

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis
-Mostaganem

Faculté des Sciences
de la Nature et de la Vie



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

M^{lle} KHARROUBI Fawzia et M^{lle} BOUZID Assia

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

THÈME

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* (Romarin) récolté dans la région de Naama vis-à-vis des germes responsables d'intoxications alimentaires.

Soutenue publiquement le : 11 /07 /2019

DEVANT LE JURY

Président	M. BEKADA. A	Professeur	U. Tissemsilt.
Encadreur	M. AIT SAADA. D	MCA	U. Mostaganem.
Co-encadreur	M ^{me} AIT CHABANE. O	MCB	U. Mostaganem.
Examineur	M. BENBOUZIANE. B	MCB	U. Mostaganem.
Invité	M ^{lle} BABADJI. K	Doctorante	U. Mostaganem.

Thème réalisé au Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN), Université-Mostaganem

Année Universitaire 2018/2019

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas vu le jour sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier de vivement dont en l'occurrence :

- *Monsieur **AIT SAADA. D** MCA à l'université de Mostaganem et **M^{me} AIT CHABANE.O** MCB à l'université de Mostaganem, d'avoir accepté de diriger l'étude pour les orientations prodiguées tout au long de la période de recherche, pour leurs patiences, conseils et soutien moral dans les moments difficiles que nous avons rencontrés.*
- *Les membres de jury **M. BEKADA. A** Professeur à l'université de Tissemsilt et **M. BENBOUZIANE. B** MCB à l'université de Mostaganem d'avoir prié soin d'évaluer et d'examiner ce travail merci vivement.*
- *Nous tenons aussi à associer nos remerciements à tout le personnel exerçant au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition et enseignants, ingénieurs, techniciens et doctorants affiliés à la faculté SNV: **M^{me} BENATI Fatima** pour sa disponibilité ; **M. SOUWAN. M** d'avoir mis à notre disposition tous le matériel et produits chimiques nécessaires ; ainsi que la doctorante **BABADJI khadidja** de nous avoir accueilli chaleureusement et soutenu moralement dans la réalisation pratique et théorique de l'étude.*
- *Nous remercions profondément, enfin, tous les enseignants relevant du département de "Biologie", ainsi que tous ceux et celle qui nous ont aidés de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste mémoire.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Tout d'abord aux deux ma source de bonheur qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remerciais jamais assez.

A mes très chers parents

A mes chers frères : Ahmed ; Taher

A mes chères sœurs : Samira ; Houria ; Yamina

A mon binôme Assia et toute sa famille

Je n'oublie jamais à la générosité illimitée de mes amis : Amel,

Khadidja, Djihane, Samira

A tous mes enseignants pour le savoir et les valeurs qu'ils m'ont transmises

A toute la promotion MF2018/2019

Mes professeurs de département de microbiologie qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis

A tout ceux qui m'aiment et ceux qui j'aime



Fawzia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Tout d'abord aux deux ma source de bonheur qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remercierais jamais assez.

A mes très chers parents et surtout ma mère

A mes chers frères

A mes chères sœurs : Ahlem ; Bohra.

A mon binôme fawzia et toute sa famille

Je n'oublie jamais à la générosité illimitée de mes amis : Amel,

Khadija, Djihane, Samira, nawel

A tous mes enseignants pour le savoir et les valeurs qu'ils m'ont transmises.

A toute la promotion MF 2018/2019

Mes professeurs de département de microbiologie qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis

A tout ceux qui m'aiment et ceux qui j'aime



Assia



LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

UFC : Unité formant colonie.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

P : Seuil de Probabilité.

pH : Le potentiel hydrogène.

LPS : lipopolyosidiques.

LDC : Lysine décarboxylase.

ODC : Ornithine décarboxylase.

E. coli : *Escherichia coli*.

S.typhi : *Salmonella typhi*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*.

DFID: Department for International Development.

ISO : Organisation Internationale De la Normalisation.

EOR : Enhanced Oil Recovery.

HIV : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

EMB : Eosine Bleu de Méthylène.

SHU : Syndrome Hémolytiques et Urémique.

MH : Muller Hinton.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

H₂S: Sulfate d'hydrogène.

