

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis

Mostaganem

Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

جامعة عبد الحميد بن باديس

مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

M<sup>elle</sup> Bentata Fatima Zohra

&

M<sup>me</sup> Mekhelfi Iman

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Thème

Effets de l'extrait aqueux de *Mentha piperita L.* et de  
*Rosmarinus officinalis. L.*

chez *E. coli* responsable d'infections urogénitales.

Soutenu publiquement le : 20 /08/2020

Devant le Jury :

Président :	M. BAHRI Fouad	Prof.	U. Mostaganem
Encadreur :	M. AIT SAADA Djamel	MCA	U. Mostaganem
Co-Encadreur :	Mme. NAAS Awda	MAA	U. Mostaganem
Examineur :	Mme AIT CHABANE Ouiza	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition de l'Université de Mostaganem

Année Universitaire 2019/2020



## *Remerciements*

*Nous formulons notre profonde gratitude à « ALLAH » le tout puissant qui nous a donné la volonté et le courage pour concrétiser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et témoigner notre sincère gratitude à MR : Aït Saadâ Djamel notre encadreur qui nous a fait progresser avec ses conseils et orientations avisées.*

*Nos remerciements sont adressés également aux membres du jury d'avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre profond respect au Pr. BAHRI Fouad qui nous a fait honneur de présider ce jury, un grand merci pour tout ce que nous avons appris grâce à vous au cours de nos années de graduation ; vous trouverez ici toutes nos expressions respectueuses et notre profonde gratitude.*

*Nous remercions vivement aussi Mme. Aït CHABNE. Ouïza ; avoir eu l'amabilité de bien vouloir examiner ce travail, mais aussi pour tous ses efforts avec nous, nous étions tout le temps très satisfaites de votre qualité exceptionnelle de bon enseignante.*

*Enfin, nous tenant à adresser nos remerciements dans la même ligne de conduite à Madame le Dr NAAS.Awda de nous avoir aidé à réaliser cette étude ; merci pour vos conseils et orientations.*

## **Résumé :**

Ce travail s'intéresse à la valorisation des plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis.L* et *Mentha x piperita.L*) qui poussent à l'état spontané dans les régions du pays notamment à la wilaya de Mostaganem. L'étude consiste à évaluer l'effet antimicrobien des extraits de ces plantes vis-à-vis d'un germe pathogène (*Escherichia coli*) responsable d'infection urogénitale chez la femme.

L'extraction des composés bioactifs a été effectuée en utilisant l'eau distillée. Les mesures et contrôles ont été réalisés en triples essais concernant le Test de croissance, test de diffusion sur disque, concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB).

D'une façon globale, les extraits aqueux purs de *Rosmarinus officinalis.L* et *Mentha x piperita* ont présenté des activités antimicrobiennes très proches de la gentamicine connue comme étant un antibiotique à l'arge spectre.

Ces extraits ont révélé un mode d'action de type bactéricide vis-à-vis de la souche étudié *Escherichia coli*.

**Les mots clés :** *Rosmarinus officinalis.L*, *Mentha x piperita*, extrait aqueux, *Escherichia coli*, activité antimicrobienne, CMI, CMB.

**Abstract:**

This work is interested in the valuation of medicinal plants (*Rosmarinus officinalis.L* and *Mentha x pepirita. L*) growing spontaneously in the regions of the country in particular the wilaya of Mostaganem. The study consists of evaluating the antimicrobial effects of these extracts against a pathogenic microorganism (*Escherichia coli*) that is responsible for women's urogenital infections.

The extraction of the bioactive compounds was carried out using distilled water. Measurements and controls carried out in triple tests concerned; (Growth tests, disk diffusion test, minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (CMB).

In a general way, the pure water extracts of *Rosmarinus officinalis. L* showed antimicrobial activity approximate to Gentamicin known as a broad spectrum antibiotic.

This study shows that the aqueous extracts have bactericidal effect against *Escherichia coli*.

**Key words :** *Rosmarinus officinalis.L*, *Mentha x pepirita.L* ; aqueous extracts, *Escherichia coli* , antibacterial activity, MIC, MBC.

## المخلص:

يركز هذا العمل على تقييم نبات طبي *Rosmarinus officinalis* و *Mentha piperita* ينمو بشكل عفوي في منطقة مستغانم و تتكون الدراسة من رصد الآثار المضادة للميكروبات لهذه المستخلصات ضد الكائنات الحية الدقيقة

*Escherichia coli* المسببة لعدوى الجهاز البولي عند النساء. تم استخلاص المركبات لنشط باستخدام الماء المقطر له قطبية مختلفة القياسات و الضوابط المنفذة في الاختبارات الثلاثة المعنية (اختبارات النمو، اختبار انتشار القرص, CMI, CMB و النشاط المضاد )

بشكل عام ، أظهرت مستخلصات المياه النقية لكنا النبتتين اناشطة المضادة للميكروبات تشبه إلى حد كبير الجنتاميسين المعروف بأنه مضاد حيوي في عصر الطيف

كشفت هذه المستخلصات عن طريقة عمل من نوع مبيد للجراثيم ضد السلالة المدروسة *Escherichia coli*

الكلمات المفتاحية : اختبار النمو , اختبار القرص المنتشر. *Rosmarinus officinalis.L* , *Mentha piperita.L*

, *Escherichia coli* , CMI , CMB , المستخلصات المائية .

## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

**UFC** : Unité formant colonie.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.

**PH** : Le potentiel hydrogène.

**E. coli** : *Escherichia coli*.

**EMB** : Eosine Bleu de Méthylène. .

**MH** : Muller Hinton.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**MI** : Mili litre

**C°** : Degré celsius.

**T°** : Température.

**%** : Pourcentage.

**g** : Gramme.

**g/l** : Gramme par litre.

**Rf** : Retarding factor ou rapport frontal.

**di** : Distance parcourue par le composé.

**ds** : Distance parcourue par le front du solvant.

**Bn** : Douillon nutritif

## Liste de figures :

<b>Figure 01.</b> Appareil urinaire .....	04
<b>Figure 02.</b> Appareil génital féminin .....	08
<b>Figure 03.</b> Morphologie et Coloration de gram d' <i>E. coli</i> .....	12
<b>Figure 04.</b> Photo de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	19
<b>Figure 05.</b> Menthe poivrée ( <i>Mentha xpiperita</i> ) .....	22
<b>Figure06</b> Morphologie de la menthe poivrée .....	23
<b>Figure07.</b> Inflorescence et feuille de la menthe poivrée .....	24
<b>Figure 08.</b> Poudre des feuilles de romarin .....	27
<b>Figure09.</b> Poudre de feuille de menthe.....	28
<b>Figure10.</b> Rotavapor.....	29
<b>Figure11.</b> Etapes d'extraction des composés bioactifs de <i>Rosmarinus officinalis</i> et de <i>Mehtha. piperita .L</i> .....	30
<b>Figure12.</b> Schéma représente les étapes d'activation d'inocula.....	31
<b>Figure13.</b> Méthode de contact directe .....	32
<b>Figure14</b> .Disque préparés à partir de papier filtre Wattman .....	33
<b>Figure15.</b> Méthode de disque par diffusion sur gélose .....	34
<b>Figure16.</b> Concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	35
<b>Figure17.</b> Concentration minimale bactéricide (CMB).....	36

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 01 :</b> Composition de l'urine .....	04
<b>Tableau 02.</b> Caractères généraux des urines normales et anormales .....	05
<b>Tableau 03.</b> Classification d' <i>Escherichia coli</i> .....	11
<b>Tableau 04.</b> Quelques caractéristiques de genre <i>Escherichia coli</i> .....	13
<b>Tableau05.</b> Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de romarin .....	20
<b>Tableau 06.</b> Matériels et produit de laboratoire .....	28
<b>Tableau 07.</b> Effets des extraits aqueux de <i>Mentha piperita.L</i> et de <i>Rosmarinus officinalis .L</i> sur la croissance (UFC) du germe <i>E.coli</i> .....	39
<b>Tableau08.</b> Effets des extraits aqueux de <i>Mentha poperita L</i> et de <i>Rosmarinus officinalis L</i> sur la zone d'inhibition (mm) du germe <i>E. coli</i> .....	39
<b>Tableau 09 .</b> Taux d'inhibition (%) des extraits aqueux de <i>Mentha piperita .L</i> et de <i>Rosmarinus officinalis .L</i> chez <i>E.coli</i> du germe <i>E.coli</i> .....	40
<b>Tableau 10.</b> Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'extraits aqueux de <i>Mentha piperita.L</i> et de <i>Rosmarinus officinalis.L</i> chez <i>E.coli</i> .....	40
<b>Tableau 11.</b> Concentration Minimale Bactéricide (CMB) d'extraits aqueux de <i>Mentha piperita .Let e Rosmarinus officinalis.L</i> chez <i>E.coli</i> .....	41
<b>Tableau 12.</b> Effets antimicrobiens des extraits aqueux de <i>Mentha piperita .L</i> et de <i>Rosmarinus officinalis .L</i> chez <i>E.coli</i> .....	41

## TABLE DES MATIERES

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Partie 1 : Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Les infections uro-génitales</b>	
1. Appareil urinaire .....	03
1.1. Eléments constituant l'appareil urinaire .....	03
1.1.1. Haut appareil urinaire .....	03
1.1.1.1. Reins .....	03
1.1.1.2. Uretère .....	03
1.1.2. Bas appareil urinaire .....	03
1.1.2.1. Vessie .....	03
1.1.2.2. Urètre .....	04
1.1.3. Urine .....	04
1.1.3.1. Définition .....	04
1.1.3.2. Composition de l'urine .....	04
1.1.3.3. Urine normale et anormale .....	05
1.1.4. Infection urinaire .....	06
1.1.4.1. Types d'infections urinaires .....	06
1.1.4.2. Causes de l'infection urinaire .....	06
1.1.4.3. Symptômes généraux d'une infection urinaire .....	07
2. Appareil génital féminin.....	08
2.1. Organes génitaux externes .....	08

2.1.1. Ovaires .....	07
2.2. Voies génitales .....	08
2.2.1. Trompes utérines .....	08
2.2.2. Utérus .....	08
2.2.3. Vagin .....	08
2.2.4. Vulve .....	08
2.2.5. Périnée.....	09
2.2.6. Glandes mammaires .....	09
2.3. Types d'infections génitales .....	09
2.3.1 Infections basses.....	09
2.3.2 Infections hautes .....	10
2.3.2.1. Type d'infections génitales hautes .....	10
2.4. Germes pathogènes responsables de l'infection urogénitale .....	10
2.4.1. Espèce <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.4.2. Classification.....	11
2.4.3. Caractères morphologiques et cultureux .....	11
2.4.4. Caractères antigéniques.....	12
2.4.5. Caractères biochimiques .....	13
2.4.6. Pouvoir pathogène .....	13
2.4.6.1. Infections urinaires .....	13
2.4.6.2. Septicémies et méningites .....	13
2.4.6.3. Suppuration ou infections diverses .....	14
2.4.6.4. Aliments impliqués .....	14

2.4.6.5. Transmission .....	14
2.4.7. Traitement .....	14

## Chapitre II:

### Place de *Rosmarinus officinalis*.L et de *Mentha x piperita*.L en phytothérapie

1. Introduction .....	16
2. Eléments actifs des plantes médicinales.....	16
2.1. Huiles essentielles .....	16
2.2. Alcaloïdes .....	17
2.3. Phénols .....	17
2.4. Flavonoïdes .....	17
2.5. Tanins .....	18
2.6. Terpinoïde .....	18
3. <i>Rosmarinus officinalis</i> .L .....	18
3.1. Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	18
3.2. Noms vernaculaires .....	19
3.3 Description botanique et Habitat .....	19
3.4. Principaux constituants .....	20
3.5. Utilisation .....	20
3.6. Ecologie .....	21
3.7. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du Romarin .....	21
4. <i>Mentha x piperita</i> .L.....	21
4.1. Genre <i>Mentha</i> .....	21
4.2. Origines historique .....	21

4.3. Généralité sur La menthe poivrée .....	22
4.3.1. Origine et distribution de la plante .....	22
4.3.2 Classification .....	22
4.3.3. Morphologie de la menthe poivrée .....	23
4.3.4. Pays d'origine .....	24
4.3.5. Composition chimique .....	24
4.3.6. Usage traditionnel de la menthe poivrée .....	24
4. 3.7. Propriétés pharmacologiques .....	25
4.3.7.1. Effets antioxydants .....	25
4.3.7.2. Effets insecticide .....	25
4. 3.7.3. Effets antimicrobien .....	26

## **Partie 02 : Partie expérimentale**

1. Objectif .....	27
2. Matériel .....	27
2.1. Matériel végétal .....	27
2.2. Traitement préliminaires du matériel végétal .....	27
2.3. Matériel et produits de laboratoire .....	28
3. Méthodes expérimentales .....	29
3.1. Extraction de composés bioactif .....	29
3.2. Etude des effets antimicrobiens des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> .L et de <i>Mentha piperita</i> .L .....	30
3.2.1 Activation des inocula microbiens .....	30
3.2.2. Evaluation de l'effet antimicrobien .....	31

3.2.2.1 Méthode de contact direct .....	31
3.2.2.2. Méthode des disques par diffusion sur gélose .....	33
3.2.2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	33
3.2.2.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) .....	35
4. Traitement statistique .....	37

### **Partie03 : Résultats et discussion**

<b>1. Résultats</b> .....	38
1.1 Croissance du germe <i>E.coli</i> .....	38
1.2. Test de diffusion sur disque du germe <i>E.coli</i> .....	39
1.3. Taux d'inhibition .....	40
1.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	40
1.5. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) .....	41
1.6. Effets antimicrobiens des extraits aqueux .....	41
2. Discussion .....	42
<b>Conclusion</b> .....	45

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

# **Introduction**

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études.

