II. 6. 5. 2. Activité antimicrobienne..... | 12 |

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| III. 1. Objectif du travail..... | 13 |
| III. 2. Lieu et durée de l'étude..... | 13 |
| III. 3. Matériel | 13 |
| III. 3. 1. Matériel végétal..... | 13 |
| III. 3. 2. Matériel biologique..... | 14 |
| III.3.3. Matériel de laboratoire..... | 14 |
| III. 4. Méthodes..... | 15 |
| III.4.1. Extraction des composés phénoliques..... | 16 |
| III.4.1.1.Calcul du rendement d'extraction..... | 16 |
| III.4.2. Isolement et identification des souches..... | 16 |
| III.4.2.1. Prélèvement | 16 |
| III.4.2.2. Isolement des souches..... | 16 |
| III.4.2.3. Identification des souches..... | 17 |
| III.4.2.3.1. Examen macroscopique..... | 17 |
| III.4.2.3.2. Examen microscopique..... | 17 |
| III.4.2.3.3. Examen biochimique..... | 17 |
| III.4. 3. Evaluation de l'activité antibactérienne <i>in-vitro</i> | 18 |
| III.4. 3. 1. Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard) | 18 |
| III.4.3.2. Activité antibactérienne des extraits phénoliques des feuilles <i>Thymus fontanesii</i> | 19 |

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| IV. 1. Extraction des composés phénoliques..... | 21 |
| IV.1.1. Rendement d'extraction..... | 21 |
| IV.2. Activité antibactérienne..... | 22 |
| IV.2.1. Identification des isolats cliniques..... | 22 |
| IV.2.2. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard) | 22 |
| IV.2.3. Effet antibactérien des extraits de <i>T. fontanesii</i> | 23 |
| Conclusion | 26 |
| Références bibliographiques | 27 |

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

API: Analytical Profile Index.

ARN : Acide ribonucléique.

ARNr: Acide ribonucléique ribosomique.

BLSE : Bétalactamase à spectre étendu

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute

EEFT : Extrait éthanolique des feuilles de *Thymus fontanesii*

EMFT : Extrait méthanolique des feuilles de *Thymus fontanesii*

HE : huile essentielle

MLS : macrolides, lincosamides, streptogramines.

PBP : penicillin-binding proteins.

PBP2a : penicillin binding protein 2a.

LISTE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|-----------|
| Figure 01: différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative | 2 |
| Figure 02: Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries | 6 |
| Figure 03: Matériel végétal utilisé dans l'étude | 13 |
| Figure 04: Organigramme du protocole expérimental. | 15 |
| Figure 05: Rendement d'extraction des composés polyphénoliques des feuilles de <i>Thymus fontanes</i> pour les trois solvants | 21 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-----------|
| Tableau 01: Matériel de laboratoire et produits utilisés..... | 14 |
| Tableau 02: Antibiotiques utilisés pour tester la sensibilité des souches étudiées. | 19 |
| Tableau 03: Sensibilité des souches de <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques..... | 22 |
| Tableau 04: Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) induites par les extraits phénoliques des feuilles de <i>Thymus fontanesii</i> vis-à-vis des souches d' <i>Escherichia coli</i> multi-résistantes | 23 |

LISTE DES ANNEXES

Annexe 01: Composition des milieux de culture utilisés.

Annexe 02: Coloration de Gram.

Annexe 03 : Table de lecture de l'antibiogramme

Annexe 04. Table de Lecture de la galerie API 20E

Annexe 05: Profil biochimique d'*Escherichia coli* sur galerie API20E

Annexe 06. Effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Thymus fontanesii* sur les différentes souches d'*Escherichia coli* étudiées

Annexe 07. Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Thymus fontanesii* sur les différentes souches d'*Escherichia coli* étudiées

Introduction

Introduction

Les productions avicoles ont connu un essor spectaculaire au cours de ces dernières années en Algérie. Toutefois, l'élevage avicole moderne en s'intensifiant a augmenté considérablement le risque d'apparition des maladies d'origine bactérienne notamment la colibacillose, ce qui a conduit à l'utilisation des antibiotiques à des fins thérapeutiques et prophylactiques mais malheureusement l'usage abusif et incontrôlé de ces molécules a abouti à l'émergence de bactéries résistantes voire multi-résistantes.

Le développement de plus en plus rapide du phénomène de résistance bactérienne et les menaces de la biosécurité pour la santé humaine et animale ainsi que l'accumulation de résidus d'antibiotiques dans les produits d'origine animale et dans l'environnement limitent fortement l'usage des antibiotiques dans le secteur d'élevage intensif, ce qui aura sans doute un impact négatif sur la rentabilité des élevages.

La recherche d'alternatives à l'emploi des antibiotiques s'avère aujourd'hui incontournable. Ainsi, une attention particulière est désormais attribuée aux extraits de plantes en raison de leur richesse en molécules bioactives comme les composés phénoliques et les huiles essentielles.

Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles comme les plantes médicinales et aromatiques apparaissent comme des plus prometteuses.

Parmi les plantes aromatiques caractéristiques de la flore méditerranéenne, le thym a été utilisé depuis des siècles en médecine traditionnelle pour ses propriétés immunostimulantes et antimicrobiennes. Ainsi, l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques espèces de thym a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche mais les données relatives aux effets antimicrobiens des extraits du thym sont peu nombreuses.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques d'une espèce de thym très répandu dans la région de Tiaret.

Ce manuscrit est structuré en deux parties :

1. Une étude bibliographique qui présente un premier chapitre sur la résistance aux antibiotiques et un deuxième chapitre sur *Thymus fontanesii*.
2. Une étude expérimentale portant sur l'évaluation de l'effet antibactérien des extraits de *Thymus fontanesii* sur des souches d'*Escherichia coli* multirésistantes isolées chez des poulets de chair atteints de colibacillose.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Généralités sur l'antibiorésistance

I.1. Définition

L'antibiorésistance est définie comme la capacité des microorganismes, en particulier des bactéries, de survivre et de se multiplier en présence d'antibiotiques qui, normalement, devraient les tuer ou inhiber leur croissance (**Laxminarayan et al., 2013**).

I.2. Mécanismes de la Résistance

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise (**Djebra et Djellali, 2021**).

La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique (**Fig. 01**)

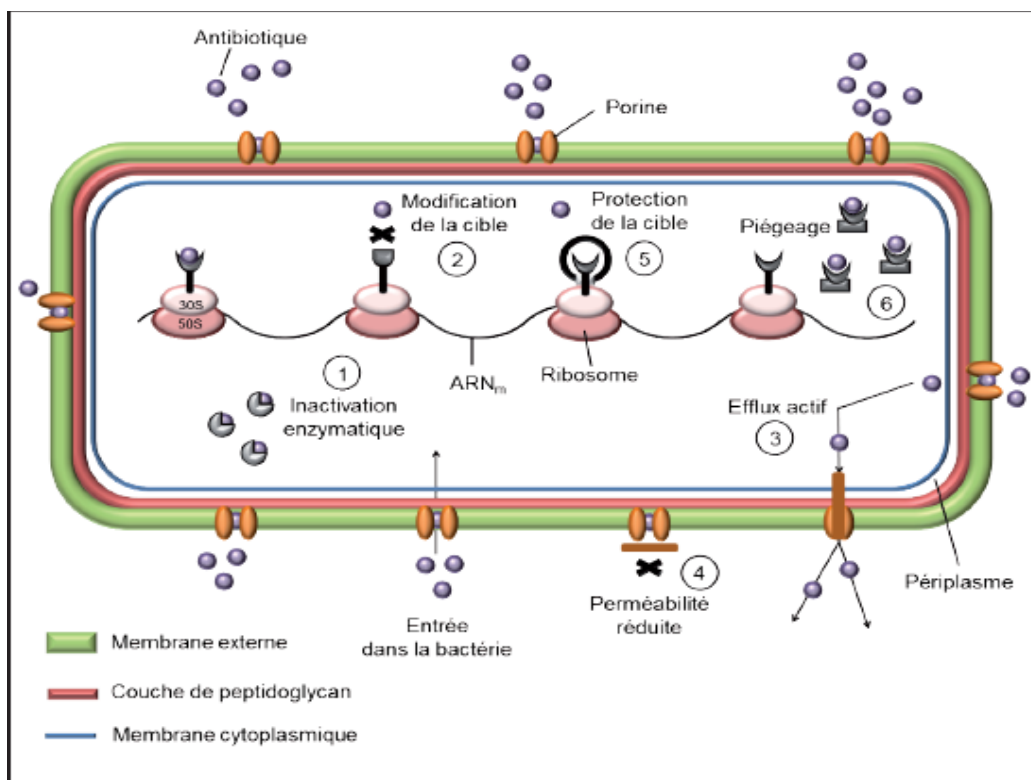


Figure 01. Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative (adapté de **Guardabassi et Courvalin, 2006**)

I.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les

rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides (**Djebra et Djellali, 2021**).

Elle peut être aussi due à des particularités métaboliques spécifiques. La résistance naturelle peut enfin être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique. Dans tous les cas, la résistance naturelle fait partie des caractères normaux de l'espèce; elle détermine le niveau de sensibilité « basal » des bactéries et définit le phénotype sauvage d'une espèce. C'est la résistance de classe. Elle est constitutive et touche toute une famille d'antibiotiques (**Djebra et Djellali, 2021**).

I.2.2. Résistance acquise

Il existe quatre mécanismes principaux de résistance acquise qui peuvent parfois être retrouvés ensemble chez les bactéries résistantes :

I.2.2. 1. Inactivation enzymatique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. Ce type de résistance est décrit aussi pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules.

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antibiotique sur sa cible et provoque une perte d'activité (**Muylaert et Mainil, 2013**).

