

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Présenté par

M<sup>lle</sup>. Dmir Samira et M<sup>lle</sup>. Hammou Djihene

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Microbiologie Fondamentale**

**THÈME**

**Contribution à l'évaluation du pouvoir antimicrobien  
des extraits hydro-éthanolique de *Rosmarinus  
officinalis. L* (romarin) de la région Naama sur certains  
germes responsables de toxi-infections alimentaires.**

Soutenue publiquement le : 11/07/2019

DEVANT LE JURY :

Président :	M. BEKKADA. A	Prof.	CU. Tissemsilt
Examineur :	M. Djibaoui. R	Prof	U. Mostaganem
Encadreur :	Mme.AIT CHABANE. O	MCB	U. Mostaganem
Co- encadreur :	M. AIT SAADA. D	MCA	U. Mostaganem
Invité :	M <sup>lle</sup> . Babadji. K	Doctorante	U . Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition et le laboratoire pédagogique  
de Microbiologie de l'Université de Mostaganem*

Année universitaire : 2018/2019

## ***Remerciements***

**Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donnée le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.**

**Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à monsieur Ait Saada et Mme Ait Chaabane pour leurs précieuses aides, leurs orientations et le temps qu'ils nous ont accordé pour notre encadrement.**

**Nous tenons à remercier aussi les membres de jury monsieur le président Bekkada et monsieur Djibaoui de l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner ce travail.**

**Merci également à toute le personnel exerçant au laboratoire de technologie alimentaire et nutrition et laboratoire de microbiologie en l'accurence: Mme Benati Fatima, la doctorante Khedija Bebadji, et Mme Belhouari Nouria.**

**Nous tenons à exprimer notre vive gratitude à tous les enseignants qui ont participé de prêt ou de loin à notre formation, du primaire au cycle universitaire.**

**Nous remercions également tous ceux qui nous ont prêté main forte pour la mise au pont de ce travail.**

**LISTE DES SIGLES ET ABREVIATION**

<b>TAI</b> : Toxi-infections alimentaires. ....	2
<b>TIAC</b> : Toxi-infections alimentaires collectives. ....	2
<b>°C</b> : degré Celsius. ....	2
<b>µm</b> : Micromètre. ....	6
<b>Aw</b> : Activité de l'eau. ....	6
<b>Nacl</b> : Chlorure de sodium. ....	6
<b>FDA</b> : Food and Drug Administration. ....	9
<b>H<sub>2</sub>S</b> : le sulfure d'hydrogène. ....	12
<b>CZ</b> : Condition à Zéro. ....	12
<b>GEL</b> : Gélatine. ....	12
<b>TDA</b> : Tryptophane Désaminase. ....	12
<b>ADH</b> : Hormone Antidiurétique. ....	12
<b>RM</b> : Rouge de méthyle. ....	12
<b>HIV</b> : Virus de l'Immunodéficience Humaine. ....	42
<b>AMP</b> : Adénosine Mono Phosphate. ....	43
<b>ATP</b> : Adénosine Tri Phosphate. ....	43
<b>MH</b> : Gélose Muller Hinton. ....	44
<b>MH</b> : Bouillon Muller Hinton. ....	44
<b>CMI</b> : Concentration minimal inhibitrice. ....	51
<b>DO</b> : densité optique. ....	53
<b>DI</b> : la densité optique sans extrait du romarin poivré avant incubation. ....	53
<b>di</b> : La densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant incubation. ....	53
<b>df</b> : la densité optique dans la solution phénoliqueensemencée après incubation. ....	53
<b>S</b> : Taux de service du microorganisme. ....	53
<b>CMB</b> : Concentration minimal bactéricide. ....	55

LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Observation par le microscope électronique de la morphologie des <i>Staphylococcus aureus</i> G x 18,501 .....	6
<b>Figure 2</b> : Observation microscopique de la morphologie des <i>Escherichia coli</i> G x 1000.....	11
<b>Figure 3</b> : <i>Les salmonelles</i> .....	14
<b>Figure 4</b> : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
<b>Figure 5</b> : <i>Rosmarinus officinalis L.</i> (Romarin) récolté dans la région Naama Algérie.....	24
<b>Figure 6</b> : Structure du noyau phénol .....	32
<b>Figure 7</b> : Principaux acides hydroxybenzoïque .....	34
<b>Figure 8</b> : Principaux acides hydroxycinnamiques .....	34
<b>Figure 9</b> : Structure de base des flavonoïdes .....	35
<b>Figure 10</b> : Structure chimique d'anthocyane .....	37
<b>Figure 11</b> : Un exemple de stilbènes (resvératrol) .....	38
<b>Figure 12</b> : Structure chimique des lignines .....	39
<b>Figure 13</b> : Structure chimique d'un hydrolysables (Gallotannins(1), Ellagitannins(2) ).....	40
<b>Figure 14</b> : Structure générale des proanthocyanidines .....	41
<b>Figure 15</b> : Localisation géographique de la région d'étude(Naama).....	45
<b>Figure 16</b> : Poudre végétale.....	46
<b>Figure17</b> : Etape d'agitation.....	47
<b>Figure 18</b> : Etape d'évaporation sous vide au rotavapeur .....	47
<b>Figure 19</b> . Diagramme d'extraction et de dilution de l'extrait de Romarin.....	48
<b>Figure20</b> . Diagramme d'activation des germes pathogènes utilisés.....	49
<b>Figure21</b> . Méthode de contact direct.....	51
<b>Figure22</b> . Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	52
<b>Figure23</b> . Détermination de la CMI de l'extrait de Romarin.....	54
<b>Figure24</b> . Détermination de la CMB des germes.....	56
<b>Figure 25</b> : Effets de l'extrait éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur les certains germes pathogènes.....	58
<b>Figure 26</b> : Effets de l'extrait éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur les diamètres d'inhibition de certains germes pathogènes .....	61

**Figure 27 :** Concentrations minimales bactéricides (CMB) de l'extrait éthanolique de *Rosmarinus officinalis L.* chez certains germes pathogènes ..... 65

LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> caractéristique de survie, de croissance, et de toxigène de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	6
<b>Tableau 2 :</b> Classification de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
<b>Tableau 3 :</b> Classification d' <i>Escherichia coli</i> .....	11
<b>Tableau 4 :</b> Les caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> .....	12
<b>Tableau 5 :</b> Classification des <i>Salmonelles</i> .....	14
<b>Tableau 6 :</b> Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
<b>Tableau 7 :</b> Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	26
<b>Tableau 8 :</b> Principales classes des composés phénolique .....	33
<b>Tableau 9 :</b> Les principales familles de flavonoïdes .....	36
<b>Tableau 10 :</b> effet des extraits phénoliques à l'éthanol de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur la croissance de certains germes pathogène .....	59
<b>Tableau 11 :</b> effet des extraits phénoliques à l'éthanol de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur le taux de croissance de certains germes pathogènes .....	60
<b>Tableau 12 :</b> effet des extraits phénoliques à l'éthanol de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur le diamètre d'inhibition de certains germes pathogènes .....	62
<b>Tableau 13:</b> effet des extraits phénoliques à l'éthanol de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> sur le taux d'inhibition de <i>certaines</i> germes pathogènes .....	63
<b>Tableau 14 :</b> Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> prélevé dans la région de Naama chez certains germes pathogènes .....	64
<b>Tableau 15 :</b> Type d'inhibition de l'extrait éthanolique de Romarin exerce chez certains germes pathogènes .....	66

TABLE DE MATIERE

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

**Partie 1:Etude bibliographique**

**Chapitre I :Généralité sur les toxi-infections alimentaires**

**Définition**

1.Toxi-infections alimentaires(TIA)..... 2

2.Toxi-infections alimentaires collectives(TIAC)..... 2

3.Toxi-infections alimentaires à Staphylocoques ..... 2

3.1. Généralités.....2

3.2. Aliments responsables..... 2

4. Germes anaérobies ..... 3

4.1. Généralités..... 3

4.2. Aliments responsables..... 3

5. Salmonelles..... 4

5.1. Généralités..... 4

5.2. Aliments responsables..... 4

6. Comment éviter les toxi-infections alimentaires ?..... 5

**Chapitre II : Principaux germes de toxi-infection alimentaire**

1. *Staphylococcus aureus* ..... 6

1.1.Définition ..... 6

1.2.Classification..... 6

1.3.Habitat..... 7

1.4.Infections à *Staphylococcus aureus*..... 8

1.4.1. Chez l'homme..... 8

1.4.1.1. Types d'infections.....	8
1.4.1.2. Acquisition de l'infection.....	8
1.4.2. Clinique.....	9
1.4.2.1. Symptômes.....	9
1.4.2.2. Traitements disponibles et résistances aux antibiotiques.....	9
1.5. Sensibilité aux antibiotiques.....	9
2. <i>Escherichia Coli</i> .....	10
2.1. Historique.....	10
2.2. Définition.....	10
2.3. Classification.....	11
2.4. Habitat_Réservoir.....	11
2.5. Caractères bactériologique.....	12
2.5.1. Caractères morphologiques et culturels.....	12
2.5.2. Caractères biochimique.....	12
2.6. Le pouvoir pathogène.....	12
2.7. Résistance aux antibiotiques .....	13
3. <i>Salmonella typhi</i> .....	13
3.1. Généralité.....	13
3.2. Classification.....	14
3.3. Habitat.....	14
3.4. Pouvoir pathogène.....	15
3.5. Sensibilité aux antibiotiques.....	15
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
4.1. Généralités.....	16
4.2. Classification.....	17
4.3. Habitat .....	17
4.4. Pouvoir pathogène.....	17
4.5. La multi résistances chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
<b>Chapitre III: Plantes médicinales et importances de <i>Rosmarinus Officinalis L.</i> (Romarin)</b>	
1. Généralités sur les plantes médicinales.....	19
1.1. Définition .....	19
1.2. Pouvoir des plante .....	19
1.3. Efficacité des plantes entières.....	19

<b>2. <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romarin)</b> .....	20
<b>2.1. Historique</b> .....	20
<b>2.2. Définition</b> .....	24
<b>2.3. Compositions du romarin</b> .....	25
<b>2.4. Origine et position systématique</b> .....	25
<b>2.5. Description Botanique</b> .....	27
<b>2.6. Ecologie et répartition de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.</b> .....	27
<b>2.6.1. Ecologie</b> .....	27
<b>2.6.2. Répartition géographique</b> .....	27
<b>2.7. Utilisation du Romarin</b> .....	28
<b>2.8. Propriétés pharmacologique et thérapeutique du Romarin</b> .....	29
<b>Chapitre IV : Les composés phénoliques des plantes</b> .....	32
<b>1. Présentations générale sur les poly phénols</b> .....	32
<b>2. Définition</b> .....	32
<b>3. Composés phénoliques des plantes</b> .....	33
<b>3.1. Acides phénols simples</b> .....	33
<b>3.2. Acide hydroxybenzoïque</b> .....	33
<b>3.3. Acide hydroxycinnamique</b> .....	34
<b>3.4. Flavonoïdes</b> .....	35
<b>3.5. Anthocyanines</b> .....	37
<b>3.6. Stilbènes</b> .....	37
<b>3.7. Libnines</b> .....	38
<b>3.8. Tannins</b> .....	39
<b>3.8.1. Tanins hydrolysables</b> .....	40
<b>4. les pouvoirs des principaux composés phénoliques des plantes et leurs effets sur la santé</b> .....	41
<b>4.1. Effet antimicrobienne des polyphénols</b> .....	41
<b>4.2. Propriétés anticancéreuses</b> .....	42
<b>4.3. Propriétés anti inflammatoires</b> .....	42
<b>4.4. Propriétés antivirales</b> .....	42
<b>4.5. Propriétés antiallergiques</b> .....	43

**Partie 2 : Méthodologie**

1 .Objectif.....	44
2 .Matériels.....	44
2.1. Matériels végétale .....	44
2.2. Matériels du laboratoire.....	44
3. Méthode.....	45
3.1. Région de prélèvement et traitement préliminaire des échantillons.....	45
3.2. Méthodes d'extraction des composés bioactifs de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	46
3.3. Activation des germes microbiens.....	47
3.4. Méthode de contact direct.....	50
3.5. Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	50
3.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	53
3.7. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	55
4. Traitement statistiques.....	56

**Partie 3 : Résultats Discussion**

1. Résultats .....	58
1.1. Test de croissance des germes pathogènes.....	58
1.2. Taux de croissances des germes pathogènes.....	60
1.3. Diamètre d'inhibition .....	61
1.4. Taux d'inhibition des germes pathogènes.....	63
1.5. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des germes étudiés.....	64
1.6. Concentration minimale bactéricides (CMB) des germes étudiés.....	65
1.7. Type d'inhibition de l'extrait éthanolique aqueux de Romarin.....	66
2. Discussion.....	67
3. Conclusion.....	70

**Références bibliographique**

**Annexes**

**Résumé :**

Ce travail s'intéresse à la valorisation d'une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis L.*) qui appartient à la famille des Lamiaceae et pousse à l'état spontané dans la région Naama. C'est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques à cause de sa richesse en composés actifs. Cela a conduit à l'extraction des composés phénoliques à partir de ses feuilles avec l'éthanol, suivi d'une évaluation de l'activité antimicrobienne de cette extrait vis-à-vis des quatre germes responsables de toxi-infection alimentaire (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhi*). Les mesures et contrôles réalisés en triples essais ont concernés (le test de croissance, test de diffusion sur disque, Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration Minimale Bactéricide (CMB)).

D'une façon globale, l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis L.* a présenté une activité antimicrobienne très proche de la gentamicine considéré comme étant un antibiotique à l'âge spectre. Cet extrait a révélé un mode d'action de type bactéricide vis-à-vis des souches étudiées.

**Les mots clés :** *Rosmarinus officinalis L.*, extrait hydroéthanolique, activité antimicrobienne.

**Abstract :**

This work focuses on the development of a medicinal plant (*Rosmarinus officinalis L.*) that belongs to the Lamiaceae family and grows spontaneously in the Naama region. It is a plant widely used in traditional medicine for therapeutic purposes because of its high content of phenolic compounds from its leaves with ethanol, followed by an evaluation of the antimicrobial activity of this extract vis-a-vis the four germs responsible for food poisoning (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*). Measurements and tests carried out in triplicate trials (growth test, disk diffusion test, minimal inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration).

Overall, the hydroethanolic extract of *Rosmarinus officinalis L.* exhibited an antimicrobial activity very close to gentamicin considered to be an antibiotic at the age spectrum. This extract revealed a bactericidal type of action against the studied strains.

**Key words :** *Rosmarinus officinalis*, hydroethanolic extract, antimicrobial activity.

## المخلص:

يركز هذا العمل على تثمين نبات طبي ( إكليل الجبل ) ينتمي إلى عائلة Lamiaceae وينمو تلقائيًا

في منطقة النعامة. إنه نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي للأغراض العلاجية بسبب ثرائه في المركبات النشطة. أدى ذلك إلى استخلاص المركبات الفينولية من أوراقها بالإيثانول ، يليه تقييم للنشاط المضاد للميكروبات لهذا المستخلص ضد الكائنات الحية الدقيقة الأربعة المسؤولة عن التسمم الغذائي (المكورة العنقودية *Staphylococcus aureus* ، زائفة زنجارية *Pseudomonas aeruginosa* و ايشريشيا القولون *Escherichia coli* و سلمونيلا تيفية *Salmonella typhi*) القياسات والضوابط التي أجريت في التجارب الثلاث المعنية (اختبار النمو ، واختبار نشر القرص ، والتركيز المانع الأدنى (CMI) والتركيز الحد الأدنى للبكتيريا (CMB).

بشكل عام ، أظهر المستخلص الهيدروإيثانولي من إكليل الجبل نشاطًا مضادًا للميكروبات يشبه إلى حد بعيد الجنتاميسين الذي يُعتبر مضادًا حيويًا في عصر الطيف. كشف هذا المستخلص عن طريقة عمل من النوع المبيد للجراثيم تجاه السلالات المدروسة.

الكلمات المفتاحية : إكليل الجبل ، المستخلص المائي ، النشاط المضاد للميكروبات.

# **Introduction**

## Introduction :

Depuis toujours, à travers toutes les civilisations, l'homme s'est servi des plantes surtout aromatiques, d'abord dans son alimentation, et puis pour se soigner. De nos jours, le romarin est considéré comme étant une des plantes médicinales les plus intéressantes dans la protection et la conservation de la santé. Elle est utilisée aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Mostafa, 2011**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries se sont peu à peu adaptées aux médicaments et leur résistance de plus en plus accrue (**Edition Larousse, 2001**). Une grande partie des recherches actuelles sont portées surtout sur l'étude des molécules antimicrobiennes comme les poly phénols, susceptibles de se substituer à ces traitements conventionnels.

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis L.*), herbe aromatique de la famille des Labiées, très appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, et anti-tumorales, et largement utilisé dans les produits pharmaceutique et en médecine traditionnelle (**Athamena, 2009**).

L'objectif de cette présente étude consiste à tester l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis L.* vis-à-vis de quatre germes responsables de toxi-infection alimentaires à savoir *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Le manuscrit est subdivisé en trois parties :

La première partie a été consacrée à l'étude bibliographique portée sur les intoxications alimentaires, les principaux germes responsables de toxi-infections alimentaires et des généralités sur la plante objet de l'étude ; *Rosmarinus officinalis L.*

La seconde partie décrit la méthodologie de recherche, le matériel et les méthodes utilisées dans l'étude expérimentale.

La troisième partie, enfin, retrace la discussion des résultats expérimentaux obtenus, achevée par une conclusion générale, et des perspectives sur le développement dans le domaine entrepris chez *Rosmarinus officinalis L.*

**Partie I :**  
**Etude bibliographique**

**Chapitre I :**  
**Généralité sur les toxi-infections**  
**alimentaires**

## Chapitre I : Les toxi-infections alimentaires

### Définitions :

#### 1. Toxi-infections alimentaires (TIA) :

Les TIA représentent l'ensemble des accidents résultant de l'ingestion d'un aliment contaminé par des microorganismes pathogènes. (Pechère *et al.*, 1994)

#### 2. Toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) :

Sont fréquentes et parfois graves, elles représentent un véritable problème de santé publique et sont, de ce fait, incluses parmi les maladies transmissibles à déclaration obligatoire. Un foyer de TIAC est défini par l'apparition d'au moins deux cas d'une symptomatologie, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. La surveillance, le contrôle et la prévention des TIAC nécessitent une collaboration étroite entre les médecins, les vétérinaires, les épidémiologistes et les professionnels de la restauration collective et du secteur agro-alimentaire (Amat, 1997).

#### 3. Toxi-infections alimentaires à Staphylocoques :

##### 3.1. Généralités :

La souillure alimentaire staphylococcique est général d'origine humaine. Déposés dans les aliments, les staphylocoques se multiplient et ceci d'autant plus facilement et rapidement que la température ambiante est au environ de 30°C. Cette multiplication s'accompagne de l'élaboration d'une entérotoxine thermostable, résistant à une température du 100°C pendant 30 minutes et responsable de troubles digestifs observés. Plus les germes sont nombreux, plus la quantité de toxine élaborée est importante et plus la symptomatologie sera marquée chez le consommateur. Dans des conditions thermiques favorables, il ne faut parfois quelques heures pour rendre un produit très dangereux à la consommation. Sa conservation au froid diminuerait les risques de toxi-infection car la croissance bactérienne est stoppée à basse température (Buyser, 1985).

##### 3.2. Aliments responsables :

Certains aliments sont plus aptes et favorables au développement des Staphylocoque ; le germe est retrouvé préférentiellement dans :

- Les gâteaux à la crème ;
- La charcuterie (pate,cachir) ;
- Les conservations de poissons (sardines à l'huile) ;
- Les plates cuisines ;
- Les viandes et dérivés ;
- Et les crèmes glacées.

La contamination de ces différents aliments est due en général à des manipulations par des malades atteints de lésions staphylococciques ou par des porteurs de germes (**Beerens, 1985**).

#### **4. Germes anaérobies :**

##### **4 .1.Généralités :**

Actuellement ces germes anaérobies sont très souvent la cause de toxi-infections alimentaires collectives. Leur recherche permet aujourd'hui de les dépister plus fréquemment ces germes sont retrouvés un peu partout : dans le sol, la boue, les eaux, douces et sales, les poussières de l'air. Saprophytes des cavités naturelles de l'homme, ils sont aussi les hôtes de nombreux animaux qui les éliminent dans leurs excréments. Déposés dans un aliment, ces germes se multiplient en élaborant une toxine, d'autant plus facilement la que température est proche de 37°C et que le pH du milieu est aux alentours de 7 Plus le nombre de germes est grand est grand plus la symptomatologie est nette. Un chauffage à 100°C pendant une à deux minutes détruit ces germes. Toutefois certains d'entre eux possèdent une spore thermorésistante à 100°C pendant une heure (**Andre, 1982**).

##### **4.2. Aliments responsables :**

Les aliments souillés sont très divers mais les observations citées montrent une fréquence plus grande de certains :

\_ Plats cuisinés surtout, préparés la veille et réchauffés insuffisamment au moment du service.

- Langue de bœuf ;
- Veau aux champignons ;
- Bourek à la viande hachée ;

- Poulet rôti.

\_ Viandes et volailles

- Viande hachée ;
- Roti de veau ;
- Pate.

Ces différents aliments peuvent être souillés à leur origine ou lors de leur préparation par des manipulations malpropres (**Andre, 1982**).

