

Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire

J. KHRIBCH¹, S. NASSIK², M. EL HOUADFI², S. ZRIRA³, M. OUKESSOU¹

(Reçu le 02/10/2017; Accepté le 10/12/2017)

Résumé

La résistance bactérienne aux antibiotiques et la recherche de nouvelles alternatives à ces derniers revêtent une grande importance en santé humaine et animale. L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer les propriétés anti-bactériennes de l'huile essentielle de l'origan, ainsi que celle de son composant majoritaire le carvacrol, sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire résistantes aux antibiotiques d'utilisation courante en aviculture (Colistin et Enrofloxacin). Ces propriétés ont été évaluées en utilisant des techniques usuelles de diffusion sur gélose et de macro-dilution pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence une puissante activité anti-bactérienne des deux produits testés en comparaison avec les deux antibiotiques utilisés dans cette étude, en donnant les plus grands diamètres d'inhibition qui ont respectivement varié de 8 à 40 mm et de 14 à 30 mm quand pour l'huile essentielle (HE) d'origan et du carvacrol. Ceci a été confirmé par la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui a été de 0,0031 % pour l'HE d'origan et de 0,0625 % pour son principe actif, le carvacrol. Ces résultats permettent de conclure que l'utilisation de l'huile d'origan ou de son constituant majoritaire le carvacrol, pourrait être une alternative efficace pour pallier aux résistances bactériennes sans cesse en évolution. Cependant, il serait intéressant de concrétiser ces résultats sur le vivant afin d'évaluer l'efficacité *in-vivo* de cette huile et de ses principes actifs.

Mots-clés: Huile essentielle d'origan, carvacrol, *Escherichia coli*, antibio-résistance, activité anti-bactérienne, CMI, poulet.

Antibacterial activity of essential oil of oregano and carvacrol on avian *Escherichia coli* strains

Abstract

Bacterial resistance to antibiotics and the search for new alternatives to antibiotics are of great importance in human and animal health. The main aim of this study was to evaluate the antibacterial pharmacodynamic properties of the essential oil of oregano as well as those of its major component, carvacrol, on strains of avian *Escherichia coli* resistant to antibiotics of current use in poultry (Colistin and Enrofloxacin). These properties were evaluated using standard agar diffusion and macro-dilution techniques for determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The results obtained showed a potent activity of the two tested products in comparison with the two antibiotics used in this study, giving the largest inhibition diameters which ranged respectively from 8 to 40 mm and from 14 to 30 mm for oregano essential oil (HE) and carvacrol. This was confirmed by the determination of the MIC which was 0.0031 % for oregano HE and 0.0625 % for its active ingredient. These results lead us to conclude that the use of oregano oil could be a good alternative to the evolving bacterial resistance. However, it would be interesting to confirm these results on living organisms in order to evaluate *in vivo* effectiveness of oregano essential oil and its active ingredients.

Keywords: Essential oil of oregano, carvacrol, *Escherichia coli*, antibio-resistance, antibacterial activity, MIC, poultry.

INTRODUCTION

Le secteur avicole marocain a connu et continue de connaître une évolution considérable. Actuellement, il constitue l'une des activités économiques agricoles les plus dynamiques du pays. Cependant, ce secteur se heurte à de nombreux problèmes d'origine sanitaire et pathologique. Même si l'industrie applique de nombreuses mesures de prévention et de contrôle, les anti-microbiens restent encore un recours relativement efficace pour la prévention et le traitement de maladies bactériennes chez le poulet. Cependant, depuis plusieurs années, une augmentation de l'anti-biorésistance a été observée aussi bien en médecine humaine que vétérinaire dont l'utilisation abusive, à titre prophylactique et/ou thérapeutique, des antibiotiques en est en grande partie responsable. Dans

le souci de préserver la santé du consommateur, sans compromettre les performances de production du poulet, la recherche de nouveaux prototypes d'antibiotiques est devenue une nécessité absolue.