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches en composés bioactifs dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles de ces plantes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (**Farnsworth et al., 1986**).

L'Algérie, de par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces végétales qui représentent un patrimoine phytogénétique de très grande importance vu leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique (**Senoussi et al., 2003**).

La valorisation de ces ressources est devenue indispensable. A cet effet, nous sommes intéressés à connaître l'effet de l'utilisation de l'extraits du *Rosmarinus officinalis L.*, et *Mentha piperita L.*, sur la croissance d'*Escherichia coli* qui est le principale agent responsable de l'infection uro-génitale chez la femme (**Iserin, 2001**).

*Escherichia coli* est l'agent le plus fréquent parmi les isolats cliniques provoquant une infection chez l'homme. Certaines souches d'*Escherichia coli* se caractérisent par leur résistance à plusieurs antibiotiques ce qu'on appelle la multirésistance. La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue aujourd'hui un problème majeur de la santé publique. Cette situation apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier (**Iserin, 2001**).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de ces plantes en principaux composés phénoliques bioactifs et à déterminer leurs propriétés biologiques. Pour cela notre étude englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques. Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits à base de poly pénols vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

- Le manuscrit est scindé en trois grandes parties :

♣ La première partie a été consacrée à une synthèse bibliographique comportant deux chapitres. Le premier chapitre donne un aperçu succinct sur les infections urogénitales chez la femme et le principal germe responsable de ces infections (*Escherichia coli*); le second chapitre retrace l'essentiel des informations sur la place de *Rosmarinus officinalis* L., et de *Mentha x piperita* L en phytothérapie

♣La deuxième partie expérimentale rapporte la méthodologie d'étude et présente le matériel, ainsi que les méthodes appliquées à l'étude expérimentale.

♣La troisième partie comporte la discussion des résultats, une conclusion et les perspectives de recherche développement à entreprendre dans un avenir proche.

## **Partie 01 : Etude bibliographie**

# ***Chapitre I: Les infections urogénitales***

## ***Chapitre I: Les infections urogénitales***

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

♣ **L'appareil urinaire** : chargé de purifier le sang et de maintenir constante sa composition grâce à un triple mécanisme de filtration, de sécrétion et de réabsorption.

♣ **L'appareil génital** : chargé de la reproduction de l'espèce.

### **1. Appareil urinaire :**

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

#### **1.1. Eléments constituant l'appareil urinaire :**

##### **1.1.1. Haut appareil urinaire :**

###### **1.1.1.1. Reins :**

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

###### **1.1.1.2. Uretère :**

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

##### **1.1.2. Bas appareil urinaire**

###### **1.1.2.1. Vessie :**

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

### 1.1.2.2. Urètre :

L'urètre possède une tunique musculaire et des sphincters lisses et striée (Eline, 2008).

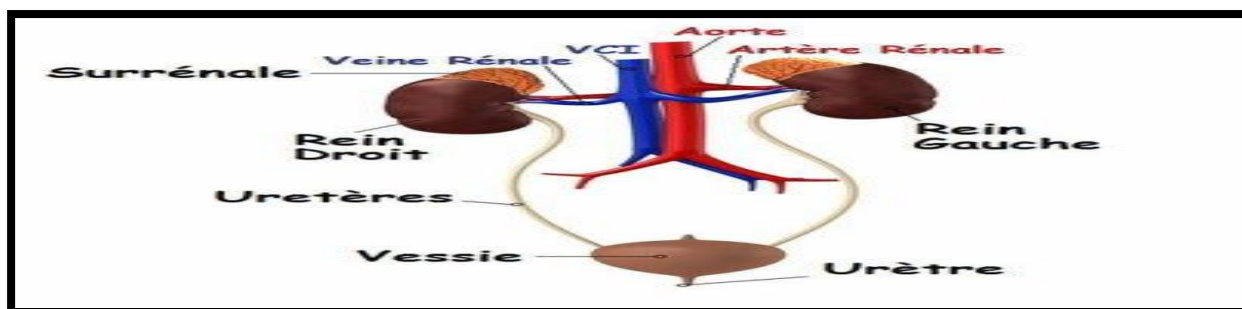


Figure 01. Appareil urinaire (Tortora et Derrickson, 2006)

### 1.1.3. Urine :

#### 1.1.3.1. Définition :

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

#### 1.1.3.2. Composition de l'urine :

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

Tableau 01. Composition de l'urine.

Paramètre	Unités traditionnelles	Unités SI
Acide urique (adulte)	0.2 à 0.65 g/l	1.5 à 4.8mmol/24h
Acide vanil-mandélique (adulte)	1 à 6 mg/24 h	5 à 3mmol/24h
Calcium	0.100à0.25g/24h	2.5 à 6.5mmol/24h
Clairance de la créatinine endogène		
Homme	120 plus ou moins 20 ml/min	
Femme	115 plus ou moins 16 ml/min	
HLM		
Hématies	< 5000	
Leucocyte	< 5000	
Ph	4.6 à 8	
Potassium	40 à 100 mEq/24h	40 à 100mmol/24h
Sodium	100à300 mEq/24h.	100 à 300 mmol/24h
Urée	15à30g/24h	250à500mmol/24h

(Caquet, 2008)

## 1.1.3.3. Urine normal et anormal

Les caractères généraux des urines normales et anormales sont présentés dans le (Tableau 02).

**Tableau 02.** Caractères généraux des urines normales et anormales (Domart et Bournef, 1989).

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

#### 1.1.4. Infection urinaire :

L'infection urinaire est une maladie infectieuse très répandue. Il s'agit d'une colonisation des voies urinaires par un et ou plusieurs germes. Les bacilles à Gram négatif d'origine entérique (colon), dans une première étape vont coloniser la peau et les muqueuses génitales externes, ensuite colonisent l'urètre distal. (Gonthier, 2000). *E. coli* est considérée comme étant la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires, elle représente 85% des cas positifs (Minor et Veron, 1989).

##### 1.1.4.1. Types d'infections urinaires :

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

##### a). Infections du bas appareil :

###### ♣ Cystite :

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

##### b). Infections du haut appareil :

###### ♣ Pyélonéphrite :

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

##### 1.1.4.2. Causes de l'infection urinaire :

Pour que l'appareil urinaire soit infecté par un germe, il faut une interaction entre ce germe et son hôte. Les facteurs liés à l'hôte comportent les voies de contamination, l'immaturité vésicale et les facteurs urétéraux. Certaines bactéries, comme les colibacilles (ex : *Escherichia*

*coli*) possèdent la capacité d'adhérence, par les organelles filamenteuses, à l'épithélium urinaire. Certains enfants surtout les fillettes sont plus susceptibles de développer des infections urinaires et cela est probablement lié à la densité et la disponibilité des récepteurs aux fimbriae (Tattwin, 2003).

#### **1.1.4.3. Symptômes généraux d'une infection urinaire :**

Parmi les symptômes généraux d'une infection urinaire :

- Douleurs et brûlures au moment d'uriner ;
- Une fréquence anormalement élevée de mictions durant le jour et parfois le besoin d'uriner survient aussi la nuit ;
- Des urines troubles qui dégagent une odeur désagréable ;
- Une pression dans le bas-ventre ;
- Parfois du sang dans l'urine ;
- Des douleurs lombaires ;
- Une fièvre élevée ;
- Des vomissements (Tattwin, 2003).

## **2. Appareil génital féminin :**

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

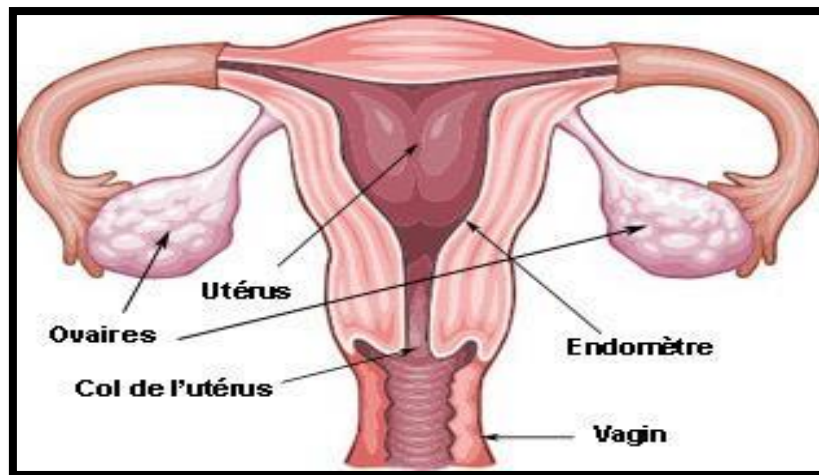
- Les organes génitaux internes représentés par deux ovaires ;
- Les voies génitales formées par la trompe utérine, l'utérus et le vagin ;
- Les organes génitaux externes comprenant la vulve.(Figure02)

### **2.1. Organes génitaux externes**

#### **2.1.1. Ovaires :**

Les ovaires sont les gonades de la femme, ces glandes paires dont la forme et la taille ressemblent à celles des amandes non écalées sont homologues aux testicules. Les ovaire

produisent : Les gamètes, des hormones telles que progestérones et les œstrogènes.



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

## **2.2. Voies génitales :**

### **2.2.1. Trompes utérines :**

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

### **2.2.2. Utérus :**

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

### **2.2.3. Vagin :**

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

### **2.2.4. Vulve :**

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

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

### **2.2.5. Périnée :**

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

### **2.2.6. Glandes mammaires :**

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

## **2.3. Types d'infections génitales :**

### **2.3.1. Infections basses :**

Les infections génitales basses (**IGB**) sont des infections vulvo-vaginales, c'est-à-dire touchant la vulve ou le vagin (**Linnet et Nizard, 2010**). Elles sont dues, soit à des pathogènes spécifiques exogènes contractés notamment lors des rapports sexuels soit à la prolifération anormale d'une partie de la flore commensale du vagin (Céruvites, vulvites, vaginites) (**Gaillard et al., 1988**).

Elles se manifestent par des pertes vaginales qui peuvent éventuellement être malodorantes et pouvant s'accompagner de rougeurs de la vulve ou de démangeaisons. L'infection peut avoir différentes origines avec une conduite à tenir différente. Une IGB peut toucher le col de l'utérus (on parle alors de cervicite) éventuellement le franchir pour se propager aux organes génitaux profonds (utérus, trompes.....) donnant une Infection Génitale Haute (IGH) (**Linnet et Nizard, 2010**).

### **2.3.2 1 Infections hautes :**

Sont dues à l'extension d'une infection basse ou surviennent à la suite d'une manœuvre chirurgicale ou lors de l'accouchement.(Salpingites, Endométrite, Pelvipéritonites) (**Gaillard et al. 1988**). L'infection génitale haute englobe les infections touchant l'utérus, les trompes de Fallope, les ovaires. Elles sont souvent une complication d'infection transmises sexuellement(IST), bien qu'elles puissent aussi être secondaires à une procédure médicale ou à une grossesse (**Legris, 2008**).

#### **2.3.2.1. Types d'infections génitales hautes :**

##### **a). Salpingite**

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

##### **b). Endométrite**

Il s'agit d'une infection de l'utérus, elle se traduit par une fièvre, et une douleur pelvienne spontanée, augmentée par la mobilisation utérine et des écoulements plus au moins puriforme au niveau du col utérin (**Pilly, 2012**).

##### **c). Pelvipéritonite :**

Une **pelvipéritonite** est une inflammation de la membrane recouvrant les organes localisés dans la cavité abdominale : le péritoine. Une inflammation du péritoine pelvien, ou **pelvipéritonite**, est une pathologie rare et généralement liée à une infection des trompes ou des ovaires Infection du péritoine (**Pilly, 2012**)

### **2.4. Germes pathogènes responsables de l'infection urogénitale :**

L'infection urinaire sont les infections nosocomiales les plus fréquentes et sont observer chez 3 à 4 des patients en hospitalisation, l'agent pathogène le plus commun de l'arbre urinaire est *Escherichia coli* ; il est responsable de 80% de toutes les infections urinaires contracter à l'extérieur de l'hôpital mais seul une petite fraction des nombreux clones bactériennes existante entraine des infections urinaires. D'autres entérobactéries peuvent être la cause d'infection chez les garçons et les hommes et aussi chez les femmes avec des complications.

Le *Staphylococcus saprophyticus* est commun chez les jeunes femmes (Minor et Veron., 1989).

#### 2.4.1. Espèce *Escherichia coli* :

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. Son nom actuel lui est ensuite donné en 1919 par Castellani et Chamber Grimont. *Escherichia coli* fait partie de la microflore commensale intestinale de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud. Il représente près de 80% de la microflore aérobie ( Savoye, 2011).

A ce titre *Escherichia coli*, et plus largement les coliformes thermo tolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale. Bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient commensales (Levine, 1987).