I.2.2.2. Diminution de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie

La cible de certains antibiotiques est intracellulaire et la molécule active doit donc pénétrer dans la cellule, généralement par le biais de porines ou par des mécanismes actifs. Dans le premier cas, la concentration intracellulaire peut être abaissée par une diminution voire un arrêt total de la synthèse des porines par la bactérie comme dans le cas des résistances aux tétracyclines (**Chalus-dancla et al., 2002**).

Concernant les transferts actifs de l'antibiotique dans la bactérie, une perturbation du métabolisme microbien peut réduire ces influx. La résistance qui en résulte est faible et la croissance bactérienne se trouve diminuée (**Enriquez, 2002**).

Enfin, certaines bactéries hyperproduisent certaines protéines transmembranaires qui jouent le rôle de pompe, créant un transfert actif de l'antibiotique vers le milieu extracellulaire : c'est le mécanisme d'efflux. Ce phénomène est évoqué par exemple pour les tétracyclines ou les quinolones (**Chalus-dancla et al., 2002**).

Ces pompes ne sont pas spécifiques et peuvent transporter différentes molécules antibiotiques ou non, et même différentes molécules antibiotiques de familles différentes. Elles ont donc une importance majeure dans l'apparition de multirésistance chez certaines bactéries. Chez *E. coli*, c'est par exemple le cas d'une pompe appelée AcrAB-TolC, qui permet l'efflux de nombreuses molécules telles que le chloramphénicol, les fluoroquinolones, les bétalactamines lipophiles, l'acide nalidixique ou les tétracyclines (Piddock, 2006).

I.2.2.3. Modification de la cible de l'antibiotique

Dans certaines situations, la bactérie modifie l'affinité de ses protéines de liaison à des antibiotiques spécifiques. Par exemple, certaines souches pathogènes modifient l'affinité des protéines de liaison à la pénicilline (penicillin-binding proteins, PBP), ce qui leur permet de résister à des antibiotiques de la famille des β -lactamines (Talbaoui et Khouchlaa, 2018).

Aujourd'hui, d'autres protéines de liaison à la pénicilline ont été décrites telles que la protéine dite PBP2a (penicillin binding protein 2a) qui diminue l'affinité de l'oxacilline et autres antibiotiques de pénicilline chez *Staphylococcus aureus*. En plus de la modification enzymatique, certaines souches pathogènes mobilisent le positionnement de leurs organites pour échapper à l'action des antibiotiques. Par exemple, les ARN ribosomiques de méthylation (rRNA methylase), suite à des mutations chromosomiques, modifient l'emplacement topologique des ARNr 16S vers des positions spécifiques privilégiant ainsi ces complexes de l'action des antibiotiques de la famille des Aminoglycosides (Talbaoui et Khouchlaa, 2018).

I.2.2.4. Substitution de cible

La substitution de cible est un des mécanismes de résistance observés avec les sulfamides et le triméthoprim. Les bactéries produisent des enzymes chromosomiques sensibles et des enzymes plasmidiques résistantes. Une modification par mutation de la 19 dihydroptéroate synthétase ou de la dihydrofolate réductase confère, respectivement, une résistance aux sulfamides ou au triméthoprim (Soumaila Garba, 2012).

I. 3. Support génétique de la résistance et dissémination : cas d'*Escherichia coli*

Le génome d'*E. coli* est constitué d'un chromosome circulaire et de plasmides qui constituent les deux supports des déterminants génétiques de l'antibiorésistance.

I.3.1. Résistance chromosomique

Elle repose sur des mutations survenant au cours de la réplication du chromosome bactérien, assez fréquentes au sein d'une population d'*E. coli* dans un milieu adapté, vue la multiplication rapide de cette espèce. Bien que souvent sans intérêt sélectif voire délétère, il peut arriver qu'une telle mutation permette l'apparition d'une résistance plus ou moins forte à un antibiotique, quel qu'en soit le mécanisme (Lacroutte, 2014).

Elle peut en effet concerner directement la cible de l'antibiotique, ou toucher des mécanismes plus complexes tels que les pompes à efflux. Ce type de résistance peut concerner n'importe quelle molécule antibiotique.

Yoshida et al.(1991) ont démontré que la différence de localisation de deux mutations ponctuelles dans le gène de la gyrase entraînait une résistance variable aux différentes molécules de la famille des quinolones. En effet, un premier groupe d'*E. coli* mutants était résistant à l'ensemble des quinolones testées alors que le second n'était résistant qu'aux quinolones acides (comme l'acide nalidixique ou la fluméquine), par ailleurs hypersensibles aux quinolones amphotères (comme la norfloxacin ou la ciprofloxacine). Le niveau de résistance engendré peut être variable. Ainsi, une mutation dans un seul locus peut provoquer une résistance forte. C'est par exemple le cas de la résistance d'*E. coli* à la streptomycine.

D'autres mutations sont dites à paliers successifs où la mutation d'un seul locus n'apporte qu'une faible résistance. Seules les bactéries présentant des mutations à plusieurs loci seront hautement résistantes. Ces phénomènes étant tout de même peu courants et leur importance en bactériologie médicale reste limitée. Leur transmission se fait uniquement par voie verticale ou par division cellulaire (**Lacroute, 2014**).

Ce support de résistance n'est tout de même pas négligeable, puisqu'il engendre environ 10 à 15 % des phénomènes de résistance en général, et qu'il concerne des familles antibiotiques d'intérêt majeur en médecine vétérinaire et humaine, telles que les quinolones. Les taux de mutation sont aussi particulièrement élevés pour certains antibiotiques, comme les quinolones (**Lacroute, 2014**).

I.3.2. Résistance plasmidique

Les plasmides peuvent également porter des gènes de résistance à des antibiotiques. Le principal mécanisme repose sur la synthèse de protéines enzymatiques, conférant à la bactérie porteuse du plasmide une résistance aux antibiotiques cibles. Ce mode de résistance concerne toutes les familles d'antibiotique, à l'exception de quelques molécules pour lesquelles aucune résistance plasmidique n'a été mise en évidence à l'heure actuelle (**Enriquez, 2002**).

Ainsi les plasmides peuvent être transférés d'une bactérie à une autre par conjugaison et cette transmission horizontale est très importante puisque des souches d'espèces différentes peuvent ainsi s'échanger des gènes de résistance (**Fig.02**).

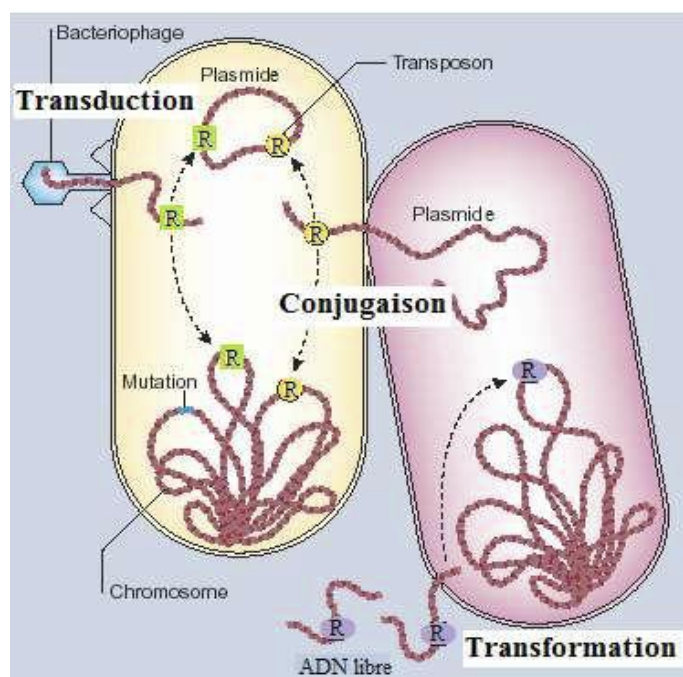


Figure 02. Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (D'après **Levy et Marshall, 2004**)

I.3.2. 1. Transformation et transduction

La transformation consiste pour une bactérie à intégrer dans son génome un fragment d'ADN obtenu dans le milieu extérieur et provenant d'une bactérie voisine qui l'a libéré pendant sa lyse (**Enriquez, 2002**).

La transduction aboutit au même résultat mais le transfert du fragment d'ADN se fait par l'intermédiaire d'un bactériophage. Ces fragments d'ADN peuvent contenir un gène de résistance, ainsi transféré à la bactérie receveuse (**Enriquez, 2002**).

I. 3.2. 1. 1. Transposons

C'est un gène mobile, appelé gène « sautant », codant pour une résistance aux antibiotiques et qui possède des séquences d'insertion et la capacité de se transférer d'un plasmide vers le chromosome, d'un chromosome vers un autre chromosome ou d'un plasmide vers un autre plasmide. Il peut véhiculer plusieurs gènes de résistance. Il ne peut pas se répliquer mais code pour des éléments de transposition. La transposition étant un phénomène qui consiste à additionner des gènes de taille définie au sein du chromosome bactérien ou du plasmide (**Soumaila Garba, 2012**).

I. 3.2. 1.2. Intégrons

Systèmes d'éléments génétiques capables d'acquérir ou de perdre des gènes. Ils sont véhiculés par un chromosome, un plasmide, ou un élément transposable et ne se répliquent pas mais constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Ces

dernières sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par un mécanisme de recombinaison spécifique de site (**Soumaila Garba, 2012**).

I.4. Multirésistance

Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multi-résistance face à une bactérie qui du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique" ou face à une bactérie sensible à moins de 3 familles d'antibiotiques.

La multi-résistance peut donc être acquise, mais aussi naturelle. Au total ; ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problème de ressource thérapeutique (**Lozniewski et al., 2010**).

Les plasmides peuvent être porteurs de plusieurs gènes de résistance, à une même famille antibiotique ou non. Ainsi, il est rare qu'une bactérie présente une résistance pour un seul antibiotique.