A cet égard, les huiles essentielles (HE) obtenues à partir de plantes aromatiques pourraient remplacer ou renforcer les antibiotiques synthétiques usuels. En effet, ces huiles sont douées de nombreuses propriétés biologiques dont notamment anti-bactériennes et immuno-stimulantes (Burt, 2004). Les propriétés anti-microbiennes des huiles essentielles, connues depuis l'antiquité, ont fait l'objet d'un bon nombre de publications qui ont confirmé, par des études *in vitro*, leur action inhibitrice contre des variétés de bactéries Gram positives et Gram négatives. Plusieurs molécules présentes dans les huiles essentielles sont douées

¹ Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques Vétérinaires, Unité Physiologie et Thérapeutique, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II-Rabat

² Département de Pathologie et Santé Publique Vétérinaires, Unité de Pathologie Aviaire, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II-Rabat

³ Département des sciences alimentaires et nutritionnelles, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II-Rabat

Correspondance: j.khribch.inrh@gmail.com

de propriétés anti-microbiennes et particulièrement les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde). Ce sont généralement les huiles essentielles riches en de telles molécules qui présentent la plus grande efficacité anti-microbienne (Bouhdid *et al.*, 2012). Cependant, et à l'instar de tous les médicaments, l'emploi d'huiles essentielles en thérapeutique doit être fait sur des bases d'études pharmacologiques, toxicologiques et cliniques.

L'activité anti-microbienne des huiles essentielles a été prouvée *in vitro* par de nombreuses études, principalement contre des bactéries pathogènes telles que *C. perfringens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Listeria monocytogenes* (Remmal *et al.*, 1993; Dorman et Deans, 2000).

Au Maroc, les colibacilloses représentent de loin les pathologies les plus dominantes chez le poulet de chair, non seulement par des mortalités qu'elles causent mais aussi par l'importance de l'anti-biorésistance des souches bactériennes impliquées (Robineau et Moalic, 2010). En effet, selon des études récentes, il a été rapporté que 100 % des souches d'*E. coli* isolées chez le poulet de chair dans les régions de Rabat-Salé -Zemmour-Zaer, sont résistantes à au moins un antibiotique (oxytétracycline) et que le taux de multi-résistance reste très élevé avec une fréquence des souches résistantes à trois molécules d'anti-bactériens de l'ordre de 97 % et 55 % des souches sont résistantes à cinq antibiotiques (Rahmatallah *et al.*, 2017).

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'activité de l'huile essentielle de l'origan et de son composant majoritaire, le carvacrol, sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire résistantes aux antibiotiques usuels.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Produits naturels

- **Huile essentielle d'origan** obtenue par hydro-distillation (au département des Sciences Alimentaires et Nutritionnelles de l'IAV Hassan II). La distillation a été faite en introduisant une quantité connue de la plante dans un ballon à 3 cols ou fiole de deux litres, imprégné d'eau de robinet, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Cette méthode est basée sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et leurs caractères hydrophobes. La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'essence recherchée. Cette vapeur, chargée d'huile, en traversant un réfrigérant se condense et chute dans une ampoule à décanter. La séparation de l'eau et de l'huile se fait ensuite par différence de densité (Siaka, 2001).

- **Carvacrol** (> 98 %, Sigma-Aldrich, W224502, www.sigmaaldrich.com/european-export.html).

Micro-organismes étudiées

Les *Escherichia coli* aviaires, bien que considérés par beaucoup comme pathogènes secondaires, représentent à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole et constitue aussi l'un des motifs de saisie les plus fréquents aux abattoirs. La colibacillose, dont la voie d'entrée principale est le tractus respiratoire, engendre des lésions et des manifestations qui peuvent être graves et affecte essentiellement les élevages de poulets de chair.

- Souche de référence *E. coli* ATCC25922

- Souches *Escherichia coli* d'origine aviaire:

110 souches d'*Escherichia coli* issues l'Unité de Pathologie Aviaire, IAV Hassan II. Ces souches ont été isolées lors des autopsies des poulets de chair présentant des complications colibacillaires, provenant des élevages avicoles de plusieurs régions du Maroc. La recherche d'*Escherichia coli* a été réalisée à partir du poumon, cœur, foie, moelle osseuse et quelque caecum. La pureté des souches a été vérifiée par repiquage dans leur milieu de culture sélectif. Les bactéries ont été conservées et maintenues en vie par des repiquages continus sur milieu EMB et leur conservation à +4°C.

Méthodologie

Pour atteindre les objectifs de cette étude, l'HE d'origan et le carvacrol ont été évalués *in vitro* en utilisant les techniques standards de microbiologie à savoir, l'aromatogramme et la technique de macro-dilution en milieu liquide.

Antibiogramme

Préparation de la suspension bactérienne

L'eau physiologique a été préparée en ajoutant 9 g de NaCl dans 1000 ml d'eau distillée. Le tout a été agité et stérilisé à l'autoclave pendant 20 min à 120°C.