NaCl : Chlorure de sodium.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. Classification botanique de l'espèce de *Rosmarinus officinalis* L.....09

Tableau 02. Les différentes classes des composés polyphénols.....12

Tableau 03. Les dix commandements de l'hygiène alimentaire.....21

Tableau 04. Classification de *P. aeruginosa* selon Bergey's Manuel.....23

Tableau 05. Classification de *S. aureus* selon Bergey's Manuel.....27

Tableau 06. Classification de *S.typhi* selon bergey's Manuel31

Tableau 07. Classification de *Escherichia coli* Selon Bergeys Manuel35

Tableau 08. Souches de références testées43

Tableau 09. Effet des extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance de certains germes pathogènes.....51

Tableau 10. Effet des extraits phénoliques a l'hexane de *Rosmarinus officinalis* sur le taux de croissance de certains germes pathogènes.....52

Tableau 11. Effet des extraits phénoliques a l'hexane de *Rosmarinus officinalis* le diamètre d'inhibition en (mm) de certains germes pathogènes.....54

Tableau 12. Effet des extraits phénoliques a l'hexane de *Rosmarinus officinalis* sur le taux d'inhibition de certains germes pathogènes.....55

Tableau 13. Evaluation des concentrations minimales inhibitrices des extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis* prélevé de la région de Naama chez certains germes pathogènes.....56

Tableau 14. Représentation de rapport CMB/CMI de certains germes pathogènes de la région de Naama.....58

LISTE DES FIGURES

Figure 01. <i>Rosmarinus officinalis L</i>	08
Figure 02. Structure de base des flavonoïdes.....	13
Figure 03. <i>P. aeruginosa</i> vu a microscope après coloration de Gram	24
Figure 04. <i>S. aureus</i> vu a microscope après coloration de Gram.....	28
Figure 05. <i>S. Typhi</i> vu a microscope après coloration de Gram	31
Figure 06. <i>E.Coli</i> vu à microscope après coloration de Gram	36
Figure 07. Région de prélèvement d'échantillon expérimental	39
Figure 08. <i>Rosmarinus officinalis L</i> récoltée dans la région de Naama (Djebel Morghad).....	40
Figure 09. Etape de Macération	41
Figure10. Etape d'évaporation sous-vide de récupération d'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i>	41
Figure 11. Différente étapes d'extraction des composés bioactifs de <i>rosmarinus officinalis</i>	41
Figure 12. Concentration des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i>	43
Figure 13. Méthode de contact direct.....	45
Figure 14. Méthode des disques par diffusion sur gélose MH.....	46
Figure 15. Méthode de la détermination de la CMB.....	49
Figure 16. Méthode de contact direct de l'effet des extraits phénoliques à l'hexane de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la croissance de certains germes patgogènes.....	50
Figure 17. Effet des extraits phénoliques à l'hexane de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevé dans la région de Naama sur le diamètre d'inhibition (mm) de certains germes pathogènes	53
Figure 18. Détermination des CMB des extraits phénoliques à l'hexane d <i>Rosmarinus officinalis</i> vis-à-vis de certains germes pathogènes.....	57

Résumé :

L'étude a porté sur l'effet antimicrobien de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* récolté dans la région de Naama au sud d'Algérie sur certains germes pathogènes de référence dont (*E.coli*, *S.typhi*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*). Les mesures et contrôles réalisées en triples essais ont concerné : le test de croissance, test de diffusion sur gélose et les méthodes de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ainsi que de la concentration minimale bactéricide (CMB).

L'extrait pur hexanique aqueux de *Rosmarinus officinalis L* a montré un fort pouvoir inhibiteur de type bactéricide sur la croissance des germes étudiés souvent impliqués dans les intoxications alimentaires.

Comparativement à la gentamicine considérée comme étant un puissant antibiotique à large spectre, l'extrait de la plante a enregistré des taux d'inhibitions intéressants, vis-à-vis des germes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*. Toutefois, *Staphylococcus aureus* s'avère plus résistante à l'extrait expérimentale.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis L* ; extrait ; activité antimicrobienne ; germes pathogènes ; intoxications alimentaires.