#### 2.4.2. Classification :

Selon Bergeys Manuel (2007) la classification d' *Escherichia coli* est comme suit :

**Tableau 03.** Classification d' *Escherichia coli* Selon Bergeys Manuel (2007).

Règne	Procaryota
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacter
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteria
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia
Espèce	Escherichia coli

#### 2.4.3. Caractères morphologiques et culturels :

*E.coli* est une bacille à gram négatif le plus souvent mobile péritriche (figure 3), aéro-anaérobie facultatif non sporulée, elle croit après 24 heures d'incubation à 37°C en donnant des colonies (Gaillard et al. 1988) , de 2 à 3 mm de diamètre , elle est identifiée par la fermentation de lactose, du mannitol et de sorbitol, ainsi la production d'indole et présence de bétagalactosidase



**Figure 3.** Morphologie et Coloration de gram d'*E. coli*

Elle est caractérisée par l'absence de l'uréase, de désaminases et l'incapacité de cultiver sur le milieu citrate de Simons, ne produit pas de H<sub>2</sub>S, la mise en évidence par la réaction de VogesProskauer est négatif ( **Berche et al., 1988**).

#### **2.4.4. Caractères antigéniques :**

##### ➤ **Antigène H :**

Les antigènes flagellaires H sont retrouvés sur le flagelle, 53 de ces antigènes sont connus chez *E.coli*. La majorité des antigènes H montrent une réaction croisée , On retrouve une association entre ces antigènes et les antigènes O et ces deux derniers sont souvent des marqueurs de pathogénicité de plusieurs souches d'*E. coli*.

##### ➤ **Antigène O :**

Ce sont des facteurs somatiques composées de complexe phospholipides-polysaccharides. La différenciation entre ces antigènes est selon leur ordre dans la chaîne polysaccharidiques et la nature de leur groupes terminaux. Ces antigènes ne sont inactivées par la chaleur. La caractérisation de l'antigène O se fait par l'agglutination de la bactérie en utilisant l'antisérum de lapin (**Lymberopoulos, 2004**).

##### ➤ **Antigène K :**

De nature polysaccharidique, sont également très diverses et ont la particularité d'être constamment associés à petit nombre d'antigènes O. Cette association correspond à une liaison sur le chromosome de gène codant pour ces différents antigènes les antigènes les plus fréquents sont dénommées K1, 2, 5, 12,13 et on leur attribue un rôle anti-phagocytaire . Ils sont appliqués dans les infections néonatales à *E. coli*(**Berche et al., 1988**).

### 2.4.5. Caractères biochimiques :

*E. coli* possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude de l'activité enzymatique et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries (Gueye, 2007 ; Sibery et al., 2001).

*E. coli* fermente le glucose et le lactose avec une production de gaz, il est dépourvu d'une uréase, produit de l'indole, n'utilise pas le citrate de Simmons comme source de carbone et ne produit pas d'hydrogène sulfuré. Ces différents tests sont regroupés dans le (tableau 04).

**Tableau 04.** Quelques caractéristiques de genre *Escherichia coli* (Gueye, 2007).

Caractères	<i>Escherichia coli</i>
Rouge de méthyle	+
Voges-Proskauer	-
Production d'indole	+
Utilisation de citrate	-
Production d'H <sub>2</sub> S	-
Uréase	-
Taille de génome	4.6-5.5

+ : généralement présent ; - : généralement absent

### 2.4.6. Pouvoir pathogène :

#### 2.4.6.1. Infections urinaires :

*E. coli* représente à lui seul l'agent responsable de la très grande majorité de cas d'infection urinaire spontanée ou après instrumentation. L'infection urinaire basse à *E. coli* est vulgairement appelée <colibacillose>. En fait l'origine de l'infection est intestinale (infection par voie ascendante), favorisée chez la femme par l'anatomie du bas appareil urinaire (urètre court), par la présence, que favorisent les rapports sexuels, d'*E. coli* dans l'urètre féminin et le vagin. L'*E. coli* l'infection est dominant dans le rectum et la sphère génito-urinaire (Flandrois, 1997).

#### 2.4.6.2. Septicémies et méningites :

Les *E. coli* sont isolés dans 20 % des septicémies et représentent 45% des septicémies dues aux bacilles à Gram négatif. Les méningites sont rares, elles surviennent surtout chez le

nourrisson mais sont souvent graves. 80 % des *E.coli* isolés de méningites possèdent l'antigène K1, polysaccharide acide dont la composition chimique et la spécificité immunologique sont identiques à celle de l'antigène B de *Neisseria meningitidis*(**Flandrois, 1997**).

#### **2.4.6.3. Suppuration ou infections diverses :**

Les *E.coli* de la flore fécale peuvent être en cause dans des péritonites, des cholécystites, des salpingites et des suppurations postopératoires jouant le rôle de bactéries pyogènes(**Flandrois, 1997**)

#### **2.4.6.4. Aliments impliqués :**

Produits d'origine animale, légume crus et produits laitiers au lait cru, Eau contaminée (**Branger et al., 2007**). Produits rapidement altérables (frais), aliments et fruits en boîtes, légumes, viande, poisson et laitage, saucisse cuite, pain cuit, produit alimentaire contenant jusqu'à 40% de sucre ou 7% de sel (**Joffin , 2010**). Les graines germées, les jus de fruits et de légumes non pasteurisés (**Dromigny, 2012**).

#### **2.4.6.5. Transmission :**

La transmission du germe *E. coli* peut se faire par voie indirecte alimentaire, par consommation d'aliment d'origine animale ou bien végétale et d'eaux de boisson contaminés par l'environnement souillé par la matière fécale animales ou humaines. La seconde voie de transmission est directe par contact interhumaine ou par contact avec des ruminants infectés. Les eaux récréatives comme les lacs, les rivières et les eaux de mer peuvent être des vecteurs de la contamination (**Balière, 2017**).

#### **2.4.7. Traitement :**

Le traitement des infections à *E. coli* doit commencer empiriquement en se basant sur le site et la gravité de l'infection (**Balière, 2017**) :

- *E.coli* Entéro-hémorragiques (E.C.E.H) : hydratation, traitement symptomatique.
- *E. coli* à adhérence diffuse (E.C.A.D) : Réhydratation.
- *E. coli* Entéro-agrégants (E.C.E.A) : Réhydratation, antibiotique, potentiel probiotique.
- *E. coli* Entéro-invasifs (E.C.E. I) : Réhydratation, antibiotique.

- E. coli Entéropathogènes (E.C.E.P) : Réhydratation, antibiotique en cas de persistance des symptômes.

## **Chapitre II :**

**Place de la menthe et du romarin en phytothérapie**

## Chapitre II : Place de la menthe et du romarin en phytothérapie

### 1. Introduction :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde ; ces plantes occupaient une place importante en médecine dans les temps anciens. Une plante médicinale est toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et Paris ,2006**).

Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des terpènes, stéroïdes et des composés poly phénoliques (**Potterat et Hostettmann, 1995**).

Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (**Potterat et Hostettmann, 1995**).

### 2. Eléments actifs des plantes médicinales :

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. La camomille par exemple, est utilisée depuis des milliers d'années contre les troubles digestifs. Or, ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme (**Iserin et al ., 2007**)

#### 2.1. Huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro-distillation (**Iserin et al ., 2007**), par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (**Guy, 1997**). Elles sont très utilisées dans l'industrie des produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire (**Kaloustian et al ., 2008**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques a été largement décrite in vitro ainsi que les activités antispasmodique, diurétique ou expectorante (**Hans, 2007**), anti-oxydante et anti-inflammatoire et elles présentent également un fort

pouvoir antifongique (**Chami, 2005 ; Giordani et Kaloustian, 2006; De Billerbeck, 2007 ; Juhas, 2009**)

## 2.2. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (**Guignard, 2000**). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (**Dellile, 2007**). Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (**Judd et al ., 2002**).

De nombreux poisons dangereux comme l'atropine par exemple, est extraite de la belladone mortellement toxique (*Atropa belladonna*) et qui peut cependant être utilisée à faible dose dans une optique thérapeutique (**Hans, 2007**). Les alcaloïdes sont utilisées comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (**Iserin et al . 2007**).

## 2.3. Phénols :

Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Ce sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des antalgiques (dérivés salicylés de la reine des prés et du saule) et des anti-inflammatoires (**Garnero, 2000**).

On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples à des substances plus complexes. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. Les acides phénoliques (comme l'acide rosmarinique), sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (**Eberhard et al., 2005**).

## 2.4. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires qui se produisent naturellement sous leurs formes conjuguées (**Macejstobiechi ,2000**). Ils sont des composés phénoliques et interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transports des auxines (**Judd et al . ;2002**). Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools. Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et

dans les solvants moyennement polaires (comme par exemple le dichlorométhane) (Bruneton, 1999).

Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante anti-enzymatique et hépatoprotectrice ; ils jouent un rôle important dans le système de défense et anti-virales (Iserin, 2001).

### 2.5. Tanins :

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Eberhard et al .; 2005).

Les tanins ont la propriété de tanner la peau. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène (Schauenberg et Paris ,2006).

Les tanins représentent généralement la principale partie de l'extrait polyphénolique. Peu de choses sont connues concernant leur rôle biologique sur la plante mais leur présence confère à cette dernière des propriétés astringente, antiseptique, antioxydante et antidiarrhéique (Vivas, 2002).

### 2.6. Terpenoïdes :

Constituant une vaste famille de composés naturels, ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unités isopréniques (C<sub>5</sub> H<sub>8</sub>)<sup>n</sup> constituant leurs structures carbonées selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka (Wichtl et Anton, 1999).

## 3. *Rosmarinus officinalis* L. :

### 3.1. Classification botanique:

Selon Cronquist (1988), *Rosmarinus officinalis* L est classée comme suit:

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Embranchement :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiaceae

**Genre :** Rosmarinus

**Espèce :** *Rosmarinus officinalis* L.

### 3.2. Noms vernaculaires :

Le romarin est connu sous plusieurs noms vernaculaires dont : Iklil Al Jabal ,Klil, Hatssalouban, Hassalban, Lazir , Azlîr, Ouzbir ,Aklel, Touzala (**Lucienne, 2007**).

### 3.3. Description botanique et Habitat :

Le mot Romarin (*Rosmarinus*) dérive du latin; « Ros »: rosée et « Marinus »: marin (**Athamena, 2009**) le romarin est une plante condimentaire et médicinale. Elle est originaire des régions méditerranéennes. Ainsi, on la considère parmi les plantes les plus répandues en Algérie (**Boudjada, 1996**).

D'après **Coste (1937)**, le Romarin est une plante commune à l'état sauvage, est l'une des plantes les plus populaires en Algérie. C'est un arbrisseau toujours vert, de 50 cm à 2 m, très aromatique et très rameux. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés. Les feuilles sont sessiles, linéaires, opposées, persistantes et coriaces, enroulées sur les bords. Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* L sont de couleur verte sombre luisante à la face supérieure et blanchâtre en dessous. (**Rameau et Dumé, 2008**).

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, de couleurs bleues pâles à blanchâtre, pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales. Elles sont bractées tomenteuses lancéolées. Le fruit ovoïde est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes entomophiles pour assurer la pollinisation (**Figure 4**).



**Figure04.** Photo de *Rosmarinus officinalis* (**Wikipédia, 2018**).

Elle préfère les lieux secs et arides, exposés au soleil. Le Romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe et il pousse aussi dans le nord d'Algérie. On le cultive dans le monde

entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (**Heinrich et al.2006**). Cette plante est un sous-arbrisseau aromatique, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, et antimicrobiennes. Le romarin est largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Boudjada, 1996**).

### 3.4. Principaux constituants :

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin varie d'une région à l'autre. On trouve surtout les composés majoritaires suivants : le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalool et le limonène (**Tableau 05**)

**Tableau 05.** Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin.

Composés majoritaires	%	Origine	Référence
$\alpha$ -pinène	23,1	Algérie (Tlemcen)	(Atik Bekkara et al .,2007
Camphre	14,5		
$\beta$ -pinène	12,2		
$\alpha$ -pinène	14,9	IRAN(Tehran)	(Gachkar et al ., 2007).
Linalool	14,9		
Pipéritone	23,7		
$\alpha$ -pinène	10,2	TURQUIE(Izmir)	(YesilCeliktas et al.,2007)
1,8-cinéole	61,4		
$\alpha$ -pinène	11,4	MAROC	(Ourāini et al ., 2005)
1,8-cinéole	50,2		
Camphre	9,1		
$\alpha$ -pinène	13,5	SERBIE(Vojvodina)	(Bozin et al ., 2007)
Limonène	21,7		
Camphre	21,6		

### 3.5. Utilisation :

Le Romarin est souvent cultivé pour son HE, dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Il est considérée utile pour contrôler l'érosion du sol (**Heinrich et al. 2006**)

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles comme un des ingrédients en produits de beauté savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Arnold et al. 1997**). L'HE du Romarin est utilisé comme un agent antibactérien, antifongique (**Wollinger et al. 2016**).

### 3.6. 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, les écoles...et les zones cultivées à l'entrée, Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante.

### 3.7. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du Romarin :

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

- Anti spasmodiques, diurétiques, hépatoprotectrices, soulagement des désordres respiratoires (**Lemonica et al.1996**).
- Anti bactériennes, antimutagéniques, anti oxydantes (**Ibenez et al.2000**).
- Anti-inflammatoires, anti métastatiques (**Cheung et al.2007**).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (**Singletary et al.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 du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (**Aruoma et al.1995**) ; alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV (**Paris et al. 1993**).

## 4. *Mentha x piperita*.L

### 4.1 Genre *Mentha* :

Les *Mentha* sont des herbes vivaces très odorantes. Les inflorescences sont en épis cylindriques terminaux non feuillés, en têtes sphériques ou en verticilles. Le calice est tubuleux ou en cloche à 5 (4) dents subégales. La corolle infundibuliforme blanche rosée ou violet pâle à 4 lobes subégaux. Les carpelles sont lisses. Corolle non velue à la gorge.