Deux colonies de chaque bactérie ont été prélevées et introduites dans 9 ml d'eau physiologique contenue dans un tube stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0,5 McFarland (selon le cas, soit on ajoute un fragment de colonie ou on dilue avec de l'eau physiologique stérile), ce qui correspond à une densité optique de 0,08-0,13 à une longueur d'onde de 620 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de 10^7 - 10^8 ufc/ml (Bouhdid *et al.*, 2008).

Ensemencement

L'ensemencement a été réalisé par inondation et l'uniformisation de la couche de la suspension bactérienne sur la gélose est assurée par des mouvements manuels de la boîte de Pétri. Par la suite, l'excès de la suspension est éliminé à l'aide d'une seringue stérile. Les boîtes sont ensuite laissées sécher pendant quelques minutes (5 à 10 min) à l'étuve (Burnichon et Texier, 2003).

Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques ont été déposés à l'aide d'une paire de pinces stériles en appuyant doucement sur chaque disque pour s'assurer de son application et pour assurer un contact uniforme avec le milieu (Méthode de Kirby Bauer recommandée par l'OMS).

Après l'incubation à 37°C pendant 18 à 24 h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle graduée en millimètre de l'extérieur de la boîte fermée. Les résultats obtenus ont été interprétés en fonction des diamètres critiques recommandés pour chaque antibiotique.

Aromatogramme

La sensibilité de la souche de référence *E. coli* et les souches d'origine aviaire vis-à-vis l'HE d'origan et le carvacrol a été déterminée par la technique de l'aromatogramme. Pour le carvacrol nous avons testé son efficacité sur dix souches *E. coli* d'origine aviaire, alors que l'huile essentielle d'origan a été évaluée sur 100 bactéries *E. coli* d'origine aviaire. Pour la souche de référence, trois essais ont été effectués.

La méthode de diffusion ou aromato-gramme consiste à déposer un disque de 6 mm de diamètre stérile découpé à partir du papier Wattman n° 40, et imbibé d'un volume donné du produit à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri. Selon Hussain *et al.*, (2010), un volume de 20 ml de milieu gélosé Muller Hinton est coulé dans des boîtes de Pétri. Après solidification, la gélose est inondée avec l'inoculum bactérien à tester d'une densité de 10^7 - 10^8 ufc/ml, l'excès est aspiré par une seringue stérile.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques stériles sont déposés sur la surface de la gélose et imbibés avec 5 µl d'huile essentielle d'origan/carcacrol pur sans dilution. Par la suite, les boîtes de pétri sont maintenues à +4°C pendant une période de prédiffusion d'une heure (Rožman et Jeršek, 2009). Ensuite, elles ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Enfin, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle graduée en millimètre (mm) sous une loupe permettant un grossissement de 2. D'après Meena et Sethi (1994) et Ela *et al.*, (1996), la sensibilité à HE/PA est classée en fonction des diamètres des halos d'inhibition comme suit:

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28 mm;

- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 16-28 mm;
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 10-16 mm;
- Non inhibitrice lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur à 10 mm.

Concentration minimale inhibitrice

La méthode de dilutions ou méthode de Kirby-Bauer 1960.

Solution d'émulsion d'HE et du carvacrol dans l'agar

Une solution mère de 10 % des produits actifs (HE d'origan /carvacrol), préparée en ajoutant 100 µl d'HE/carcacrol pur à 900 µl d'une solution aqueuse stérile à 0,2 % (w/v) d'agar.

Technique de dilution

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles ont été déterminées selon la méthode rapportée par Remmal *et al.*, (1993) et Satrani *et al.*, (2001). La méthode de dilution consiste à préparer une série de tubes contenant le bouillon Tryptic Soy Broth (TSB), on a besoin de 10 tubes à essais. On remplit le premier tube avec 2 ml de TSB et les 9 autres tubes avec 1 ml. Puis, on ajoute 20 µl d'une solution d'huile essentielle dans le premier tube, on enchaîne avec une dilution pour obtenir une gamme de concentration allant de 1 à 0,0039 %. Après, on inocule chaque tube avec 10 µl de la suspension bactérienne (concentration finale: 10^7 UFC/ml). On prépare un témoin sans huile essentielle et on laisse incubé les tubes pendant 18 h à 37°C (Bouhdid *et al.*, 2008).

La concentration la plus faible de l'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'œil nu après 16 à 20 heures d'incubation à 37°C est la concentration minimale inhibitrice notée CMI.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'aromatogramme du carvacrol

A travers l'évaluation *in-vitro* par diffusion en milieu solide du pouvoir anti-bactérien du carvacrol, aussi bien sur de souche de référence *E. coli* que sur des souches *E. coli* sauvages d'origine aviaire, il paraît évident que toutes les souches bactériennes testées ont présenté une sensibilité vis-à-vis ce produit avec des degrés de sensibilité variables.