Abstract:

The study investigated the antimicrobial effect of the aqueous hexane extract of *Rosmarinus officinalis L* collected in the Naama region of south Algeria on certain reference pathogens including (*E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*). The measurements and controls carried out in triple tests concerned: the growth test, agar diffusion test and methods for determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (CMB).

The pure aqueous hexanic extract of *Rosmarinus officinalis L* showed a strong bactericidal inhibitory power on the growth of the germs studied, which are often involved in food poisoning.

Compared to gentamicin, which is considered a powerful broad-spectrum antibiotic, the plant extract has shown interesting inhibition rates against germs: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*. However, *Staphylococcus aureus* is more resistant to the experimental extract

Key words: *Rosmarinus officinalis L*; extract; antimicrobial activity; pathogens; food poisoning.

الملخص:

ركزت الدراسة على تأثير مضادات الميكروبات لمستخلص الهيكسان المائي *Rosmarinus officinalis L* التي جمعت من منطقة النعامة بجنوب الجزائر على بعض الميكروبات الممرضة المرجعية بما في ذلك (*E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*). القياسات والضوابط التي أجريت في الاختبارات الثلاثية المعنية: اختبار النمو، واختبار انتشار أجار وطرق تحديد الحد الأدنى من التركيز المثبط (CMI) والحد الأدنى من تركيز مضاد البكتيريا (CMB).

أظهر المستخلص النقي بالهيكسان المائي لإكليل الجبل قدرة مثبتة قوية من نوع مضاد للبكتيريا على نمو البكتيريا المدروسة التي غالبا ما تشارك في التسمم الغذائي.

بالمقارنة مع الجنتاميسين، الذي يُعتبر مضاد حيوي قوي واسع الطيف، مستخلص النبتة سجل معدلات تثبيط مثيرة للاهتمام، فيما يتعلق بالبكتيريا: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* *Escherichia coli* هي أكثر مقاومة للمستخلص التجريبي.

كلمات مفتاحية: إكليل الجبل؛ مستخلص؛ نشاط مضادات الميكروبات؛ الجراثيم المسببة للأمراض؛ التسمم الغذائي.

TABLES DE MATIERES

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la phytothérapie

1. Généralités	02
2. Définition	02
3. Différents types de phytothérapie	02
4. Avantages de la phytothérapie :	03
5. plantes médicinales	04
5.1. Généralité	04
5.2. Définition	04
5.3. Principes actifs	05
5.3.1. Les polyphénols	05
5.3.2. Alcaloïdes	05
5.3.3. Huiles essentielles	06
5.3.4. Tanins	06
5.3.5. Huiles Grasses	06

5.3.6. Minéraux	06
6.4. Action des plantes médicinales	07
6.4.1. Le système nerveux	07
6.4.2. Le système urinaire	07

Chapitre II : *Rosmarinus officinalis*

1. Généralités	08
2. Historique	08
3. Définition	08
4. Caractéristiques botaniques	09
5. Classification	09
6. Habitat	09
7. Composition biochimique	10
8. Principes actifs	10
8.1 Composés phénoliques	11
8.1.1. Généralité	11
8.2 Flavonoïdes	11
8.2.1 Généralité	11
8.2.3 Structure	12
8.2.4. Propriétés des flavonoïdes	13
8.2.5. Activités biologiques des flavonoïdes	14
9. Propriétés du Romarin	16
9.1. Activité antifongique	16
9.2. Activité antivirale	16
9.3. Effet anti-carcinogène	16
9.5. Autres effets	16
10. Domaine d'utilisation de la plante	17

10.1. Industrie agro-alimentaire	17
10.1.1. Alimentation	17
10.1.2. Alimentations diététiques, tisanes, herbales	17
10.1.2.1. Usage interne	17
10.1.2.2. Usage externe	17
10.2. Industrie cosmétique et parfumerie	17
10.2.1. Usage thérapeutique	17

Chapitre III : Généralités sur l'intoxication alimentaire

Introduction	19
1. Définitions	19
3. Principales causes d'intoxications alimentaires	19
3.1. Présence d'un produit chimique toxique (différents d'une toxine)	19
3.2. Présence de micro-organismes et /ou de leurs toxines	20
4. Prévention des intoxications alimentaires	20