## 5. Salmonelles :

### 5.1. Généralités :

Les salmonelles peuvent être d'origine animale notamment retrouvées chez les volailles et le cheval ou d'origine humaine. Elles prolifèrent dans le tube digestif des animaux ou des sujets atteints et sont éliminées dans les matières fécales. La souillure alimentaire par ces germes peut donc faire incriminer, entre autre, l'existence de porteur de germes parmi le personnel de cuisine, aggravée par une hygiène déficiente : mains sales. Cette contamination primitive ou secondaire explique la diversité des aliments souillés (**Rozier, 1983**).

### 5.2. Aliments responsables :

Actuellement, c'est la viande consommée mal cuite qui représente le danger principal de salmonellose. Cette viande peut provenir d'un animal malade ou être souillée secondairement au cours de diverses manipulations. La contamination est plus grande pour les viandes hachées, attendries ou travaillées. D'autres aliments peuvent favoriser le développement d'une telle souillure :

- Les gâteaux à la crème ;
- Les glaces.

Certains enfin peuvent être souillés à leur origine comme: les œufs et notamment les œufs canes. Les œufs peuvent être contaminés lors de leurs formation, l'ovaire et l'oviducte des canes et des poules renferment des Salmonelles, ou après leur ponte par porosité de leur coquille (**Rozier, 1983**).

## 6. Comment éviter les toxi-infections alimentaires ?

Sur un plan général, il est toujours préférable de consommer de la viande et des ovo produits cuits plutôt que crus.

La cuisson est un facteur important de sécurité. Or, de nouvelles habitudes alimentaires et des modes venues d'ailleurs poussent à la consommation d'aliments crus ou peu cuits, et donc plus susceptibles d'être contaminés.

En général, les bactéries se trouvent en surface ; c'est donc la cuisson qui permet de les détruire. Le fait de hacher la viande pousse les bactéries vers l'intérieur du steak ou elles peuvent rester viables si la cuisson à cœur est insuffisante. Il en va de même pour le lait. **(Jean, 2011).**

### 6.1. Rupture de la chaîne du froid :

Quant au consommateur, son information doit se compléter et sa vigilance s'exercer pour éliminer les risques de toxi-infections. Les causes les plus fréquentes sont dues à la consommation d'œufs et de produits à base d'œufs, de viande hachée, de coquillages, de pâtisseries, de crèmes et de glaces. Une des erreurs les plus communes est la rupture de la chaîne du froid. Il est important de ne pas laisser dans le coffre de son véhicule, au soleil dans un parking, les aliments frais que l'on vient d'acquérir. Il est nécessaire de les placer le plus rapidement possible au réfrigérateur ou au congélateur.

Encore convient-il que le réfrigérateur soit réglé à température correcte, 2 à 4°C. Il faut procéder le plus souvent possible au nettoyage et à la désinfection des réfrigérateurs et se souvenir que le froid ne tue pas les microbes.

Les consommateurs sont désormais bien informés du danger potentiel de botulisme due aux conserves familiales non correctement stérilisés. Ils savent également respecter la date de péremption d'un produit frais. Il s'agit là de précautions élémentaires qui ne devraient pas priver nos concitoyens du plaisir d'un repas bien équilibré et pris dans une ambiance chaleureuse **(Jean, 2011).**

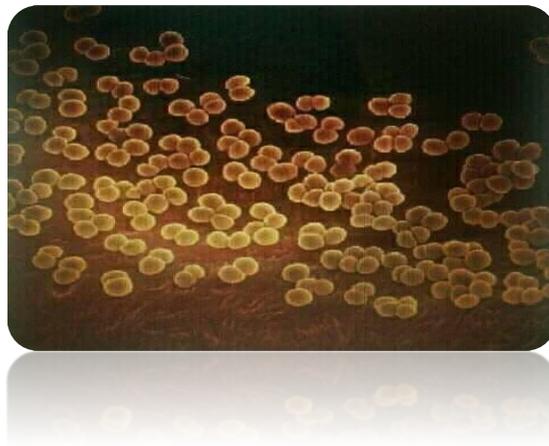
**Chapitre II :**  
**Principaux germes de toxi-infection**  
**alimentaire**

## Chapitre II : Principaux germes de toxi-infection alimentaire

### 1. *Staphylococcus aureus* :

#### 1.1. Définition :

*Staphylococcus aureus* est une coque à coloration de Gram+. Il mesure de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. *Staphylococcus aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée Staphylocoque doré, produit de nombreuses toxines (De Buyser et Sutra, 2005) (Figure01). Les caractéristiques de *Staphylococcus aureus* sont mentionnées dans le (tableau 1).



**Figure01.** Observation par le microscope électronique de la morphologie des *Staphylococcus aureus* G x 18,501. <http://cellimagelibrary.org/images/40593>

**Tableau 1.** Caractéristiques de survie, de croissance, et de toxinogène de *Staphylococcus aureus* (De Buyser et Sutra, 2005)

Paramètre	Croissance : Optimum	Croissance : Extrêmes	Toxines : Production optimale	Toxine: Limites de production
Température °C	35 – 41	6 – 48	34 – 40	10 – 45
Ph	6 – 7	4 – 10	7 – 8	5 – 9,6
Aw	0,99	0,83 – 0,99	0,99	0,86 – 0,99
Nacl (%)	0 – 4	0 – 10	0 – 4	0 – 10
Atmosphère	Aérobie	Aéro-anaérobie	Aérobie	Aéro-anaérobie

## 1.2. Classification :

La classification de *Staphylococcus aureus* est figurée dans le tableau

**Tableau 2.** Classification de *Staphylococcus aureus* : (Sutra et al., 1998 ; Delarras, 2007).

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Phylum</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Staphylococcaceae
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

## 1.3. Habitat :

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur ; mais aussi en commensal des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux. L'homme constitue un réservoir de plusieurs espèces de Staphylocoques, dont *Staphylococcus aureus*. La bactérie colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveau-nés puis reste en portage chronique chez 20% des individus sains et en portage intermittent chez 30 à 50% d'entre eux. Les porteurs chroniques sont colonisés par une souche présente en forte densité, au contraire des porteurs intermittents colonisés par des clones différents au fil du temps et présents à des densités plus faibles. De ce fait, les porteurs chroniques, sont plus à risque d'infection (Wertheim et al., 2005).

Différents facteurs de risque de colonisation liés à l'hôte sont identifiés :

- Les sujets masculins ;
- Un âge supérieur à 60 ans ;
- L'éthylisme chronique ;
- Le diabète ;
- La présence d'un néoplasie ;
- D'une insuffisance rénale terminale ou encore les pathologies pulmonaires chroniques (Wertheim et al., 2005).

#### **1.4. Infections à *Staphylococcus aureus* :**

##### **1.4.1. Chez l'homme :**

###### **1.4.1.1. Types d'infections :**

*Staphylococcus aureus* est une bactérie pathogène pouvant être responsables de différents types d'infections, selon la nature de la souche et la qualité de la réponse immunitaire de l'hôte. La sécrétion de toxines in vivo lors d'une infection par *Staphylococcus aureus* peut entraîner des pathologies sévères telles que le syndrome du choc toxique, rare mais fatal. **(Delsolar et al., 1987)**. La sécrétion d'entérotoxines, quant à elle, peut entraîner une intoxication alimentaire suite à l'ingestion d'aliments contaminés **(Soares et al., 1997)**. *Staphylococcus aureus* est responsable d'infections cutanéomuqueuses suite à sa pénétration au travers de l'épithélium, notamment à la faveur d'une brèche. Ces infections peuvent rester locales, mais peuvent aussi être le point de départ de suppurations profondes ou d'infections généralisées et conduire à une septicémie éventuellement accompagnée d'une Purpura fulminans **(Jarraud, 2002)**.

###### **1.4.1.2. Acquisition de l'infection :**

Chez l'homme, il est distingué 2 types d'infections staphylococciques :

- \_ Les infections acquises en communauté ;
- \_ Et infections nosocomiales, acquises en établissement de santé **(Ferry et al., 2005)**.

###### **1.4.1.2.1. Infections communautaires :**

Au sein d'une communauté (ex. internats, maisons de retraite, casernes militaires) la majorité des infections à *Staphylococcus aureus* sont des infections de la peau ou des tissus mous. Néanmoins, des cas mortels ont aussi été rapportés, comme des pneumonies nécrosantes ou des septicémies. Les infections communautaires sont plus fréquentes chez les enfants en bonne santé que chez les adultes. Ces études réalisées sur des échantillons aléatoires d'individus immunocompétents montrent qu'il ne semble exister aucune prédisposition particulière à l'infections. Ainsi, malgré un système immunitaire fonctionnel, il existe une grande variabilité de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* et les causes de cette variabilité sont encore mal connues **(Miller et al., 2009)**.

#### **1.4.1.2.2. Infections nosocomiales :**

Selon l’OMS, les infections nosocomiales sont des infections survenant chez un patient admis à l’hôpital ou dans un autre établissement de santé pour une raison autre que cette infection et chez qui elle n’était ni présente ni en incubation au moment de l’admission à l’hôpital. *Staphylococcus aureus* est la principale cause bactérienne, d’infections de la peau et des tissus mous, d’endocardites et de pneumonies. La mortalité due à une infection par *Staphylococcus aureus* ne cesse de croître, en raison notamment de l’émergence de résistances multiples aux antibiotiques. Les individus les plus touchés sont les personnes âgées, les jeunes enfants ou les immunodéprimés, ayant un système immunitaire moins compétents et plus affaibli. La transmission dans les hôpitaux peut être manu portée dans le cas d’une hygiène insuffisante du personnel soignant ou bien provenir du matériel médical comme les aiguilles de suture, les prothèses ou encore les dispositifs intra vasculaires tels que cathéters et valves cardiaque artificielle (Lowy, 2003).

#### **1.4.2. Clinique :**

##### **1.4.2.1. Symptômes :**

Dans le cas d’intoxications alimentaires, il est observé habituellement des vomissements violents souvent accompagnés de diarrhées pendant un à deux jours, suivis d’une guérison complète. La FDA (Food and Drug Administration) rapporte que le décès d’un individu suite à une intoxication alimentaire par *Staphylococcus aureus* est un évènement très rare

(Leloir *et al.*, 2003).

##### **1.4.2.2. Traitements disponibles et résistances aux antibiotiques :**

Dans les années 1940, la pénicilline permit la guérison de patients d’infections auparavant mortelles, signant le début de l’ère de l’antibiothérapie. Néanmoins en 1942, apparut la première souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline (Benhamou, 2005). Par leur nouvel avantage sélectif, ces souches résistantes sont rapidement devenues majoritaires, rendant la pénicilline inefficace contre près de 90% des souches de *Staphylococcus aureus*. (Benhamou, 2005).

Le développement de nouvelles molécules efficaces contre ces souches, telles que la méticilline, a alors permis de pour suivre la bute contre *Staphylococcus aureus*. Malheureusement, quelques années seulement ont été suffisants pour voir émerger les

premières souches résistantes à la méticiline, avec la première souche résistantes isolée en 1961 (**Tremblay, 2008**).

En conclusion, le choix de l'antibiothérapie doit être réfléchi en fonction de la souche en cause, de la localisation et de la gravité de l'infection, du niveau d'immunocompétence et d'éventuelles allergies du patient.

## **2. *Escherichia coli* :**

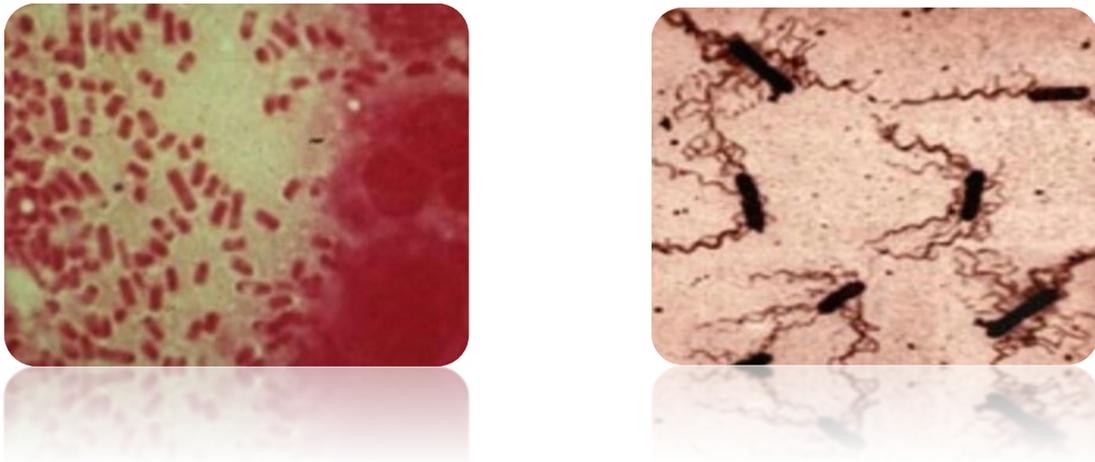
### **2.1. Historique :**

En 1885, Allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*, bactérie isolée à partir de celles de nourrissons, qu'il nommé tout d'abord Bactérium coli puis renommé *Escherichia coli* (*E. coli*) en 1895 par Migula (**Denis et al., 2007**) (Figure 02).

### **2.2. Définition :**

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, dont seul *Escherichia coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme. *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (**Avril et al., 2000**).

Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, ou il participe à la barrière intestinale en arrêtant la croissance d'espèces bactériennes nuisibles. La colonisation du tube digestif commence dès les première heures après la naissance et le rythme de division d'*E. coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore (une division toute les 20 min à 37°C et en conditions favorables). La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. Sa présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation (**Aril, 1987**) (**Figure 02**).



**Figure02.** Observation microscopique de la morphologie d'*Escherichia coli* G x 1000 (Bakhoum, 2004).

### 2.3. Classification :

La classification d'*Escherichia coli* est illustrée dans le tableau (Tableau 03).

**Tableau 3.** La classification d'*Escherichia coli* selon (Bergey's manuel 2012)

<b>Règne</b>	<b>Bacteria</b>
<b>Embranchement</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gamma proteobacteria
<b>Ordre</b>	Enterobacteriales
<b>Famille</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Escherichia (E. coli)</i>

### 2.4. Habitat et Réservoir :

Bactérie commensale du tube digestif, *Escherichia coli* est l'espèce la plus importante des anaérobies facultatifs de l'intestin, elle est retrouvée à un taux de 10 bactéries par gramme de fèces. La présence d'*Escherichia coli* dans l'eau est témoin d'une contamination fécale qui la rend impropre à la consommation pour l'homme et l'animal (James *et al.*, 2004).

## **2.5. Caractères bactériologiques :**

### **2.5.1. Caractères morphologiques et culturaux :**

*Escherichia coli* ou colibacille est une bactérie non sporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril *et al.*, 2000).

### **2.5.2. Caractères biochimique :**

*Escherichia coli* possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (Avril *et al.*, 2006). Ces caractères sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 4:** Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* :

Test	GLU	Lac	H2S	GAZ	CZ	ONIG	GEL	MAL	NIT
Résultat	+	+	-	+	-	+	-	-	-

Test	LDS	ODS	ADH	UBE	TDA	END	RM	JP	ESC
Résultat	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+	-	-

+ : caractères positif ;

- : caractères négatif ;

+/- : caractères inconstant.

## **2.5. Pouvoir pathogène :**

*Escherichia Coli* est responsable d'infections extra-intestinales :

\_ Infections urinaires ;

\_ Infection abdominales ;

- \_ Infection méningées néonatales (*E. coli* KI) ;
- \_ Et Septicémie avec choc septique due à l'endotoxine O.

L'existence des diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotype particuliers qui provoquent soit des cas sporadiques, soit des petites épidémies (Avril et al., 2000).

## **2.6. Résistances aux antibiotiques :**

Le comportement d'*Escherichia coli* vis-à-vis des antibiotiques apparaît remarquablement stable de puis 1969 ; il est toute fois noter un très lent, mais réel accroissement de la résistance aux aminopénicilline ainsi qu'aux associations triméthoprime-sulfamides. En 1986, les fréquences de résistance n'atteignent ou ne dépassent 30% des souches que pour l'aminopénicillines, la streptomycine, la tétracyclines et les sulfamides (Soussy, 1988).

## **3. *Salmonella typhi* :**

### **3.1. Généralités :**

Les salmonelles font partie de la famille Enterobacteriaceae. Les membres de cette famille sont appelés entérobactéries ou bactéries entériques, puisqu'elles habitent l'intestin. Plus particulièrement, cette famille contient des bactéries Gram négative de forme bâtonnet droit à flagelles péritriches mobiles, ayant une respiration anaérobie facultative et des besoins nutritifs simples en différents métaux tels que le zinc pour la formation de cofacteurs, le fer pour supporter la croissance et la survie bactérienne et le manganèse dans certains mécanismes de virulence. Le genre *Salmonella* contient des bactéries mobiles avec des flagelles péri triches. *Salmonella typhi* fermente le glucose, mais pas le saccharose et le lactose. C'est une bactérie qui peut pousser entre 7 et 48°C. Toute fois, sa température optimale est à 37°C, ce qui fait d'elle une bactérie mésophile. De plus, son pH optimal se situe entre 6 et 7 ; mais elle peut croître en présence d'un pH variant entre 4 et 9 (Lepage, 2009) (Figure03).



Figure03. Observation microscopique de *Salmonella typhi* (Leyral et Vierling,2001).

### 3.2. Classifications :

La classification de *Salmonella typhi* selon Bergey's 2001 est la suivante (Tableau05).

Tableau 5. Classification de *Salmonella typhi* selon (Bergey's Manuel, 2001)

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Phylum</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gamaproteobacteria
<b>Ordre</b>	Enterobacteriales
<b>Famille</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre</b>	<i>Salmonella</i>
<b>Espèce</b>	<i>Salmonella typhi</i>

### 3.3. Habitat :

*Salmonella typhi* peuvent être isolée de l'intestin de nombreuses espèces animales. Il s'agit d'agents Zoonotiques. Les animaux constituent un réservoir et la dissémination dans l'environnement provient essentiellement de contamination fécale (Berends *et al.*, 1996 et Hanes, 2003). *Salmonella typhi* peuvent en outre survive quelques mois dans les aliments secs non acidifiés, sur les tiges et les feuilles des végétaux ensilés et plus d'un an dans les poussières, le duvet et les matières fécales bovines (Gray et Fedorkagray, 2011).

### **3.4. Pouvoir pathogène :**

La salmonellose est une maladie infectieuse causée par un groupe de bactéries appelé *Salmonelle* ; les personnes qui consomment des aliments contaminés par la *Salmonelle* sont susceptibles de contracter la salmonellose.

Les trois types de symptômes de la salmonellose sont :

#### **3.4.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes :**

Sont provoquées par quatre sérovars de *salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire : *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A*, *Salmonella Paratyphi B*, et *Salmonella Paratyphi C*. Les *Salmonelles* sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé.

Les *Salmonelles* responsables des fièvres typhoïdes ayant l'homme pour seul réservoir, la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine. Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire. Les données mondiales font état de 17 millions de cas de fièvre typhoïde, et de 600000morts (**Hu and Kopecko, 2003**).

#### **3.4.2. Gastro-entérites :**

Sont provoquées par des *Salmonella* ubiquistes présentes chez l'homme et les animaux. La durée d'incubation est généralement de 1 à 2 jours et dépend de la dose ingérée, de la santé de l'hôte et des caractéristiques de la souche de *Salmonella typhi*. Les principaux symptômes de la salmonellose (infections non typhoïdiques) sont la diarrhée non sanglante, les douleurs abdominales, la fièvre, les nausées et des vomissements qui surviennent généralement 12 à 36 heures après l'ingestion (**Avril et al., 1992**).

### **3.5. Sensibilité aux antibiotiques :**

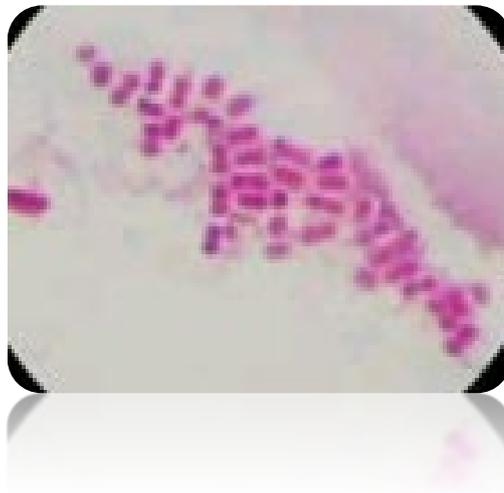
Les salmonelles responsables des fièvres typhoïdes sont très sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif. En particulier au chloramphénicol, à l'ampicilline, aux céphalosporines, aux tétracyclines et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. Cependant, dans certains pays en voie de développement, on a décrit des souches de *Salmonelles typhi* résistantes au chloramphénicol du fait de l'acquisition d'un plasmide de

résistances. Ces souches ont été responsables d'épidémies meurtrières. Les souches de Salmonelles à l'origine de toxi-infections sont beaucoup plus souvent résistantes à plusieurs antibiotiques du fait de l'acquisition de plasmides codant pour des résistances multiples. Cela est probablement lié à l'usage très répandu des antibiotiques chez les animaux qui constituent le réservoir de ces bactéries (**Leminor, 1982**).