Tableau 1: Activité anti-bactérienne du carvacrol sur la souche de référence *Escherichia coli*

Essai	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	Carvacrol	Enrofloxacin	Carvacrol	Colistine
1	14	36	18	16
2	16	36	14	16
3	18	36	20	14
Moyenne	16	36	17,33	15,33

Effet du carvacrol sur la souche de référence (*E. coli* ATCC25922)

Le tableau 1 présente les résultats de la sensibilité de la souche de référence au carvacrol, en comparaison avec deux antibiotiques, à savoir l'Enrofloxacin et la Colistine d'utilisation courante en aviculture.

D'après ces résultats, on note que le carvacrol est doté d'un effet inhibiteur non négligeable vis-à-vis la souche de référence d'*E. coli*, et que les zones d'inhibition obtenues avec ce principe actif dépassent celle de la colistine, mais restent faibles par rapport à l'enrofloxacin.

Effet du carvacrol sur les souches aviaires

L'effet du carvacrol sur les souches *E. coli* d'origine aviaire était important, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2 ci-dessous.

Les dix souches *E. coli* testées par le carvacrol sont résistantes à l'enrofloxacin. Le pouvoir anti-bactérien de ce produit dépasse dans la quasi-totalité l'activité anti-bactérienne de la colistine sur les mêmes souches (Tableau 2). Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux. Selon une étude menée par Yamazaki *et al.*, 2004, le carvacrol avait le plus puissant effet contre *Listeria monocytogenes*, suivi par le thymol, l'eugénol, le cinnamaldéhyde et l'iso-eugénol. Parmi 45 huiles essentielles issues de 13 plantes aromatiques, les huiles de *Satureja montana* et *T. vulgaris*, avec le premier ayant le carvacrol comme composant principal, et le deuxième ayant le carvacrol et le thymol comme principaux composants, a montré l'effet inhibiteur

le plus puissant contre les *L. monocytogenes* et *S. aureus* à Gram positif, et le *S. enteritidis* à Gram négatif, *E. coli* O157: H7, *Yersinia enterocolitica* et *Shigella flexneri* (Rota *et al.*, 2008). Pour son large spectre d'action antimicrobienne, le carvacrol a fait l'objet de plusieurs études (Lambert *et al.*, 2001; Baydara *et al.*, 2004; Bouhdid *et al.*, 2005; Chami *et al.*, 2005; Ben Arfa *et al.*, 2006; Veldhuizen *et al.*, 2006).

Concentration minimale inhibitrice du carvacrol

L'efficacité du carvacrol a été aussi évaluée en milieu liquide, par la mesure de la CMI c'est-à-dire, la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne à l'œil nu.

Effet sur du carvacrol la souche de référence (*E. coli* ATCC25922)

La moyenne des CMI obtenue avec le carvacrol, aussi bien pour la souche de référence que les souches sauvages d'*E. coli*, a été de 0,0625 % (Tableau 3).

Souches aviaires d'*E. coli*

La figure 1 représente la distribution des concentrations minimales inhibitrice obtenues.

A travers l'évaluation *in vitro* du pouvoir anti-bactérien du carvacrol vis-à-vis d'*Escherichia coli*, il paraît évident que les souches bactériennes testées ont présenté une sensibilité élevée vis-à-vis du carvacrol. Plusieurs travaux ont montré la richesse de certaines huiles essentielles

Tableau 2: Activité anti-bactérienne du carvacrol sur les souches sauvages d'*E. coli* aviaire comparée aux antibiotiques

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	Carvacrol	Colistine	Enrofloxacin
1	30	16	0
2	20	16	0
3	22	18	0
4	20	12	0
5	16	12	0
6	14	20	0
7	20	20	0
8	24	18	0
9	28	18	0
10	18	20	0
Moyenne	21	17	0

Tableau 3: Concentration minimale inhibitrice du carvacrol sur la souche de référence *E. coli*

Concentration % (v/v)	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156	0,0078	0,0039
Essai 1	-	-	-	-	+	+	+	+
Essai 2	-	-	-	-	+	+	+	+
Essai 3	-	-	-	-	+	+	+	+