➤ **Cas d'*Escherichia coli* productrices de BLSE**

Le plus préoccupant à l'heure actuelle concerne probablement les souches d'*Escherichia coli* productrices de BLSE. En effet, outre la résistance aux céphalosporines de dernières générations, ces bactéries présentent souvent des résistances associées.

Ainsi dans une étude réactualisée par **Chazel (2010)**, 99 % des souches d'*E.coli* étaient résistantes aux tétracyclines, 84 % aux associations sulfamides-triméthoprim, 54 % à la gentamicine et 54 % aux fluoroquinolones. De même, les souches étant à la fois résistantes au ceftiofur et aux tétracyclines ont démontré aussi une résistance aux sulfamides-triméthoprim dans 86 % des cas (**Chazel, 2010**),

Chapitre II

Généralités sur *Thymus fontanesii*

II.1. Définition

Le mot *Thymus* a deux dérivations possibles : du mot grec *thyo* qui signifie parfumer, nettoyer ou fumer, ou du mot *thymon* pour courage. Le thym était un symbole de grâce et d'élégance pour les Grecs (Martins, 2020).

Le terme « Thym » provient du mot grec « *Thymos* : Fumée et courage» ou du latin « *Thymus* » c'est à dire « parfumé » en raison de son agréable odeur (Mebarki, 2010 ; Boukerrouche, 2018).

Le thym est une plante aromatique très répandue en Algérie et utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle en raison de ses multiples vertus biologiques (Haddouch et al., 2009),

II. 2. Taxonomie :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermaphyte
- Sous-embranchement : Maliophytes
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : *Lamiaceae*
- Sous- Famille : *Nepetoideae*
- Tribu: *Mentheae*
- Genre : *Thymus*
- Espèce : *Thymus fontanesii* (Kebbouche, 2010).

II. 3. Description botanique

Thymus fontanesii est une espèce de Thym, constituée d'une tige ligneuse portant de nombreuses feuilles colorées en vert foncé, recourbées sur les bords et sont recouvertes de poils et de glandes riches en huiles essentielles ; appelées trichomes.

Les fleurs sont réunies en grappe avec une couleur violet ou blanchâtre et parfois rose (Mebarki, 2010). Cette plante pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocailleux et dans les garrigues (Iserin, 2001).

II. 4. Répartition géographique

Thymus est l'un des genres les plus importants le plus important en termes de nombre d'espèces au sein de la famille des Lamiacées (300 à 400 espèces). Ce genre est réparti dans l'Ancien monde et sur les côtes du Groenland, de la région macaronésienne, de l'Afrique du Nord et de l'Amérique du Sud. Cependant, la zone centrale de ce genre entoure la mer Méditerranée (Ghannadi et al., 2004).

En Algérie, 12 espèces de *Thymus* ont été décrites dont huit sont endémiques et réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (**Abed et al., 2021**). *Thymus fontanesii* est une espèce qui se localise dans le Tell endémique est Algérie-Tunisie (**Touhami, 2017**).

II. 5. Propriétés du thym

II. 5. 1. Propriétés thérapeutiques

Le thym possède des propriétés spasmolytiques, qui en font un remède efficace pour les quintes de toux, les maux de gorge et la bronchite (**Martins, 2020**). Les bains de bouche au thym sont également utilisés contre les infections de la sphère buccopharyngée, les caries dentaires et affections dentaires comme la stomatite, la gingivite, les aphtes et la mauvaise haleine (<https://www.doctissimo.fr>).

En externe, le thym est appliqué dans plusieurs affections cutanées (dermatite, gale, mycoses, piqûres d'insectes et acné). Les thés de plusieurs espèces de thym sont un remède traditionnel pour les troubles gastrointestinaux et les huiles étaient autrefois pris pour expulser les parasites intestinaux (**Martins, 2020**).

Les huiles essentielles et les extraits de plantes de *Thymus* présentent une activité tonique et des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiparasitaires, anti-inflammatoires et expectorantes, antispasmodiques et carminatives.

Thymus fontanesii est une plante aromatique qui est utilisée en thérapeutique grâce à ses propriétés pharmacologiques à savoir ses effets spasmolytique, antiseptique et antitussif (**Touhami, 2017**). Cette plante est aussi utilisée comme anthelminthique et pour traiter certaines maladies gastro-intestinales et comme conservateur des aliments transformés (**Sobeh et al., 2020**).

II. 5. 2. Propriétés industrielles

Les parties aériennes et les constituants volatils des espèces de *Thymus* ont été couramment utilisés comme tisanes, condiments et épices, ainsi qu'à diverses fins médicinales (**Martins, 2020**).

En raison de ses propriétés antiseptiques et antimicrobiennes, l'huile essentielle de *Thymus* a également été utilisée à des fins de conservation notamment pour augmenter la durée de conservation des poissons pendant leur stockage (**Boukerrouche, 2018**). Par ailleurs, l'HE de thym occupe un large intérêt dans l'industrie alimentaire pour son potentiel antiseptique. Les huiles essentielles de thym sont également utilisées dans les industries des arômes et des aliments, principalement dans la fabrication de parfums et de cosmétiques, ou pour aromatiser aliments, boissons et confiseries, dentifrices, bains de bouche et médicaments contre la toux (**Martins, 2020**).

II. 6. Composés phénoliques du Thym

II. 6. 1. Définition

Les composés phénoliques sont des molécules du métabolisme secondaire spécifique du règne végétal ; ils sont caractérisés par la présence du noyau phénolique à 6 carbones portant le groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction (ester, éther...) (Bessedik et Benikhlef, 2017).

II. 6. 2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont synthétisés par deux voies :

a. Voie de l'acide shikimique

Elle conduit à la formation du précurseur immédiat des phénols par désamination de la phénylalanine. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques. Les formes actives de ces derniers avec la coenzyme A permettent d'accéder aux principales classes des composés phénoliques :

- *les acides de la série benzoïque* (acides gallique, protocatéchique...) par β -oxydation. L'acide gallique lui-même, par combinaison avec des sucres simples, conduit aux tannins hydrolysables (tannins galliques et ellagiques).

- *les esters de type chlorogénique* par estérification avec un acide alcool (acide quinique, tartrique, shikimique...).
- *les coumarines*, par cyclisation interne des molécules suivie de modifications complémentaires (glycosylation, prénylations...).
- *les lignines* par réduction, formation des monolignols puis polymérisation oxydative initiée dans la paroi cellulaire par les peroxydases et éventuellement les laccases (Djafar et Rebbouh, 2016).

b. Voie de phénylpropanoïde

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine (Djafar et Rebbouh, 2016).

II. 6. 3. Classification

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones.

Ces molécules sont généralement conjuguées à d'autres molécules (glucides, lipides et acides organiques) (Djafar et Rebbouh, 2016).

1. **Acides phénoliques** : ils sont contenus de nombreuses plantes agricoles et médicinales, ils se divisent en :
 - Acides hydroxycinnamiques
 - Acides hydroxybenzoïques (**Khelfallah, 2013**).
2. **Flavonoïdes** : ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, fruits et feuilles; ils se subdivisent en plusieurs classes :
 - Flavones et flavonals.
 - Flavonones.
 - Chalcone.
 - Isoflavones (**Touhami, 2017**).
3. **Tanins** : ce sont des composés phénoliques solubles dans l'eau avec une masse molaire entre 500 et 3000 daltons et ils sont classés en fonction de leurs structures et leurs propriétés en tanins hydrolysables et tanins condensés (**Touhami, 2017**).
4. **Coumarines** : ils sont connus pour l'utilisation dans l'industrie des cosmétiques comme additifs, dans l'industrie pharmaceutique et agrochimique (**Touhami, 2017**).
5. **Quinones** : substances brillantes et colorées (couleur rouge, jaune ou orangé), caractérisées par la présence de deux groupements carbonyles (**Touhami, 2017**).

II. 6. 4. Propriétés biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont dotés de nombreuses propriétés physiologiques leur permettant d'exercer des activités antiallergique, anti-inflammatoire, hépa-toprotective, antimicrobienne, anti-cancérigène et cardioprotective (**Djafar et Rebbouh, 2016**).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est du à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par neutralisation des radicaux libres, par piégeage de l'oxygène ou par décomposition des peroxydes (**Nijveldt et al., 2001**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent plusieurs domaines: l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, la phytothérapie et la santé (**Leong et Shui, 2002**).

- **Dans l'industrie alimentaire**, ils assurent une meilleure conservation des denrées grâce à leur activité anti-oxydante qui empêche la peroxydation lipidique.
- **Dans l'industrie cosmétique**, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau.

- **En phytothérapie**, en plus des propriétés vasculo-protectrices des flavonoïdes, chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Djafar et Rebbouh, 2016).

II.6.5. Activités des composés phénoliques

II. 6. 5. 1. Activités thérapeutiques

Les flavonoïdes empêchent les dommages oxydatifs par différents mécanismes: soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyde et peroxydes, soit par chélation du fer et du cuivre qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires, soit par l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres.

Ils jouent aussi un rôle très important dans le traitement de plusieurs maladies telles que le diabète, la goutte, des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies et de certaines infections bactériennes et virales

Les tannins sont dotés d'un pouvoir astringent, ce qui explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques.

Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont représentés principalement par les acides phénoliques, en particulier l'acide gallique qui réduisait la viabilité des cellules cancéreuses du poumon dans une étude *in vivo* menée chez la souris (EL-Kharrez et al., 2015).

II. 6. 5. 2. Activité antimicrobienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis à -vis des microorganismes dont le mécanisme peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions inactivant les andésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

L'hydrophobicité des polyphénols tels que les flavonoles est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'intercaler dans les phospholipides membranaires, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane cytoplasmique et la rend perméable.