#### **4. *Pseudomonas aeruginosa* :**

##### **4.1. Généralités :**

Il s'agit d'un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet de 1 à 3  $\mu\text{m}$  de large. *Pseudomonas aeruginosa* c'est une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (**Hafiane et Ravaoavinoro, 2008**). C'est une bactérie mésophile capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie aérobie possédant un métabolisme oxydatif, mais en absence d'oxygène, elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons (**Van Alst et al., 2009**) (**figure04**).



**Figure 04.** Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* après coloration de Gram. *G :16X100*. (**Philipe, 2007**)

#### **4.2. Classification :**

La classification de *Pseudomonas aeruginosa* est mentionnée dans le tableau06.

**Tableau 6.** La classification de *Pseudomonas aeruginosa* (Delarras, 2007).

<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Phylum</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	B-Proteobacteria
<b>Ordre</b>	Pseudomonadales
<b>Famille</b>	Pseudomonadaceae
<b>Genre</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

#### **4.3. Habitat :**

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire retrouvée dans l'environnement (sols, eaux ...) (Lister et al., 2009) sous forme planctonique, ou à l'état sessile dans un biofilm. (Costerton et al., 1995).

#### **4.4. Pouvoir pathogène :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste responsable d'infection nosocomiale grave, d'infection potentiellement mortelle chez les personnes immunodéprimées et d'infection chroniques chez les patients atteints de la mucoviscidose. La virulence de la bactérie dépend d'un grand nombre de facteurs associés aux cellules et extracellulaires. Les facteurs de virulence jouent un rôle important dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus. Il existe deux types de facteurs de virulence : les facteurs impliqués dans l'infection aigüe : ces facteurs sont soit à la surface de *Pseudomonas aeruginosa* soit sécrétés (Ben Hajkhalifa et al., 2011).

#### **4.5. La multi résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène nosocomial majeur, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose et dans les services des souches multi résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* (PAMR) et les phénomènes épidémiques locaux qui en résultent sont donc particulièrement inquiétants. Ces souches sont définies par la résistance à au moins

trois des quatre principales classes d'antibiotiques anti *pseudomonas* (pénicillines /Céphalosporines/monobactames, carbapénèmes, aminosides et fluoroquinolones). Elles cumulent constamment plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques (efflux, imperméabilité, modification du site d'action ou inactivation enzymatique), conséquences d'évènements génétiques multiples (mutations et/ou transfert horizontal de gènes de résistances). La pression de sélection induite par une ou plusieurs antibiothérapies préalables est le principal facteur de risque d'infection à PAMR (**Francois et Michel, 2010**).

## **Chapitre III :**

**Les plantes médicinales et importances  
de *Rosmarinus officinalis L.* (Romarin)**

**Chapitre III : Plantes Médicinales et Romarin****1. Généralités sur les plantes médicinales :****1.1. Définition :**

La plante médicinale est une plante qui est utilisé pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elquaj et al., 2007**).

**1.2. Pouvoir des plantes :**

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, de puis XVIIIème siècle, au cours du quel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels.

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la diagoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Iserin et al., 2001**).

**1.3. Efficacité des plantes entières :**

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi « totum » plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimique actives (**Iserin et al., 2001**).

## 2. *Rosmarinus officinalis*(Romarin) :

### 2.1. Historique :

#### 2.1.1. Origine du nom :

Le Romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin *ros*, rosée et *marinus*, marin. En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre (**Escuder , 2007**).

#### 2.1.2. Antiquité :

Le Romarin, très prisé par les anciens pour les cérémonies religieuses, n'était que peu utilisé pour ses propriétés médicinales (**Fournier, 2017**). Alors que pour Dioscoride et Pline, au début de notre ère, il était très estimé comme plante médicinale et condimentaire (**Tessier, 2003**). Vers l'Iersiècle, Archigenes en tira l'huile par décoction (**Fournier, 2017**).

##### 2.1.2.1. Dans les cérémonies :

###### 2.1.2.1.1. Egyptiennes :

Des rameaux de Romarin ont été découverts par Prosper Alpin, au XVIème siècle, dans un tombeau de l'Egypte ancienne (**Fournier, 2017**). En effet, une branche était déposée dans les sépultures. Le Romarin était utilisé par les Egyptiens en fumigation comme encens lors des cérémonies religieuses et pour l'embaumement. Il était également utilisé pour un usage médical en décoction pour des lavements contre la diarrhée (**Schneider, 2002**).

###### 2.1.2.1.2. Grecques et romaines :

Les Romains connaissaient bien le Romarin, surtout pour ses pouvoirs merveilleux. Considéré comme une plante sacrée, il était censé assurer aux morts un séjour paisible dans l'au-delà, chasser les mauvais esprits et porter bonheur aux vivants. Le Romarin était un symbole d'amour inconditionnel, de prospérité, de fidélité et d'immortalité. Le Romarin ornait les tables des banquets, le bouquet des mariées et était tressé dans les couronnes funéraires et dans celles des mariées afin de rendre l'esprit vif. Il remplaçait l'encens dans les rites de purification. C'est de là que lui vient le nom d'encensier (**Clot Hvond, 2014**). Les Grecs l'appelaient "dendrolivanon" qui équivaut à «arbre à encens» (**Tessier, 2003**).

### **2.1.2.2. Dans les légendes chrétiennes :**

Les chrétiens soutinrent que la Vierge Marie se reposa au pied d'un buisson de Romarin, étendit dessus les langes de Jésus-Christ pour les sécher, lors de sa fuite d'Egypte, et que depuis, ses fleurs apparaissent à Pâques et sont bleu-pâle (et non blanches) (**Labescat J, 2013**). Le Romarin, comme le Christ, parviendrait à sa taille maximale à trente trois ans puis ne se développerait qu'en envergure, comme lui (**Schneider, 2002**).

### **2.1.2.3. Pour la mémoire :**

Depuis l'Antiquité, le Romarin est utilisé pour stimuler et améliorer la mémoire. Encore à l'heure actuelle, les étudiants grecs le boivent en tisane (**Schneider, 2002**) ou en font brûler comme encens dans leur chambre en période de révision et d'examen. Le Romarin est reconnu pour ses propriétés tonique, revigorante, stimulante qui se reflètent dans sa saveur aromatique très particulière ainsi que dans son odeur (**Larousse, 2013**).

### **2.1.3. Moyen Age :**

Au IX<sup>ème</sup> siècle, Charlemagne imposa entre autre la culture du Romarin en France, via le capitulaire de Villis ; en effet, à cette époque, les principaux auteurs incluaient le Romarin dans de nombreux traités de botanique médicale. Le Romarin avait sa place dans tous les carrés d'herbes médicinales et aromatiques des abbayes, notamment dans le nord des Alpes où il a été retrouvé sur le plan du monastère de Saint-Gall en Suisse. Pendant les grandes épidémies, le Romarin était brûlé pour désinfecter l'atmosphère et mis dans des petits sacs portés autour du cou pour se protéger (**Fournier, 2017**) (**Gigon, 2014**).

Au XII<sup>ème</sup> siècle, au retour des croisades, le processus de distillation des plantes aromatiques, telles que le Romarin, a été rapporté de la culture arabe par les chevaliers. Ils ont, par la même occasion, utilisé à but antiseptique et anti-infectieuse les huiles essentielles issues de cette distillation (**Gigon, 2014**), notamment pour lutter contre la jaunisse (**Labescat, 2013**). Vers 1330, l'essence de Romarin en solution alcoolique aurait été obtenue pour la première fois par Arnaud de Villeneuve (**Fournier, 2010**). Arnaud de Villeneuve était un médecin, alchimiste, orateur, théologien et philosophe, du XIII<sup>ème</sup> siècle. Il était à priori provençal. Il est célèbre par son enseignement et ses œuvres (**Sculard, 1966**). Il inventa un procédé de distillation qu'il appela "eau-de-vie" (**Brossollet, 2015**). Le Romarin était utilisé par les romanichels, les Tziganes du sud (ayant donné au Romarin le

sobriquet de roumain) pendant les rituels pour exorciser les mauvais sorts, les malheurs et les piqûres de serpent. En effet, ils croyaient que des bonnes fées protectrices étaient abritées dans les branches de Romarin (**Schneider , 2002**). Pour éviter la diffusion des maladies, des branches de Romarin et de Genévrier étaient brûlées dans de nombreux hôpitaux français et des bouquets associés à de la Rue fétide étaient placés dans les cours de justice bondées (**Schneider , 2002**). Le Romarin était placé dans les bibliothèques et les armoires à linge pour éloigner les insectes. Les cuisiniers s'en servaient pour conserver et parfumer les mets. Les médecins le conseillaient pour le traitement de divers maux : troubles du foie, rhumatismes, migraines, palpitations, nervosité, hémorroïdes, épilepsie, vertiges et oppression. Il était utilisé en lotions capillaires afin d'entretenir la chevelure et de traiter la calvitie ; pour préserver la santé et la jeunesse de la peau. C'était un symbole de renaissance pour beaucoup (**Tessier, 2003**). Dans le Roussillon, un rituel domestique existait pour attirer la vertu, la santé et la chance. Ce rituel consistait à arranger en croix sur une plaque de fer dans la cheminée des branches de Romarin avec une feuille de Laurier au point de rencontre. Le tout était brûlé après avoir été arrosé d'encens. Cette pratique, sous diverses formes, est retrouvée un peu partout en Europe. Elle évoque la supplication de la planète Vénus, gardienne des magiciennes et des femmes

#### **2.1.4. Epoque moderne :**

Le camphre contenu dans le Romarin a été isolé par Kunkel en 1685. Le Romarin fut comblé d'éloges du XVIème au XVIIIème siècle puis oublié au XIXème siècle et enfin retrouvé un peu de notoriété au XXème siècle. Des expériences furent conduites sur les effets de l'essence de Romarin sur le système nerveux au XIXème siècle par Lesieur ; sur ceux de l'infusion sur le foie par Rousselle et Paturier en 1929 (**Fournier, 2010**).

#### **2.1.5. Les remèdes célèbres :**

##### **2.1.5.1. Eau de la reine de Hongrie :**

Les fleurs de Romarin (par la suite d'autres plantes ont été rajoutées) à ser à faire le premier alcoolat utilisé tout d'abord en tant que médicament puis par la suite comme parfum. C'est ainsi que naquit l'eau de la reine de Hongrie, la première eau parfumée. La date d'apparition de cette eau est contestable. En effet, cette eau peut tirer son nom soit de la reine de Hongrie qui régnait en 1370 soit de celle qui régnait en 1652 (**Chastrette, 2007**). En tout cas, l'histoire semble s'accorder sur l'âge de la reine, 72 ans. Au XVIIème

siècle : Dona Izabella, reine de Hongrie, souffrait de rhumatismes articulaires. Lasse de supporter ces douleurs, elle sollicita tous les médecins d'Europe qui se trouvèrent impuissants. Vint le tour des guérisseurs, des charlatans... Les douleurs royales persistaient. Une nuit, la reine rêva qu'un ermite lui tendait un flacon et lui conseillait de réciter des prières en vidant le contenu. Pensant à un rêve prémonitoire, elle n'avait rien à perdre à le mettre en pratique. Elle se voyait déjà soignée. C'est ainsi qu'elle envoya ses hommes chercher le saint homme, un certain Jérôme. Il fut trouvé au fond de la forêt de Pozna'n comme la reine l'avait indiqué. L'ermite visionnaire avait déjà confectionné pour la reine plusieurs flacons de son élixir pour lui rendre la vie plus douce. Izabella retrouva force et vigueur à tel point qu'elle en oublia ses douleurs dès la première cure. Elle continua son traitement de nombreuses années durant, persuadée de son efficacité. Ainsi, à plus de soixante-dix ans, elle retrouva une belle fraîcheur ! Le roi de Pologne de quarante ans son cadet, Stanislas, la demanda en mariage, ébloui par sa prestance après une telle cure de jeunesse. Extrait de la notice de l'élixir de la reine de Hongrie telle que rédigée à la fin du XVIIIème siècle : «Lorsqu'au soir de votre vie, à la chandelle Vous ne pourrez plus votre fauteuil quitter, Plutôt que de vous lamenter: «Autrefois j'étais habile et belle, Quand Stanislas me célébrait, telle «Essayez plutôt d vous procurer, L'élixir de longue vie, Celui dit de la reine de Hongrie, Il vous redonnera cette entière mobilité, Que l'on ne pourra alors que vous envier.» Madame de Sévigné écrit le 12 juillet 1690 : «L'eau de la reine de Hongrie, elle est divine, je m'en enivre tous les jours, j'en ai dans ma poche, c'est une folie comme le tabac, quand on y est accoutumé on ne peut plus s'en passer. Je la trouve bonne contre la tristesse, elle m'a fait le plus grand effet, j'en suis toute ressuscitée». Toutes les cours d'Europe s'arrachèrent cet élixir, suivant l'exemple de Donna Isabella, qui après avoir rendu de bons et loyaux services finit par tomber dans l'oubli, avant de connaître un regain de célébrité à la fin du XIXème siècle (Labescat , 2013).

#### **2.1.5.2. Le vinaigre des quatre voleurs :**

Au XVIIème siècle, lors de l'épidémie de peste à Toulouse, quatre détrousseurs de cadavres sans peur, se firent arrêter. Un marché leur fut proposé afin de leur éviter le bucher : avouer le secret leur permettant d'approcher des cadavres sans être contaminés. Ils passèrent aux aveux. Ils s'étaient inspiré des médecins qui à l'époque portaient des genres de masque au long bec en bois rempli de feuilles de Romarin, d'Ail, de Lavande, de Sauge, d'Absinthe, de Coriandre et de Sarriette. Ce masque à l'air ridicule était censé filtrer l'air afin de le rendre respirable. C'est ainsi que les quatre voleurs firent une macération dans du vin aigre de

ces mêmes plantes médicinales. Ils en appliquaient sur leurs mains et leur visage, cela les protégeait de la peste. Ce vin aigre médicinal prit vite le nom de vinaigre des quatre voleurs (Labescat , 2013).

### 2.1.5.3. Autres

L'essence de Romarin entra dans la composition de l'«or potable» (Fournier ,2010).Le Romarin entra dans la composition de nombreux baumes : le baume Nerval, le baume Opodeldoch, le baume Tranquille (Anton , 2005). Ainsi que dans l'Alcoolat Vulnéraire et le vin aromatique

### 2.2. Définition :

Le Romarin est un arbrisseau vivement rameux, touffu, toujours vert (feuilles persistantes), xérophYTE, très aromatique, de cinquante centimètres à deux mètres de haut. Il possède des tiges ligneuses subarrondies à écorce brun foncé, avec des feuilles sessiles opposées, lancéolées, étroites et entières (d'en moyenne 3 cm sur 3 mm). Ces feuilles ont des bords fortement réfléchis et sont coriaces, vert foncé et chagrinés\* sur le dessus, blanchâtres et tomenteuses sur la face inférieure où la nervure médiane est saillant (Wikipédia, 2019).



**Figure 05.** *Rosmarinus officinalis L.* (Romarin) récolté dans la région Naama Algérie.

## 2.3. Compositions du romarin:

### 2.3.1. Partie utilisés :

Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, que l'on aura pris le soin de sécher, ou l'huile essentielle qui sont le plus souvent utilisés en phytothérapie (Jesus, 2018).

### 2.3.2. Principales actifs :

Ses huiles essentielles renferment des essences de camphre, de cinéol, de verbénone ou de pinènes. Le romarin contient des flavonoïdes, des diterpènes, comme le rosmadial et l'acide carnosolique, mais aussi des lipides (alcanes et alcènes). On trouve également des stéroïdes et des triterpènes (acide aléanolique, acide ursotique) et des acides phénoliques (acide rosmarinique et acide chlorogénique). Les phytoestrogènes du romarin ont des effets comparables aux hormones féminines (Jesus, 2018).

### 2.3.3. Compositions biochimiques :

L'huile essentielle du romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l' $\alpha$ -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus de l'huile essentielle on trouve dans le romarin : 2 à 4% de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, acide oléanolique, l'acétate de germinicol ; des lactones diterpéniques ; picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol, romadial, des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique et glycérique des stérols de la choline, du mucilage (Bellakhdar, 1997) et de la résine (Beloued, 1998).

## 2.3. Origine et position systématique :

### 2.3.1. Origine :

Les lamiales sont des Gamopétales super ovaires tétra cyclique appartenant à l'ordre des lamiales. (Messaili, 1995).

Rosmarinus : est l'ancien nom latin de cette plante composé de :

\_ Marinus : du latin marin

\_ Ros : rosé apparenté à rhus : buisson cette plante habite les coteaux maritimes. Habituellement considéré comme monotype cette plante est présente sur le littoral dans tous les bassins méditerranés surtout en région calcaire. Elle y fleurit toute l'année, ses fleurs sont arbrisseau ou plante herbacée.

En général, c'est une plante odorante à tiges quadrangulaires, à feuilles opposées décussées sans stipules et à fleurs réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles ou encore condensées au sommet de tige et simulant des épis.

Les fleurs sont des pentamères en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant et la corolle bilabée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée. L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées. (Madadori ,1982). Le style bifide gymno basique est le fruit constitué par 3 akènes plus ou moins soudées par leur face interne. (Quezel , 1963).

### 2.3.2. Position systématique :

**Tableau 7.** La classification botanique de *Rosmarinus officinalis L.* est la suivante (Quezel., 1963).

<b>Sous règne</b>	Cormophytes
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudicotes
<b>Série</b>	Superoaire :tétra cyclique
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>
<b>Nom vulgaire</b>	Romarin

### 2.4. Description Botanique :

Arbrisseau de rocaille à l'état sauvage, le Romarin, de la famille des lamiacées, peut atteindre 2 m de hauteur, en culture. Il est reconnu, aisément, toute l'année, érigé au milieu

des buissons méditerranéens : ses feuilles persistantes sont enroulées sur leurs bords. Elles sont beaucoup plus longues que larges, d'une couleur vert sombre, luisant sur leur face supérieure et à la teinte blanchâtre sur le dessous. Ses fleurs, le plus souvent d'une teinte bleu violacés (les blanches sont plus rares) s'agrègent en grappes courtes, de février à mai. Leur calice a un aspect duveteux, la corolle est bilabée et dotée de quatre étamines, dont deux dépassent la lèvre supérieure. Le fruit du romarin, de forme globuleuse, est un tétrakène brun (Jesus, 2018).

## 2.5. Ecologie et répartition de *Rosmarinus officinalis* L. :

### 2.5.1. Ecologie :

Le romarin est retrouvé à l'état sauvage. Il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen (Emberger, 1960); en Algérie, nous la trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles...et les zones cultivées à l'entrée.

Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante.les fleurs bleues s'épanouissent tout au long de l'année ce qui attire de nombreux insectes. Nous pouvons rencontrer le romarin à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques (Emberger, 1960).

### 2.5.2. Répartition géographique :

#### 2.5.2.1. Dans le monde :

Le romarin se reparti tout au long de la mer méditerranéenne et le reste de l'Europe d'où son nom « rose de la mer ». « Rose », « marinus » (Guinochet, 1973), elle est typiquement méditerranéen qui n'existe pas à l'état sauvage en Belgique, (Angeno et coll., 1981). D'après PERROT et PARIS., (1971) cette plante existerait aussi en Corse et au Portugal. En France, elle pousserait abondamment dans les terrains calcaires du midi en particulier sur le littoral méditerranéen (aux faibles altitudes) d'où il remonte même jusqu'au massif central (Provence, Roussillon, Languedoc) (Garnier et coll., 1961). Cette plante est également cultivée dans de nombreux pays tel que l'Espagne, l'Italie, la Tunisie, le Maroc et l'Algérie.

#### 2.5.2.2. En l'Algérie :

En Algérie cette plante est bien apparente dans différentes régions du pays. En Oranie elle est souvent cultivée comme plante d'ornement. Cette plante est retrouvée dans la steppe a Sid

Djilali dans la région de Sid El Makhfi . Aussi ; elle est dominante dans le littoral a Béni Saf dans la zone de Sid Safi. Le romarin cultivé a différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques a titre d'exemple, il est retrouvé à Tlemcen : lala Seti 1025 mètre, le grand bassin 750mètres, et chetouan.

## **2.6. Utilisation du Romarin :**

### **2.6.1. Utilisation interne :**

Le Romarin à plusieurs usages thérapeutiques dont :

- Favorise la digestion, régule les lipides, améliore la circulation sanguine ; cholagogue (aide à l'évacuation de la bile), antispasmodique.
- Antistress et antifatigue : il prévient l'insomnie et permet de lutter contre le surmenage intellectuel.
- Effet antioxydant : contre le vieillissement cellulaire.
- Contre les affections de la peau : infections, plaies, nettoyage de la peau et des zones génitales.
- Accélère la pousse des cheveux.
- Permet de lutter contre certains agents pathogènes : antimycosique et antibactérien.

Soulage les rhumatismes (**Jesus, 2018**). .

### **2.6.2. Indication thérapeutiques usuelles :**

- La choline qu'il contient agit comme régulateur des lipides, au niveau de foie, et favorise la digestion.
- Des propriétés anti oxydantes ont un effet de stimulant sur l'activité cérébrale et améliorent la mémoire.
- Il possède des qualités antiseptiques qui en font un bon agent pour nettoyer la peau et les zones sensibles ou agir directement sur les plaies infectés. Il peut aussi être utilisé pour son pouvoir antitussif. (**Jesus, 2018**).