Chapitre IV : Principaux germes responsables d'intoxications alimentaires

Généralité	22
1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
1.1. Historique	22
1.2. Définition	22
1.3. Habitat	23
1.4. Classification	23
1.5. Caractères généraux	23
1.5.1. Caractère morphologiques et culturaux	23
1.5.2. Caractères biochimiques	24

1.6. Pathogénicité	24
1.6.1. Les infections de la peau	24
1.6.2. Les infections du système nerveux	25
1.6.3. Les infections de l'œil	25
1.7. Aliments impliqués	25
1.8. Transmission	25
1.9. Traitement	25
2. <i>Staphylocoques aureus</i>	26
2.1. Historique	26
2.2. Définition	26
2.3. Habitat	26
2.4. Classification	27
2.5. Caractères généraux.....	27
2.5.1. Caractères morphologiques et culturels	27
2.5.2. Caractère biochimique	28
2.6. Pathogénicité	28
2.7. Transmission	29
2.8. Aliments impliqués	29
2.9. Traitement	29
3. <i>Salmonelle typhi</i>	30
3.1. Historique	30
3.2. Définition	30
3.3. Habitat	30
3.4. Classification et Taxonomie	30
3.5. Caractères généraux	31
3.5.1. Caractères morphologiques et culturels	31
3.5.2. Caractère biochimique	32

3.6. Transmission	32
3.7. Pathogénicité	32
3.8. Aliments impliqués	33
3.9. Traitement	33
4. <i>Escherichia coli</i>	34
4.1. Historique	34
4.2. Définition	34
4.3. Habitat	35
4.4. Classification	35
4.5. Caractères généraux	35
4.5.1. Caractères morphologiques et culturels	35
4.5.2. Caractères biochimiques	36
4.6. Pathogénicité	36
4.6.1. Infections extra-intestinales	36
4.6.2. Infections intestinales	36
4.7. Aliments impliqués	37
4.8. Transmission	37
4.9. Traitement	38

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Objectifs	39
2. Matériels	39
2.1 Matériel végétal :	39
2.2. Matériels du laboratoire utilisés	40
3. Méthode.....	40
3.1. Méthode d'extraction	40
3.2. Activation des souches bactériennes	43

2.3. Méthode de contacte directe	44
3.4. Méthode des disques par diffusion sur gélose	44
3.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	46
3.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	48
4.Traitement statistique	48

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats	50
1.1. Croissance des germes pathogènes.....	50
1.2.Taux de Croissance des germes pathogènes.....	52
1.3. Diamètre d'inhibition des germes	53
1.4. Taux d'inhibition	55
1.5. Concentrations minimales inhibitrices	56
1.6. Concentrations minimales bactéricides	57
1.7. Types d'inhibition	58
2. Discussion	59
2.Conclusion	62

Références bibliographiques

Annexes

Introduction :

Depuis plusieurs années, l'homme est habitué à utiliser les plantes pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits végétaux naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité à l'égard de nombreuses maladies dont le diabète, les cancers, les maladies, infections...etc (**Belkhodja, 2016**).

La région méditerranéenne possède des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique (**Belkhodja, 2016**).

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L*) fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des lamiacées, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Bekkara et al., 2007**).

C'est dans le but d'une meilleure valorisation des quelques espèces de plantes de la région de Naama que la présente étude a été réalisée chez l'espèce : *Rosmarinus officinalis L* (Romarin). Elle a été conçue pour l'évaluation in vitro des principaux composés phénoliques bioactifs de la plante en vue de déterminer leurs propriétés antimicrobiennes à l'égard de certains germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est organisé en trois parties. La première partie concerne une revue bibliographique portant sur la phytothérapie et un aperçu sur *Rosmarinus officinalis L* ainsi que les principaux germes responsables d'intoxications alimentaires. La deuxième partie présente en détail le matériel et méthode utilisées au cours de la l'expérimentation pratique. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés dans une dernière partie qui est en fin clôturée par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I : Généralité sur la Phytothérapie

1. Généralités :

Confrontés à des problèmes de santé, les êtres humains ont toujours cherché à soigner avec les plantes. Aujourd'hui l'opportunité d'associer les connaissances traditionnelles avec la précision de la recherche scientifique a contribué dans le traitement de nombreuses maladies (**Chevallier, 2008**).