L'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc (via la propriété de chélation des métaux) sont des mécanismes adaptés par les proanthocyanidines dans l'inhibition des bactéries (Daglia, 2011).

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III. 1. Objectif du travail

L'objectif principal de la présente étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits phénoliques des feuilles de *Thymus fontanesii* par des tests de sensibilité in-vitro vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* multi-résistantes isolées dans des cas de colibacillose aviaire.

III. 2. Lieu et durée de l'étude

Ce travail a été effectué au niveau des laboratoires de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret pendant la période s'étalant du 19 Mars au 15 Juin 2023.

III. 3. Matériel

III. 3. 1. Matériel végétal

Les feuilles de *Thymus fontanesii* ont été récoltées dans la région d'El- Guebab à Tiaret au mois de Mai 2022 (Fig.03).



Figure 03. Matériel végétal utilisé dans l'étude

L'identification botanique de *T. fontanesii* a été réalisée par un spécialiste en botanique et biodiversité au niveau du département des sciences de la nature et de la vie (Faculté SNV, Université de Tiaret).

Les feuilles ont été nettoyées, lavées à l'eau de robinet puis séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après séchage, les feuilles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique et conservées dans des bocaux en verre jusqu'au moment de l'extraction.

III. 3. 2. Matériel biologique

Au total, cinq (05) souches bactériennes ont été utilisées dans ce travail. Ce sont toutes des souches d'*Escherichia coli* isolées chez des poulets de chair atteints de colibacillose dont deux souches ont été isolées à partir du foie (*E.coli* 1 et 2) et trois souches à partir du cœur (*E.coli* 3, 4, 5).

III.3.3. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire et les produits nécessaires à la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau ci-dessous:

Tableau 01 : Matériel de laboratoire et produits utilisés

| Appareillage, verrerie et autres | Produits | Milieux de culture |
|--|------------------------|-------------------------|
| -Agitateur magnétique (VELP scientifica) | - Peroxyde d'hydrogène | - Gélose Mueller-Hinton |
| -Autoclave (DSX-280B) | - NaCl | -Gélose Hecktöen |
| -Bain marie (GFL) | - Disques d'oxydase | |
| -Balance de précision (SauterRE 2021) | - Ethanol absolu | |
| -Etuve (Memmert) | - Méthanol absolu | |
| -Four Pasteur (Heraeus) | - Violet de gentiane | |
| -Microscope optique (Optika) | - Lugol | |
| -Spectrophotomètre (Pharmacia Bieotech) | - Fuschine | |
| -Vortex (Dragon Lab) | - VP1 et VP2 | |
| -Béchers | - Nit 1 et Nit 2 | |
| -Boîtes de Pétrie, lames, tubes à essai | - Réactif de Kovac's | |
| -Pipettes pasteur et micropipettes | | |
| -Cuves spectrophotométriques | | |
| -Ecouvillons. | | |

N.B : la composition des milieux de culture est donnée dans l'**Annexe 01**

III. 4. Méthodes

La démarche expérimentale globale est illustrée dans l'organigramme ci-dessous (Fig.04) :

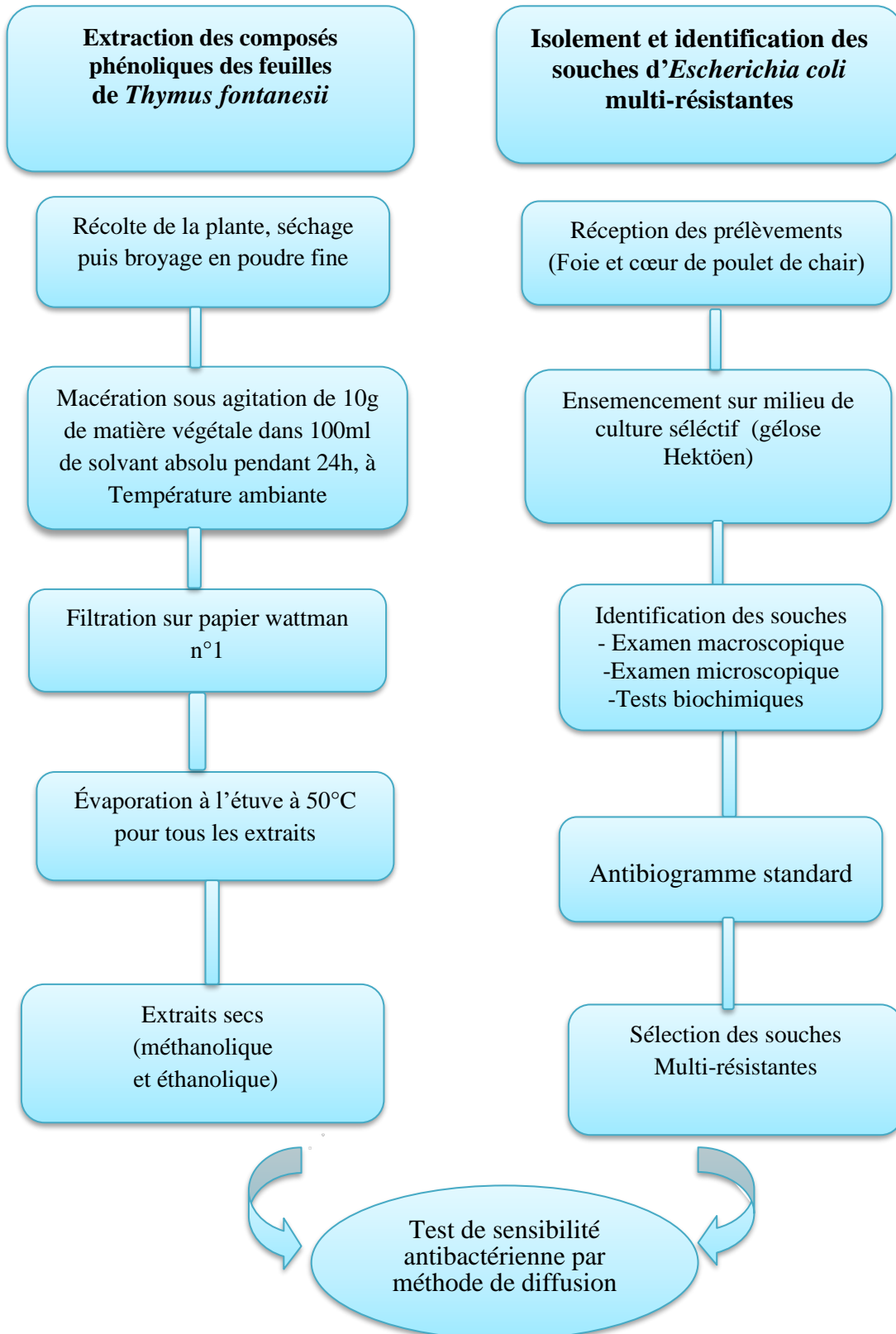


Figure 04. Organigramme du protocole expérimental.

III.4.1. Extraction des composés phénoliques

Nous avons adopté la méthode d'extraction par macération dans les solvants organiques (Brzowska et al., 1973).

➤ Principe

Le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/liquide, dissoudre le composé actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. L'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (Ben Ammar, 2008).

➤ Technique

Dix (10) grammes de la poudre végétale des feuilles de *T.fontanesii* ont été additionnées à 100 ml de solvant (méthanol pur et éthanol pur) et la même quantité de la poudre des feuilles d'*E.camaldulensis* a été macérée dans 100ml de méthanol à 70% et d'éthanol à 70%. Après une agitation continue pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité, une filtration a été faite sur papier Wattman n°1. Les filtrats ainsi obtenus ont été évaporés à sec à l'étuve pour à 50° C puis les extraits secs ainsi obtenus ont été conservés dans des flacons opaque et à température ambiante (Zerroug et al., 2011).

III.4.1.1. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage, il est calculé par la formule suivante (Zerroug et al., 2011):

$$R\% = (P_F/P_I) \times 100$$

Où :

- **R** = Rendement en pourcentage
- **P_F** = Poids de l'extrait sec
- **P_I** = Poids de la poudre mise à l'extraction

III.4.2. Isolement et identification des souches

III.4.2.1. Prélèvement

Les prélèvements d'organes (foie et cœur) ont été réalisés par un vétérinaire du secteur privé sur des cadavres de poulet de chair provenant de la région d'Ain Boucif, wilaya de Médea.

III.4.2.2. Isolement des souches

La surface de chaque organe a été stérilisée par flamabage puis un ecouvillon a été introduit en profondeur après incision de la surface stérilisée à l'aide d'une lame bistouri stérile. Un ensemencement en stries serées a été ensuite réalisé sur des boîtes de pétri

contenant le milieu hektöen. Les boîtes ont été ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

III.4.2.3. Identification des souches

III.4.2.3.1. Examen macroscopique

L'observation macroscopique des colonies bactériennes sur la gélose hektöen a été effectuée afin de déterminer leur forme, taille, aspect et couleur.

III.4.2.3.2. Examen microscopique

Un frottis bactérien a été préparé à partir de chaque souche, coloré par la coloration de Gram puis examiné au microscope afin de déterminer les caractères morphologiques des bactéries (**Annexe 02**).

III.4.2.3.3. Examen biochimique

1. Test de la catalase

➤ Principe

D'après (**Marchal et al., 1982**), la catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



➤ Technique

Une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine est émulsionnée dans une goutte d'eau oxygénée à 3% préalablement déposée sur une lame propre.

➤ Lecture

Une réaction positive se traduit par la formation immédiate de bulles de gaz, par contre l'absence de bulles indique un résultat négatif (**Marchal et al., 1982**).