### **2.6.3. Utilisations diverses :**

Un extrait de jeunes pousses de Romarin, souvent associé aux racines de Seigle (Secale cereale), accompagne une cure de chimiothérapie. Le macérat de jeunes pousses de Romarin est anti-vieillesse (associé au Ginkgo biloba). Les fleurs de Romarin, prises

pendant toute la période de floraison, tous les matins à jeun, avec du pain et du sel, amélioreraient l'acuité visuelle (Lais, 2014).

#### **2.6.4. Utilisation culinaires :**

Le Romarin, grâce à ses propriétés apéritives et digestives, est aussi utilisé en tant qu'épice. En effet, son parfum résineux rappelant le Pin, sa saveur un peu amère mais très aromatique sont très appréciés. S'il est utilisé en grande quantité, son goût puissant peut dissimuler celui des autres ingrédients (Faucon, 2012 et Collectif, 2010).

Il est typique des cuisines provençales (souvent accompagné du Thym et du Laurier comme dans la ratatouille), italiennes et espagnoles ; il trouve aussi des adeptes aux États-Unis, au Mexique, dans les Balkans et le Caucase, en Angleterre (Anton, 2005) et (Faucon, 2012). Le plat national du Mexique est le "rosméritos" confectionné à partir de farine de maïs et de crabe parfumé au Romarin (Faucon, 2012).

Le Romarin se mélange très bien à d'autres épices : l'Ail, le Carvi, l'Estragon, le Laurier, la Marjolaine, l'Oignon, le Persil, la Sauge et le Thym. Il est le constituant de préparations à base d'épices et de mélange d'épices : beurre aromatisé aux herbes, bouquet garni, épices pour gibier, épices pour grillades, épices pour pizza, épices pour poissons, épices pour viandes, fines herbes, herbes à mettre sur le grill, herbes de Provence, mélange café de Paris, poivre de Paris, sel aux herbes et vinaigre aromatisé aux herbes (Anton, 2005). Les fleurs de Romarin étant très parfumées, elles peuvent servir de garniture (cristallisées ou non dans du sucre) ou accompagner crudités et salades (Anton, 2005).

#### **2.7. Propriétés pharmacologie et thérapeutique du Romarin :**

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytique, diurétique, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires. (Lemonica et al., 1996 et Souza et al., 2008).
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives. (Ibaez et al., 2000 ; Pérez et al., 2007 ; Wang et al., 2008).
- Anti-inflammatoires, antimétastatique. (Cheung et Tai, 2007).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires. (Singletary et Nelshoppen, 1991) et la prolifération des tumeurs cutanées. (Huang et al., 1994).

- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse. (Offord et al., 1995).
- Carnosol de romarin possède une activité antivirale contre le virus de SIDA (HIV) , alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (Paris et al, 1993).

### 2.7.1. Activité antibactérienne :

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du Romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés par les résultats ont suggéré que les extraits du Romarin peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase (Tsai et al, 2007). Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée par examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) supercritique du Romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique (Wecksser et al., 2007).

### 2.7.2. Activité antifongique :

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du Romarin à une concentration de 450 ppm. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre *Aspergillus parasiticus* (Rassoli et al., 2008). En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du Romarin, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*) examinées (Sacchetti et al., 2005).

### 2.7.3. Activité antivirale :

Le carnosol du Romarin possède une activité antivirale contre le virus de SIDA (HIV) (Aruoma et al., 1996) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-. (Paris et al., 1993).

**2.7.4. Activité anti-oxydante :**

L'activité anti-oxydante du Romarin est connue depuis environ 30 années. En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le Romarin est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité anti-oxydante la plus élevée (**Wang et al., 2008**). Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du Romarin comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (**Balentine et al.,2006; Fernandez et al.,2005;Sebrotynnek., 2005**). '

**2.7.5. Effet anti-cancérogène :**

Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le Romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer (**Atik Bekkara et al., 2007**).

**2.7.6. Effet hypoglycémiant :**

L'observation après l'administration oral de différentes dose de l'extrait éthanolique du Romarin à 3groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normal, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration oral du glucose, lapins diabétiques d'alloxane ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant remarquable à une dose de200 mg 1kg (**Bakirel et al ., 2008**).

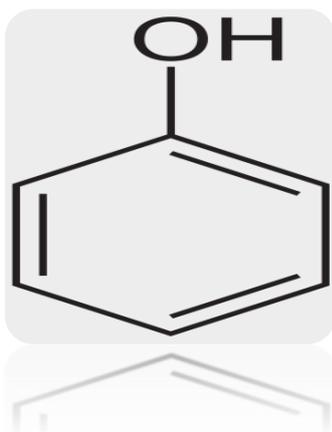
**Chapitre IV :**  
**Les composés phénoliques des**  
**plantes**

**Chapitre IV : Les composés phénoliques des plantes****1. Présentation générale:**

Depuis une quinzaine d'années, chercheuses et industrielles de l'agro-alimentaire s'intéressent de plus en plus à une catégorie d'antioxydants, les poly phénols. La reconnaissance des propriétés antioxydants de ces composés, leur abondance dans l'alimentation et leur rôle probable dans la prévention des maladies associées à un stress oxydant sont les principales raisons de cet engouement (**Harnly et al., 2007 et Quideau et al., 2011**).

**2. Définition :**

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (**Harnly et al., 2007 ; Quideau et al., 2011**). Ils font partie de l'alimentation animale, par exemple, l'homme consomme quotidiennement jusqu'à 10g de composés phénoliques (**Naczk and Shahidi, 2004**). Les poly phénols ont tous en commun un cycle aromatique (C6) portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, libre ou engagées dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre ... etc.) (**Michalak, 2006**).



**Figure06.** Structure du noyau phénol (**Michalak, 2006**).

### 3. Composés phénoliques des plantes :

Les principales classes des composés phénoliques sont retracées dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Principales classes des composés phénoliques (**Balasundram et al., 2006**).

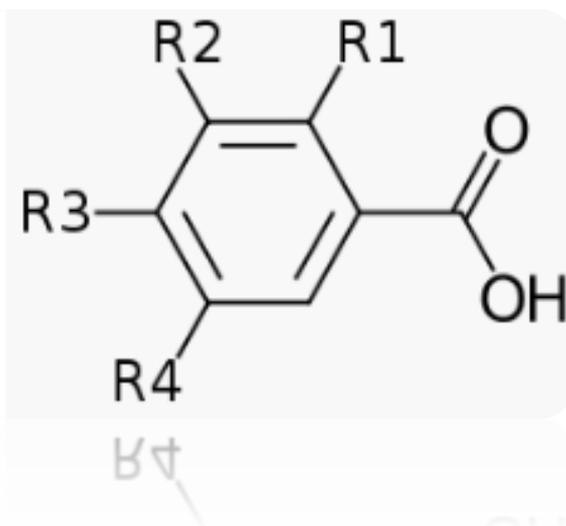
Structure	Classe
C6	Les acides phénoliques simples, et les benzoquinones.
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques
C6-C2	Acétophénonnes acides phénylacétiques
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques, et acides phénylacétiques (coumarins, isocoumarins, chromones, chromènes)
C6-C4	Napthoquinones
C6-C1-C2	Xantones
C6-C2-C6	Stilbénes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes et neolignanes
(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanins condensés

#### 3.1. Acides phénols simples :

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tout les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique. Ces composés peuvent être divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (**Massimo et al., 2007**).

#### 3.2. Acide hydroxybenzoïque :

Ils Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6C1). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (**Macheix et al., 2005**). Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans la (Figure 7).

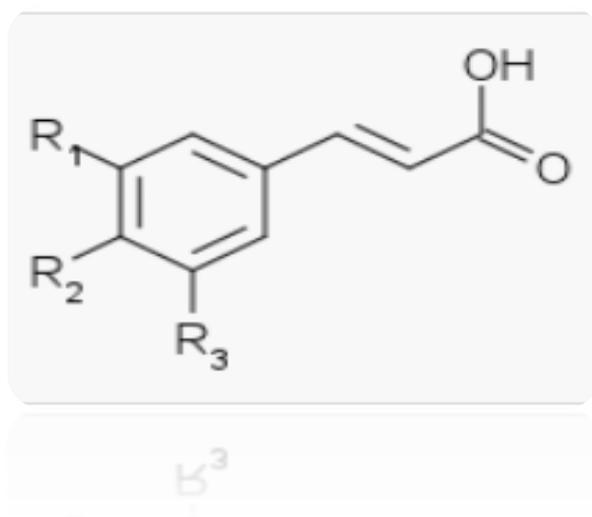


R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
H	H	OH	H	Acide hydroxyBenzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatechique

Figure7. Principaux acides hydroxybenzoïque (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

### 3.3. Acide hydroxycinnamique :

Il représente une classe très importante dont la structure de base est (C6-C3) dérivé de celle d'acide cinnamique grâce a des substitutions au niveau du cycle aromatique (Psotova et al., 2003). Ils entrent dans la composition de nombreux végétaux (surtout les fruits) et existent sous forme d'esters hydrosolubles (acide caféique) ou insolubles, associés aux fibres (acide férulique) (Sarni-Manchado et Cheynier , 2006). Les acides hydroxycinnamiques les plus abondant sont répertoriés dans la (Figure 8).



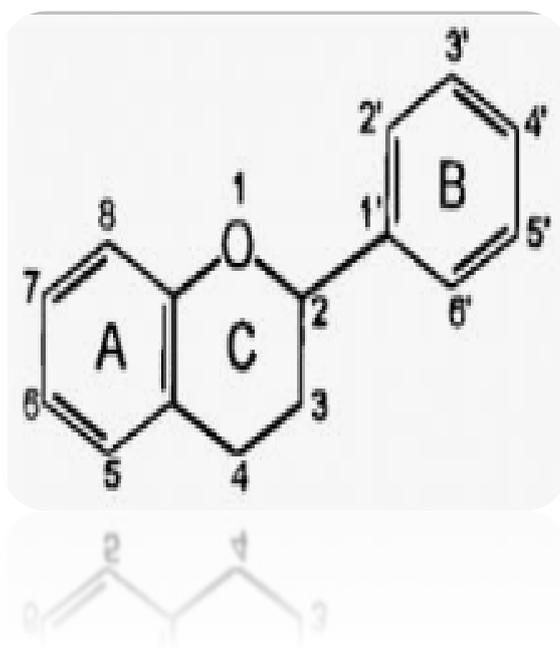
R1	R2	R3	R3	Acides phénoliques
H	H	H	H	acide cinnamique
H	OH	H	H	acide P co
OH	OH	H	H	acide

Figure8. Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

### 3.4 .Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont les principaux métabolites secondaires végétaux (**Ralston et al., 2005**). Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques ayant une structure benzo-<sup>3</sup>-phénylpropanoïdes (**Winkel-Shirle , 2000**). Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, ou ils peuvent être localisés dans divers organes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (**Havsteen et al., 2002**).

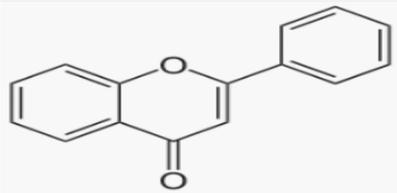
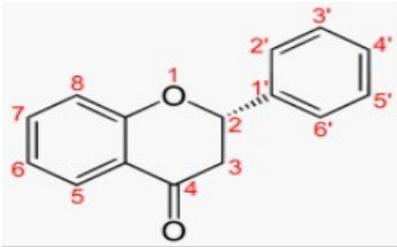
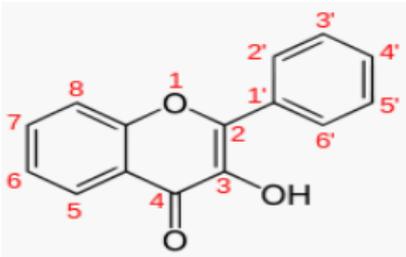
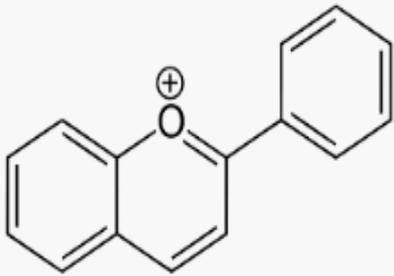
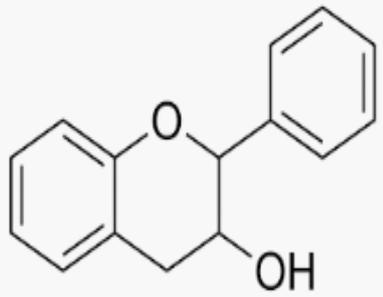
Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits, et des feuilles (**Nijveldt et al., 2001 ; Batra et Sharma, 2013**). Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, il possède tous un même squelette de base a quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle central C (**Erdman et al., 2007**) (**Figure 9**).



**Figure 9.** Structure de base des flavonoïdes (**Erdman et al., 2007 ; Stefk , 2011**).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes sur la base de leur structure moléculaire. Les 5 principaux groupes de flavonoïdes, ainsi que les exemples les plus connus de chaque groupe, la structure moléculaire de chaque groupe de flavonoïdes et la source de nourriture dans laquelle ils sont présents est donnée dans le tableau 9 (**Nijveldt et al., 2001 ; Harnly et al., 2006**).

**Tableau 09.** Principales familles de flavonoïdes (Nijveldt *et al.*, 2001 ; Malesev *et al.*, 2007 ; Massimo *et al.*, 2010).

Familles	Exemples	Structures	Sources de nourriture
<b>Flavones</b>	Apigénine, lutéoline		Les oignons, Les pommes Le brocoli, Les baies et persil
<b>Flavanones</b>	Naringénine Butine		Les argumes
<b>Flavonols</b>	Kampférol, Isorhamnetine Quercétine Myricétine		Le thé vert et noir, le vin rouge, oignons et tomate
<b>Anthocyanidines</b>	Cyanidine Delphicianidine Perlargonidine Péonidine Petunidine		Les fraises, les baies, les raisins, le vin et le thé
<b>Flavone-3-ol= Flavanol</b>	Catéchine Gallocatechine Epicatéchine Gallate		Chocolat, abricot

### 3.5. Anthocyanines :

Anthocyanines sont des composés phénoliques d'origine naturelle responsable de la couleur de nombreuses fleurs, fruits et baies. Ils sont glycosylés, polyhydroxylés (figure 11) et ont une large distribution dans le règne végétal (Longo *et al.*, 2005 ; Currie *et al.*, 2006 ; Qin *et al.*, 2010). L'intérêt pour ce type de pigment a augmenté essentiellement en raison de leur possible utilisation comme colorant naturel. A cause de leur hydrosolubilité (les anthocyanes sont le plus grand groupe de pigments solubles dans l'eau), ils peuvent être en effets bénéfiques pour la santé comme agents anti-inflammatoires (Longo *et al.*, 2005) et agent antioxydant (Ghosh *et Konishi*, 2005).

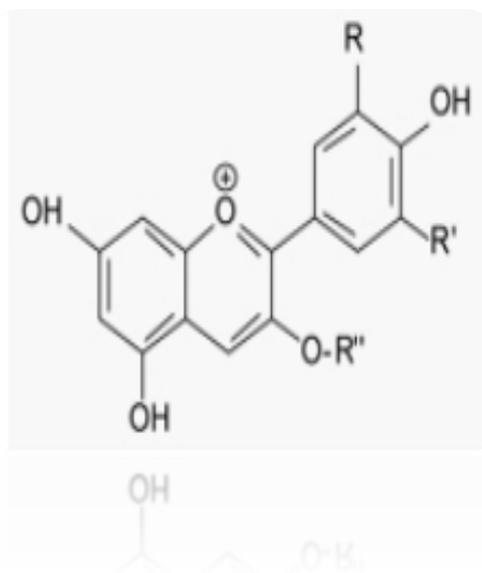


Figure 10. Structure chimique d'anthocyanane (Sava *et al.*, 2006).

### 3.6. Stilbènes :

Les stilbènes sont de petits poids moléculaire (environ 200-300g/mol), des composés d'origines naturel et se retrouvent dans un large éventail de sources végétales, des produits d'aromathérapie, et des compléments alimentaires. Les stilbènes agissent comme agents protecteur naturels pour défendre la plante contre les attaques virales et microbiennes et exposition aux ultraviolets excessive (Roupe *et al.*, 2006). Parmi les stilbènes les plus abondant, le resvératrol (figure 11) qui est connu essentiellement pour ses diverses propriétés biologiques d'où son utilité pharmaceutique et médicinales (Delmas *et al.*, 2003).

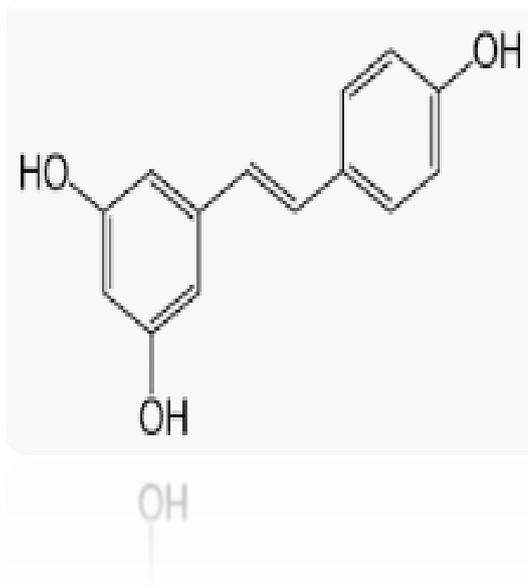


Figure 11. Exemple de stilbénes (resvératrol) (Macheix *et al.*, 2005).

### 3.7. Lignines :

Se sont les composants majeurs de la paroi cellulaire. Les lignines (du latin lignum, bois) sont les polymères les plus abondants après la cellulose (forme la paroi végétale) (Ralston *et al.*, 2005). Ils forment une structure hétérogène et agissent à la fois sur le maintien de l'intégrité structurale de la paroi cellulaire, ainsi qu'un échafaudage pour les polysaccharides. Les polysaccharides augmentent le caractère hydrophobe de la structure de la lignine, ce qui facilite le transport de l'eau dans les tissus, en empêchant l'absorption d'eau. Cette structure hydrophobe est cruciale pour l'action capillaire, ce qui permet à l'eau de passer à travers les capillaires de lignine doublé sans absorber dans la cellule végétale (Holderness *et al.*, 2008).

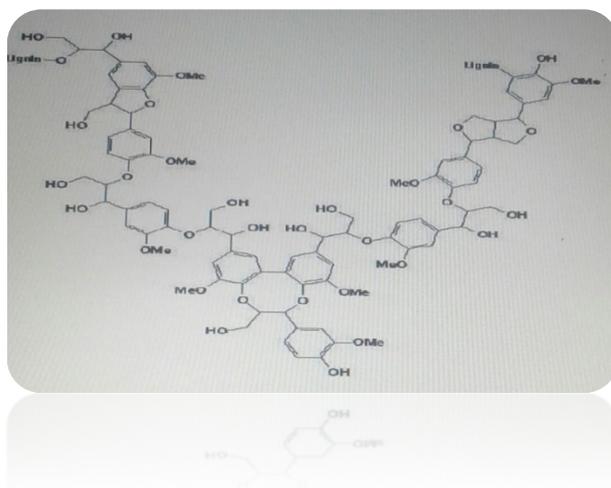


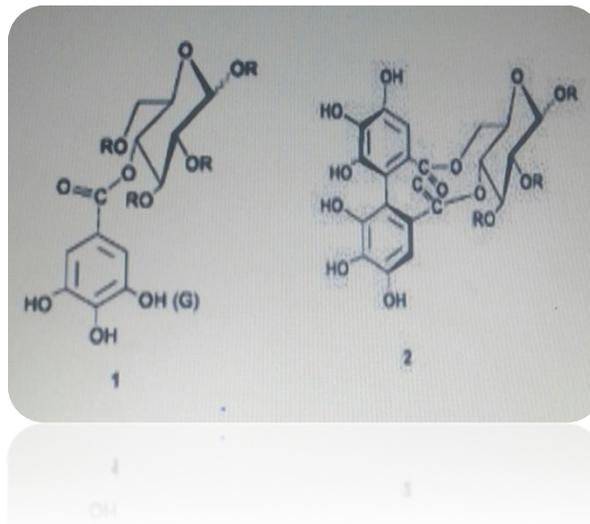
Figure 12. Structure chimique des lignines (Wertz *et al.*, 2015).

### 3.8. Tannins :

Les tanins sont des formes phénoliques condensées, ayant un poids moléculaire allant de 500 à 3000 daltons. Dans la nature les tannins se trouvent dans le monde entier dans de nombreuses familles de différentes plantes supérieures telles que le châtaignier et le bois de chêne (**Paolini et al., 2003**). Ils sont solubles dans l'eau (**Akiyama et al., 2001**). Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuire (**Khanbabaee et Ree, 2001**). En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et des autres protéines. Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en 2 groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Reed et al., 1995 ; Sereme et al., 2010**).