L'intérêt porté à la phytothérapie ne cesse de croître dans la plupart des pays développés. Jusqu'à maintenant, il était courant d'utiliser les plantes pour traiter ou prévenir les maux courants, mais il semble que nous soyons de plus en plus nombreux à nous en servir aussi dans le cadre de maladies plus graves. L'étude a également montré que la phytothérapie avait tendance à se substituer aux traitements conventionnels délivrés sans ordonnance et à venir s'ajouter, à titre complémentaire, aux traitements prescrits par le médecin (**Iserin et al., 2001**).

2. Définition :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs « **phuton** » qui signifie « **plante** » et « **therapeueine** » qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » (**Brahimi et al., 2018**). Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis au fil d'innombrables générations. La phytothérapie, étymologiquement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales (**Gahbiche, 2009**). Traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes, la phytothérapie fait partie des médecines ou des médecines douces (**Zeghed, 2009**).

3. Différents types de phytothérapie :

La phytothérapie comporte :

- **L'aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à la surface de la peau (**Zeghed, 2009**).

- **La gemmothérapie** : Elle est fondée sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Zeghed, 2009**).
- **L'herboristerie** : correspond à la méthode classique de phytothérapie. L'herboristerie utilise la plante fraîche ou séchée, elle utilise soit la plante entière, ou une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale (**Zeghed, 2009**).
- **L'homéopathie** : L'homéopathie trouve son origine, le plus souvent, dans l'utilisation de plantes fraîches, qui servent à la préparation de teintures mères par macération dans de l'alcool. À partir de ces teintures mères, des dilutions successives conduisent peu à peu à la préparation du médicament homéopathique (théories d'Hahnemann, de Korsakoff.). La conséquence est qu'il s'agit de produits administrés à des doses infinitésimales selon le principe de la loi des similitudes (traitement du semblable par le semblable), ce qui n'a rien de commun avec l'allopathie, dont la phytothérapie fait partie intégrante (**Iserin et al., 2001**).
- **Et la phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules ou de lyophilisats (**Zeghed, 2009**).

4. Avantages de la phytothérapie :

La phytothérapie offre de multiples avantages. À l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (**Christine et Véronique, 2001**).

- Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable.
- La phytothérapie est rentable et moins coûteuse que les médicaments achetés dans une pharmacie allopathique.
- Achat sans ordonnance. Ils sont disponibles dans n'importe quel magasin de la santé.

- La phytothérapie et les remèdes sont plus efficaces que la médecine allopathique pour certains maux.
- La phytothérapie peut être utilisée efficacement pour le processus de détoxification du corps naturel.
- La phytothérapie, qui inclut des herbes telles que le gingembre, le poivron, l'ail et agripaume aider à contrôler les maladies liées à la circulation du sang telles que l'hypertension artérielle, les ulcères variqueux et ainsi de suite. Beaucoup de plantes médicinales sont utilisées pour traiter les maladies coronariennes et de réduire le niveau de cholestérol dans le sang.
- L'obésité est la cause de nombreux problèmes de santé. La phytothérapie peut aider à réduire l'excès de poids et de réguler l'appétit (**Iserin et al., 2001**).

5. plantes médicinales :

5.1. Généralité :

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques et industrielles.

Actuellement, cette médication, par les plantes, connaît un regain d'intérêt notable, et c'est grâce aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales (**Lahsissene et al., 2009**).

5.2. Définition :

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait-il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner divers maux. (**Zeghed, 2009**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaire et secondaire) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Chakou et Medjoudja, 2014**).

Les plantes médicinales renferment de nombreux composés actifs (plus de 250) ayant des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces

composés actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments (**Institut Européen des substances végétales, 2016**).

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010**).

5.3. Principes actifs :

Parmi les composés bioactifs des plantes :

5.3.1. Les polyphénols :

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 composés phénoliques présents dans tous les organes de la plante (**Bessas, 2008**).

Les composés phénolique (acides phénoliques, flavonoïdes simples) forment le groupe des composés phytochimique le plus important des plantes (**Bessas, 2008**).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effets d'écran et par effet antioxydant (**Bessas, 2008**).