2. Test de l'oxydase

➤ Principe

Ce test permet de déterminer si la bactérie possède le système enzymatique cytochrome C oxydase lui permettant d'utiliser l'oxygène libre comme accepteur final d'électrons dans sa chaîne respiratoire. La présence de cette enzyme oxyde certains composés chimiques comme l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine (**Marchal et al., 1982**).

➤ Technique

Un disque d'oxydase imprégné de l'oxalate de N-Diméthyl paraphénylène Diamine est déposé sur une lame propre puis imbibé avec une goutte d'eau. Une colonie bactérienne prélevée à l'aide de la pipette pasteur est ensuite déposée sur la surface du disque.

3. Identification par la galerie Api 20E

➤ Principe

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et d'autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. Elle comprend des tests biochimiques miniaturisés et comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les tests sont reconstitués en inoculant les microtubes avec des suspensions bactériennes et les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

➤ **Technique**

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture pure et jeune de 24h, dans l'eau physiologique stérile puis ajustée à l'échelle 0.5 McFarland et inoculée ensuite dans la galerie en remplissant les microtubes uniquement, les microtubes et les cupules pour les tests encadrés et en ajoutant l'huile de paraffine dans les cupules pour les tests soulignés. La galerie est ensuite incubée à 37°C pendant 24heures.

➤ **Lecture et identification**

Après incubation, la lecture de la galerie est faite en se référant au tableau de lecture (Annexe 03) et l'identification du profil numérique est faite à l'aide d'un logiciel **Apiweb™**.

III.4. 3. Evaluation de l'activité antibactérienne *in-vitro*

III.4. 3. 1. Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

Après revivification des souches, les isolats cliniques ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques selon la méthode préconisée par le **CLSI (2006)**.

a. Préparation et standardisation des suspensions bactériennes

Une suspension bactérienne de chaque souche à tester est préparée à partir d'une culture jeune de 18 heures : des colonies isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et placées dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.

La suspension ainsi obtenue est ajustée à l'échelle 0.5 McFarland par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible.

b. Ensemencement des boîtes

Les suspensions bactériennes obtenues sont étalées à l'aide d'écouvillons stériles à la surface de la gélose Mueller-Hinton coulée sur une épaisseur de 4 mm dans des boîtes de pétri de 90 mm.

c. Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de chaque souche à tester. Les antibiotiques utilisés pour chaque souche sont résumés dans le tableau 02.

Les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures et après incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés puis interprétés en se référant à la table de lecture de l'antibiogramme (**Annexe 04**).

Tableau 02 : Antibiotiques utilisés pour tester la sensibilité des souches étudiées.

| Classe | Antibiotique | Symbole | Concentration |
|------------------------|---------------------------------|---------|---------------|
| Aminosides | Néomycine | N | 30µg |
| Béta-lactamines | Ampicilline | AM | 10UI |
| | Amoxicilline | AX | 25µg |
| | Amoxicilline-Acide clavulanique | AMC | 30µg |
| Céphalosporines | Cefotaxime | CTX | 30µg |
| | Céphalotine | CEF | 30µg |
| Phénicoles | Chloramphénicol | CHL | 30µg |
| Polypeptides | Colistine | COL | 10µg |
| Quinolones | Acide nalidixique | NA | 30µg |
| | Enrofloxacin | ENR | 5µg |
| | Ofloxacin | OFX | 5µg |
| Sulfamides | Sulfaméthoxazole-Triméthoprim | SXT | 25µg |
| Tétracyclines | Tétracycline | TE | 30µg |

III.4.3.2. Activité antibactérienne des extraits phénoliques des feuilles *Thymus fontanesii*.

Les cinq souches cliniques testées ont montré une multirésistance vis-à-vis des antibiotiques testés et par conséquent elles ont toutes fait l'objet d'un test de sensibilité aux extraits des feuilles de *Thymus fontanesii* en utilisant la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les essais ont été réalisés en triplicate.

➤ **Technique**

Un inoculum bactérien préparé à partir d'une culture jeune puis standardisé au standard McFarland 0.5 est ensemencé par écouvillonnage à la surface de la gélose Mueller-Hinton.

Des disques en papier filtre de 6mm de diamètre ont été stérilisés puis imprégnés de 15µl de chaque extrait (éthanolique et méthanolique) et déposés ensuite à la surface des géloses préalablement ensemencées.

Pour chaque extrait, le screening antibactérien a été effectué avec quatre concentrations préparées dans l'eau physiologique stérile: **500mg/ml**, **250mg/ml**, **125mg/ml** et **62,5mg/ml**. Les boîtes sont ensuite fermées et laissées pendant 15 minutes à température ambiante pour une pré-diffusion avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h (**Adesokan et al., 2007**).

➤ **Lecture**

La lecture des résultats se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.

Chapitre IV

Résultats et Discussion

IV. 1. Extraction des composés phénoliques

IV.1.1. Rendement d'extraction

Les rendements obtenus après l'extraction des composés phénoliques totaux des feuilles de *Thymus fontanesii* en utilisant deux solvants organiques sont représentés dans la figure 05. Ils sont exprimés en pourcentage massique.

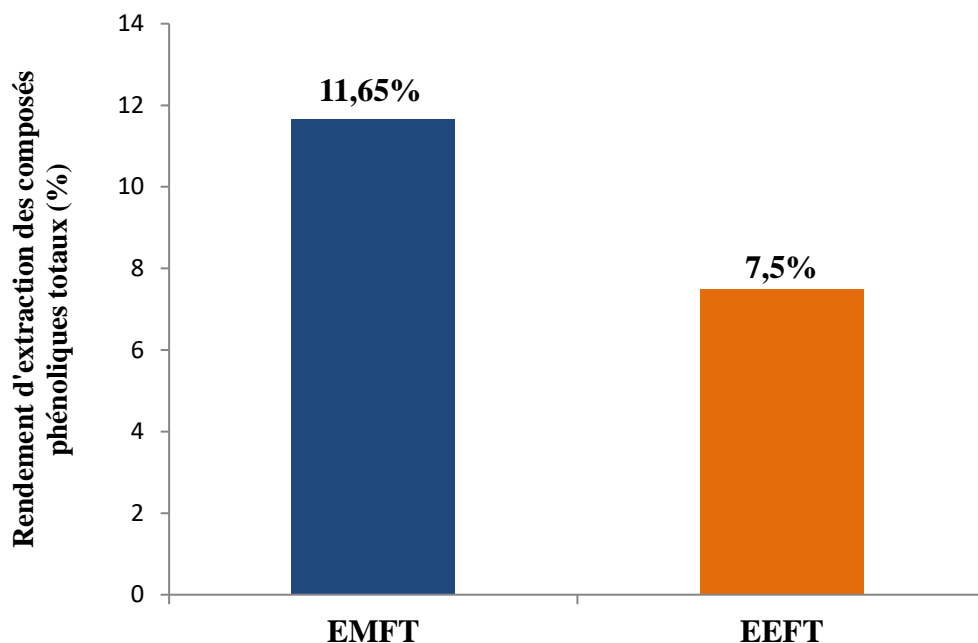


Figure 05. Rendement d'extraction des composés polyphénoliques des feuilles de *Thymus fontanes* pour les deux solvants

Le calcul des rendements en extraits secs par rapport au poids total du broyat montre que l'extrait méthanolique présente un rendement plus élevé (11,65%) que l'extrait éthanolique (7,5%).

Nos résultats corroborent ceux de **Boukerouche (2018)** qui a rapporté un rendement plus élevé pour l'extrait méthanolique de *T. fontanesii* Boiss et Reut (14.99%) mais ce rendement reste supérieur à celui que nous avons obtenu.

Dans une étude réalisée **Noui (2017)**, le rendement enregistré pour l'extrait méthanolique des feuilles de *T. fontenesii* est nettement supérieur à celui que nous avons obtenu (28.14±1.9% vs 11,65%) qui a utilisé la méthode d'extraction par soxhlet.

Le rendement que nous avons enregistré pour l'extrait éthanolique est légèrement supérieur à celui obtenu par **khoudem et al. (2020)** qui ont rapporté un rendement de 6,55% pour l'extrait éthanolique des feuilles de *T. fontanesii* récoltées dans la même région.


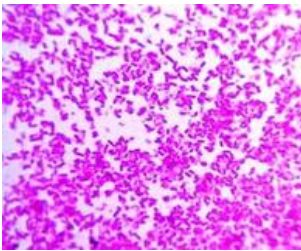

La divergence des résultats entre les différentes études peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que le type de solvant utilisé, la méthode d'extraction et les conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été réalisée (Ghasemzadeh et al., 2011).

IV.2. Activité antibactérienne

IV.2.1. Identification des isolats cliniques

L'identification bactérienne des cinq isolats cliniques a permis de mettre en évidence la présence d'*Escherichia coli*.

Tableau 05 : Tests de pré-identification des souches d'*Escherichia coli*.

| Souche | Aspect macroscopique | Aspect microscopique | Test de la catalase |
|-------------------------|---|---|--|
| <i>Escherichia coli</i> | Colonies arrondies, brillantes, jaune orangées sans centre noir sur le milieu | Coccobacilles à gram négative | Positive |
| |  |  |  |

Le résultat de l'identification biochimique des souches d' *Escherichia coli* par galerie Api 20E est illustré dans (l'annexe 05.06)

IV.2.2. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard)

Les résultats relatifs à l'étude de la sensibilité des souches d'*Escherichia coli* aux antibiotiques testés sont résumés dans le tableau 03.