#### II.2.6.1-Tanins hydrolysables :

Les tannins hydrolysables (**Figure 13**) sont des résidus d'acide gallique qui contiennent un noyau de sucre entouré des groupes phénoliques. Ces résidus peuvent être modifiés par la suite par une autre addition de groupements phénoliques et de chaînes latérales comprenant un à n monomères d'acides galliques. Des liaisons carbone à carbone entre noyaux conduisent à des molécules plus rigides (**Nonaka, 1989**). Ils sont nommés tannins hydrolysables parce que le traitement avec des acides faibles hydrolyse facilement les résidus d'acide gallique et produit des acides phénoliques avec un hydrate de carbone coré. Cependant, la production de diverses structures tanniques hydrolysables suggère qu'ils sont employés dans une fonction spécialisée. Une utilisation indiquée des tannins hydrolysables dans la défense des plantes contre les toxines et pour éviter la prédation herbivore (**Holderness et al., 2008**). Les tannins hydrolysables sont divisés en deux groupes, gallotannins et ellagitannins dont le premier groupe est formé à partir de l'acide phénolique et le deuxième groupe est obtenu à partir de l'acide gallique (**Khanbabaee et Ree, 2001 ; Cai et al., 2006**).



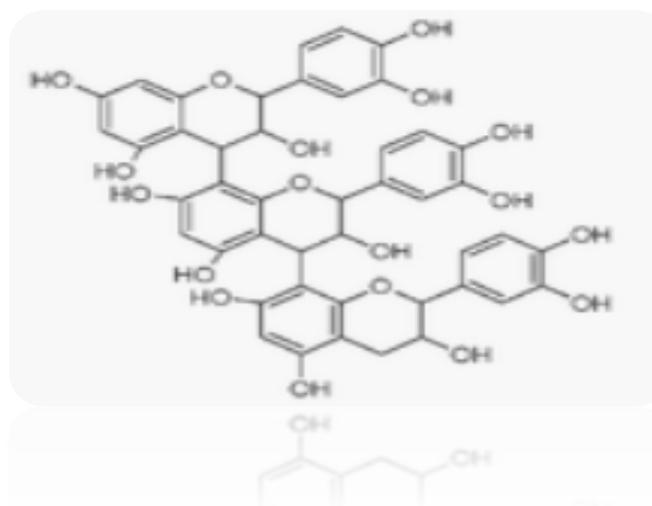
1. Gallotannins

2. Ellagitannins

**Figure 13.** Structure chimique d'un tannin hydrolysable (Khanbabae et Ree, 2001).

### 3.9. Tanins condensés :

Les tanins condensés également appelés proanthocyanidines sont des métabolites secondaires synthétisés par l'intermédiaire de la voie biosynthétique des flavonoïdes et sont largement répandus dans l'alimentation (fruits, vin, thé...etc.) et jouent un rôle important dans la défense contre les herbivores (Bogs *et al.*, 2005 ; Holderness *et al.*, 2008). Les tanins condensés résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavane ol-3, flavane ol-4, flavane diol -3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins «catéchiques». Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, gymnospermes et fougères compris (Tanner *et al.*, 2003).



**Figure 14.** Structure générale des proanthocyanidines (Khanbabae et Ree., 2001)

#### 4. les pouvoirs des principaux composés phénoliques des plantes et leurs effets sur la santé :

##### 4.1 : Effet antimicrobienne de polyphenol:

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999). Une contamination des végétaux par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (Macheix *et al.*, 2005). Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

##### 4.2. Propriétés anticancéreuses :

Des études montrent que certains flavonoïdes particulièrement ; lutéoline, quercétine, kaempférol, apigénine, taxifoline inhibent d'une façon marquée la lipogenèse des cellules cancéreuses, d'autres flavonoïdes sont plutôt capables d'induire l'apoptose. Certains flavonols( épigallocatechine-3-gallate) représentent des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses de prostate, ces effets sont corrélés avec leur capacité à inhiber les enzymes des lipogéniques i.e. FAS (Fatty Acid Synthase) (Brusselmans *et al.*, 2005).

L'activité anticancéreuse des flavonoïdes est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

- Piégeage des radicaux libres ;
- Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique ;
- Formation d'un complexe inactif avec la carcinogène (Hertog, 1996) ;
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes ;
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses ;
- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses ;
- Induction de l'apoptose ;
- Inhibition des processus d'angiogénèse (Ren *et al.*, 2003).

### 4.3. Propriétés anti inflammatoires :

Au cours de l'inflammation, des produits bactériens déclenchent la production d'une grande quantité d'oxyde nitrique (NO) dans les macrophages et d'autre cellules sous l'action d'oxyde nitrique synthase inducteur (iNOS) bien que la libération de (NO) est très importante pour maintenir la dilatation des vaisseaux sanguins (vasodilatation) mais des fortes concentrations peuvent conduire aux dommages oxydatifs (**Nijveldt et al., 2001**), car une fois que le NO est formé il se peut qu'il va réagir avec l'anion superoxyde conduisant à la formation de peroxyde qui provoque l'endommagement des macromolécules cellulaires, Cependant une production en excès de NO durant une inflammation chronique résulte au développement du cancer (**Tsai, 2004**)

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires. D'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (**Kim et al, 2004**).

Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de COX (cyclooxygénase) (**Tapas et al, 2008**).

### 4.4. Propriétés antivirales :

L'activité antivirale des flavonoïdes contre HIV peut être liée directement par leurs effets sur les enzymes responsables de son réplication (HIV-1reverse transcriptase ou HIV-1-intégrase) par ailleurs d'autres flavonoïdes montraient une activité antivirale contre le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2 (**Bylka et al., 2004**). Quercétine, apigénine, catéchine et hespéridine sont parmi les flavonoïdes caractérisés par leurs propriétés antivirales contre onze types de virus. Les flavonoïdes aglycones pourvus d'un groupement hydroxyle libre en C3 ont montré une bonne activité antivirale, les flavanes sont généralement plus efficaces que les flavones et les flavanones contre HIV-1 et HIV-2 (**Tapas et al., 2008**).

**4.5. Propriétés antiallergiques :**

Ces effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase  $\text{Ca}^{2+}$  dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATP<sub>ase</sub>  $\text{Ca}^{2+}$  dépendante dégrade l'atp produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (**Marfak, 2003**).

# **Partie 02 : Méthodologie**

## Partie 2 : Méthodologie

### 1. Objectifs :

L'objectif de ce travail est de tester l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) récolté dans la région Naama-Algérie et préparé à différentes concentrations vis-à-vis de quatre germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*) impliqués dans les intoxications alimentaires.

### 2. Matériels :

#### 2.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de feuilles d'une espèce médicinale, *Rosmarinus officinalis*. Cette espèce a été choisie, surtout, à cause de sa disponibilité et son utilisation courante en médecine traditionnelle et dans le domaine agro-alimentaire.

#### 2.2. Matériel du laboratoire utilisé :

**Verreries :** Tubes à essais, béchers, erlenmyers, pipette pasteur, fioles, flacons, entonnoir, verre de montre.

**Autres matériels :** Boîtes de pétri, propipettes, papier filtre stérile, anse à platine, écouvillons, disques en papier stériles (3mm), bec benzène.

**Appareils utilisés :** Balance, rota vapeur, étuve, autoclave, plaque chauffante, bain marie, spectrophotomètre, vortex.

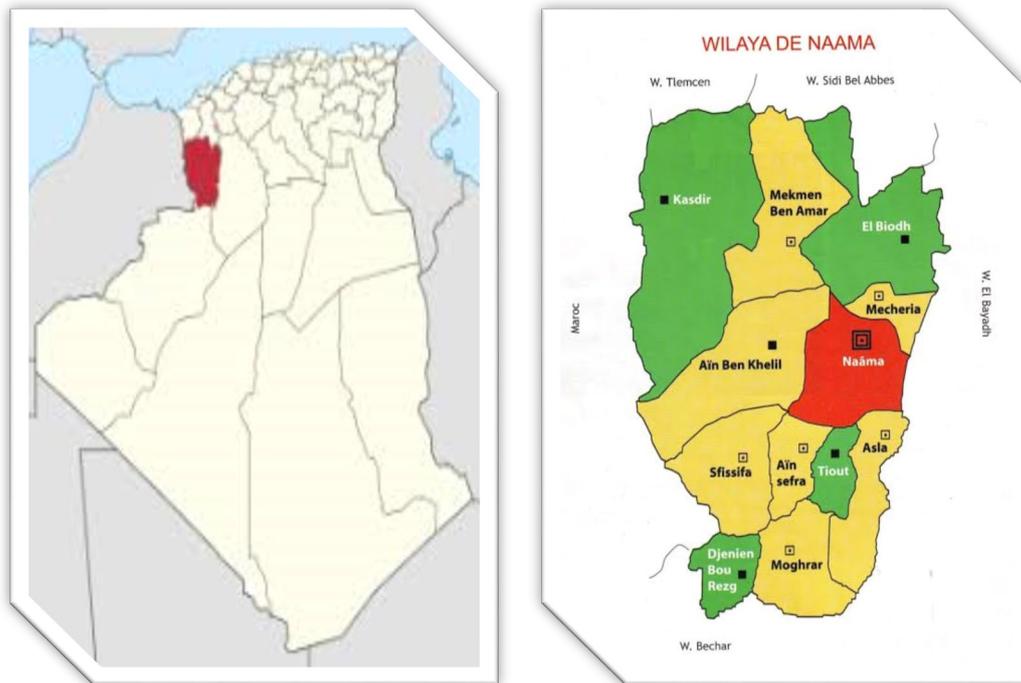
**Milieux de culture utilisés :** Gélose Muller Hinton, bouillon Muller Hinton.

**Micro-organismes étudiés :** Les bactéries utilisées sont des germes de références achetés de l'institut Pasteur d'Alger-Algérie dont : *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Salmonella typhi* (ATCC).

### 3. Méthodes :

#### 3.1. Région de prélèvement et traitement préliminaire des échantillons :

Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* ont été prélevés de la région de Naama-Algérie. Elles ont été prélevées le mois de Février 2019 sur site situé a Morghad de longitude 24 m et à de latitude 2135m.



(<https://fr.wikipedia.org/wiki/wilaya-de-Na%C3%A2ma>).



**Figure 15.** Localisation géographique de la région d'étude (NAAMA)

Au laboratoire, les échantillons frais de *Rosmarinus officinalis* ont été séchés à l'air libre pendant 15 jours.

Après séchage, les feuilles et leurs récupérés ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Ce broyage a permis de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaires. La poudre obtenue est conservés dans un récipient en verre fumé et stockée à l'abri de lumière et de l'humidité a fin de éviter toute réactions chimiques pouvant entrainer des modifications au niveau des principes actifs présentes dans la poudre de la plante.



**Figure 16.** Poudre végétale

### **3.2. Méthodes d'extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* :**

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans *Rosmarinus officinalis* (Romarin) il a été opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par (Sultana et al., 2009). Cette méthode n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

L'extraction des composés bioactifs à été réalisée par usage d'un solvant polaire à savoir l'éthanol. Des prises d'échantillons de matière végétale broyée de 10 g ont été effectuées. Chaque échantillon de broyat de matière végétale à été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange sera laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs (Figure15).

Les extraits à l'éthanol, obtenus ont été filtrés en utilisant un papier filtre Wattman N°3 ayant une porosité de 0,3 $\mu$ m et débarrassés le solvant à été ensuite débarrassé par évaporation sous vide à 40°C (Figure 16).

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés ont été enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement (**Figure17**).



**Figure 17.** L'étape d'agitation



**Figure 18.** Etape d'évaporation sous vide au rotavapeur

### 3.3. Activation des germes microbiens :

A l'aide d'une anse à platine, un prélèvement de la souche (*Pseudomonas aeruginosa*, ou d'*Escherichia coli*, ou de *Staphylococcus aureus*, et de *Salmonella typhi*) est effectué sur le milieu gélosé de conservation, celui-ci est ensuite cultivé dans 10 ml de bouillon MH à 37°C durant 3 heures. Après incubation la densité optique des bouillons MH cultivé au spectrophotomètre réglé à 560 nm dura être d'environ 0,9 (**Figure18**).

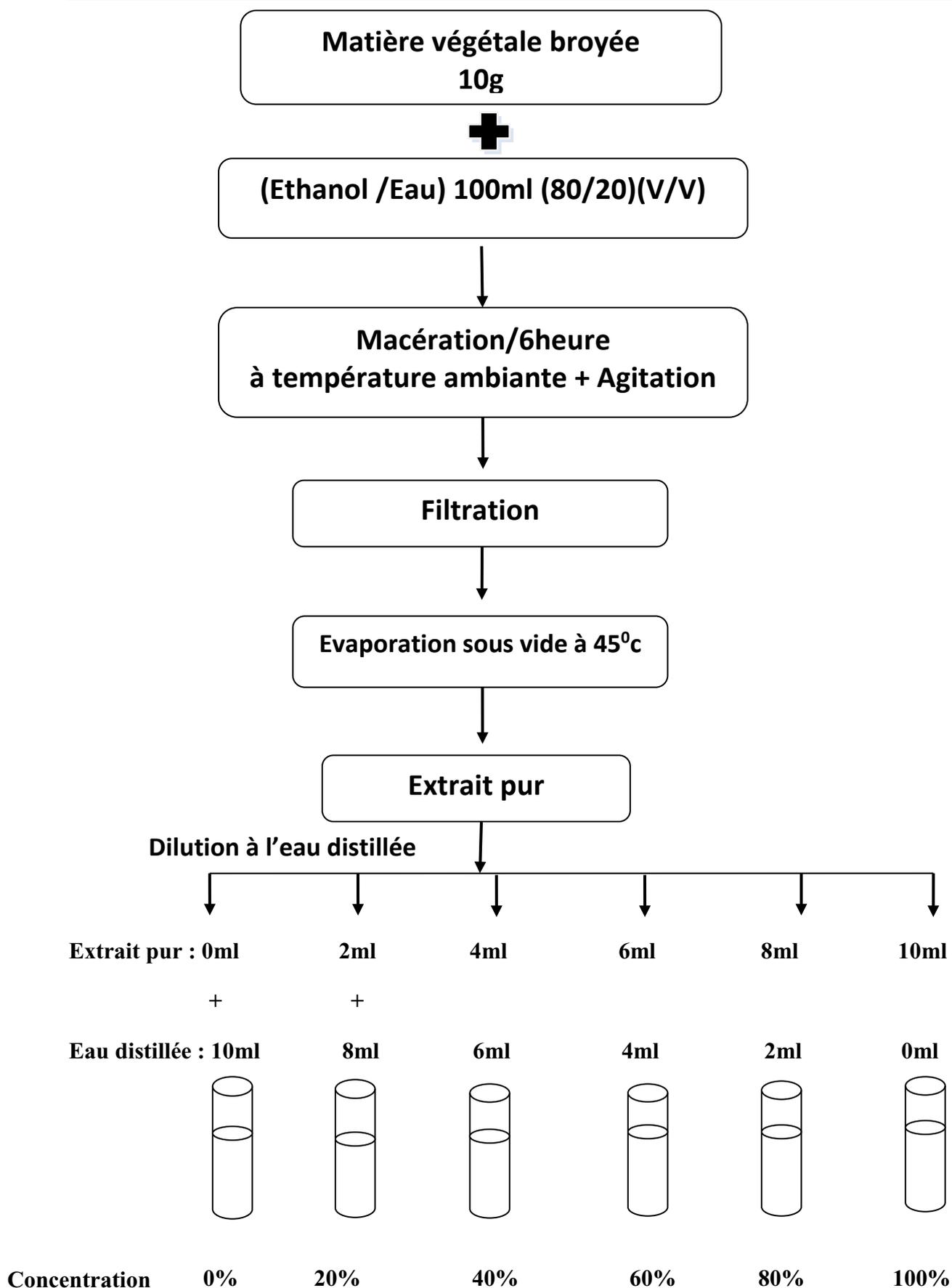


Figure 19. Diagramme d'extraction et de dilution de l'extrait de Romarin.

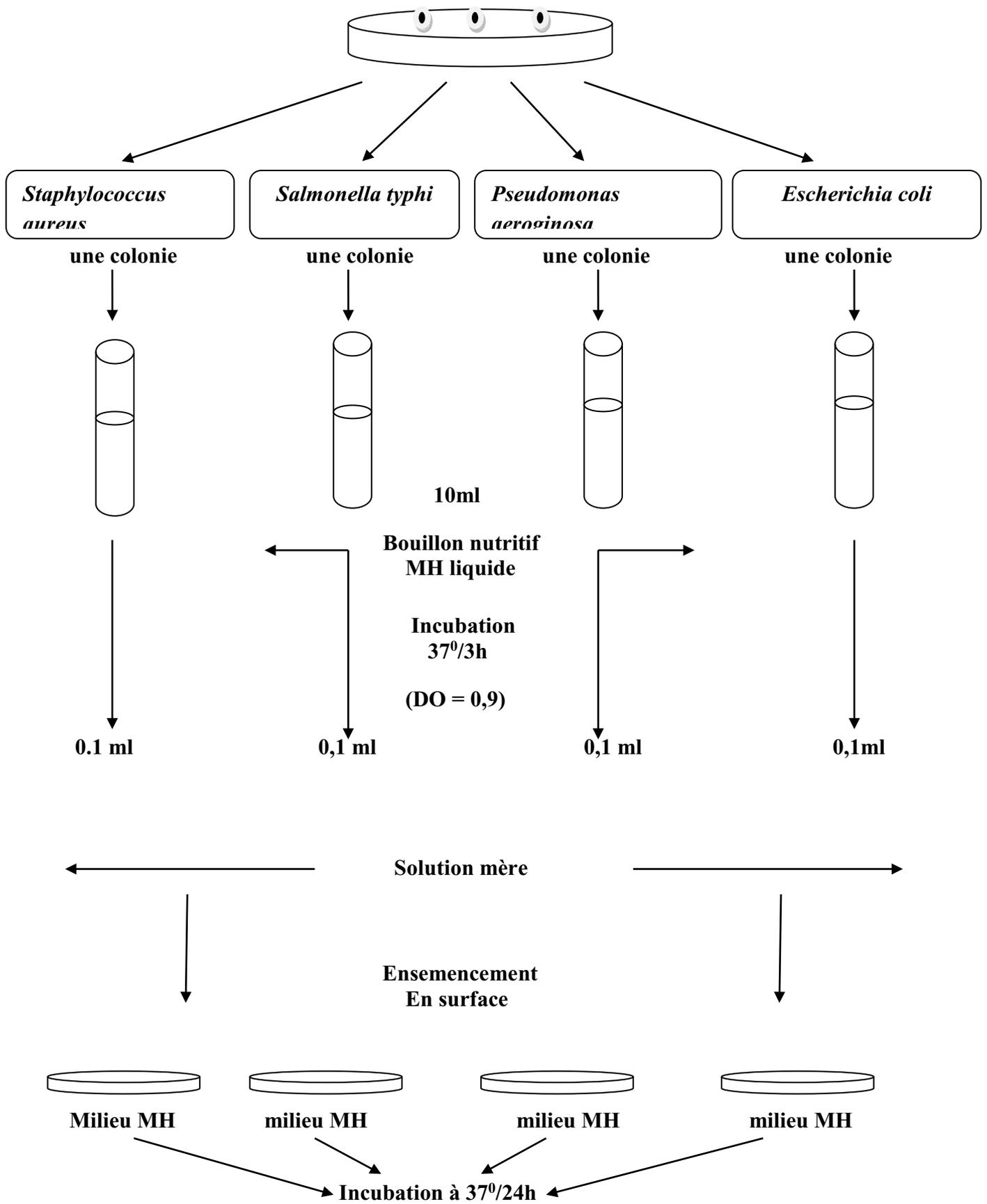


Figure20. Diagramme d'activation des germes pathogènes utilisés.

### 3.4. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980):

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée sur milieu solide gélosé MH à été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune à été ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon MH, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue la solution mère d'une espèce de bactérie donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à  $10^{-5}$  pour chaque espèce. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boîtes de Petri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu gélosé MH. La lecture du nombre de colonies développé à été effectuée après incubation des milieuxensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (Bourgeois et Leveau, 1980) (Figure19).

### 3.5. Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Watman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Une colonie de chaque espèce microbienne étudiée prélevée du milieu gélosé MH de culture après activation à étéensemencée dans 10 ml de bouillon MH ; ce mélange constituera la solution mère. Des prises de volume de 0,2 ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Petri contenant le milieu gélosé MH solide. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque extrait la plante, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Petri contenant le milieu gélosé MHensemencé à un germe test donné (Prescott et al., 2003).

La lecture des diamètres d'inhibition à été effectuée après incubation des boîtes de Petri à 37°C pendant 24 heures à l'aide d'un pied à coulisse (Guignar, 1998) (Figure20).