Ce genre est caractérisé par des feuilles sessiles ou subsessiles, distinctement pédonculées. Elles sont ovales obtuses moins de 2 fois plus longues que larges, ridées en réseau. Les Plantes sont pubescentes à épis florifères grêles et allongés (**Quezel et Santa, 1963**).

### 4.2. Origines historiques :

« *Menthe* » est la francisation du latin *mentha* qui désigne «*Mentha* » chez les romains et « *Mentha* ou *Minthé* » chez les grecs (**François, 2012**). Le nom grec de la plante signifie «dont l'odeur est douce» (**Delachaux et Niéslés, 2013**).

Toutes les menthes sont odorantes et peuvent être employées comme les menthes des champs mais la puissance et la qualité de leurs parfums varie d'une espèce à l'autre. Selon **Eberhard et al (2005)** différentes espèces sont employées pour leurs propriétés aromatiques :

- *Mentha x piperita* L ; la menthe poivrée.
- *Mentha spicata* L; la menthe criquée.
- *Mentha pulegium* L ; la menthe pouliot.
- *Mentha citrata* L; la menthe bergamote.
- *Mentha suaveolens* L ; la menthe à feuille ronde.

### 4.3. Généralité sur La menthe poivrée :

#### 4.3.1. Origine et distribution de la plante :

La menthe poivrée a été trouvée comme des feuilles séchées dans les pyramides égyptiennes datant du premier millénaire 500 Av JC (**Iserin, 2001**). Le nom mentha vient du grec « *Minthe* » et du latin « *Mentha* », « *Piperita* » signifie poivrée. La menthe poivrée est originaire de l'Inde. Elle est cultivée en Europe centrale et du Sud Amérique du Nord et du Sud Asie, Afrique du Nord, presque dans le monde entier. Elle se trouve à l'état sauvage dans toute l'Australie, l'Amérique du Nord et en Europe (**Charles, 2013**).



**Figure 05.** Menthe poivrée (*Mentha x piperita*) (**Anonyme, 2017**)

#### 4.3.2 Classification :

Le nom de la menthe vient du grec « *Minthe* », nom d'une nymphe transformée en fleur par Proserpine et de « *piperata* » qui signifie « poivrée ». La menthe est l'une des espèces les plus célèbres parmi les plantes médicinales (**Baudoux, 2002**).

Selon **Quezel et Santa (1963)**, la classification de la menthe est la suivante :

- **Règne** : Plantae ;
- **Division** : Magnoliophyta ;
- **Classe** : Magnoliopsida ;
- **Ordre** : Lamiales ;
- **Famille** : Lamiaceae ;
- **Genre** : Mentha ;
- **Nom binominal** : *Mentha piperita*.

Les dénominations communes de menthe poivrée :

- **Noms communs**: Menthe, menthol, menthe anglaise, menthe sauvage, sentebon.
- **Nom arabe** : Anna3na3 al folfoli, na3na3 el beldi (Maroc), na3na3 (Algérie et Tunisie)

#### 4.3.3. Morphologie de la menthe poivrée :

Plante vivace par son rhizome vigoureux formant de longs stolons traçants, les uns aériens, les autres souterrains. Les tiges, pouvant atteindre 90cm de hauteur, sont noueuses, quadrangulaires, souvent striées de violet foncé, certaines portent à leur partie supérieure des poils dressés en arrière ; d'autres sont glabres. Des pousses latérales prennent naissance dans l'axe des feuilles. (Weymar, 1961; Hefendehl, 1967)

Les feuilles sont ovales ou lancéolées et crénelées en scie, opposées par paires longues de 4 à 8cm courtement pétiolées, de couleur vert pâle souvent teintées de rouges pas de stipules (Fouzi ; 1994). Adaptation des feuilles aux climats secs caractérisée par un limbe coriace, réduite et des poêles sécréteurs (Figure 07). (DANIEL et al ; 2002).

Les inflorescences de fleurs faiblement bilabiées de couleur pourpre sont groupées en épis très serrés (BROUNETON ; 1999). Le calice présente cinq dents la corolle pourpre violacées (parfois blanches) est terminée par quatre lobes, les quatre étamines sont incluses dans la corolle, les graines sont rares et stériles (figure 06).

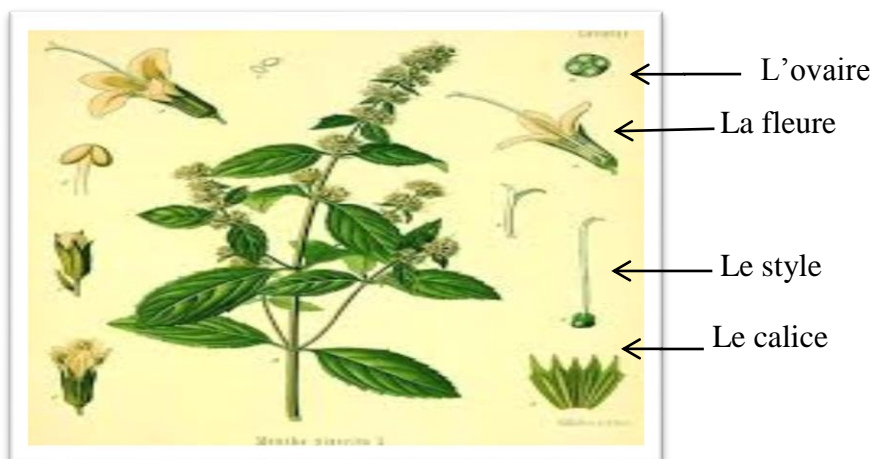


Figure 06. Morphologie de la menthe poivrée (Anonyme, 2017)



**Figure 07.** Inflorescence et feuille de la menthe poivrée (Anonyme, 2017)

#### 4.3.4. Pays d'origine :

Il s'agit d'un hybride cultivé, provenant probablement d'Angleterre et des pays méditerranéens (François, 2012).

#### 4.3.5. Composition chimique :

Des extraits réalisés avec différentes parties de la menthe poivrée ont montré la diversité et la richesse en plusieurs constituants tel que : Flavonoïdes (lutéoline, menthoside), Tocophérols, Azulènes, l'acide rosmarinique, des Terpènes, des caroténoïdes, des tanins et huile essentielle (Charles, 2013).

Les huiles essentielles représentent de 1 à 3 % de la masse de la matière sèche de la partie aérienne de la plante, Leur principaux constituants est : menthol (29-50%), menthone (16-25%), de l'acétate de menthyle (pas plus de 5%), isomenthone (de 10 à 15%), menthofurane, et pipéritone. Elle contient également de 1 à 5% limonène, de 3,5-14% de 1,8 cinéole (Bruneton, 1999).

#### 4.3.6. Usage traditionnel de la menthe poivrée :

La menthe poivrée considérée comme les plantes les plus consommés dans le monde et connue par son utilisation qui est très reconnu comme thé ou tisane. La menthe poivrée est l'une des plantes les plus largement utilisée en thérapie grâce à ses nombreuses propriétés. Ses feuilles sont utilisées pour soulager les maux de tête liés à une mauvaise digestion, contre les courbatures, traitent encore les parasites de la peau (acné dermatite, démangeaisons cutanées) et sont aussi utilisées comme antiseptique, antivirale, antispasmodiques, carminatives, cholérétiques, antibactérienne et comme antioxydants (Toroglu, 2011).

Elles traitent aussi l'inflammation des voies respiratoires et de la muqueuse buccale, soulage les symptômes, du rhume et de la toux, les douleurs Rhumatismales musculaires, et névralgiques (**barlier, 2014**).

En cas d'infections, l'huile essentielle diluée de la plante peut être utilisée en inhalation ou en massages légers sur la poitrine (**Iserin, 2001**).

#### **4.3.7. Propriétés pharmacologiques :**

##### **4.3.7.1. Effets antioxydants :**

L'activité antioxydante de la menthe poivrée a été étudiée par plusieurs chercheurs dans le monde et par différentes méthodes.

**Zheng et Wang (2001)**, ont étudié la capacité antioxydante (capacité radicalaire d'absorption d'oxygène ORAC) d'une solution aqueuse des feuilles fraîches préalablement congelées de 39 plantes médicinales et culinaires dont *Mentha piperita L.* Dans les analyses des plantes médicinales, la menthe poivrée a présenté la capacité antioxydante la plus élevée (15,85  $\mu\text{molTEq/g}$ ).

Aussi, (**Dregland et al., 2003**) ont étudié par la technique de FRAP l'activité antioxydante et l'incidence de la variation saisonnière sur les principaux composés actifs des plantes médicinales et culinaires dont *M. piperita L.* Les résultats ont montré que la valeur antioxydante moyenne de *M. piperita L.* est de (78,5 mmol/g) ; ce qui indique une activité antioxydante très élevée. Les variations saisonnières ont été observées (intervalle de 59,8 à 96,1 mmol/g), ces changements sont dus à la variation de taux de la composition chimique au cours de l'année.

La concentration minimale inhibitrice de ( $\text{IC}_{50} = 2,53 \mu\text{g/mL}$ ) est la valeur obtenue par **Mimicia** et son groupe sur l'activité antioxydante de *M. piperita L.* par la méthode de DPPH. Le test a été effectué sur les huiles essentielles de trois types de thé (*Mentha aquatica L.*, *Mentha longifolia L.* et *Mentha piperita L.*). Le résultat a montré un pouvoir très élevé de cette hybride de plante (*Mentha piperita L.*) par comparaison aux autres espèces (**Mimicia-Dukic, 2003**).

##### **4.3.7.2. Effets insecticide :**

L'effet insecticide de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique *M. piperita L.*, contre les larves et les adultes d'*Aedes aegypti* (*Ae. Aegypti*) a été réalisé par Kumar et ses

collaborateurs. Les résultats ont montré que l'huile essentielle extraite de *M. piperita* possédait une excellente efficacité larvicide contre les vecteurs de la dengue.

Les tests biologiques ont montré une valeur de CL50 et CL90 de 111,9 et 295,18 ppm, respectivement après 24 heures d'exposition. La toxicité de l'huile a augmenté de 11,8% quand les larves ont été exposées à de l'huile pendant 48 h. Aussi les propriétés répulsives d'huile essentielle de *M. piperita* est remarquables contre les adultes *Ae. aegypti*. L'application de l'huile conduit à une protection de 100% jusqu'à 150 min (**Kumar, 2011**).

Dans une autre étude, les extraits d'hexane et éthanol de huit plantes aromatiques et médicinales dont *M. piperita L* ont été testés pour leur effets insecticides contre les ravageurs coléoptères de produits stockés : *Oryzaephilus surinamensis L.* (Silvanidae), *Rhyzoperthadominica F.* (Bostrichidae) et *Sitophilus zeamais* . (Curculionidae). Les résultats ne registrent aucune trace d'activité insecticide de la plante contre les genres testés (**Moreira, 2007**).

#### **4.3.7.3. Effets antimicrobien :**

L'extrait de la menthe poivrée a été testé pour ses propriétés antimicrobiennes contre 21 micro-organismes pathogènes pour l'homme et les végétaux. Il s'est avéré exercer une forte inhibition face aux micro-organismes pathogènes pour les plantes, tandis que pour les agents pathogènes humains il a montré une inhibition modérée. Le Menthol est le principal constituant de l'extrait de la menthe poivrée responsable de la propriété antimicrobienne (**Isca, 2002**).

Selon **Mimica Dukic** et ses collaborateurs, l'extrait de la menthe poivrée a montré une très forte activité antibactérienne en particulier contre les souches d'*E.coli*. Il a également montré une activité fongistatique et fongicide avec des valeurs de concentration minimale significative, qui étaient considérablement plus faibles que celle de la bifonazole (fongicide du commerce) (**Dukic, 2003**).

**Partie 02 :**  
**Méthodologie expérimentale**

## **1. Objectifs :**

L'étude a porté sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes (in vitro) des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis. L* et de *Mentha x piperita .L* sur le germe *Escherichia coli* impliqué dans les infections urogénitales chez les femmes.

## **2. Matériel :**

### **2.1. Matériel végétal :**

Les parties aériennes des plantes médicinales objet de l'étude *Rosmarinus officinalis. L et Mantha x piperita. L* ont été récoltées d'une manière aléatoire au stade de floraison dans la région de Achaacha de la wilaya de Mostaganem à 35° 55' 52 N de Latitude et 0° 5' 21 E de Longitude.

Ces espèces ont été choisies surtout à cause de leurs disponibilités et leurs utilisations courantes en médecine traditionnelle et dans le domaine agro – alimentaire.

### **2.2. Traitements préliminaires du matériel végétal :**

Des échantillons de 2 à 3 Kg de matière végétale pris uniquement sur la partie aérienne des espèces végétales étudiées ont été étalés sur papier journal ; puis séchés à l'air ambiant et à l'abri de la lumière .Les échantillons séchés ont été enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine (**Figure 9 et Figure 10**).



**Figure 08.** Broyat de romarin.



**Figure09.** Broyat de la menthe

La poudre ainsi obtenue a été emballée et conservée dans des bocaux hermétique à l’abri de l’humidité et de la lumière afin d’éviter toute réaction chimique pouvant entrainer des modifications au niveau des principes actifs présents dans les plantes étudiées.

### 2.3. Matériel et produits de laboratoire :

La verrerie ; l’appareillage ; les milieux de culture ainsi que les solvants utilisés au cours de cette expérimentation sont illustrés dans le (**Tableau 6**).