Tableau 03 : Sensibilité des souches d'*Escherichia coli* aux antibiotiques.

| Classe | ATB | <i>E.coli</i> 1 | <i>E.coli</i> 2 | <i>E.coli</i> 3 | <i>E.coli</i> 4 | <i>E.coli</i> 5 |
|------------------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Aminosides | N 30 | R | S | S | S | S |
| Béta-lactamines | AMP 10 | R | R | R | R | R |
| | AX 25 | R | R | R | R | R |
| | AHC 30 | R | R | R | S | R |
| Céphalosporines | CTX 30 | S | S | S | S | S |
| | CEF 30 | R | R | R | I | R |

| | | | | | | |
|----------------------|--------|---|---|---|---|---|
| Phénicoles | CHL 30 | R | S | S | S | S |
| Polypeptides | COL 10 | R | S | S | S | S |
| Quinolones | NA 30 | R | R | R | S | R |
| | ENR 5 | R | R | R | S | R |
| | OFX 5 | R | R | R | S | R |
| Sulfamide | SXT 25 | R | R | R | R | R |
| Tétracyclines | TE 30 | R | R | R | R | R |

I : Intermédiaire. S : Sensible. R : Résistante.

Les résultats du tableau 03 montrent une multirésistance de tous les isolats cliniques d'*Escherichia coli* à des d'antibiotiques appartenant à au moins quatre classes différentes. En effet, toutes les souches étaient résistantes aux antibiotiques de la classe des Bétalactamines, sulfamides et tétracyclines. Ainsi, 80% des souches étaient résistantes aux quinolones.

IV.2.3. Effet antibactérien des extraits de *T. fontanesii*

Les données relatives à la sensibilité des souches multi-résistantes d'*Escherichia coli* aux extraits phénoliques de *T. fontanesii* sont résumées dans le tableau 04

Tableau 04 : Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) induites par les extraits phénoliques des feuilles de *Thymus fontanesii* vis-à-vis des souches d' *Escherichia coli* multi-résistantes

| | Concentration de l'EEFT (mg/ml) | | | | Concentration de l'EMFT (mg/ml) | | | |
|-----------------|---------------------------------|------------|------------|-----------|---------------------------------|-----------|------------|------|
| | 500 | 250 | 125 | 62,5 | 500 | 250 | 125 | 62,5 |
| <i>E.coli</i> 1 | 12±1,73 | 9,67±0,58 | 7,33±1,15 | 6±0 | 11,67±1,53 | 9±1,00 | 6,67±1,15 | 6±0 |
| <i>E.coli</i> 2 | 13,67±0,58 | 10,67±1,15 | 8±0,00 | 6±0 | 11,33±0,58 | 9,67±0,58 | 6,67±1,15 | 6±0 |
| <i>E.coli</i> 3 | 12,67±2,08 | 11,00±1 | 8,67±1,15 | 6,67±1,15 | 11,33±1,15 | 9,67±0,58 | 7,33±0,58 | 6±0 |
| <i>E.coli</i> 4 | 10,67±1,15 | 9,00±1,00 | 7,67±0,58 | 6±0 | 10,33±0,58 | 8,67±1,15 | 7,00±1,00 | 6±0 |
| <i>E.coli</i> 5 | 10,67± 1,15 | 9,33± 1,53 | 7,33± 0,58 | 6±0 | 10,00± 0 | 8,00± 0 | 6,67± 0,57 | 6±0 |

Les valeurs sont exprimées en moyenne± écart type

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques des feuilles de *T. fontanesii* par la méthode des disques sur milieu gélosé a montré un effet inhibiteur contre toutes les souches étudiées aux plus fortes concentrations testées. Cependant, cet effet diffère d'une souche à une autre pour le même extrait et à la même concentration et d'un extrait à l'autre pour la même souche.

Les résultats du tableau 04 montrent un effet inhibiteur dose-dépendant c'est-à-dire plus la concentration de l'extrait augmente, plus le diamètre de la zone d'inhibition augmente (**Annexes 7 et 8**).

L'extrait éthanolique de *T. fontanesii* a montré une activité antibactérienne variable contre les souches d'*Escherichia coli* avec des diamètres d'inhibition variant de $9,00 \pm 1,00$ à $13,67 \pm 0,58$ mm aux plus fortes concentrations (250 et 500 mg/ml). Par contre, des diamètres d'inhibition très faibles ont été obtenus à 125mg/ml et l'extrait n'a exercé aucun effet à la plus faible concentration utilisée (62,5%).

Tous les isolats étaient sensibles à l'extrait méthanolique de *T. fontanesii* aux plus fortes concentrations (500 et 250 mg/ml) avec des diamètres d'inhibition faibles allant de $8,00 \pm 0,00$ mm à $11,67 \pm 1,53$. Par contre, ils étaient résistants aux concentrations de 125 et 62,25 mg/ml avec absence de zones d'inhibition.

Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique a exhibé un effet inhibiteur moins marqué que l'extrait éthanolique, ce qui est en concordance avec les résultats de **Khoudem et al., (2020)** qui ont travaillé sur les extraits de la même espèce (*T. fontanesii*), récoltée dans la même région de Tiaret. Cependant, ces auteurs ont observé un effet inhibiteur plus puissant de l'extrait éthanolique des feuilles de *T. fontanesii* contre des souches de *Staphylococcus aureus* multirésistantes avec des diamètres d'inhibition de $12,5 \pm 0,70$ à $22,5 \pm 0,70$ mm à des concentrations plus faibles que celles utilisées dans la présente étude (15,62 à 62,5 mg/ml).

Par contre, un effet antibactérien plus faible a été enregistré pour l'extrait méthanolique vis-à-vis des mêmes souches étudiées à la plus forte concentration testée (62,5 mg/ml) avec des diamètres de 15mm (**Khoudem et al., 2020**).

Les données relatives à l'activité antibactérienne des extraits de *Thymus fontanesii* ne sont pas disponibles. En effet, la plupart des études se sont focalisées sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cette espèce et la plupart des études se sont intéressées à l'activité antibactérienne des extraits de *Thymus vulgaris*. Ainsi, l'extrait éthanolique absolu des feuilles de *T. vulgaris* a exercé un effet inhibiteur contre des souches d'*Escherichia coli* multirésistantes d'origine urinaire avec des diamètres d'inhibition de 8 à 20 mm à des concentrations de 25 à 100 mg/ml (**Ahmed Alrasheed et al., 2023**).

L'activité antibactérienne des extraits de *T. fontanesii* est attribuée aux différents constituants chimiques présents dans ces extraits mais les variations observées entre les deux extraits peuvent être expliquées par la variation de leur composition phytochimique.

En effet, les flavonoïdes exercent une toxicité vis-à-vis des micro-organismes par des interactions non spécifiques telles que l'établissement de ponts hydrogènes avec les protéines de la paroi cellulaire ou les enzymes, par la chélation des ions métalliques, par l'inhibition du métabolisme bactérien ou par la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (Zeghad, 2009).

Conclusion

Conclusion

Les plantes sont utilisées depuis très longtemps dans toutes les cultures, notamment pour leurs vertus médicinales. Leurs extraits composés de nombreuses molécules bioactives constituent aujourd'hui la base de la phytothérapie.

Dans la présente étude, deux extraits ont été préparés à partir des feuilles de *Thymus fontanesii* en utilisant la méthode d'extraction par des solvants absolus (éthanol et méthanol). Ces extraits ont ensuite été testés pour leur effet antibactérien en utilisant la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier contre cinq souches d'*Escherichia coli* multirésistantes d'origine aviaire.

Les résultats ont montré que les deux extraits présentaient des activités antimicrobiennes variables contre les différentes souches testées avec un pouvoir inhibiteur plus prononcé pour l'extrait éthanolique.

De plus, l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de ces extraits a révélé une variation des diamètres des zones d'inhibition en fonction de la nature et de la concentration de l'extrait, ainsi que de la souche étudiée.

La sensibilité des souches d'*Escherichia coli* multirésistantes aux extraits éthanolique et méthanolique de *Thymus fontanesii* suggère leur possible utilisation en thérapeutique comme alternative aux antibiotiques dont le spectre d'action est en constante réduction.

Il convient de noter que ces résultats sont encourageants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour approfondir la connaissance des mécanismes d'action des extraits et prouver leur efficacité *in vivo*.

Références bibliographiques

1. **Abed, S., Messaadia, B., Djessas, M. (2021).** Etude des propriétés physicochimiques et biologiques de *Thymus vulgaris* L. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, 111p.
2. **Ahmed Alrasheed, A., Ahmed Alrasheid, A., Mohamed Abdalla, W., Mohammed Saeed, S., & Haidar Ahmed, H. (2023).** Antimicrobial and Antioxidant Activities and Phytochemical Analysis of *Rosmarinus officinalis* L. Pod and *Thymus vulgaris* L. Leaf Ethanolic Extracts on *Escherichia coli* Urinary Isolates. *International Journal of Microbiology*, 2023.
3. **Arcangioli, M., Leroy-setrin, S., Martel, J., & Chaslus-dancla, E. (1999).** A new chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integron structures in *Salmonella typhimurium* DT104. *F.E.M.S. Microbiol. Lett.*, **174**, 327-332.
4. **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2018).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, *16*(S1), S173-S183.
5. **Carson, C., Reid-smith, R., Irwin, R., Martin, W., & Macewen, S. (2008).** Antimicrobial resistance in generic fecal *E. coli* from 29 beef farms in Ontario. *The Can. J. Vet. Res.*, **72**, 119-128.
6. **Cattoir, V. (2008).** Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Dans *Mise Au Point en Anesthésie Réanimation, communications 2008*, 203-209.
7. **Chaslus-Dancla, E., Cloeckert, A., Payot, S., & Baucheron, S. (2002).** Les multiples façons de faire de la résistance aux antibiotiques. Dans J.P. LAFONT, J. MARTEL, R. MAILLARD, E. CHASLUS-DANCLA, J. PUYT, A. LAVAL, *et al.*, *Antibiothérapie bovine : acquis et consensus*. Les éditions du Point Vétérinaire, 53-67.
8. **Chazel, M., Jouy, E., Haenni, M., Gay, E., & Madec, J. (2011).** Résapath, réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, bilan 2010, Maisons-Alfort, France, 158p.
9. **Djelali . A et Djebra.T ,(2021)** Isolement et caractérisation de la résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolé chez le poulet de chair, Université Saad Dahlab blida1 47p
10. **Enriquez, B. (2002).** *Les antibiotiques en médecine vétérinaire : pharmacologie et toxicologie expérimentales et cliniques*, Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Pharmacie et toxicologie, 157.