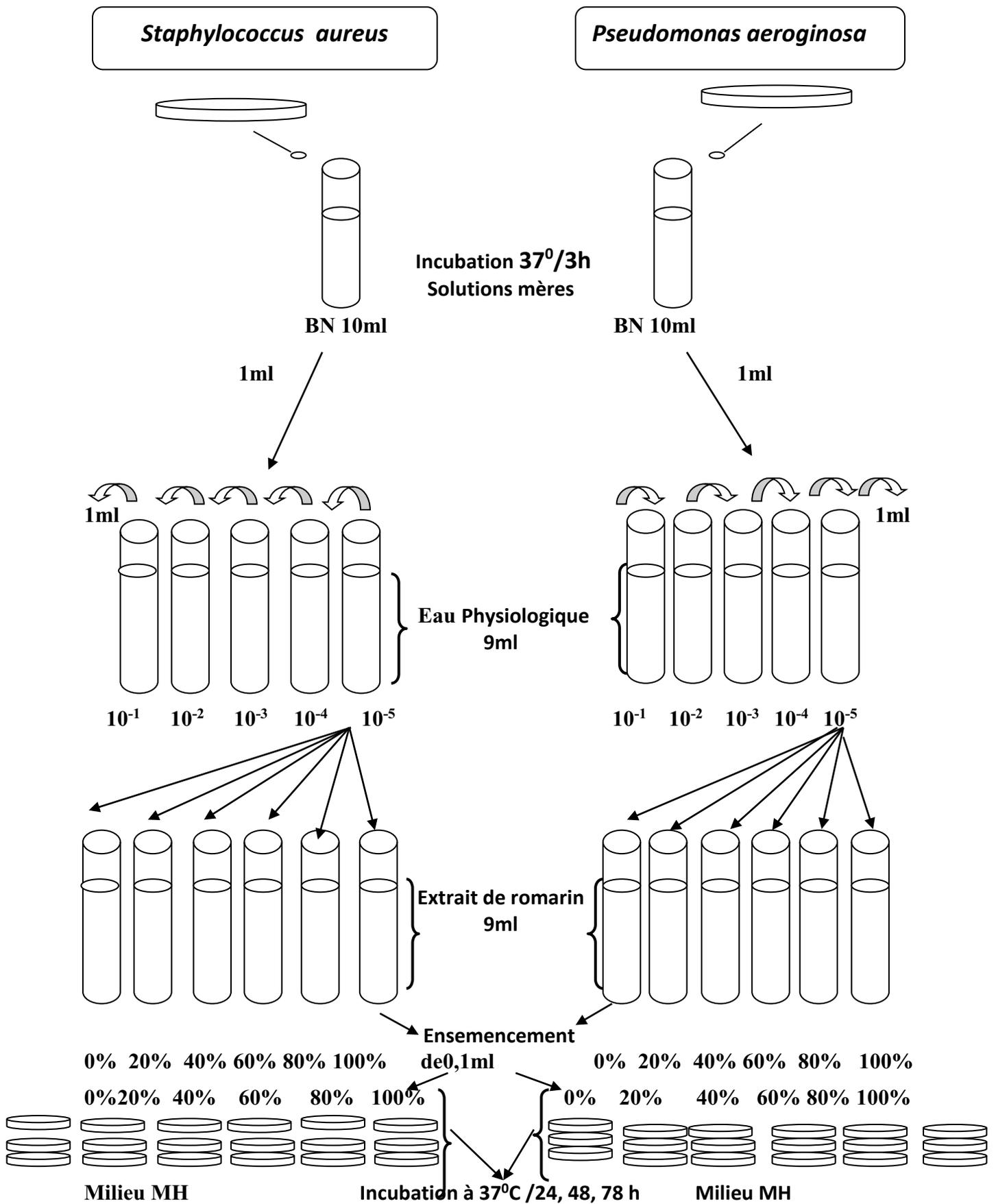


Figure 21. Méthode de contact direct.

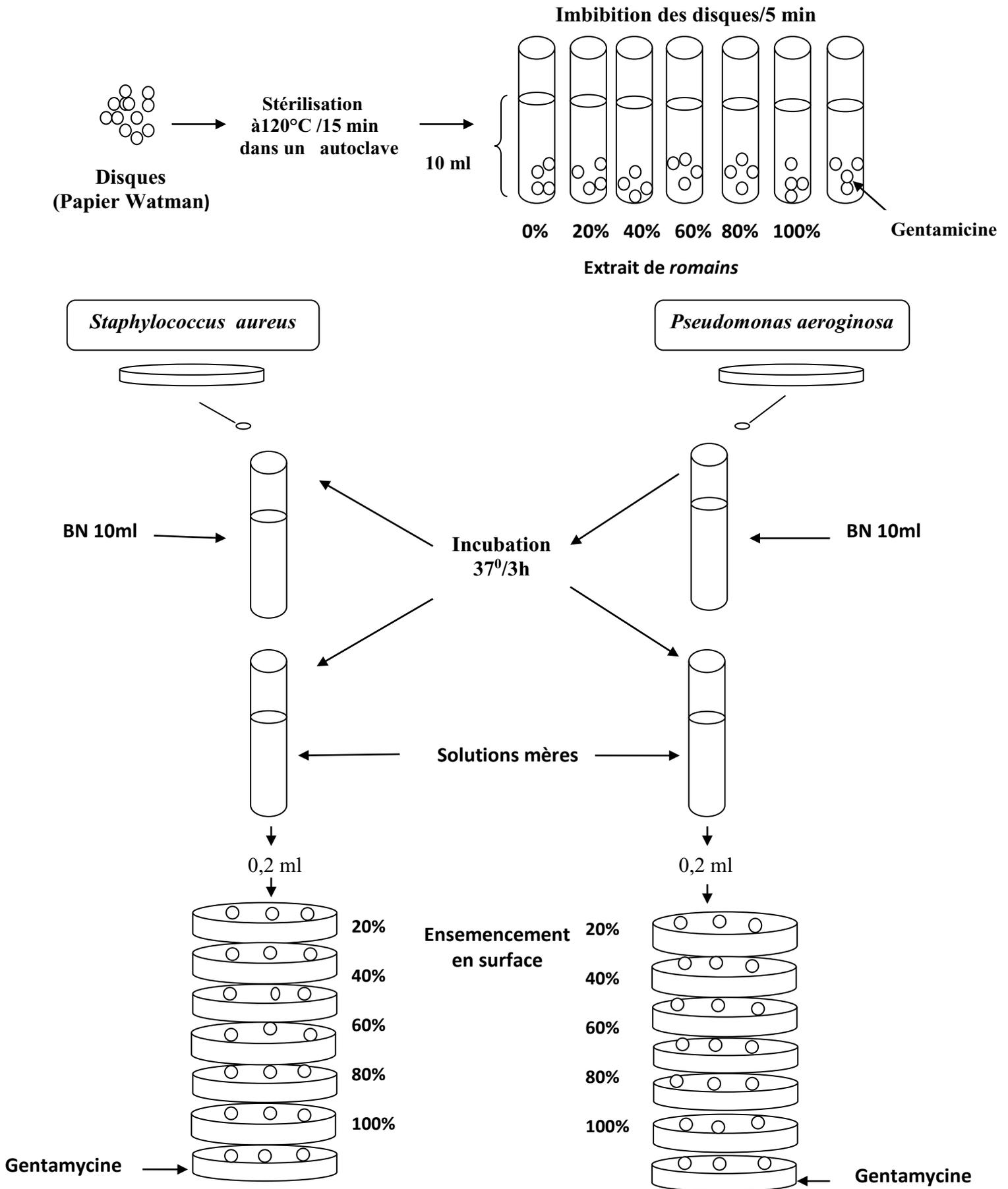


Figure22. Méthode des disques par diffusion sur gélose.

### 3.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

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

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits de matière végétale de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) obtenu par extraction à l'éthanol aqueux qui est utilisé pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez les quarts espèces de germes étudiés responsables de toxi-infection alimentaires.

Ainsi, des prises à raison d'une colonie jeune de chaque germe étudié prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon MH ont été incubées pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inoculas. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum ont été introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

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

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI à été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspond donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur  $d_i$  sera égale à  $d_f$  ( $d_i = d_f$ ) (Figure 21).

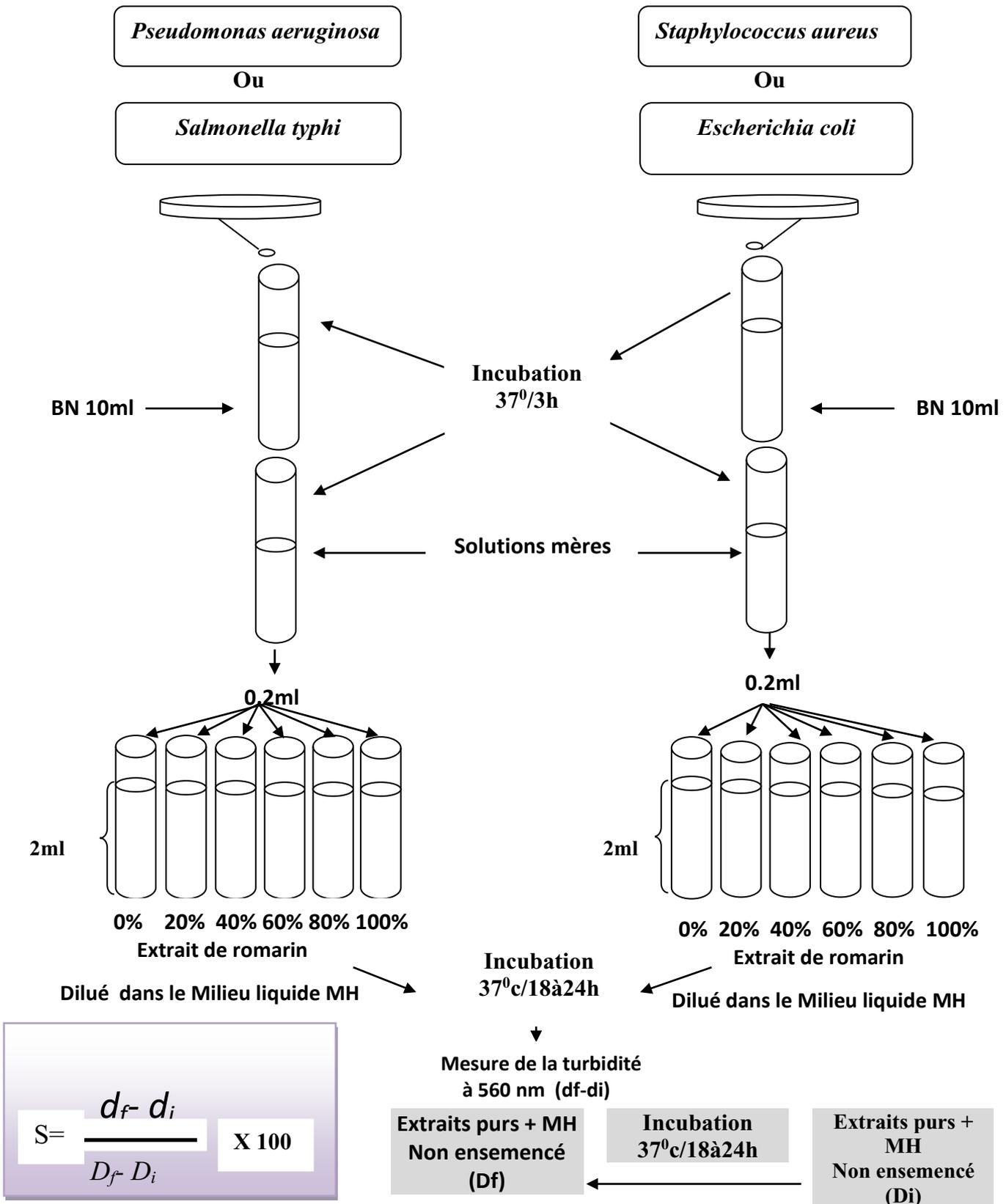
Le taux de survie du microorganisme est mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

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

-S : Taux de survie du microorganisme en %.

- $d_f - d_i$  : Différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

- $D_f - D_i$  : Différence de densité optique dans la solution sans extrait de Romarin avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (Kra *et al.*, 2001 ; Zrihi *et al.*, 2007).



-S : Taux de survie du microorganisme en %.

-df-di : Différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation.

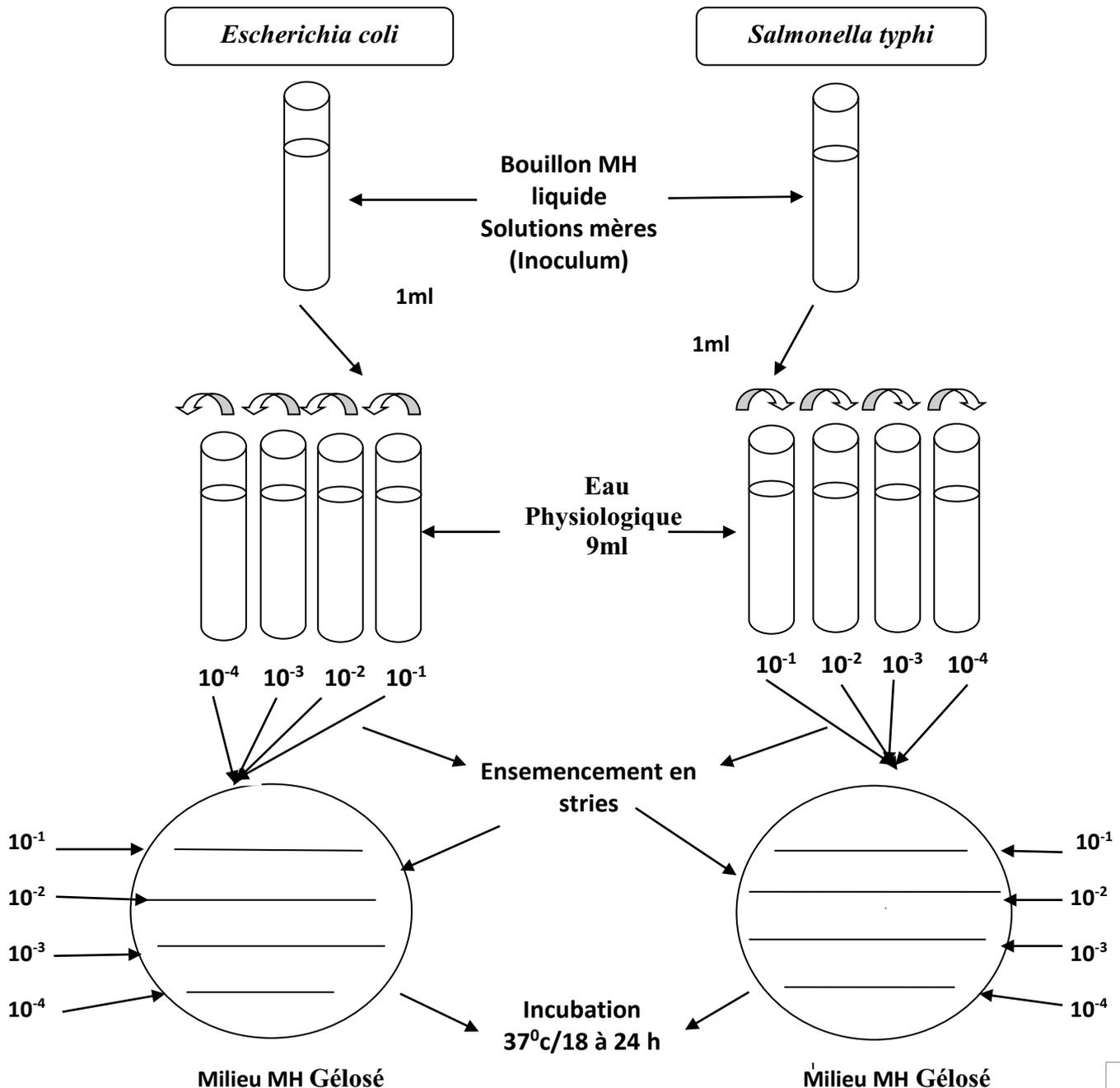
-Df-Di : Différence de densité optique dans la solution sans extrait de romarin avant et après incubation à 37°C durant 18 heures

**Figure23.** Détermination de la CMI de l'extrait de Romarin

### 3.3.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

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

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à  $10^{-4}$ . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme test. Elle est ensemencée par strie sur une Géluse Mueller Hinton puis incubée à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution  $10^{-4}$  a été comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum bactérien, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie et incubé à  $37^{\circ}\text{C}$  durant 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution  $10^{-4}$  correspond à la CMB (Figure 22).



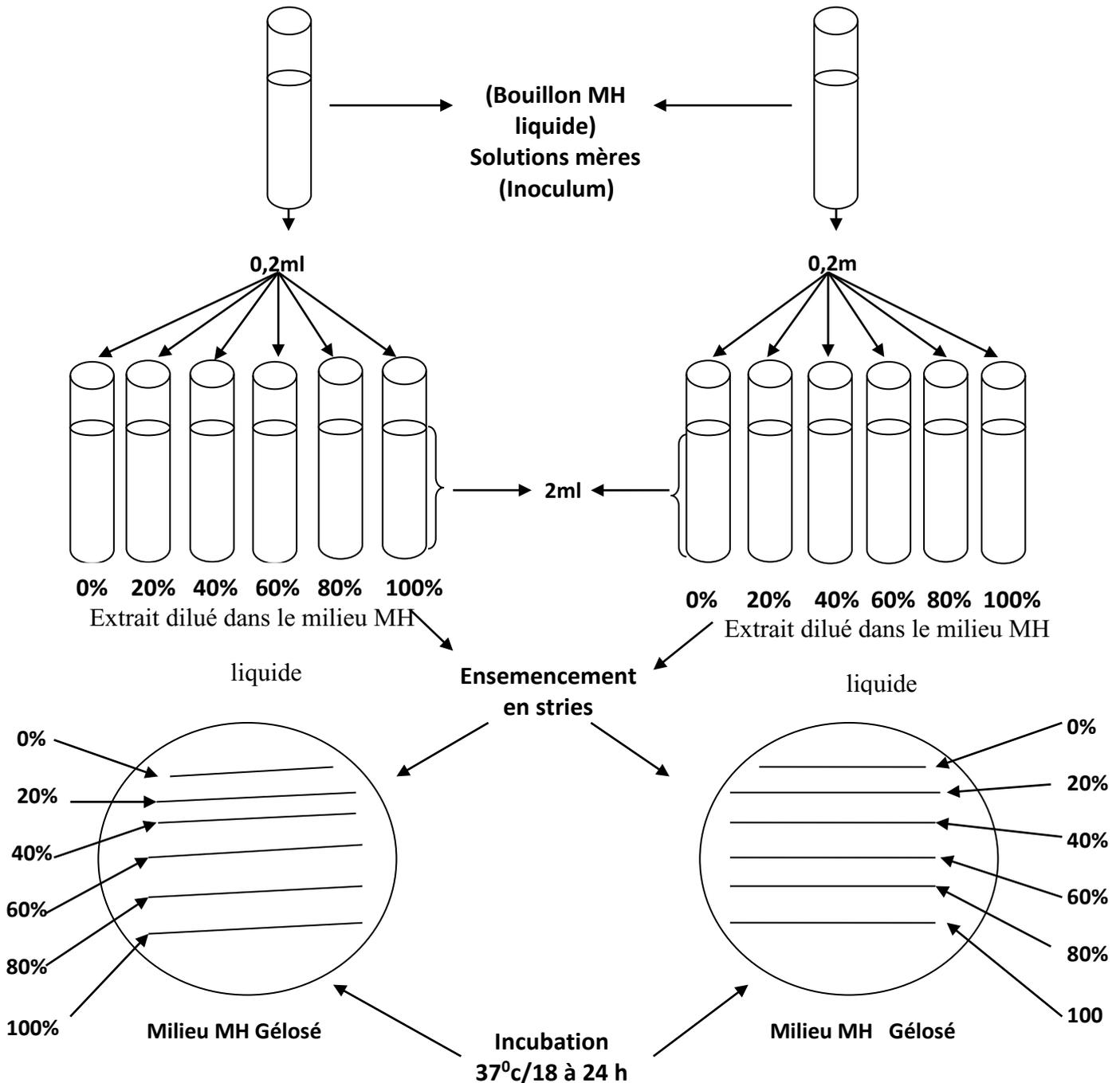


Figure24. Détermination de la CMB des germes.

#### 4. Traitement statistiques :

Les résultats expérimentaux ont subi une analyse de variance bi factorielle en randomisation totale et une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et keuls. Les données ont été traitées par un logiciel (version démonstrative) de statistique à savoir le STAT Box 6.4.

Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes, suivies des écarts types correspondants.

L'effet du facteur (traitement à été démontré aux deux seuils de probabilité :  $P < 0,05$  et  $P < 0,01$ ).

**Partie 03 :**  
**Résultats et discussion**

## 1. Résultats :

### 1.1. Test de Croissance des germes pathogènes :

Les effets de l'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* prélevé dans la région de Naama sur la croissance des quatre germes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*) responsables de toxi-infection alimentaires sont mentionnés dans la (Figure 23 et le Tableau 10).

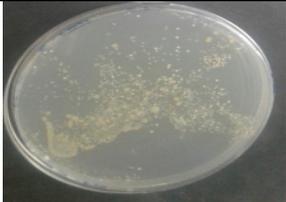
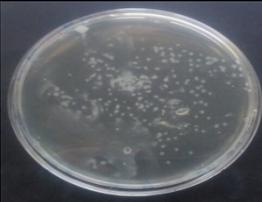
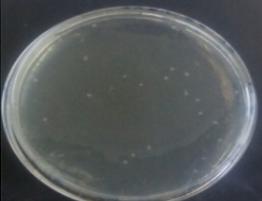
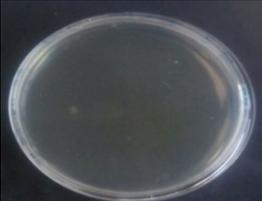
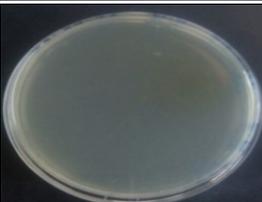
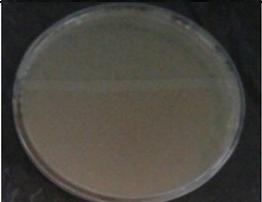
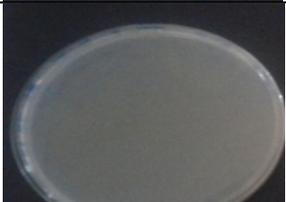
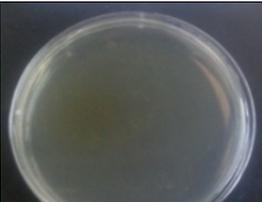
Concentration de l'extrait hydro-éthanolique de romarin	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
00%				
20%				
40%				
60%				
80%				
100%				

Figure 25. Effets de l'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur certains germes pathogènes.