+: croissance bactérienne

-: Pas de croissance bactérienne

en ce principe actif, qui est considéré, avec le thymol, comme les composés phénoliques majoritaires de l'huile essentielle d'origan (Baser *et al.*, 1993; Melegari *et al.*, 1995; Skoula *et al.*, 1999), l'activité anti-bactérienne de cette huile essentielle est en grande partie attribuée à ces deux composants (Dorman et Deans 2000; Aligiannis *et al.*, 2001; Friedman *et al.*, 2002; Zohary *et al.*, 2004). Le carvacrol est considéré comme biocide, avec son pré-curseur, le p-cymène, doué d'un pouvoir anti-bactérien faible, mais agissant probablement en synergie avec le carvacrol par l'expansion de la membrane, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane bactérienne (Ultee *et al.*, 2002; Cristiani *et al.*, 2007; Jamali *et al.*, 2013). Pour son large spectre d'action anti-microbienne, le carvacrol a fait l'objet de plusieurs études (Baydara *et al.*, 2004; Bouhdid *et al.*, 2005; Ben Arfa *et al.*, 2006; Chami *et al.*, 2005; Veldhuizen *et al.*, 2006) et il est également efficace contre des bactéries, des levures, des champignons, des insectes et des acariens (Dorman et Deans 2000; Chami *et al.*, 2005; Ben Arfa *et al.*, 2006; Jeong *et al.*, 2008).

L'activité anti-bactérienne du carvacrol a été attribuée à son caractère hydrophobe, la présence d'un groupe hydroxyle libre et un système électronique délocalisé. Le carvacrol agit sur la membrane cytoplasmique, avec des effets considérables sur les propriétés structurales et fonctionnelles de la membrane elle-même, qui devient de plus en plus perméable aux protons et aux ions et perd son intégrité (Lambert *et al.*, 2001; Ben Arfa *et al.*, 2006). Le carvacrol a été montré également capable d'inhiber l'ATPase (Gill et Holley, 2006).

L'aromatogramme de l'HE d'origan

L'activité anti-microbienne de l'HE d'origan a été évaluée sur 100 souches d'*E. coli* d'origine aviaire multi-résistantes aux principaux antibiotiques d'utilisation courante en aviculture marocaine. La figure 2 représente les résultats obtenus.

Il ressort de ces résultats que l'HE d'origan a exercé un effet inhibiteur important sur la totalité des souches bac-