**Tableau 6.** Matériels et produit de laboratoire

Verreries et appareillage	Milieux de culture	Solvant utilisés
Autoclave	Muller Hinton gélosé	Eau distillée
Bain marie	Boillon Muller Hinton	Eau physiologique
Rota vapeur	Bouillon nutritif	Ethanol
Etuve de 37 c°	Milieu gélose EMB	
Bec bunsen	Gélose nutritif	
Spectrophotomètre	Bouillon EMB	
Réfrigérateur		
Tubes à essai		
Pipette pasteur		
Boîtes de Petri		
Béchers		
Erlenmeyer		
Papier Whatman		
Papier filtre		
Anse à platine		

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

### **3. Méthodes expérimentales :**

#### **3.1. Extraction des composés phénoliques :**

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols totaux contenus dans *Rosmarinus officinalis.L* et *Mentha x piperita. L*, on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par (Sultana et al., 2009).

Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

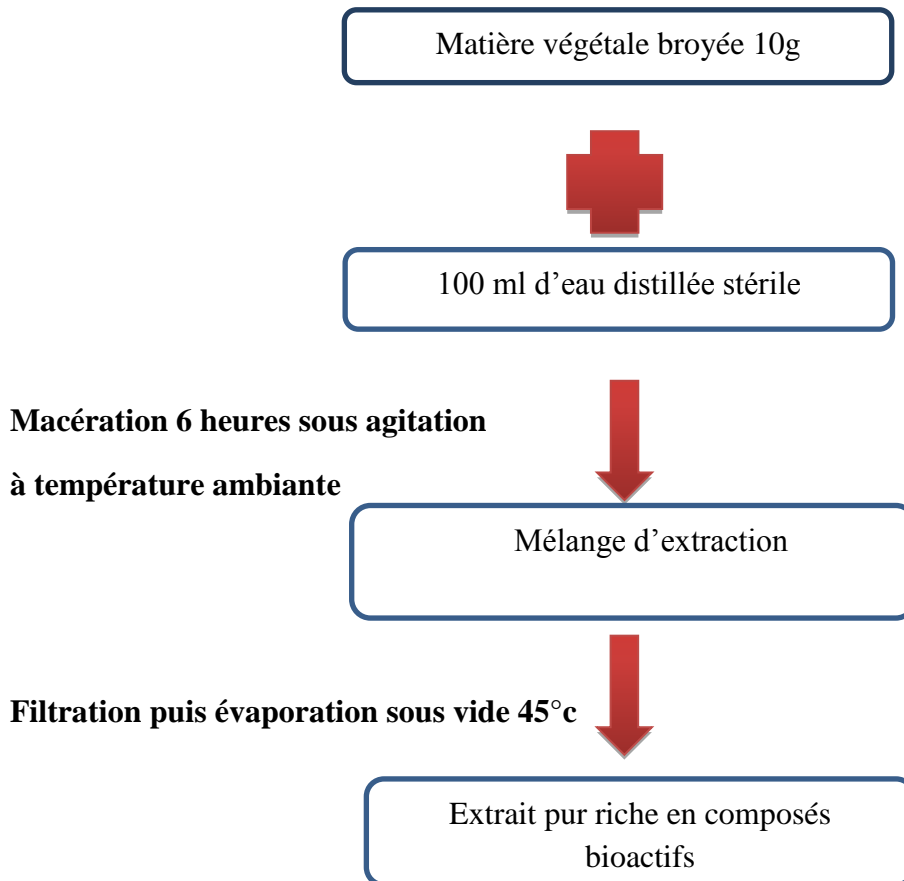
L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage de l'eau distillée stérile. Elle a été effectuée sur une prise d'échantillon de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml d'eau distillée stérile.

L'extraction par macération à froid de chaque mélange a été 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.

L'extrait à l'eau obtenu a été filtré en utilisant un papier filtre Whatman N°5 ayant une porosité de 0,6 $\mu$ m et le filtrat a été concentré jusqu'à environ 15ml par évaporation sous vide à 45 °C. L'extrait pur riche en composés bioactifs récupérés a été enfin dilué à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement.



**Figure 10.**Evaporation sous vide par le rotavapeur



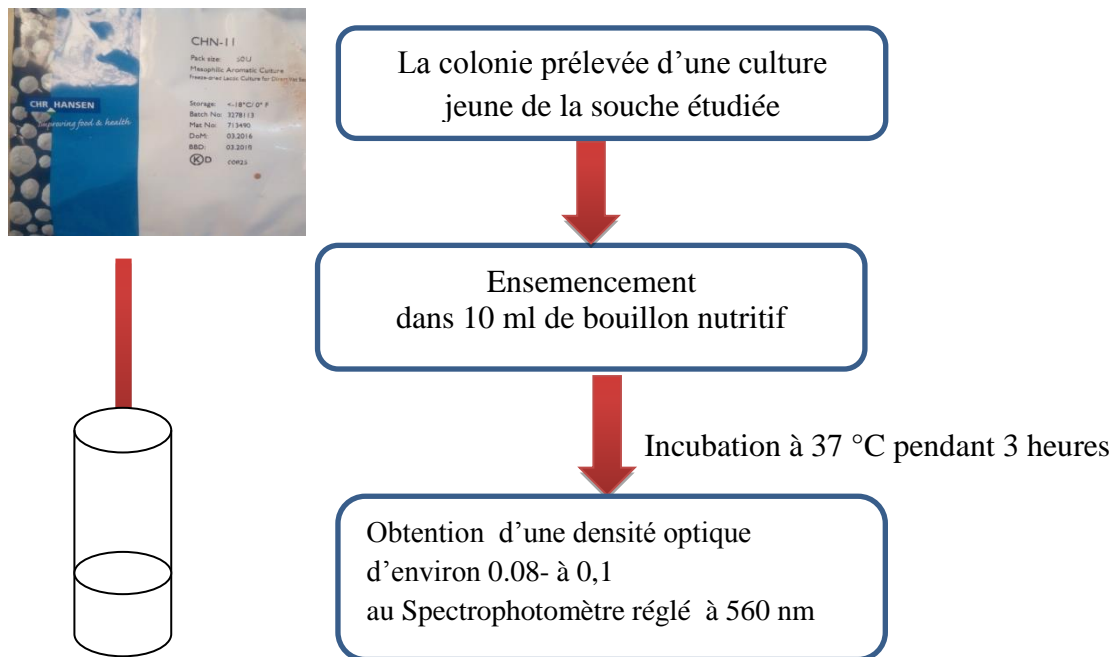
**Figure 11.** Les étapes d'extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis. L* et de *Mentha x piperita* selon le protocole de (Sultana et al., 2009).

### 3.2. Effets antimicrobiens des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis. L* et de *Mentha x piperita. L* :

#### 3.2.1 Activation de la souche microbienne :

L'étude à concerner la souche pure de référence d'*E. coli* (ATCC : 33862) qui a été fourni par l'institut Pasteur (Algérie) connue comme étant la plus responsable des infections urogénitales.

L'espèce bactérienne a été tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une colonie de la souche de référence conservée au froid à 4°C a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; puis incubée à 37°C durant 3 heures. 0.1ml de cette dernière solution constituant l'inoculum a été pris pour être ensemencé pour l'espèce microbienne (gélose EMB) puis le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures. (Figure.13)



**Figure12** .Schéma représente les étapes d'activation de l'inoculum bactérien.

### 3.2.2. Evaluation de l'effet antimicrobien :

Quatre méthodes différentes ont été employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*. L. et de *Mentha x piperita*. L. chez *E.coli* ATCC : 33862 dont :

- ✓ Méthode de contact direct ;
- ✓ Méthode des disques par diffusion sur gélose ;
- ✓ Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) ;
- ✓ Concentration Minimale Bactéricide(CMB).

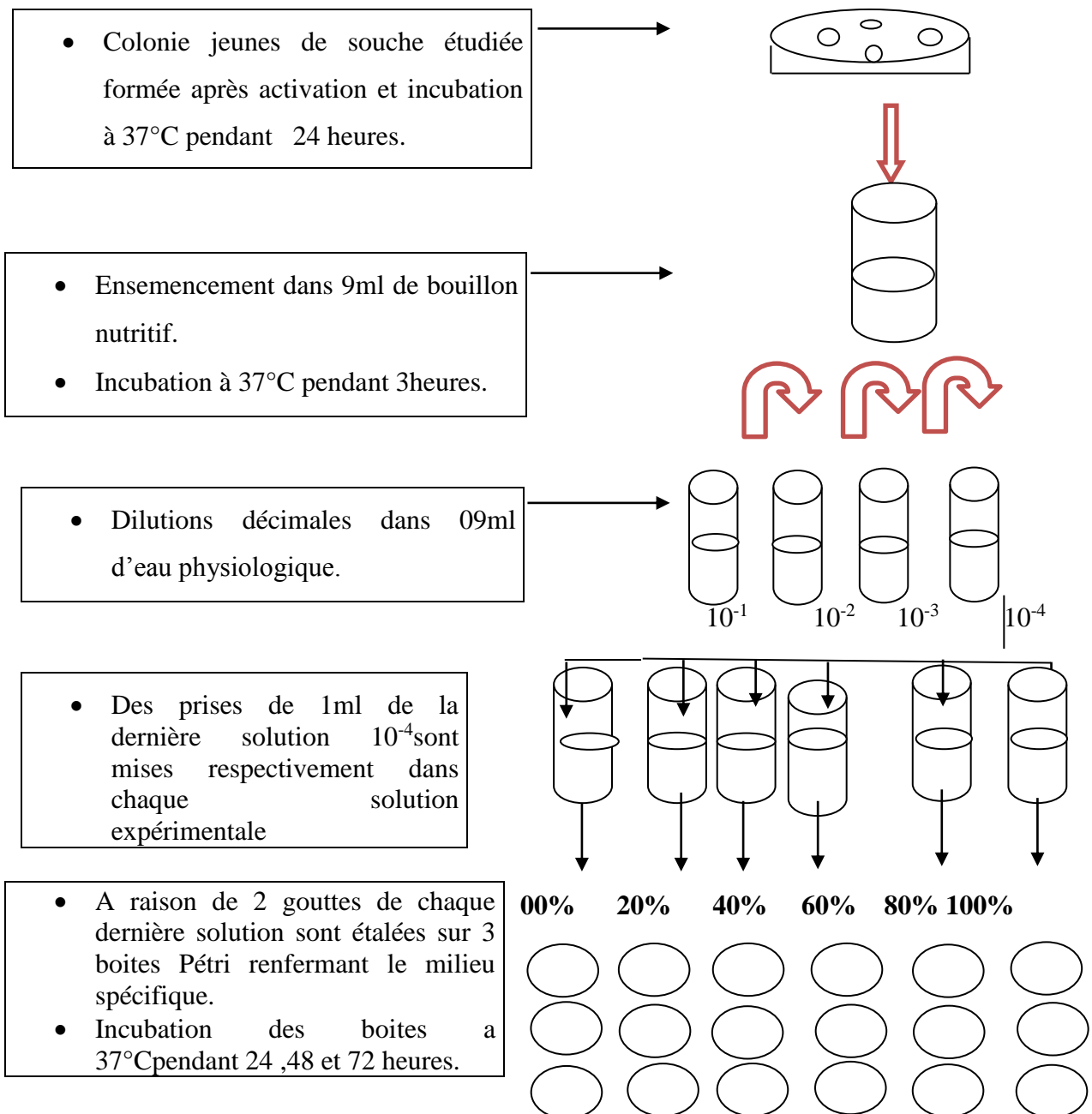
#### 3.2.2.1 Méthode de contact direct :

Une colonie issue d'une culture jeune de l'espèce microbienne *E.coli* (ATCC33862) activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique EMB a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile. Après, elle a été ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue l'inoculum d'une espèce de bactérie donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à  $10^{-4}$  pour le germe étudié.

## Partie02 : Méthodologie expérimentale

Des prélèvements de 01 ml de la dernière dilution décimale [Après mesure de la densité optique de l'inoculum (0.08-0.1)] a été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque solutions aqueuse d'extrait de *Rosmarinus officinalis. L (Romarin)* et de *Mentha x piperita .L* dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boîtes de Petri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance EMB de l'espèce microbienne étudiée. La lecture du nombre de colonies développé a été effectuée après incubation des milieuxensemencés à 37°C pendant 24 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).



**Figure13.**Méthode de contact direct ((**Bourgeois et Leveau, 1980**).

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

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Watman n° 5) 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.



**Figure14.**Disque préparés à partir de papier Wattman.

Une colonie de chaque espèce microbienne étudiée prélevée du milieu gélosé spécifique de culture après activation a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; 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 Pétri contenant le milieu gélosé MH.

Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans l'eau distillé à différent polarités ; ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, sont ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé Mueller Hinton ensemencé au germe *E.coli* (ATCC33862) (Prescott et al., 2003).

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

### 3.2.2.3 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* .L et *Mentha x piperita* . L obtenus par extraction à l'eau distillée qui ont été utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez le germe *E.coli* (ATCC33862) responsables d'infection urogénitale chez les femmes.