Comparativement à l'extrait témoin à l'eau, la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* à été totalement inhibée ( $P < 0,01$ ) à 20% d'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* riche en principaux composés phénoliques.

Concernant, *Escherichia coli*, aucune prolifération du germe n'a été notée à partir d'extrait de la plante concentrée à 40% et plus.

Enfin, la croissance de *Staphylococcus aureus* est totalement freinée à 60% d'extrait de la plante (**Tableau 10**).

**Tableau 10.** Effet de l'extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur la croissances de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effets des concentrations d'extrait de Romarin.
	00	20	40	60	80	100	
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml)	60x10 <sup>5</sup>	31x10 <sup>5</sup>	31x10 <sup>4</sup>	0	0	0	P>0,05
<i>Salmonella typhi</i> (UFC/ml)	162x10 <sup>5</sup> <sup>a</sup>	23x10 <sup>5</sup> <sup>b</sup>	23x10 <sup>4</sup> <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	P<0,01
<i>Escherichia coli</i> (UFC/ml)	98x10 <sup>5</sup>	27x10 <sup>5</sup>	0	0	0	0	P>0,05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/ml)	33x10 <sup>5</sup> <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	P<0,01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n= 3 ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié F1 ( concentration en extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* ; p<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d....etc. :groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN KEULS.

## 1.2. Taux de Croissance des germes pathogènes :

Comparativement au témoin, sans composés phénoliques de Romarin, l'extrait préparé à 60, a induit de faible taux de croissance ( $P < 0,01$ ) estimés à 0% des germes *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi*.

A 40% d'extrait éthanolique aqueux de Romarin aucune croissance n'a été constatée chez l'espèce microbienne *Escherichia coli*.

En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* n'a connue aucune prolifération avec un taux de croissance de 0% en présence d'extrait de la plante concentré à 20%.

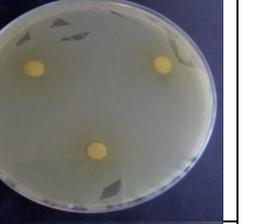
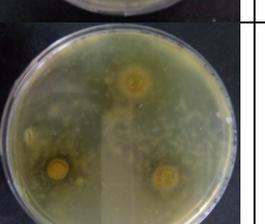
**Tableau 11.** Effet de l'extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur le taux de croissance de certains germes pathogènes :

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effets des concentrations d'extrait de Romarin.
	00	20	40	60	80	100	
<i>Staphylococcus aureus</i> (%)	100 <sup>a</sup>	51,66 <sup>a</sup>	5,16 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	$P < 0,01$
<i>Salmonella typhi</i> (%)	100 <sup>a</sup>	14,19 <sup>a</sup>	1,42 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	$P < 0,01$
<i>Escherichia coli</i> (%)	100 <sup>a</sup>	27,55 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	$P < 0,01$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (%)	100 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	$P < 0,01$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions  $n = 3$  ;  $P < 0,01$  : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentration en extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis*) ;  $p < 0,05$  : effet significatif du facteur étudié ;  $P > 0,05$  : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d....etc. : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN KEULS.

### 1.3. Diamètre d'inhibition :

Les effets de l'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* prélevé dans la région de Naama sur le diamètre d'inhibition des quatre germes étudié (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*) sont présentés dans la (Figure 24 et le Tableau 12).

Concentration	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>
Gentamycine				
Extrait à 20%				
Extrait à 40%				
Extrait à 60%				
Extrait à 80%				
Extrait à 100%				

**Figure 26.** Effets de l'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur les diamètres d'inhibition des certains germes pathogènes.

Comparativement à la gentamicine, les solutions de Romarin préparées à des concentrations variables de 20 à 100% d'extrait de Romarin ont engendré de faibles diamètres d'inhibitions ( $P < 0,01$ ), chez *Staphylococcus aureus* ; 7 à 15 Vs=31mm, en moyenne.

Ces dilutions ont occasionné cependant, des diamètres d'inhibition intéressants chez *Salmonella typhi* (17,7 à 23mm), *Escherichia coli* (18,4 à 25,7mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (19,4 à 30,4mm). (Tableau 12).

**Tableau 12.** Effet des extraits phénoliques à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur le diamètre d'inhibition (mm) de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effets des concentrations d'extrait de Romarin.
	Gentamycine	20	40	60	80	100	
<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	31,00 <sup>a</sup> ± 0,173	7,00 <sup>b</sup> ± 0,66	10,30 <sup>b</sup> ± 0,493	12,00 <sup>b</sup> ± 0,5	12,70 <sup>b</sup> ± 0,462	15,00 <sup>b</sup> ± 0,5	$P < 0,01$
<i>Salmonelle typhi</i> (mm)	28,00 <sup>a</sup> ± 0,20	17,70 <sup>b</sup> ± 0,208	16,00 <sup>b</sup> ± 0,458	15,70 <sup>b</sup> ± 0,569	17,00 <sup>b</sup> ± 0,361	23,00 <sup>b</sup> ± 0,265	$P < 0,01$
<i>Escherichia coli</i> (mm)	29,4 <sup>a</sup> ± 0,12	18,4 <sup>b</sup> ± 0,32	11 <sup>b</sup> ± 0,17	14 <sup>b</sup> ± 0,10	16,7 <sup>b</sup> ± 0,31	25,7 <sup>b</sup> ± 0,25	$P < 0,01$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (mm)	30,7 <sup>a</sup> ± 0,115	19,4 <sup>b</sup> ± 0,115	20,4 <sup>b</sup> ± 0,643	19,7 <sup>b</sup> ± 0,416	24,8 <sup>b</sup> ± 0,924	30,4 <sup>b</sup> ± 0,503	$P > 0,05$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants avec un nombre de répétitions  $n = 3$  ;  $P < 0,01$  : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentration en extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* ;  $p < 0,05$  : effet significatif du facteur étudié ;  $P > 0,05$  : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d...etc. : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN KEULS.

#### 1.4. Taux d'inhibition des germes pathogènes :

Les meilleurs taux d'inhibitions des germes *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été remarqués avec l'extrait pur de Romarin concentré à 100 ; 82,15, 87,80 et 98,92%. Ces taux sont très proches de la gentamicine.

Cependant, les faibles taux d'inhibitions des germes ont été constatés chez *Staphylococcus aureus*; avec des valeurs variables de 22,59 à 48,39%. (**Tableau 13**).

**Tableau 13.** Effet de l'extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur le taux d'inhibition de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effets des concentrations d'extrait de Romarin.
	Gentamycine	20	40	60	80	100	
<i>Staphylococcus aureus</i> (%)	100 <sup>a</sup>	22,59 <sup>b</sup>	33,34 <sup>b</sup>	38,71 <sup>b</sup>	40,86 <sup>b</sup>	48,39 <sup>b</sup>	P<0,01
<i>Salmonelle typhi</i> (%)	100 <sup>a</sup>	63,10 <sup>b</sup>	57,15 <sup>b</sup>	55,96 <sup>b</sup>	60,72 <sup>b</sup>	82,15 <sup>b</sup>	P<0,01
<i>Escherichia coli</i> (%)	100 <sup>a</sup>	62,73 <sup>b</sup>	37,63 <sup>b</sup>	47,90 <sup>b</sup>	57,02 <sup>b</sup>	87,80 <sup>b</sup>	P<0,01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (%)	100 <sup>a</sup>	63,05 <sup>b</sup>	66,31 <sup>b</sup>	64,13 <sup>b</sup>	80,44 <sup>b</sup>	98,92 <sup>b</sup>	P<0,05

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentration en extrait phénolique à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* ; p<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d....etc. :groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN KEULS.

### 1.5. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des germes étudiés :

Les concentrations minimales inhibitrices des germes *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été respectivement trouvées à une concentration d'extrait de *Rosmarinus officinalis* de 60%.

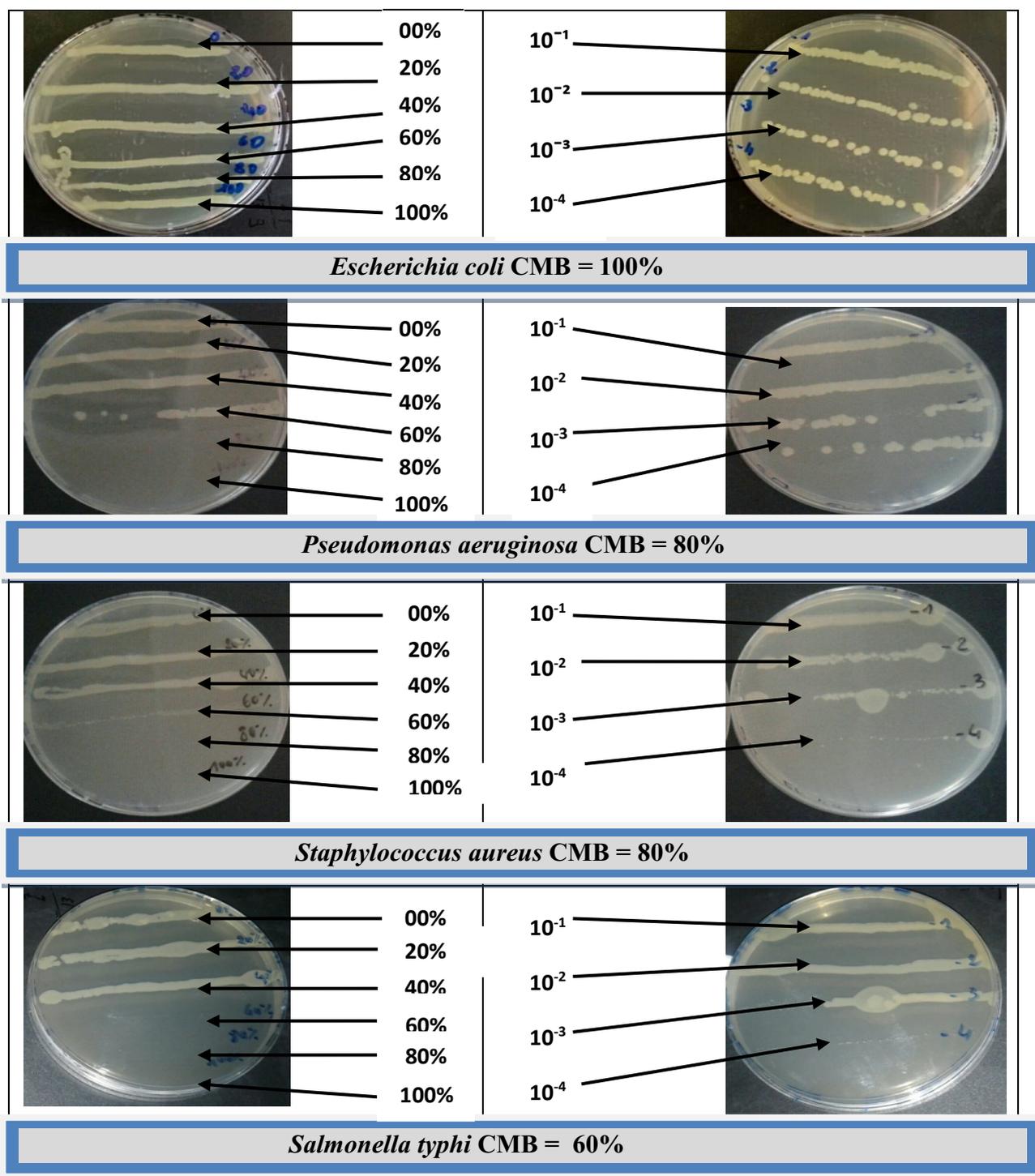
Par contre, la CMI chez *Staphylococcus aureus* à été remarquée avec l'extrait de Romarin préparé à 40% (Tableau 13).

**Tableau 14.** Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de *Rosmarinus officinalis* prélevé dans la région de Naama chez certains germes pathogènes.

Les germes	Concentrations en extraits phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						
	Paramètres	Témoin	20	40	60	80	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Di</b>	0,156	0,656	0,889	1	1	0,835
	<b>Df</b>	0,789	1	0,853	0,850	1	0,775
	<b>di-df</b>	0,633	0,344	0	-0,036	-0,06	-0,15
	<b>S%</b>	100	54,34	0	0	0	0
	<b>CMI = 40%</b>						
<i>Escherichia coli</i>	<b>Di</b>	0,157	0,601	0,722	1	1	0,710
	<b>Df</b>	0,762	0,979	0,763	0,574	0,887	0,674
	<b>di-df</b>	0,605	0,378	0,041	-0,036	-0,113	-0,426
	<b>S%</b>	100	62,47	6,77	0	0	0
	<b>CMI = 60%</b>						
<i>Salmonella typhi</i>	<b>Di</b>	0,176	0,740	0,631	1	0,622	0,950
	<b>Df</b>	0,98	1	0,88	1	0,566	0,740
	<b>di-df</b>	0,804	0,26	0,249	0	-0,056	-0,21
	<b>S%</b>	100	32,33	30,97	0	0	0
	<b>CMI = 60%</b>						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>Di</b>	0,201	0,680	0,950	1	0,569	1
	<b>Df</b>	0,99	0,803	1	1	0,569	1
	<b>di-df</b>	0,789	0,123	0,05	0	0	0
	<b>S%</b>	100	15,58	6,33	0	0	0
	<b>CMI = 60%</b>						

**Di** : densité optique initiale avant l'incubation ; **Df** : densité optique sans extrait de *Rosmarinus officinalis* après incubation ; **S** : taux de survie du microorganisme en % ; **CMI** : concentration minimale inhibitrice ; **di** : La densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant incubation ; **df** : densité optique final après incubation

Les concentrations minimales bactéricides ont été recensées chez les germes *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* avec les solutions préparées à 40, 60, 80, 100% d'extrait phénolique à l'éthanol aqueux de Romarin, respectivement (Figure 25).



**Figure 27.** Concentrations minimales bactéricides (CMB) de l'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* chez certains germes pathogènes.

### 1.7. Type d'inhibition de l'extrait éthanolique aqueux de Romarin :

L'extrait éthanolique aqueux de *Rosmarinus officinalis* semble d'après le rapport CMB/CMI exercer un effet de type bactéricide chez l'ensemble des germes étudiés *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*. (Tableau 15).

**Tableau 15.** Type d'inhibition de l'extrait de Romarin chez certains germes pathogènes.

Germes	CMI	CMB	Rapport CMB/CMI	Type d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	40%	40%	1	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i>	60%	100%	1,66	Bactéricide
<i>Salmonella typhi</i>	20%	40%	2	Bactéricide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60%	60%	1	Bactéricide
<b>Normes</b>	<p>D'après (Olivier 2007)  CMB/CMId2( Effet bactéricide)  CMB/CMI&gt;2 (Effet bactériostatique)  D'après (Marmonier1990)  CMB/CMId4(Effet bactéricide)  CMB/CMI&gt;4(Effet bactériostatique)</p>			

## 2. Discussion :

L'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la région de Naama-Algérie a montré lorsqu'il est utilisé surtout à l'état pur concentré 0-100% des effets antimicrobiens aérés contre les germes pathogènes et responsables de toxi-infections alimentaires étudiés dont notamment à l'égard des bactéries : *Salmonella typhi* ; *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'efficacité inhibitrice de cet extrait vis-à-vis de ces microorganismes était comparable à la gentamicine, considérée comme étant un puissant antibiotique.

Ces réponses antimicrobiennes observées sont étroitement liée à la grande richesse de l'extrait de la plante étudiée en principaux composés phénoliques ayant un potentiel antimicrobien élevé vis-à-vis de nombreux micro-organismes.

En effet, les polyphénols ou composés phénoliques sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tanins, quinones, acides phénols et autres phloroglucinols ou les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué. La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement, des processus mis en jeu au cours de leur biosynthèse, et leur propriétés physico-chimiques et biologiques (**Bruneton, 1993**). Les recherches des dix à quinze dernières années ont démontré que ces composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes de métabolisme. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans des processus vitaux les plus divers.

D'après **Faiscova et Faix (2008)** l'activité antimicrobienne du romarin contre les bactéries testées peut être attribuée à la présence de flavonoïdes, acides phénolique (acide caféique, acide chlorogénique et acide rosmarinique) dans la plante.

Cependant, l'extrait éthanolique de romarin n'a pas été très efficace contre *Staphylococcus aureus* ou l'effet inhibiteur exercé était moindre par rapport à la gentamicine purit pur témoin.

Ces résultats, résultent sans doute du solvant d'extraction utilisé et donc du type de composé actif contenu dans l'extrait au terme d'extraction au solvant utilisé dans le cas de cette étude dans le cas de cette étude à savoir l'éthanol aqueux à 80/20 (V/V).

**Paniwonyk et al (2009)** en étudiant l'influence des solvants sur l'extraction de l'acide rosmarinique et carnosique à partir du romarin, ont prouvé que le méthanol donne des rendements plus importants que l'éthanol. Ceci est probablement due à la nature polaire de l'acide rosmarinique favorisant le méthanol comme (solvant le plus polaire) susceptible d'introduire une meilleure extraction

D'ailleurs, une étude des principaux constituants (acide carnosique et carnosol) d'un extrait chloroformique des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* pour leur activité antimicrobienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* possédant des mécanismes de résistance divers (**Oluwatuyi et al, 2004**).

Par ailleurs, l'extrait à l'hexane sévère plus antioxydant que l'extrait au méthanol et à l'éthanol. Plusieurs études indiquent que les composés responsables de l'activité antioxydative du romarin sont principalement des diterpènes phénoliques tels que l'acide carnosique, le carnosole et la rosmarinal (**Hras et al., 2000**).

En outre, les souches bactériennes testées à Gram positif dont *Staphylococcus aureus* sensible que les Gram négatif dont *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. En effet les résultats obtenus par tous ces auteurs concordent avec ce qui a été observés dans la présente étude. En règle générale, les extraits de plantes sont habituellement plus actif contre les bactéries Gram positif que les bactéries Gram négatif (**Okoro et al ., 2010**).

En fin, l'extrait de romarin étudié a dévoilé un effet inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis des germes testés : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. D'une manière générale, l'action antimicrobiennes des extraits des plantes médicinales riches un principaux composés bioactifs tels les composés phénoliques sur les bactéries se déroule en trois phases : L'attaque de la paroi bactérienne par l'extrait, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, puis, l'acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure et finalement la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Deferera et al, 2003**).

# **Conclusion**

### Conclusion :

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce présent travail, une étude des propriétés antimicrobienne de la plante a été réalisée. C'est une plante appartenant à la famille des Lamiaceae, très utilisée dans la région de Naama- Algérie en raisons de ses multiples propriétés thérapeutiques.

L'étude c'est intéressée à l'activité antimicrobienne des composés phénoliques de l'extrait à l'éthanol aqueux de la partie aérienne de la plante vis-à-vis de quatre germes responsables de toxi-infections alimentaires dont : *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Salmonella typhi*.

L'extrait pur à l'éthanol de Romarin a engendré chez les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Salmonella typhi*) par comparaison aux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) de faibles croissances microbiennes et des diamètres d'inhibitions proches de la Gentamicine.

Aucune croissance des germes étudiés n'a été observée en présence d'extrait hydro-éthanolique concentré à 60%. L'extrait pur a occasionné un effet inhibiteur vis-à-vis des germes (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) comparable à la Gentamicine. Cependant, *Staphylococcus aureus* s'avère plus résistant à l'extrait de la plante.

Les concentrations minimale inhibitrices des germes (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) ont été remarquées à 60% d'extrait. En revanché, chez *Staphylococcus aureus*, la CMI à été détectée à 40% d'extrait.

La CMB à été perçue à 60% d'extrait chez *Salmonella typhi* à 80% chez *Staphylococcus aureus*, ainsi que *Pseudomonas aeruginosa* et à 100% d'extrait chez *Escherichia coli*.

Les principes actifs de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis L.* ont montré un effet antimicrobien de type bactéricide chez les germes testés (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhi*).

En perspective, il est souhaitable de mener une étude plus approfondie afin d'isoler et de caractériser la nature des principaux composés actifs responsables des propriétés antimicrobiennes constatées dans l'extrait hydro-éthanolique du Romarin tout en essayant d'évaluer d'autres activités biologiques in vitro et in vivo de chacun de ces composés pris séparément.

# **Références Bibliographiques**

**Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O. and Iwatsuki, K, (2001).**Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48 (4): 487-491.

**Avril J.L. Denis F ; Debernat H, (2000).** Bactériologie clinique. 2<sup>ème</sup> édition, Paris p 148-280.

**Andre Domart et Jacques Bourneuf, (1982).** « Petit Larousse de la médecine », tome 02 Edition Larousse.

**Angnot M, caprasse M, Coune C, (1981).** Se soigner par les plantes. Ed. De l'association des consommateurs. Bruxielles.