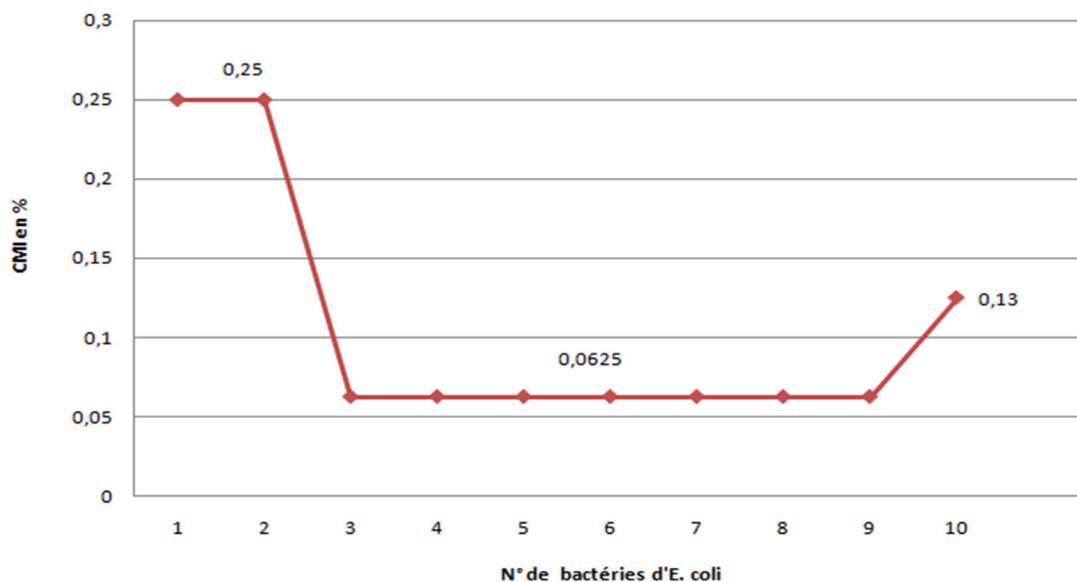


Figure 1: Distribution des CMI du Carvacrol sur les souches d'*E. coli* sauvages

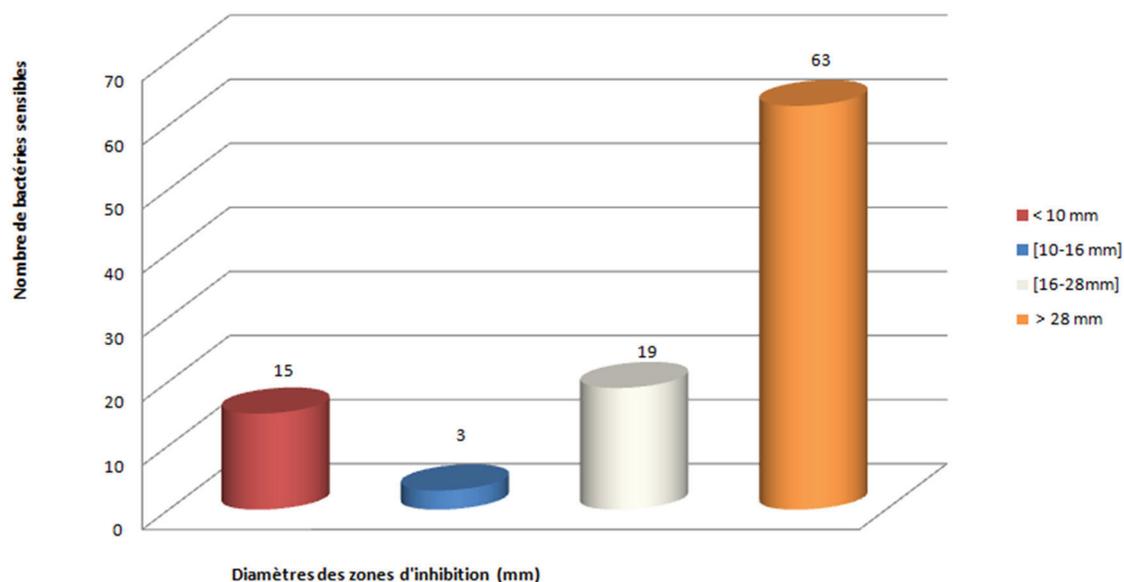


Figure 2: Sensibilité des souches d'*E. coli* vis-à-vis de l'HE d'origan

tériennes testées (Figure 2). Cependant, toutes les souches présentaient des profils de sensibilité très variables avec des diamètres des zones d'inhibition ont varié de 8 à 40 mm.

Concentration minimale inhibitrice de l'HE d'origan

La figure 3 montre la distribution des bactéries selon les valeurs des CMI, celles-ci ont pris des valeurs variables allant de 0,25 à 0,0039 %, avec 33 % de bactéries inhibées ayant une CMI de 0,0625 %.

A partir de tous ces résultats, on constate que l'HE d'origan est très efficace contre les souches testées. L'efficacité de cette substance naturelle contre les souches d'*E. coli* a été également citée par de nombreux travaux, notamment ceux réalisés sur cinq HE et qui ont montré des propriétés bactéricides intéressantes de l'HE d'origan et de Thym sur *E. coli* (Burt, 2003). Dans cette dernière étude, l'HE d'origan et de girofle ont provoqué une lyse cellulaire des bactéries associée à une mortalité rapide sur *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (Rhayour *et al.*, 2001). Par ailleurs, l'efficacité thérapeutique du carvacrol et de l'eugénol, deux composants phénoliques des huiles essentielles, a été prouvée contre la candidose buccale induite de façon expérimentale chez des rats immuno-déprimés (Chami *et al.*, 2005). L'importante bio-activité de l'HE d'origan est en relation avec sa teneur élevée en carvacrol et thymol. En effet, plusieurs auteurs (Sivropoulou *et al.*, 1996; Satrani *et al.*, 2007; Trombetta *et al.*, 2005) ont montré que les HE riches en dérivés phénoliques (Carvacrol, Thymol) possèdent une forte activité anti-microbienne. La présente étude a permis de mettre en évidence une activité anti-bactérienne remarquable du carvacrol, principe actif majoritaire de l'HE d'origan, vis-à-vis de la bactérie *E. coli* aviaire résistante à l'enrofloxacin et sensible à la colistine, ainsi qu'une souche de référence *E. coli*. De même, l'HE d'origan extraite par hydrodistillation, a montré un effet anti-microbien très important sur 100 souches sauvages d'*E. coli* aviaires, comme en témoignent, entre autres, les faibles valeurs des CMI.

CONCLUSION

L'activité anti-bactérienne de substances naturelles s'explique par la lyse des membranes bactériennes. Les huiles essentielles, flavonoïdes, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort.