Ainsi, une colonie jeune d'*E.coli* (ATCC33862) prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif a été incubées pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inoculas. Des prises de 0,2 ml d'inoculum sont introduites dans 2 ml d'extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

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

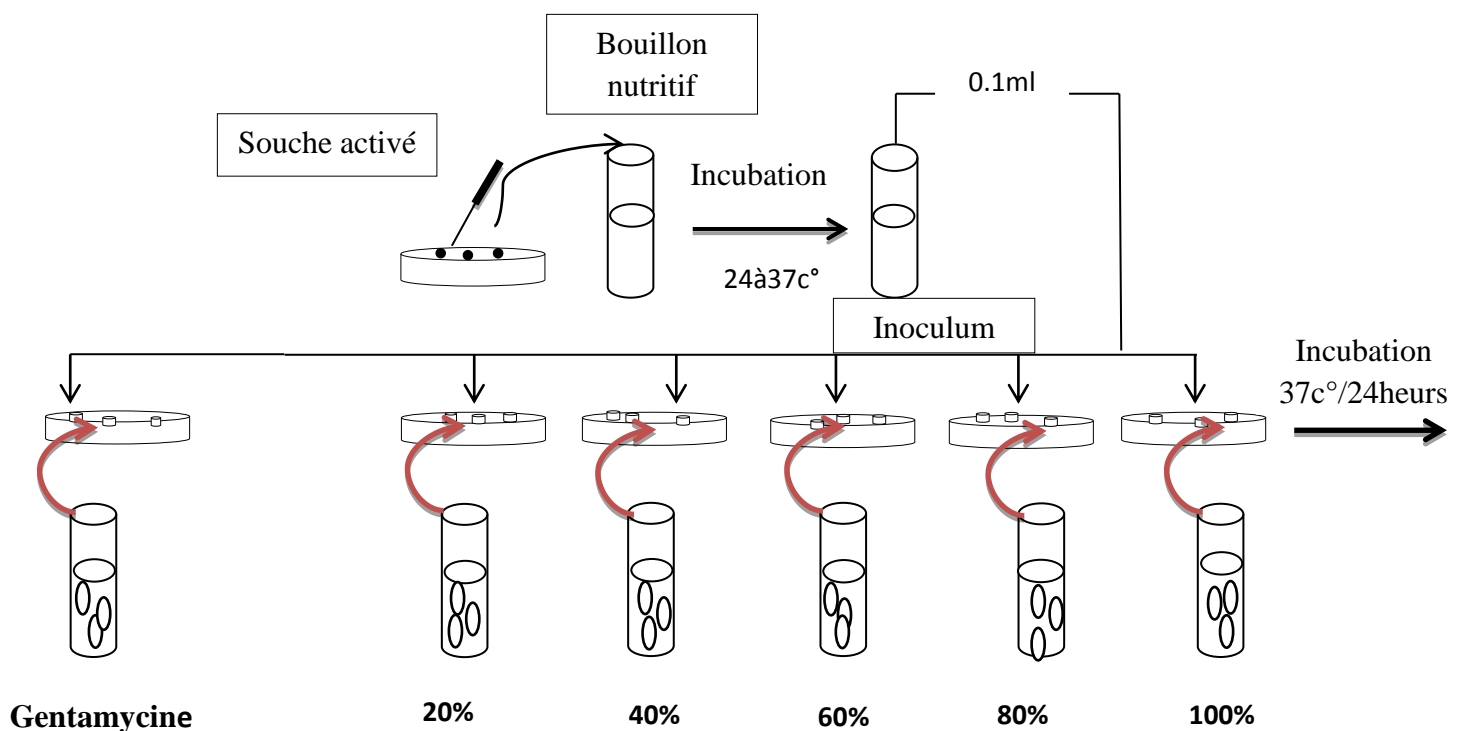


Figure15.Méthode des disques de diffusion sur gélose (Prescott et al., 2003).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI a 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  $d_f$  ( $d_i = d_f$ ).

Le taux de survie du microorganisme est mesuré au spectrophotomètre réglé à 625 nm comme

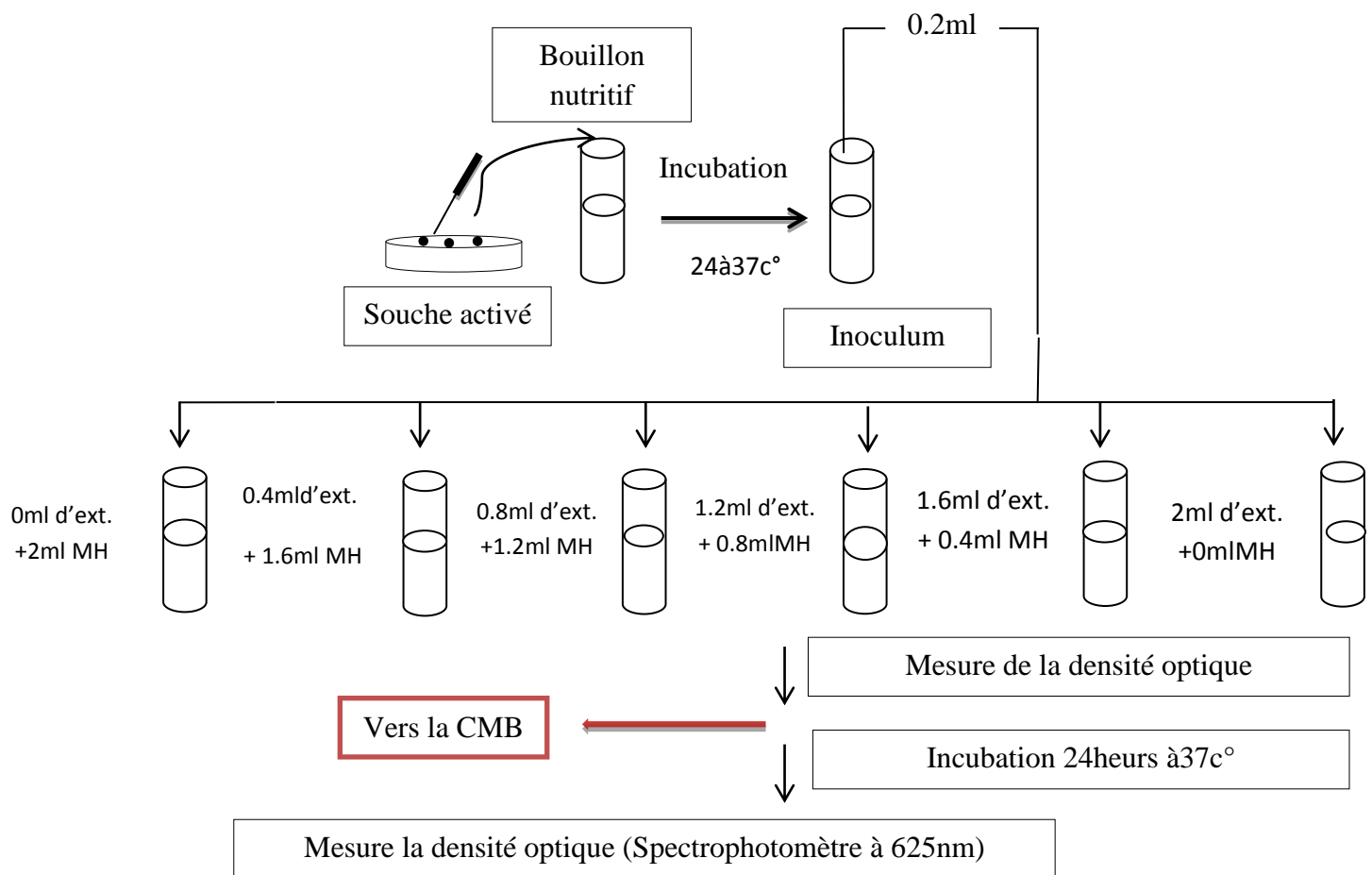
suit :

$$s = \frac{df-d1}{Df-Di} \times 100 :$$

- **S**: Taux de survie du microorganisme en %.

- **df-di** : Différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée au germe étudié avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

- **Df-Di** : Différence de densité optique dans la solution sans extrait aqueux des plantes ensemencées au germe étudié avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (**Kra et al. 2001 ; Zrihi et al. 2007**).

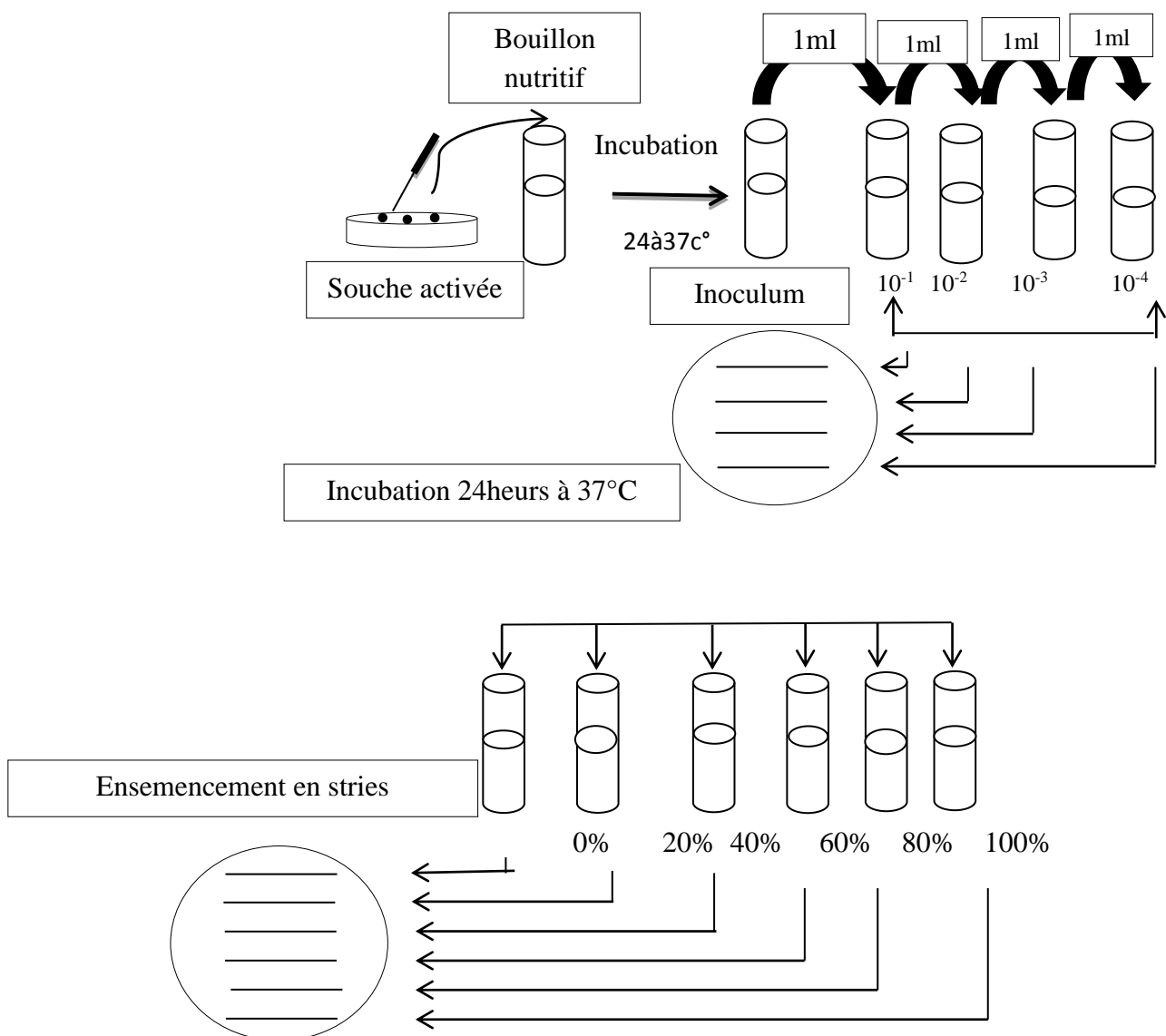


**Figure16.**Concentration minimale inhibitrice (CMI)

### 3.2.2.4. 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 *Rosmarinusofficinalis.L* et/ou de *Mentha piperita .L* 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 Gélose 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 de 5cm 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 17 :** Les étapes expérimentales pour de la détermination de la concentration minimales bactéricides CMB.

#### **4. Traitement statistique :**

Les résultats expérimentaux ont subi une analyse de variance mono-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) a été démontré aux deux seuils de probabilité :  $P < 0,05$  et  $p < 0.01$ .

## **Partie03: Résultats et discussion**

### 1. Résultats

#### 1.1 Croissance du germe *E.coli*:

La présente étude s'intéresse à l'effet de l'extrait aqueux de *Mentha x piperita* .L et de *Rosmarinus officinalis* L collectées dans la wilaya de Mostaganem sur la souche bactérienne d'*Escherichia coli* considérée comme étant la plus responsable dans les infections urogénitales.

En effet, l'analyse des données expérimentales présentées dans le (**Tableau 07**) a montré qu'en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Mentha x piperita* .L préparées à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100 %, le nombre d'*E.coli* a connu une évolution inversement proportionnelle ( $p<0.01$ ); soit une décroissance microbienne qui a varié respectivement de  $39 \times 10^5$ , à  $35 \times 10^4$ , à  $37 \times 10^5$ , à  $126 \times 10^4$ , à  $73 \times 10^4$  et à  $133 \times 10^3$  UFC/ml, en moyenne .

A 20 et 40% d'extrait de menthe le nombre de germe s'avère comparable ( $p>0.05$ ) à celui du témoin ;  $35 \times 10^4$  vs  $37 \times 10^5$  vs  $39 \times 10^5$  UFC/ml, en moyenne. La diminution de la croissance d'*Escherichia coli* par rapport au témoin ( $39 \times 10^5$  UFC/ml) commence à apparaître à 60% d'extrait ( $126 \times 10^4$  UFC/ml) et devient plus prononcée à 100% d'extrait de la plante ( $133 \times 10^3$  UFC/ml).

Concernant l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* .L et par rapport au témoin la diminution de la croissance d'*E. coli* a été constatée déjà ( $p<0.01$ ) sous l'action de l'extrait préparé à 40 % ;  $94 \times 10^6$  vs  $30 \times 10^3$  UFC/ml.