**Anton R, Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris et Cachan : Tec et Doc, 522P.

**Amat-Rose J-M(1997) :** Dynamiques porteuses de risque en Europe. Lette de l'infectiologie,12, 326-327.

**Aril JI, Dabernat H, Denis F (1987)** La bactériologie clinique 2<sup>ème</sup> édition, sectionIV.

**Atik Bekkada et al (2007).** Composition chimique de l'huile essentiel de *Rosmarinus officinalis L.* Poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie et santé7 ; 6-11.

**Athmena . S, (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des grains de cumium et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique ; mémoire de magister, université d'Elhadj Lakhdar de Batna.

**Bakirel T, Bakirel U, Kels OU, Ulgen SG, Yardibi (2008).** Ethnopharmacol, Department of pharmacology and toxicologie, Faculty of veterinary medecine, Istanbul University. 28 ; 116(1) : 64-73.

**Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods*, 99: 191–203.

**Balentine et al(2006).** The pre-and post –grinding application of rosmery and it's effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. *Meat Science*,73, p413-421.

**Batra, P. and Sharma, A. K. (2013).** Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. 3(6): 439-459.

**Beerens H(1985).** « Intoxication à Staphylocoques », journées d'hygiène alimentaire école vétérinaire d'Al Fort .

**Bekhoum I(2004).** Contrôle qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse Pharm N 08.

**Bella Khdar J(1997) :** la pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis Press.

**Beloued A(1998) :** plantes médicinales d'Algérie. 2<sup>ème</sup>Edition office .des publications.

**Benhamou D, Carrié AS, Lecomte F(2005).** (*staphylococcus aureus* ; role and impact in treatment of nosocomial pneumonia) Rev Mal Respoir; 22 : 595-603.

**Berends B, Urlingsh H, Snijders J, Vanknapen F(1996).** Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. In pigs.Int J. Food Microbial, 30, 37-53.

**Bergey manuel of systematic bacteriology, (2012).** Vol.5

**Bogs, J., Downey, M.O., Harvey, J.S., Ashton, A.R., Tanner, G.J. and Robinson, S. P. (2005).** Proanthocyanidin Synthesis and Expression of Genes Encoding Leucoanthocyanidin Reductase and Anthocyanidin Reductase in Developing Grape Berries and Grapevine Leaves. *American Society of Plant Biologists*, 139: 652-663.

**Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau. (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3: Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.

**Bruneton J, (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales.2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier techniques et documentation, Paris.

**Buyser D, (1985).** «Toxi infection à Staphylocoques », journées d'études d'hygiène alimentaire Al Fort.

**Cai, K. and Bennick, A. (2006).** Effet of Salivary Proteins on the transport of tannin and quercetin across intestinal epithelial cells in culture. *Biochemical Pharmacology*, 72: 974-980.

**Cheung S. et Tai J. (2007).** Anti-proliferative and antioxidant propertes of rosmary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports.*, 17(6) : 1525-1513.

**Collectif ; Encyclopédie des plantes médicinales (2001):** identification, préparation, soins, soins. Edition Larousse ; 2001.

**Collectif(2010).** Le grand livre des plantes aromatiques médicinales bagueux : sélection reader's digest, 398P.

**Costerton JW., Lewandowski Z, Caldwell D.E, Korber DR, and Lappin. Scott, H.M, (1995)** Microbial biofilms. *Annu Rev Microbial* 49 :711-745.

**Currie, A., Langford, G., McGhie, T., Apiolaza, L.A., Snelling, C., Braithewaite, B. and Vather, R. (2006).** Inheritance of Antioxidants in a New Zealand Blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). *Christchurch, New Zealand*, pp. 218-225.

**De Buyser M.L, Sutra L. (2005).** Staphylococcus aureus In : Federighi M . Bactériologie alimentaire-Compendium d'hygiène des aliments. Economica, Paris, 25-51.

**Deferera D.J., Ziogas B.N and Polissiou, M.G ,(2003).** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerera*, *Fusarium* sp and *clavibacter michiganensis* subsp.michiganensis *Crop Protection*, 22, 39-44.

**Delarras C(2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire.Edition la voisier France , Paris,176.

**Delmas, D., Rebé, C., Lacour, S., Filomenko, R., Athias, A., Gambert, P., Malki, C.M., Jannin, B., Daloz, D.L., Latruffe, N. and Solar y, E. (2003).** Resveratrolinduced apoptosis complex in colon cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 278 (42): 41482-41490.

**Denis F, Poly M-C, Martin C, Bingin E, et Quentin R.(2007).** Bactériologie médicale édition Masson.

**Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy and R. Quentin, (2011).** Bacteriologie Medicale. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, ISBN: 9782294725944, Pages: 640.

**Del Solar A, Gomez Rogers C, Garrido J, Reyer J. (1987)** (Toxic shock. Staphylococcus aureus toxemia) *Rev Média chile* ; 115 : 236-238.

**Emberger L(1982).** Traite botanique faxicule II. Masson.P335.

**Erdman Jr, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J.,Harnly, J, Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita,J., Williamson, G. and Burrowes, J. (2007).** Flavonoids and Heart Health:Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop. *The Journal ofNutrition.nutrition.org*, 137: 718-737.

**Escuter O(2007).** Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulner, 255P.

**Elqaj M, Ahumi A, et Belghyti D (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique « ressources naturelles et antibiotiques ». Maroc.

**Faiscova Z, Faix S, (2008).** Biological effects of rosemary (Rosmarinus L) essential oil. (3-4) : 135-139.

**Fañon M. (2012).** Traité d'aromathérapie scientifique et médicinales : fondements et aide à la proscription : monographie : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Paris : sang de la terre et médical, 879P.

**Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D. D et Guo Z. (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.64(2) : 159-164.

**Flaudrois JP. (2004).** Bactério Géné / croissance bactérienne ; cours de bactériologie médicale DCEMI, UFR Médecine Lyon Sud. Laboratoire de biométrie ; p. 1-3-10.

**Ferry T, Perpoint T, Vandenesch F, Etienne J(2005).** Virulence determinants in Staphylococcus aureus and their involvement in clinical syndromes. Curr Infect Dis Rep.420P.

**Fournier P-V(2010).** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéreuses de France. Paris: Ommibus(un département de place des éditeurs), 1047P.

**François Barbier et Michel Wolff(2010).** Med Science (Paris); 26-960-968.

**Garnier G, Bezanger Beauquesne L. (1961).** Ressources médicinales de la flore française G, Ed. Vigot frères. Tome II .Paris.

**Genetic Background virulence factors. (2002).** agar groups(Alleles), and Human Disease. Infect Immun ; 70 :631-641.

**Gerber M.(1994).** Oliveal and cancer. In : Hill MJ. Gincosa A. Caggil CPG, Eds :Epidemiology.

**Gigon F. (2014).** 50 plantes efficaces pour vous soigner. Paris : Editions de l'opportum, 2014, 380P.

**Ghosh, D. and Konishi, T. (2007).** Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(2): 200-208.

**Gray J ; Fedoka-cray P(2001).** Survival and infectivity of *Salmonella choleraesuis* in swine faces . *J. Food Prot*, 2001, 64, 945-949.

**Guignard, J. L., (2000).** Biochimie végétale. Dunod, Paris., pp: 274.

**Guinochet M, (1973).**Phytosociologie. Paris. Masson éd.P227.

**Hafiane A, and Ravaoarino M (2008)** (Various typing of *pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients) . *Med Mal Infect* 38 :238-247.

**Hames D(2003).** Nontyphoid *Salmonella*. In : Miliotis N ; Bier J. (Eds) International handbook of food borne pathogens, Marcel Dekker : New York, 2003, 137-149.

**Harnly, J.M., Lin, L. and Bhagwat, S, (2007).** Profiling methods for the determination of phenolic compounds in foods and dietary supplements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1): 47-61.

**Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96: 67-202.

**Hill LR (1959).** The Adansonian classification of the staphylococci-*J Gen Microbial*. 20 :277-283.

**Holderness, J., Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J.,Freedman, B. and Jutila, M.A (2008).** Response of cells to plant-derived tannins. *Critical Review of Immunology*, 28(5): 377-402.

**Hras A-R, Hadolin M, Knez Z, Bauman D, (2000).** Comparaison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with a tocopherol, ascorbylpalmitate and citric acid in sunflower oil-food chemistry 71, 220-233.

**Huang CL, Sumpio B.E (2008).** Méditerranéan diet and cardiovascular health. *American college of Sargeans*.207(03) : 408-416.

**Huang M. T., Ho C. T., Wang Z.Y., Ferraro T., Lou Y. R., Stanber K., Ma W., Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Rizenhaler C., Meyer D., Lepierre C., Pollet B. et Legrand**

**M (1994).** Silencing of hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.*, 16(4) : 1446-1465.

**Ibanez E., Cifuentes A., Crego A. L., Senorans F. J., Caverro S. et Reglero G (2000).** Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry.*, 48(9) : 4060-4065.

**Iserin P, Masson M, Restellini J. P, Ybert E, De Laage de Meux A, Moulard F, Zha E, De la roque O, Vican P, Deelesalle , Féat T, Biaujeaud M, Ringuet J, Bloth J, et Bortrel A (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins, Ed Larousse, p10-12.

**James B, Kaper, James P, Nataro et Harry L (2004).** Pathogenic *Echerichia coli* « *Nat Rev Microbial*»Pages 123-140.

**Jean L ( 2011).** Comment éviter les toxi infections alimentaires ?

**Jesus cardemas (2018).** www. Doctissimo. Fr ,phytotérapie.

**Keys A, Keys M. (1975).** How to eat walland stoy well, The mediteranean wog. Garden city : Doubleday and co. P : 325.

**Keys A ; Aravanis C ; Van Buchen H. (1975).** The diet and all causes death rate in the seven countries study. 2 :58-61.

**Khanbabae, K. and Ree, T.R. ( 2001).** Tannins:Classification and Defenition.*Journal of Royal Society of Chemistry*, 18: 641-649.

**Kra, A.K.M,(2001).** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. *Thèse de doctorat 3ème cycle* UFR Biosciences.Univ. Abidjan., pp: 126.

**Labscat J.** Ces plantes qui écrivent l'histoire. Sucy –en-Brie : editions anfortas, 2013, 159P.

**Lais E. (2014).** Le livre des simples : les verts des plantes médicinales. Paris, 191P.

**Lalas S ; Athanasiadis V ; Gortzi O ; Bounitsi M ; Giovanaudis T ; Tsaknis J ; Bagiatis F. (2011).** Enrichement of table olives with polyphénols extracted from olive leaves. *Food chemistry* 127 : 1521-1525.

**Leloir Y, Baron F, Gautier M. (2003).** Staphylococcus aureus and food poisoning. Genet Mol Res GMR. 2003 ; 2 : 63-76.

**Leminor L, Nicolle P, Buttaux R , Chabert Y, et Lemnor S** « Studies on *Escherichia coli* isolated in gastroenterites, Ann inst Pasteur.

**Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. (1996).** Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). Brazilian journal of medical and biological research., 29(2) : 223-227.

**Lepage C. (2009).** Caractérisation des souches de Salmonella thyphimurium responsables de septicémies chez le porc. Mémoire présenté à la faculté des études supérieures, université de montréal, 115.

**Lister P.D, Wolter DJ., and Hanson N.D (2009).**Antibacterial resistant *Pseudomonas aeruginosa* : clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. (in Microbial rev 22 : 582-610).

**Longo, L.,Vasapollo, G and Rescio, L. (2005):** Identification of anthocyanins in *Rhamnus alaternus* L. berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1723-1727.

**Lowy FD. (2003).** Antimicrobial resistance : the example of *Staphylococcus aureus*. J Elin Invest . 111 : 1265-1273.

**Macheix, J.J., Fleuriet, A and Jay-Allemand, C. (2006).** Les composés phénoliques des végétaux. *Sciences des aliments*, 26: 189-190.

**Madadori M.K.(1982)-** Les Plantes médicinales guides vert. Salar. P624.

**Malešev, D. and Kunti, V. (2007).** Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids *via* metal–flavonoid complexing reactions. *Journal of serbian chemical society*, 72 (10) 921–939.

**Marmonier AA, (1990).** Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. In : Bactériologie médicale, Techniques Usuelles. Doin, Paris, France : 227-236.

**Massimo, A., Carmela, F., Roberta, D.B., Raffaella, G., Claudio, G. and Roberta,M. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto superiore di sanità*, 43: 348-361.

**Messaili B(1995).** Systématique spermophyte Botanique .O.P.U. Alger. Salar. P63.

**Michalak, A, (2006).** Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish Journal of Environmental Study*, 15(4): 523-530.

**Miller M, Cook HA, Furuya EY, Bhat M, Lee MH. (2009).** Vavagiakis P. Staphylococcus aureus in the community : colonization versus infection. Galvani AP, editor. Plos ONE.

**Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, (2008).** Study of the antibacterial activity of Morinda morindoides(Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of Escherichia coli strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, 77: 44-61.

**Mustapha SF, (2011).** Extraction et caractérisation de l'huile essentielle et de quelque métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, Thymus vulgaris L, et étude de quelques activités pharmacologiques, thèse de magistère Blida.

**Naczk, M. and Shahidi, F, (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*, 1054: 095-111.

**Nijveldt, R. J., Nood, E. V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K and Leeuwen, P, (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Society for Clinical Nutrition*, 74: 418-425.

**Nonaka, G. I (1989).** Isolation and structure elucidation of tannins. *Pure & Application Chemistry*, 61(3): 357-360.

**Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., et Pfeifer A. M. (1995).** Rosmary components inhibit benzo (a) pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis.*, 16(9) :2057-2062.

**Okoro C.K., Brown R., Jones A.I., Andrews B. A., Asenjo J.A., Goodfellow M,(2009).** Diversity of culturable actinomycetes in hyper arid soils of the atacama desert, chile. *Antonie Van Leeuwenhoek* 95, 121-133.

**Okoro I.O., Osagie A., et Asibor E.O. (2010).** Antioxydant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomesicinal plants of Nigeria. *African journal of Biotechnology*, 9(20) :2989-2993.

**Olivier G, (2007).** Caractéristique et mode d'action des antibiotiques.

**Oluwatuyi M, Kaatzg W, Gibbons S, (2004).** Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*, 65 ; 3249-3254.

**Orenstein A(2011).** The discovery and Naming of *Staphylococcus aureus* . *Gevonden OP*. 2011 ; available : [http:// www. Antimicrobe. Org /h 04c files /history/S.aureus. PDF](http://www.Antimicrobe.Org/h04c/files/history/S.aureus.PDF).

**Panironyk L, (2009).** The enhancement and scale up of the extraction of anti-oxidants from *Rosmarinus officinalis* using ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* 16. 287-292.

**Paris A., Strukelj B., Renko M., Turk V., Pukl M., Umek A. et Korant B. D. (1993).** Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products.*, 56(8) : 1426-1430.

**Paolini, V., Dorchies, Ph and Hoste, H. (2003).** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri.*, 17-19.

**Péchère J ; Agar J ; Armengaud M ; Grenier B. (1994).** Les infections. 3I édition. Paris : Maloine, 198 pages.

**Pérez M. B., Calderon N.L., et Croci C. A. E. (2007).** Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Food chemistry.*, 104 : 585-592.

**Psofovà, J., Lasovsky, J and Vicar, J. (2003).** Metal-chelating Propertys, lectrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Naturalphenolic. *Biomedical Papers*, 147(2): 147-153.

**Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein .(2003).** Microbiologie. De Boeck-Supérieur., pp: 1137.

**Qin, C., Li, Y., Niu, W., Ding, Y., Zhang, R., Shang, X. (2010):** Analysis and characterisation of anthocyanins in mulberry fruit. *Czech Journal of Food Sciences*,28: 117-126.

**Quezel P, et Santa S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques médidionales Tome II. C.N .R.Sc. Paris. PP. 781-783-793.

**Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouységu, L, (2011).** "Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis." *Angewandte Chemie - AInternational Edition*, 50(3): 586-621.

**Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M and Yu, O. (2005).** Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type I and Type II Chalcone Isomerases. *Plant Physiology*, 137(4): 1375-1388.

- Reed, J.D. (1995).** Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of animal and science*. 73: 1516-1528.
- Rozier J et Carlier V. (1983).** « dégradation de la qualité des aliments pour les microorganismes. ».
- Roupe, K., Remsberg, C. M., Yonez, A et Davies, N. M. (2006).** Pharmacometric of stilbènes: Seguing Towards the clinic. *Current Clinical Pharmacology*, 1(1): 81-101.
- Sacchetti, et ses Collaborateurs(2005).** Growing in Argentina. Bioresource technology. (In press).
- Sarni-Manchado, P and Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 3-4.
- Sava, C., Sirbu, R. and Dumitrescu, C. (2006).** Analyse qualitative et quantitative des anthocyanes dans des produits naturels. *Scientific Study & research*, vol. VII (4): 785-798.
- Schneider A. (2002).** Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaître, les protéger, les utiliser. Nontréal : ed, de l'homme, 384P.
- Sebrotynek et al(2005) :** comparaison of natural rosmariny extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat science*. 69-289-296.
- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S and Nacro, M. (2010).** Anatomie et concentration des tanins des plantes tanniferes du Burkina Faso. *Journal des sciences*, 10: 24-32.
- Soares MJ, Tokumaru-Myazaki NH, Noletto AL, Figuerido AM. (1997).** Enterotoxin production by Staphylococcus aureus clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (III :B :A) among isolates from food handlers. *J Med Microbial*. 46 : 214-221.
- Singletry K. W. et Nelshoppen J. M. (1991).** Inhibition of 7, 12-dimethylbenz anthrcene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of in vevo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract *Cancer lettres*. 60(2) : 169-175.
- Souza C. R. F., Schiavetto I. A., Thomazini F. C. F. et Oliveira W. P. (2008).** Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spouted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering.*, 25(1) : 59-69).
- Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf (2009).** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.*, 14: 2167-2180.
- Tanner, G.J., Francki, K.T., Abrahams, S., Watson, J.M., Larkin, P.J and Ashton, A.R. (2003).** Proanthocyanidin biosynthesis in plants: purification of legume leucoanthocyanidin

reductase and molecular cloning of its cDNA. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(34): 31647-31656.

**Tessier A. (2003).** Les plantes médicinales de provence suivie de l'origine des noms végétaux. Paris : Ed . Médecis, 365P.

**Tremblay C. (2008).**Mise à jour du traitement des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline pharmactuel .41P.

**Tsai et al (2007).** In vitro inhibitory effects of rosmenary extracts on growth and glucosyltransférase activity of *Streptococcus sodrinus*.Food chem. (in press)

**Van Alst NE, Wellington M, Clark VI, Haidaris CG, and Igleroski BH . (2009).** Nitrite reductase Nirs is required for type III secretion system expression and virulence in the human monocyte cellline THP.1 by *Pseudomonas aeruginosa* Infect Immun 77 :4446-4454)

**Wang et al (2008).** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* l'essentielle oil compared to its main components. Food chem. 108 : 1019-1022.

**Wertz, J.L., Richel, A. and Gerin, P. (2015).** Molécules issues de la valorisation de la lignine. Ed. Wallonie, p. 01-37.

**Whitman WB .(2009).** editor. Systematic Bacteriology (Internet ). New York, Springer New York ; 2009. Available : <http://link.springer.com/10.1007/978.68489.5>.

**Winkel-Shirley, B. (2000).** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 218–223.

**Yanichlieva N.V, Marinova E, and Pokorny J,(2006).** Natural antioxydant from herbs and spices. European Journal of lipid science and technology,108, 776-793.

**Zrihi, G.N., A.K.M. Kra and D.T. Etien, (2007).** Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. Revue Méd. Pharm. Afr.,20: 9-17.

# **Annexe**

**Annexe**

**Les milieux de cultures :**

❖ **Muller Hinton agar**

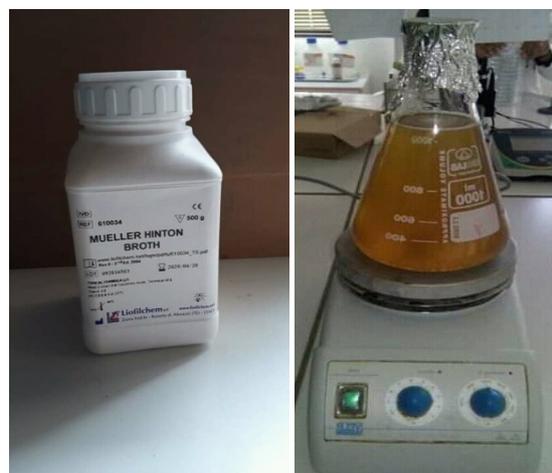
Infusion de viande de bœuf :.....300g  
 Hydrolysate de caséine : .....17,5g  
 Amidon de maïs : .....1,5g  
 Agar agar : .....17,0g  
 Eau distillé.....1000ml  
 pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

❖ **Bouillon Muller Hinton**

Extrait de viande.....2g  
 Hydrolysate acide de caséine.....17,5g  
 Amidon soluble.....1,5g  
 Eau distillé.....1000ml  
 pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3±0,2.



**Figure :** Muller Hinton agar



**Figure :** Bouillon Muller Hinton.

**Eau physiologique :**

Chlorure de sodium..... 9g

Eau distillée.....1000g



**Figure :** balance



**Figure :**Spectrophotomètre.



**Figure :** L'extrait de romarin.



**Figure :** Vortex.