Depuis leur découverte, les antibiotiques restent incontournables pour les traitements thérapeutiques des infections bactériennes humaines et animales. Cependant, actuellement le domaine de l'infectiologie rencontre de sérieux problèmes de résistance aux antibiotiques. A ce grave problème s'ajoute celui de l'impact des antibiotiques sur la santé humaine (altération de la flore commensale de l'intestin) et sur la biodiversité lorsque ceux-ci se retrouvent dans l'environnement. Ce problème est considéré, tant par la Commission européenne, le *Center for disease control* (USA) que par l'Organisation mondiale de la santé, comme l'un des principaux défis de la médecine du futur. Les huiles essentielles se présentent comme les meilleurs candidats pour participer à la recherche des alternatives. Actuellement, personne ne peut nier l'action des huiles essentielles sur les souches bactériennes résistantes, voire multi-résistantes, aux antibiotiques et la bibliographie est riche d'études sur le pouvoir anti-microbien des huiles essentielles.

Les résultats obtenus dans cette étude confirment la grande activité anti-bactérienne du carvacrol sur des souches d'*E. coli* d'origine aviaire résistantes à l'enrofloxacin et sensibles à la colistine. Un important effet inhibiteur de l'huile essentielle a été confirmé sur un total de 100 souches *E. coli* d'origine aviaire avec des diamètres des zones d'inhibition supérieurs qui dépassent les 40 mm et des concentrations minimales inhibitrices allant jusqu'à 0.0039 %.