- 11. Ghannadi, A., Sajjadi, S. E., & Kabouche, A. (2004).** Thymus fontanesii Boiss. & Reut.- A potential source of thymol-rich essential oil in North Africa. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(3-4), 187-189.
- 12. Guardabassi L., Courvalin P.** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 2006, 1-18.
- 13. Kaesbohrer, A., Schroeter, A., Tenhagen, B., Alt, K., Guerra, B., & Appel, B. (2012).** Emerging antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* with public health relevance. *Zoon. Publ. Health*, 59(Suppl. 2), 158-165.
- 14. Khouidem, F,Z., Tamacha, A and ZIGHMI, C.(2020).** *Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques du thym (Thymus fontanesii) vis-à-vis des souches communautaires de Staphylococcus aureus multirésistantes*. Diss. université ibn khaldoun-tiaret.
- 15. Lacroute, Hélène.** *Résistance aux antibiotiques chez les colibacilles, agents de colibacilloses chez le veau: contribution à une étude dans l'Allier entre 2011 et 2013*. Diss. 2014.
- 16. Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K. M., Wertheim, H. F. L., Sumpradit, N., ... & Cars, O. (2013).** Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet infectious diseases*, 13(12), 1057-1098
- 17. Martins, A. (2020).** Les huiles essentielles antibactériennes: exemple du thym (thymus) (Doctoral dissertation).
- 18. Muylaert, Adeline, and Jacques Mainil.** "Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur" contagiosité". *Annales de Médecine vétérinaire*. Vol. 156. ULg- Université de Liège, Liège, Belgium, 2013.
- 19. Piddock, L. (2006).** Multidrug-resistance efflux pumps - not just for resistance. *Nature Rev. Microbiol.*, 4, 629-636.
- 20. Sobeh, M., Rezq, S., Cheurfa, M., Abdelfattah, M. A., Rashied, R. M., El-Shazly, A. M., ... & Mahmoud, M. F. (2020).** Thymus algeriensis and Thymus fontanesii: chemical composition, in vivo antiinflammatory, pain killing and antipyretic activities: a comprehensive comparison. *Biomolecules*, 10(4), 599.
- 21. Soumaila Garba A., (2012).** Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse doctorat en médecine vétérinaire. Sénégal. 81 pages

Références bibliographiques

- 22. Yoshida, H., Bogaki, M., Nakamura, M., Yamanaka, L., & Nakamura, S. (1991).** Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **35**(8), 1647-1650.
- 23. Zeghad N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Magister. Université Mentouri Constantine, P130.

Site web

<https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/thym.htm>

Annexes

Annexe 01. Composition des milieux de culture

Gélose Müeller -Hinton (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

| | |
|---------------------------------|------|
| Infusion de viande de bœuf..... | 2,00 |
| Hydrolysate de caséine | 17,5 |
| Amidon... .. | 1.50 |
| Agar..... | 17.0 |

pH 7.4 ± 0.2.

Gélose Hektoen (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

| | |
|---------------------------------------|------|
| Protéose-peptone..... | 12,0 |
| Extrait de levure..... | 3,0 |
| Lactose | 12,0 |
| Saccharose..... | 12,0 |
| Salicine..... | 2,0 |
| Citrate de fer III et d'ammonium..... | 1,5 |
| Sels biliaires..... | 9,0 |
| Fuchsine acide..... | 0,1 |
| Bleu de bromothymol | 0,06 |
| 5 | |
| Chlorure de sodium..... | 5,0 |
| Thiosulfate de sodium..... | 5,0 |
| Agar..... | 14,0 |

pH = 7,6

Annexe 02. Coloration de Gram (Singleton et Sainsbury, 1994)

1. Préparer un frottis bactérien en transférant un petit fragment d'une colonie dans une goutte d'eau déposée préalablement sur une lame de verre propre.
2. Disperser la colonie dans l'eau afin d'obtenir une suspension laiteuse.
3. Étaler la suspension sur une surface d'un à deux centimètres carrés.
4. La suspension est ensuite séchée de façon à obtenir le frottis. Ce dernier est fixé en le passant rapidement une ou deux fois dans la flamme du bec bunsen.
5. Recouvrir le frottis d'une solution de violet de gentiane pendant une minute.
6. Verser le lugol et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée.
7. Décolorer avec l'alcool à 95% en plaçant la lame dans une position oblique puis rincer à l'eau.
8. Recouvrir le frottis avec une solution de fuchsine pendant une minute puis rincer et sécher le frottis.
9. Observation microscopique à immersion (X100) : les bactéries à Gram- apparaissent roses et les bactéries à Gram+ se colorent

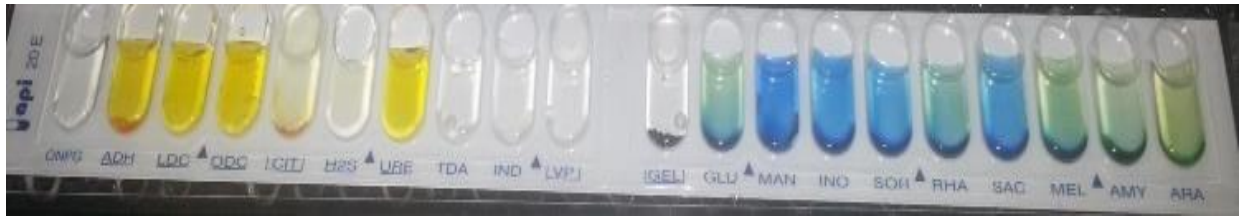
Annexe 03 : Table de lecture de l'antibiogramme

| Antibiotique | Symbole | Concentration | Diamètre critique | | |
|---------------------------------|---------|---------------|-------------------|-------|-----|
| | | | S | I | R |
| Néomycine | N | 30µg | ≥17 | 13-16 | ≤12 |
| Ampicilline | AM | 10UI | ≥20 | - | ≤17 |
| Amoxicilline | AX | 25µg | ≥23 | - | <16 |
| Amoxicilline-Acide clavulanique | AMC | 30µg | ≥18 | 15-17 | ≤14 |
| Céfotaxime | CTX | 30µg | ≥26 | - | ≤23 |
| Céphalotine | CEF | 30µg | ≥18 | 15-17 | ≤14 |
| Chloramphénicol | CHL | 30µg | ≥18 | 13-17 | ≤12 |
| Colistine | COL | 10µg | ≥11 | - | ≤10 |
| Acide nalidixique | NA | 30µg | ≥19 | 14-18 | ≤13 |
| Enrofloxacin | ENR | 5µg | ≥19 | - | <19 |
| Ofloxacin | OFX | 5µg | ≥25 | - | <22 |
| Sulfaméthoxazole-Triméthoprime | SXT | 25µg | ≥16 | 11-15 | ≤10 |
| Tétracycline | TE | 30µg | ≥19 | 15-18 | ≤14 |

Annexe 04 : Tableau de lecture de la galerie Api 20E

| TESTS | AKTIVE BESTANDTEILE | MENGE (mg/Vert.) | REAKTIONEN/ENZYME | ERGEBNISSE | |
|------------------|--|------------------|--|--|--------------------------------|
| | | | | NEGATIV | POSITIV |
| ONPG | 2-Nitrophenyl-βD-Galaktopyranosid | 0,223 | β-Galaktosidase (Ortho-Nitrophenyl-βD-Galaktopyranosidase) | farblos | gelb (1) |
| ADH | L-Arginin | 1,9 | Arginin DiHydrolase | gelb | rot / orange (2) |
| LDC | L-Lysin | 1,9 | Lysin DeCarboxylase | gelb | rot / orange (2) |
| ODC | L-Ornithin | 1,9 | Ornithin DeCarboxylase | gelb | rot / orange (2) |
| CIT | Trinatriumcitrat | 0,756 | CITratverwertung | hellgrün / gelb | blau-grün / blau (3) |
| H ₂ S | Natriumthiosulfat | 0,075 | H ₂ S-Bildung | farblos / gräulich | schwarzer Niederschlag |
| URE | Harnstoff | 0,76 | UREase | gelb | rot / orange (2) |
| TDA | L-Tryptophan | 0,38 | Tryptophan DesAminase | <u>TDA / sofort</u> | |
| | | | | gelb | rotbraun |
| IND | L-Tryptophan | 0,19 | INDol-Bildung | <u>JAMES / sofort</u> | |
| | | | | farblos hellgrün / gelb | rosa |
| VP | Natriumpyruvat | 1,9 | Acetoinbildung (Voges Proskauer) | <u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> | |
| | | | | farblos / blassrosa | rosa / rot (5) |
| GEL | Gelatine (bovinen Ursprungs) | 0,6 | Gelatinase (GELatine) | keine Diffusion | Diffusion der schwarzen Tusche |
| GLU | D-Glukose | 1,9 | Fermentation / Oxidation (GLUkose) (4) | blau / blau-grün | gelb / gelb grau |
| MAN | D-Mannit | 1,9 | Fermentation / Oxidation (MANnit) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| INO | Inosit | 1,9 | Fermentation / Oxidation (INOsit) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| SOR | D-Sorbit | 1,9 | Fermentation / Oxidation (SORbit) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| RHA | L-Rhamnose | 1,9 | Fermentation / Oxidation (RHAmnose) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| SAC | D-Saccharose | 1,9 | Fermentation / Oxidation (SACcharose) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| MEL | D-Melibiose | 1,9 | Fermentation / Oxidation (MELibiose) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| AMY | Amygdalin | 0,57 | Fermentation / Oxidation (AMYgdalin) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| ARA | L-Arabinose | 1,9 | Fermentation / Oxidation (ARABinose) (4) | blau / blau-grün | gelb |
| OX | (siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests) | | Cytochrom OXidase | (siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests) | |