Les résultats indiquent aussi que l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* .L possède une bonne activité antimicrobienne contre la souche étudiée *E. coli*. Les niveaux de croissance obtenus par l'application de l'extrait à différentes concentrations montrent clairement que le nombre de germes diminue nettement ( $p<0.01$ ) avec l'augmentation de la concentration d'extrait de la plante. Ainsi, aucune croissance du germe n'a été observée aux concentrations d'extrait de 60, 80 et 100%.

**Tableau 07.** Effets des extraits aqueux de *Mentha piperita L* et de *Rosmarinus officinalis L* sur la croissance (UFC) du germe *E. Coli*.

Concentrations en extrait aqueux	Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
<b><i>Mentha piperita L.</i></b> (UFC/ml)	39x10 <sup>5a</sup>	35x10 <sup>4a</sup>	37x10 <sup>5a</sup>	126x10 <sup>4 b</sup>	73x10 <sup>4b</sup>	133x10 <sup>3 b</sup>
<b><i>Rosmarinus officinalis L.</i></b> (UFC/ml)	39x10 <sup>5a</sup>	98x10 <sup>3b</sup>	30 x10 <sup>3c</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; Témoin : Eau (0MEAG/ml); a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1.2. Test de diffusion sur disque du germe *E.coli*:

L'activité antibactérienne a été également exprimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait aqueux de *Mentha x piperita.L* et de *Rosmarinus officinalis. L* testés vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

Les résultats ont montré que les solutions d'extrait aqueux de *Mentha x piperita L.*, et de *Rosmarinus officinalis L* préparées à des concentrations variables de 20 à 100% présentent une augmentation remarquable ( $p < 0.01$ ) des diamètres d'inhibition ; de 6.67 à 17 mm et de 05.80 à 17 mm, respectivement. L'antibiotique a enregistré, toutefois, le diamètre d'inhibition d'*E.coli* le plus élevé ( $p < 0.1$ ) de 27.67mm par rapport aux différents extraits expérimentaux (Tableau 08)

**Tableau08.** Effets des extraits aqueux de *Mentha piperita L* et de *Rosmarinus officinalis L* sur la zone d'inhibition (mm) du germe *E. Coli*.

Concentrations en extrait aqueux	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%
<b><i>Mentha piperita L.</i></b> (mm)	27.67 <sup>a</sup> ± 01.20	06.67 <sup>c</sup> ± 01.25	07.00 <sup>c</sup> ± 01.03	07.00 <sup>c</sup> ± 02.12	07.33 <sup>c</sup> ± 01.14	17.00 <sup>b</sup> ± 00,50
<b><i>Rosmarinus officinalis L.</i></b> (mm)	27.67 <sup>a</sup> ± 01.20	05.80 <sup>c</sup> ± 01.28	8.00 <sup>c</sup> ± 01.45	08.00 <sup>c</sup> ± 02.01	12.52 ± 01.16	17.00 <sup>b</sup> ± 00,85

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; Témoin : Gentamicine ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

## Partie 03 : Résultats et discussion

### 1.3. Taux d'inhibition :

En fonction des concentrations en extrait aqueux préparées variables de 20 à 100 % les taux d'inhibition s'avèrent proportionnels et variable de 24.10 à 61.45 % pour la menthe poivrée et de 15.68 à 30.25% pour le romarin.

L'élévation de la concentration en extrait des plantes étudiée s'est traduit par une nette augmentation ( $p < 0.01$ ) des taux d'inhibitions du germe *E. coli*. L'extrait aqueux pur concentré à 100% de la menthe poivrée a présenté les meilleurs résultats des taux d'inhibition (61.45%) par comparaison à celui du romarin (30.25%) (**Tableau 09**).

**Tableau 09.** Taux d'inhibition (%) des extraits aqueux de *Mentha piperita L* et de *Rosmarinus officinalis L* chez *E. Coli* du germe *E.coli*

Concentrations en extrait aqueux	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Mentha piperita L.</i> (%)	100 <sup>a</sup>	24.10 <sup>c</sup>	25.30 <sup>c</sup>	25.30 <sup>c</sup>	26.51 <sup>c</sup>	61.45 <sup>b</sup>
<i>Rosmarinus officinalis L.</i> (%)	100 <sup>a</sup>	15.68 <sup>c</sup>	20.16 <sup>c</sup>	20.72 <sup>c</sup>	22.4 <sup>c</sup>	30.25 <sup>b</sup>

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions  $n$  égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; Témoin : Gentamicine ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI):

Après incubation, la plus faible concentration pour laquelle aucun trouble n'est observé à l'œil nu, correspond à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). D'après le (**Tableau 06**) la CMI chez *E. coli* a été obtenue avec l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*, concentré à 80 % et à 100% d'extrait aqueux de *Montha x piperita L.*, (**Tableau 10**)

**Tableau 10.** Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'extraits aqueux de *Mentha piperita L* et de *Rosmarinus officinalis L* chez *E. Coli*:

Extraits aqueux	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)
<i>Mentha piperita L.</i>	100%
<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	80%

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions  $n$  égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

## Partie 03 : Résultats et discussion

### 1.5. Concentration Minimale Bactéricide (CMB):

La CMB d'*E. coli* a été remarquée avec l'extrait aqueux de *Mentha x piperita*.L concentré à 100 % et à 80% d'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* .L. (**Tableau 11**).

**Tableau 11.** Concentration Minimale Bactéricide (CMB) d'extraits aqueux de *Mentha piperita* L et de *Rosmarinus officinalis* L chez *E. Coli*.

Extraits aqueux	Concentration Minimale Bactéricide (CMB)
<i>Mentha piperita</i> L.	100%
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	80%

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

### 1.6. Effets antimicrobiens des extraits aqueux :

Les rapports CMB/CMI ont dévoilé que les deux extraits aqueux de la menthe poivrée et de romarin exercent un effet de type bactéricide vis-à-vis de la souche étudiée ; *E coli* (**Tableau 12**).

**Tableau 12.** Effets antimicrobiens des extraits aqueux de *Mentha piperita* L et de *Rosmarinus officinalis* L chez *E. Coli*.

Extraits aqueux	Rapport CMB/CMI	Effets antimicrobiens
<i>Mentha piperita</i> L.	1	<b>Bactéricide</b>
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	1	<b>Bactéricide</b>

CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

### 2. Discussion :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ces composés participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. D'un point de vue chimique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales. **(Dorman et Deans, 2000).**

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.

Des études réalisées par l'Organisation Mondiale de la Santé **(OMS, 1999)** et d'autres auteurs **(Dorman et Deans., 2000 )** ont montré que les composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis.L* et *Mentha x piperita.L* possèdent une forte activité antibactérienne et antifongique contre de nombreuses espèces microbiennes dont *S. aureus*, *E.coli* et *Aspergillus sp.* Les extraits de *Rosmarinus officinalis. L* et *Mentha x piperita. L* de notre étude ont également montré une activité antimicrobienne importante contre *E. coli*.

D'après **Faiscova et Faix (2008)** l'activité antimicrobienne du romarin et le *mentha* contre les bactéries testées peut être attribuée à la présence de flavonoïdes et d'acides phénolique dans les plantes.

La présente «étude s'intéresse à l'étude des effets antimicrobiens d'extraits aqueux préparés à différentes concentrations de *Rosmarinus officinalis L* et de *Mentha piperita L.* sur la croissance la souche bactérienne *Escherichia coli*. Les résultats indiquent que l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L* possède une bonne activité inhibitrice contre la prolifération de la

## Partie 03 : Résultats et discussion

---

souche étudiée *Escherichia coli*. Les niveaux de croissance obtenus par l'application de l'extrait aqueux de la plante montrent clairement que le nombre de germes diminue avec l'augmentation de la concentration d'extrait appliquée. L'aptitude des extraits de *R. officinalis* L à inhiber la croissance bactérienne du germe *E. coli* est tout à fait remarquable à une concentration d'extrait de 60% ou aucune prolifération du germe n'a été constatée.

Par contre, l'extrait aqueux préparé à différentes concentrations de la Menthe poivrée a présenté une faible activité antimicrobienne vis-à-vis d'*Escherichia coli*. A ce propos, plusieurs auteurs (**Tad, 2003**) suggèrent que dans certaines conditions pédoclimatiques sévères les plantes médicinales aromatiques sont capables d'accumuler différemment les composés bioactifs à effet antimicrobien ; ce qui peut expliquer ces différences.

L'activité antibactérienne a été également exprimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits de *Rosmarinus officinalis* L et de *Mentha piperita* L et testés chez *Escherichia coli*. Les résultats des diamètres des zones d'inhibition ont révélé que *Escherichia coli* est très sensible vis-à-vis des extraits aqueux de *Mentha piperita* L et de *Rosmarinus officinalis* L.

D'après (**olivier 2007**), étant donné que les rapports CMB/CMI sont inférieurs à 2, les extraits expérimentaux de *Rosmarinus officinalis* L., et *Mentha piperita* L., semblent exercer un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis du germe *Escherichia coli* objet de l'étude.

A ce propos plusieurs études antérieures sur les extraits bruts aqueux de *Rosmarinus officinalis* L., et de *Mentha piperita* L ont révélé aussi des activités antimicrobiennes contre plusieurs microorganismes dont *Staphylococcus aureus* et indiquent bien une similitude avec les résultats obtenus dans le présent travail (**Moreira et al., 2005**).

## Partie 03 : Résultats et discussion

---

Le mécanisme d'action de l'extrait phénolique aqueux des plantes étudiées est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. L'extrait d'une plante riche en composés bioactifs exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe ; ce qui entraîne: une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, une acidification de l'intérieure de la bactérie en bloquant la production de l'énergie cellulaire ainsi que la synthèse des composants de structure et la destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Il est aussi bien établi que certains composés bioactifs des plantes dont les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont connus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être dû à l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou lié à d'autres interactions avec les effecteurs ou substrats et ions métalliques en inactivant par exemple les adhésines microbiennes et les protéines de transport (**Cowan, 1999; Dhaouadi et al., 2010**).

En raison de leurs activités antimicrobiennes, les extraits de romarin et de la menthe peuvent être ainsi utilisés dans plusieurs domaines d'intérêt dont par exemple l'industrie pharmaceutique pour la production de nouveaux médicaments naturels pour traiter surtout les maladies infectieuses causées par les nombreuses bactéries pathogènes.

Il apparaît donc nécessaire d'orienter d'autres études pour la caractérisation des principaux composés bioactifs phénoliques contenus dans les différents extraits aqueux des plantes médicinales récoltées spécialement dans la région de Mostaganem et d'essayer de caractériser ensuite leurs mécanismes d'action chez particulièrement *Escherichia coli* responsable des multiples infections urogénitales.

**Conclusion générale :**

## Conclusion :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparaît que l'activité biologique des extraits de *Rosmarinus officinalis L.*, et de *Mentha piperrita L.*, est caractérisée par un fort pouvoir antimicrobien vis-à-vis d'*Escherichia coli*. Ces extraits peuvent servir sans doute comme moyen de lutte biologique chez particulièrement le germe étudié.

La méthode des disques montre que le diamètre d'inhibition du germe *E.coli* est d'autant plus augmenté que les solutions inhibitrice sont fortement concentrées en extrait aqueux des plantes. Les extraits aqueux purs sans dilution, ont par ailleurs montré des zones d'inhibitions proches de la gentamicine.

En fonction des concentrations en extrait aqueux préparées de 20 à 100 % les taux d'inhibition s'avèrent proportionnels et variables de 24.10 à 61.45 % pour la menthe poivrée et de 15.68 à 30.25% pour le romarin.

La concentration minimale bactéricide des extraits de la menthe poivrée et de *Rosmarinus officinalis* ont été obtenues chez *E.coli* à des concentrations de 100% et 80%, respectivement.

Concernant la concentration minimale bactéricide d'*E. coli*, elle a été réalisée avec l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis L.*, concentré à 80 % et à 100% d'extrait aqueux de *Montha x piperita L.*

Enfin ; tous les principes actifs des extraits expérimentaux ont démontré un effet antimicrobien de type bactéricide chez *E.coli* .

L'ensemble des résultats de cette étude ne constitue qu'une première ébauche dans le domaine de la recherche portée sur les substances naturelles des plantes biologiquement actif et leurs effet antimicrobiens. Des essais complémentaires sont donc plus que nécessaires pour confirmer nos résultats et doivent être surtout focalisées sur l'étude comparée de la composition chimique en principaux composés bioactifs (Polyphénols-Huiles essentielles-Alcaloïdes) des plantes médicinales vis-à-vis des nombreux germes pathogènes impliqués dans plusieurs pathologies, sans perdre de vue de mettre en avant l'influence des nombreux facteurs biologiques et écologiques du milieu (espèce, stade végétatif de la plante, période et lieu de récoltée en Algérie .....etc.).

**Références bibliographiques :**

# Reference bibliographique

## A

**Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N. Munoz A., Murcia A., Butler J. et Halliwell B.** 1996. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosmariny and provençal herb. Food and Chemical Toxicology 34(5):456. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis Biskra, université med khaidr biskra. 2013. p2.3.

**Athamena S.**, 2009 .Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum et les feuilles de Romarins officinales et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de magistère, université d'Elhaj Lakhdar de Batna, p. 30

**Atik bekkara F, Bousmaha L, Taleb bendiab S.A., Boti J.B., Casanova J,** (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. J Biologie & Santé vol. 7, n° 1,

## B

**Barlier I.**, Etat des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'angers. 2014. Thèse de Doctorat, université Angers (france)

**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,** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – Techniques et documentations, 3ème Edition, Lavoisier, 1120 pages.