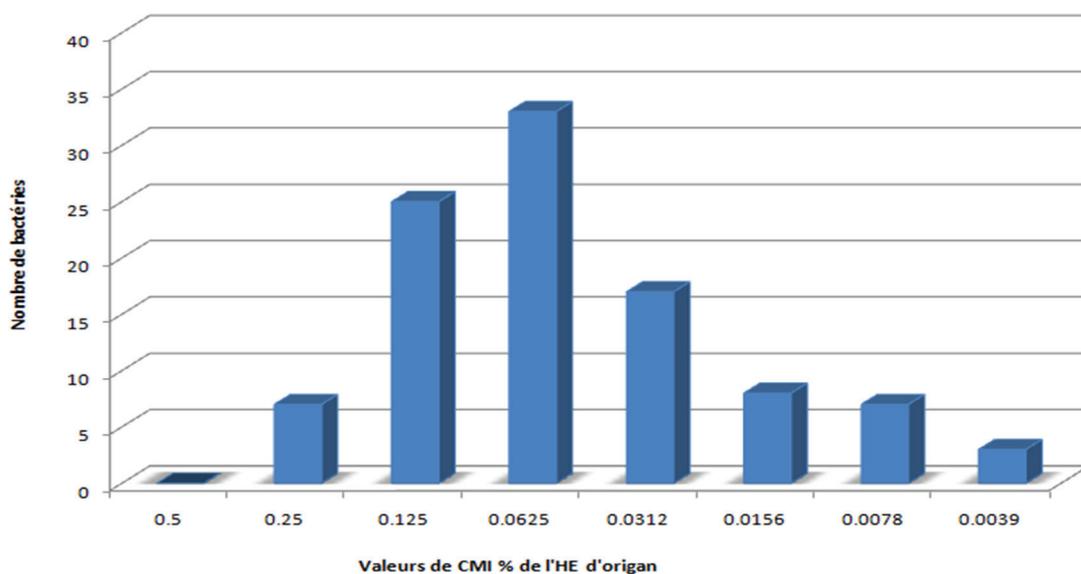


Figure 3: CMI de l'HE d'origan sur les souches *Escherichia coli*

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aliyiannis N., Kalpotzakis E., Mitaku S., and Chinou I.B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. and Food Che.*, 40: 4168-4170.
- Baydara H., Sağdıç O., Özkanc G., Karadoğana T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15: 169-72.
- Baser K.H.C., Ozök T., Tümen G., Sezik E. (1993), Composition of the essential oils of Turkish *Origanum* species with commercial importance, *J. Essent. Oil Res.*, 5: 619-623.
- Ben Arfa A., Combes S., Preziosi-Belloy L., Gontard N., Chalier, P. (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett. Appl. Microbio.* 143:149-154.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Senhajiskli N., Abrini, J. (2005). L'effet antibactérien *in vitro* de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis à vis de souches d'origine clinique. *Nouvelles Tendances dans l'Ingénierie Biomédicale*, 11: 142-149.
- Bouhdid S., Skali S.N., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Amensour M., Abrini J. (2008). Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. *African Journal of Biotechnology*, 7: 1563-1570.
- Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A., Zhiri A., (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique*, Volume 31, Numéro 3.
- Burnichon N., Texier A. (2003). L'antibiogramme: la détermination des sensibilités aux antibiotiques. Des bactériologie-Semestre été 2003, Exposé du 20 juin 2003.
- Burt S.A. (2003). Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia Coli* O 157:47, *Lett. Appl. Microbial.*, 36: 162-167.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Intern. Journ. of Food Microbiol.*, 94: 223-253.
- Chami F., Chami N., Bennis S., Bouchikhi T., Remmal A., (2005). Oregano and Clove essential oils induced surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*, *Phytother. Res.*, 19: 405-408.
- Cristiani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., Venuti V., Bisignano G., Saija A., Trombetta D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *J. of Agric. and Food Chem.*, 55: 6300-6308.
- Dorman H.J., Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, 88: 308-316.
- Ela M.A.A. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, 51: 993-994.
- Friedman M., Henika P.R., Mandrell R.E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolate d constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J. Food Prot.*, 65: 1545-156.
- Gill A. O., Holley R. A., (2006). Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int J Food Microbiol.* 111: 170-174.
- Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S., Nigam P.S. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 1070-1078.
- Jamali A.C., Kasrati A., Bekkouche K., Hassani L., Wohlmuth H., Leach D., Abbad A. (2013). Phenological changes to the chemical composition and biological activity of the essential oil from Moroccan endemic thyme (*Thymus maroccanus* Ball). *Industrial Crops and Products*, 49: 366-372.
- Jeong E. Y., Lim J. H., Kim H. G., Lee H. S. (2008). Acaricidal activity of *Thymus vulgaris* oil and its main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored food mite. *J. Food Prot.*, 71: 351-355.
- Meena M.R., Sethi V. (1994). Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *J. food Science and Tecnology Mysor*, 31: 68-70
- Melegari M., Severi F., Bertoldi M., Benvenuti S., Circetta G., Morone Fortunato I., Bianchi A., Leto C., Carrubba A. (1995). Chemical characterization of essential oils of some *Origanum vulgare* L. sub species of various origin, *EPPO S*, 16: 21-27.
- Ponce A.G., Fritz R., DEL Valle C., Roura S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic*, 36: 670-684.
- Rahmatallah N., El Houadfi M., Nassik S., El Rhaffouli M., Lahlou Amine I, (2017). Détection de souches multi-résistantes d'*Escherichia coli* d'origine aviaire dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer, *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.*, 5: 96-102.
- Remmal A., Tantaoui Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M. (1993). Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in Agar medium. *J. Essent. Oil. Res.*, 5: 179-184.
- Rhayour K., T. Bouchikhi, A. Tantaoui-Elaraki, K. Sendide and A. Remmal (2001). The mechanism of bactericidal action of Oregano and Clove essential oils and their phenolic major components in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, *Journal of essential oil research*, 15:356-362.
- Robineau B., Moalic P.M. (2010). Une maladie d'actualité en production aviaire : la colibacillose. colibacillosis, a current disease in poultry production. *bull. acad.vét. france* -tome 163 - n°3, 207-212.
- Rota M.C., Herrera A., Martínez R.M., Sotomayor J.A., Jordán M.J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19: 681 -687.

- Rožman T., Jeršek B. (2009). Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta agriculturae Slovenica*, 93: 51-58.
- Satrani B., Farah A., Fechtal M., Talbi M., Blaghen M., Chaouch A. (2001). Composition chimique et activité anti-bactérienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du Maroc. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 94: 241-250.
- Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D., Talbi M. (2007). Composition chimique et activité anti-microbienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146: 85-96.
- Siaka K. (2001). Extraction des huiles essentielles par distillation. Gate Information Service/gtz, PO Box 5180, 65726 Eschborn, Germany.
- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou, Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *J. Agric. Food.*, 44: 1202-1205.
- Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G., Johnson C. B. (1999), A chemosystematic investigation on the mono and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae), *Phytochemistry*, 52: 649-657.
- Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M.G., Venuti V., Cristanim., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., Bisignano G. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 2474-2478.
- Ultee A., Bennis M.H.J., Moezelaar R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against food - borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 1561-1568.
- Veldhuizen E.J.A., Tjeerdsma-van Bokhoven J.L.M., Zweijtzter C., Burt S.A., Haagsman, H.P. (2006). Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 1874-1879.
- Yamazaki K., Yamamoto T., Kawai Y, Inoue N., (2004). Enhancement of antilisterial activity of essential oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid ester. *Food Microbiol.* 21: 283-289.
- Zohary M., Davis P.H. (2004). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus eigii*. *J. Agric. Food Chem.*, 52.