Annexe 05 : Profil biochimique d'*Escherichia coli* sur galerie API20E

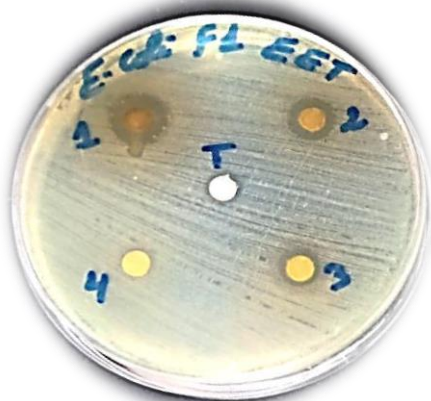


Aspect de la galerie API 20^E inoculée avec une suspension bactérienne avant incubation

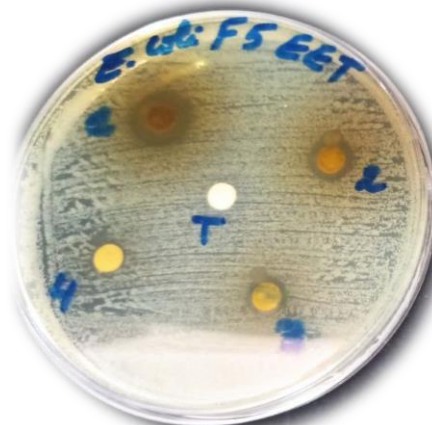


Profil biochimique d'*Escherichia coli*

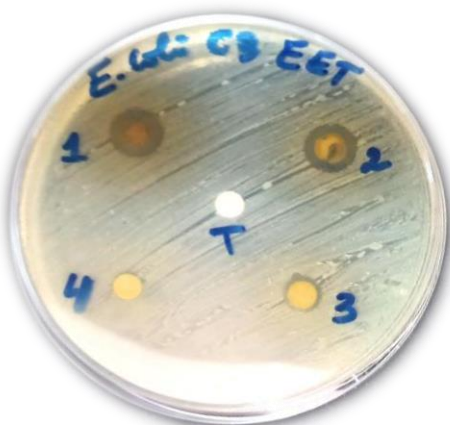
Annexe 07. Effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Thymus fontanesii* sur les différentes souches d'*Escherichia coli* étudiées



Effet de l'EEFT sur *d'Escherichia coli* 1



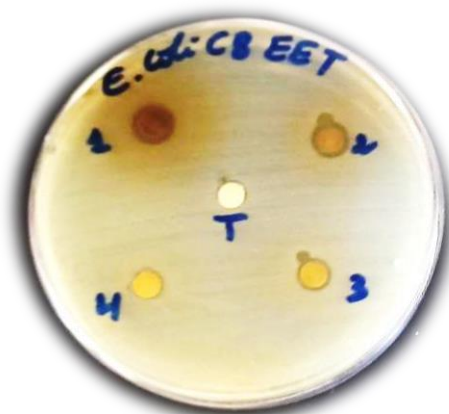
Effet de l'EEFT sur *d'Escherichia coli* 2



Effet de l'EEFT sur *d'Escherichia coli* 3



Effet de l'EEFT sur *d'Escherichia coli* 4



Effet de l'EEFT sur *d'Escherichia coli* 5

1: 500 mg/ml

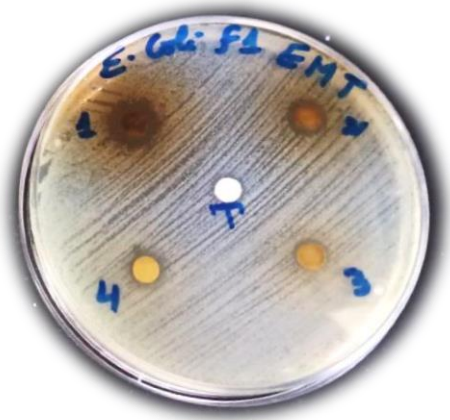
2: 250 mg/ml

3: 125 mg/ml

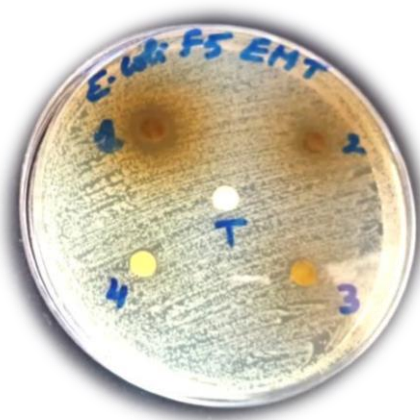
4: 62,5 mg/ml

T: Témoin

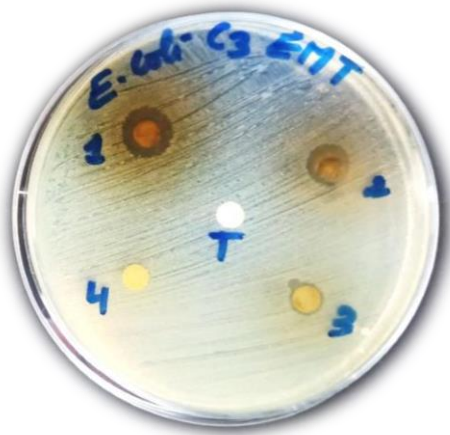
Annexe 08. Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Thymus fontanesii* sur les différentes souches d'*Escherichia coli* étudiées



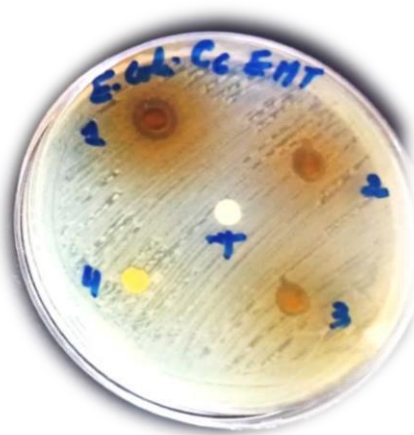
Effet de l'EMFT sur *d'Escherichia coli* 1



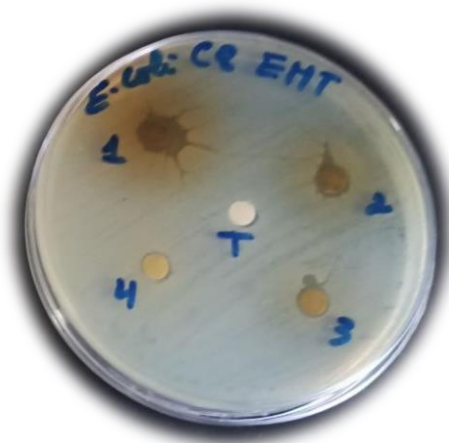
Effet de l'EMFT sur *d'Escherichia coli* 2



Effet de l'EMFT sur *d'Escherichia coli* 3



Effet de l'EMFT sur *d'Escherichia coli* 4



Effet de l'EMFT sur *d'Escherichia coli* 5

1: 500 mg/ml

2: 250 mg/ml

3: 125 mg/ml

4: 62,5 mg/ml

Résumé

La présente étude vise à évaluer l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de *Thymus fontanesii* vis-à-vis des souches aviaires d'*Escherichia coli* multi-résistantes.

Le calcul du rendement en extrait sec par rapport au poids total du broyat varie en fonction du solvant utilisé. En effet, l'extrait méthanolique présente un rendement plus élevé (**11,65%**) que l'extrait éthanolique (**7,5%**).

Ces extraits ont été testés *in vitro* pour leur effet antibactérien contre cinq souches d'*Escherichia coli* aviaire résistantes à quatre classes d'antibiotiques, en utilisant la méthode de diffusion à partir des disques.

Les deux extraits ont exhibé une activité antibactérienne modérée contre l'ensemble des souches testées, avec un pouvoir inhibiteur plus marqué pour l'extrait éthanolique.

L'effet antibactérien obtenu est un effet dose dépendant marqué par la formation de zones d'inhibition proportionnelles aux concentrations utilisées.

La sensibilité des souches d'*E.coli* multi-résistantes aux extraits de feuilles de *Thymus fontanesii* suggère la possible utilisation de ces derniers comme traitement alternatif aux antibiotiques devenant inefficaces.

Mots clés : *Thymus fontanesii*, Extraits, Activité antibactérienne, *Escherichia coli*

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of phenolic extracts of *Thymus fontanesii* against multi-resistant avian strains *Escherichia coli*.

The calculation of the dry extract yield in relation to the total weight of the grind varies according to the solvent used. Methanolic extract has a higher yield (**11.65%**) than ethanolic extract (**7.5%**).

These extracts were tested *in vitro* for their antibacterial effect against five strains of avian *Escherichia coli* resistant to four classes of antibiotics, using the disc diffusion method.

Both extracts exhibited moderate antibacterial activity against all the strains tested, with a more marked inhibitory effect for the ethanolic extract.

The antibacterial effect obtained was a dose-dependent effect marked by the formation of zones of inhibition proportional to the concentrations used.

The sensitivity of multi-resistant *E.coli* strains to *Thymus fontanesii* leaf extracts suggests the possible use of the latter as an alternative treatment to antibiotics that are becoming ineffective.

Keywords: *Thymus fontanesii*, Extracts, antibacterial activity, *Escherichia coli*