**BRUNETON. J ; 1999-** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3 ème Edition. Paris pp 533-536

**Bruneton, J.,** 1999 "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales." . . p. 483-560.

## C

**Caillet S. & Lacroix M., 2007.** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, 1-

**Caquet R., 2008** ; 250 examens de laboratoire ; 10<sup>ème</sup> édition 420 page

**Charles, D.**, Peppermint, in Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. 2013, Springer New York. p. 469-475.

**Cheung S. ET Tai J.** 2007. Ant i-proliferative and antioxidant propeties of rosmary Rosmarinus officinalis. Oncology reports.17 (6): 1525-1531

**Coste H.**, 1937 - Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris – Librairie des Sciences et des Arts. 807 p.

**Cronquist A.**, 1988 – The Evolution and Classification of Flowering Plants. Ed. The New York Botanical Garden, New York, 123 p

## **D**

**Denis F., Ploy M-C., Martin C., Bingin É., et Quentin R.**, 2007, Bactériologie médicale édition Masson.

**DANIEL. J, RODOLPHE – EDOUARD. S, VINCENT V.S;** 2002- Botanique systématiques des plantes à fleurs (Collection biologique). 2<sup>ème</sup> Edition. PPUR. 328 p.

**Delille L** , (2007).les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger,122

**Domart A., Bournef J.** (1989). Nouveau Larousse médicale. Edition Canada. P1064-1066.

**Dorman H.J. & Deans S.G.**, 2000- Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88 (2): 308-16

**Dragland, S., H. Senoo, K. Wake, K. Holte, and R. Blomhoff**, Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. The Journal of nutrition, 2003. 133(5): p. 1286-1290.

## **E**

**Eline, 2008**, biologie humain. 8<sup>ème</sup> éditions. canada, p 7-544

**Emberge R L.**, 1960 ;Traité botanique fascicule II .Masson. p335.

## **F**

**F. Bruyère, G. Cariou, J.-P. Boiteux, A. Hoznek, J.-P. Mignard, L. Escaravage,L. Bernard, A. Sotto, C.-J. Soussy, P. Coloby et le CIAFU** –Généralités General remarks- Progrès en Urologie (2008) 18 Suppl. 1, S4-S8

**Flèche C., 2012,** Décodage biologique immunité, hématologie, andrologie et urologie ; le Souffle d'Or ISBN 978 2 84058 434 6

**François C.** 2012. Les plantes et leurs noms « Histoires insolites » : 152

## **G**

**Gaillard j. l. berche, simonet M,** 1988, bactériologie, chapitre 8 : E. Coli P.101- 111

**Giordani R. Kaloustian J,**2006. Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques J Phytothérapie (2006) Numéro 3,121-124

**Gonthier R., 2000,** Infection de sujet âge gériatrie, 25 :95-103, Paris

## **H**

**Heinrich M., Barnes J., Gibbons S. et Williamson E.M.,** 2006 - Fundamentals of Pharmacognosy et Phytotherapy. Ed. inburgh: Churchill Livingstone, p.85.

**Huang M. T., Ho C. T., Wang Z. Y., Ferraro T., Lou Y. R., Stanber K., Ma W., Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Rizenthaler C., Meyer D., Lepierre C., Pollet B .et Legrand M.** 1994. Silencing of Hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. Plant cell. 16 (4): 1446-1465.cité par Madjoursassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis Biskra,université med khaider biskra.2013.p2.3

## **I**

**Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G.** 2000. Combined use of supercriticalfluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquidchromatography for the analysis of antioxidants fromRosmary (Rosmarinus officinalis L). Journal of Agricultural and Food chemistry, 48 (9): 4060-4065. cité par Madjour sassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis Biskra, université med khaider biskra.2013.p2.3.

**Iscan, G., N. Kirimer, M.n. Kürkcüoglu, H.C. Baser, and F. Demirci,** Antimicrobial screening of Mentha piperita essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. 50(14): p. 3943-3946.

**Iserin, P.**, Encyclopédie des plantes médicinales, in Encyclopédie des plantes médicinales, L. Londres, Editor. 2001. p. 116, 225-226.

**Iserin P, Masson M et Restellini J P,2007.** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, pp14

## **J**

**Judd Walter S, Campbell Christopher S, Kellogg Elizabeth A, Stevens Peter,2002.** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université ,84-87 ,396-399

## **K**

**Kateb. J ;** « Le travail sur la culture des plantes médicinales » ; Edition Masson ; Paris ; 1989 ; pp14.

**Kumar, S., N. Wahab, and R. Warikoo,** Bioefficacy of Mentha piperita essential oil against dengue fever mosquito Aedes aegypti L. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2011. 1(2): p. 85-884

**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.

## **L**

**Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C.** 1996. Study of the embryotoxic effects of an extract of Ros mar y (Rosmarinus officinalis). Brazilian journal of medical and biological research. 29 (2): 223-227.cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis Biskra,université med khaidr biskra.2013.p2.3

**Linnet, T. Nizard, J, 2010.** Suspicion d'infection génitale basse .EMC (Elsevier Masson SAS, paris), traité de médecine akos ,3-1190

## **M**

**Maceij Stobiecki,** 2000. Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, Phytochemistry. 237-256

**Mimica-Dukic, N., B. Bozin, M. Sokovic, B. Mihajlovic, and M. Matavulj**, Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Medica*, 2003. 69(5): p. 413-419.

**Minor L, Veron N.**, 1989 *Bactériologie médicale*. Flammarion Médecine Sciences, Paris.; 2:331-381

**Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E. & Roura S.I.**, 2005- Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *LebensmittelWissenschaft und -Technologie-LWT*, 38: 565-570.

**Moreira, M.D., M.C. Picanço, L.C.d.A. Barbosa, R.N.C. Guedes, M.R.d. Campos, G.A. Silva, and J.C. Martins**, Plant compounds insecticide activity against Coleoptera pests of stored products. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2007. 42: p. 909-915.

**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.

## O

**Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. ET Pfeifer A. M.** 1995. Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis*. 16 (9): 2057-2062. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra, université med khaidr biskra. 2013. p2.3.

**Olivier L., Galland J.-P., Maurin H. & Roux J.-P.** Livre rouge de la flore menacée de France. Tome I : espèces prioritaires. Muséum national d'Histoire naturelle / Ministère de l'environnement / CBN de Porquerolles, Paris. 1995

## P

**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

**Pilly E., 2008**, *Maladies infectieuses tropicales* éducation web.

## Q

**Quezel, P.; Santa, S.**, 1963- Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II

## **R**

**Rameau J.C et Dumé G.,** 2008 - Flore forestière française: Région méditerranéenne. Ed. Forêt privée française, p. 897.

## **S**

**Singletary K. W. ET Nelshoppen J. M.** 1991 .Inhibition of 7, 1 2 dimethylbenz [a]anthracene (DMBA) inducedmammarytumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemaryextract. Cancer lettres. 60 (2) : 169-175. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis Biskra,université med khaider biskra.2013.p2.3

**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.

## **T**

**Tattewin P.,** 2003, maladies infectieuses, Ellipses Edition Marketing S.A, ISBN : 2- 7298-1497-3

**Toroglu, S.,** In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. Journal of Environmental Biology, 2011. 31(1): p. 23-29

## **Z**

**Zheng, W. and S.Y. Wang,** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2001. 49(11): p. 5165-5170

**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: 9-17.8.

## **Annex**

L'objectif de cette partie d'étude est de préparer des milieux de culture dont les pouvoirs de détection des flores bactérienne pourraient augmenter la capacité de mettre en évidence d'*Escherichia coli* qui ne s'adaptent pas ou s'adaptent avec les différents extraits de *Rosmarinus officinalis.L* et *Mentha piperita .L*

Les milieux qu'on compte préparer sont des milieux spécifiques basés sur les éléments constituant les milieux : Mueller Hinton ; Bouillon Muller Hinton ; Bouillon nutritif ; Milieu gélose EMB ; Gélose nutritif ; Bouillon EMB.

Ces milieux peuvent être rendus plus sélectifs et le développement des bactéries peut être aussi inhibé par l'adjonction d'antibiotiques (pénicilline). (Guiraud, 2004)

### ➤ Méthodes de travail

#### 1 –Préparation des milieux de culture

Il existe de nombreux milieux de culture qui permettent le développement, la conservation, l'isolement, la sélection des micro-organismes. Ces milieux peuvent être soit trouvés dans le commerce sous forme de milieu prêts à l'emploi, soit fabriqués en laboratoire.

Ils se divisent en milieux complexes de composition chimique mal définie et en milieu synthétiques de composition chimique définie. (Joseph Pierre Guirade, 1998) .

#### A. Préparation d'Agar Mueller Hinton

L'agar Mueller Hinton conditionnée dans des 20 boîtes 90mm, avec stabilité de 60 jours. C'est un milieu nutritif conservé à 2-8°C. Utilisé pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides par des tests de diffusion. La gélose Mueller Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard la composition de ce milieu est :

- Infusât de viande :.....02,0 g /l
- Hydrolysât de caséine :.....17,5 g /l
- Amidon :.....1,5 g /l
- Extrait de levure ..... 01g/l
- Agar-Agar :.....13 g /l
- Eau :.....1000ml
- Ph :.....7,4



**Figure 18.** Agar Mueller Hinton.

### B. Préparation bouillon de Mueller Hinton

Milieux Mueller Hinton et proposé en 1941 pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides elle se compose de :

- Infusat de viande : .....02, 0 g /l
- Hydrolysate de caséine : .....17,5 g /l
- Amidon : .....01, 5 g/l
- Extrait de levure .....01g/l
- Eau : .....1000ml
- Ph : .....7,4



**Figure 19.** Bouillon de Mueller Hinton.

## C. Pénicilline G

### ✓ Définition

Antibiotique bêta-lactaminé de la famille des benzylpénicillines, la pénicilline G est utilisée dans le traitement de graves infections, en injection.

### ✓ Utilisation

Administrée par voie intraveineuse ou intramusculaire, la pénicilline G est utilisée dans le traitement des infections plus graves que celles pouvant être soignées par voie orale : septicémies, gangrène gazeuse, infections dues aux germes sensibles, qu'il s'agisse de manifestations respiratoires, stomatiques, cutanées, rénales, gynécologiques, digestives ou méningées.

### ✓ Propriétés

Découverte en 1928 par Alexandre Fleming, la pénicilline G est un antibiotique bêta-lactaminé de la famille des pénicillines. Il s'agit d'une toxine synthétisée avec des moisissures du genre penicillium. La pénicilline G agit en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries, empêchant ainsi leur multiplication.

### ✓ Médicaments

Sous forme de poudre pour solution injectable, la pénicilline G est le composant de plusieurs médicaments : Benzathine Benzylpénicilline Panpharma ® 1,2 MUI, Extencilline 1,2 MUI, 1,4 MUI et 600000 UI, Penicilline G Panpharma 5 MUI et 1 MUI.

### ✓ Précautions d'emploi

Si la pénicilline G peut être utilisée chez les adultes comme chez les enfants, toute réaction allergique caractérisée par de la fièvre, de l'urticaire ou encore une éosinophilie, impose l'arrêt du traitement. Cette substance est d'une manière générale contre-indiquée aux personnes souffrant d'allergie aux antibiotiques bêta-lactaminés - un interrogatoire est nécessaire avant tout traitement étant donné le risque de choc anaphylactique sévère. Elle passe dans le lait maternel et ne doit donc pas être utilisée en cas d'allaitement. Enfin, la posologie doit être adaptée pour les personnes souffrant d'insuffisance rénale.

**✓ Effets secondaires**

À fortes doses, la pénicilline G est susceptible de provoquer des encéphalopathies métaboliques avec mouvements anormaux, troubles de la conscience et/ou crises convulsives.



**Figure 20.**Penicillin G.

**D.Préparation de bouillon nutritif**

- Extrait de levure.....02 g/l
- Extrait de viande .....05 g/l
- Peptone pancréatique .....10 g/l
- Chlorure de sodium.....05 g/l
- Ph.....7,4



**Figure 21.** Bouillon nutritif.

### E. Préparation de l'eau physiologique

#### ✓ Définitions

L'eau physiologique à 0,90 % est un diluant isotonique utilisé pour les dilutions ou la réalisation de suspensions bactériennes.

#### ✓ Composition :

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée  
Chlorure de sodium : 09



**Figure 22.** L'eau physiologique.

### F. Préparation d'agar EMB (milieu éosine bleu de méthylène):

Ce milieu est utilisé pour isoler et identifier *Escherichia coli* et *Entérobactérie* ainsi que les **bactéries intestinales à Gram -**.

Préparation pour 1 litre de milieu:

- peptone pancréatique de gélatine : 10 g

- phosphate dipotassique ( $\text{PO}_4 \text{K}_2\text{H}$ ) : 2 g
- lactose : 10 g
- éosine jaune : 0,4 g
- bleu de méthylène : 0,065 g
- agar agar : 15 g
- pH: 6,8

Le bleu de méthylène et l'éosine jaune sont deux colorants inhibiteurs partiels des bactéries Gram + tel que les entérocoques. Ces colorants assurent la différenciation entre les germes lactose + et les germes lactose -.



**Figure 23.** Agar EMB

**g. Préparation de bouillon EMB (milieu éosine bleu de méthylène):**

- peptone pancréatique de gélatine : 10 g
- phosphate dipotassique ( $\text{PO}_4 \text{K}_2\text{H}$ ) : 2 g
- lactose : 10 g
- éosine jaune : 0,4 g
- bleu de méthylène : 0,065 g
- pH: 6,8