5.3.2. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes forment une grande famille hétérogène de métabolites secondaires, qui présentent un intérêt par leurs propriétés pharmacologiques et leurs applications en médecine. Les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'azote (-N—) qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Ils provoquent chez l'homme diverses réponses physiologiques et à forte dose ils sont très toxiques. Ce sont des composés azotés naturels et dont le goût est amer. Leur synthèse a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis se concentrent dans la vacuole. Les alcaloïdes issus du métabolisme des acides aminés sont des alcaloïdes vrais (**Iserin et al., 2001**).

Les alcaloïdes constituent une classe de produits naturels présentant une grande diversité structurale. Leurs propriétés biologiques, aussi variées que leurs structures, continuent à être bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain (**Mohammedi, 2013**).

5.3.3. Huiles essentielles :

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés (**Iserin et al, 2001**).

5.3.4. 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. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines visqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée (**Iserin et al., 2001**).

5.3.5. Huiles grasses :

Elles sont troublées par le froid, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques comme le chloroforme et l'acétone. Les huiles grasses sont utilisées pour la fabrication de remède et ainsi qu'à des fins alimentaires et industrielles (**Blot, 2012**).

5.3.6. Minéraux :

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux. Les plantes, surtout celles issues de l'agriculture biologique, tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme. Dans la plupart

des cas, les minéraux contenus dans une plante participent activement à son activité thérapeutique dans l'organisme (Iserin et *al.*, 2001).

6.4. Action des plantes médicinales :

6.4.1. Système nerveux :

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) renforce, stimule, relaxe et repose le système nerveux. (Christine et Véronique, 2001).

6.4.2. Système urinaire :

Les antiseptiques, tels que le buchu (*Barosma betulina*), désinfectent les conduits urinaires. Les astringents, comme la prêle (*Equisetum arvense*), les tendent et les protègent. Les diurétiques, comme le maïs (*ZeaMays*), stimulent la production d'urine (Christine et Véronique, 2001).

Chapitre II : *Rosmarinus officinalis L*

1. Généralités :

Certains botanistes attribuent au romarin douze espèces, alors que d'autre une à deux espèces. Cet arbuste persistant méditerranéen, dépassant rarement 1, 20 m de hauteur, est en tout cas apprécié depuis l'Anti- quité pour ses usages médicaux et culinaires. Ses feuilles linéaires vert sombre à revers argenté sont fortement aromatiques. Ses petites fleurs de labiée bleues éclosent en bouquets axillaires (Geoff et al., 2003).

2. Historique :

Le romarin était déjà employé dans l'Égypte ancienne. La plante est parvenue en Europe centrale au IX^e siècle par l'intermédiaire de moines bénédictins. Sa culture était exigée dans l'ordonnancement rural. Le romarin acquit sa renommée en entrant dans la composition de l'eau de Hongrie : en effet au XIV^e siècle, la goutte, prétendit avoir retrouvé toute sa jeunesse par une cure de cette eau « magique », à base de plusieurs Lamiacées, dont le romarin (Teucher et al., 2005).

3. Définition :

Rosmarinus officinalis L (figure 01) dont le nom latin *rosmarinus* est interprété, comme dérivé de « ros » rosée et « marinus » appartenant à la mer autrement rosée marin, ce qui fait référence à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la Méditerranée (Abdoune et Limani, 2018). Le romarin est l'une des plantes aromatiques les plus connus, en particulier pour son odeur (Andrawa, 2008).



(http://fr.hortipedia.com/wiki/Rosmarinus_officinalis).

Figure 01. *Rosmarinus officinalis L*.

4. Caractéristiques botaniques :

Le Romarin est un sous-arbrisseau touffu, atteignant 1 m de haut coriaces, épaisses fortement ramifié et toujours vert, à racine pivotante et à tiges ligneuses, La plante répand une forte odeur camphrée. Epoque de floraison. Mai-juillet, commun dans toute l'Algérie dans les régions méditerranéennes.

Les feuilles sont opposées et sessiles, étroites et lancéolées, de 4 cm de long sur 5 cm de large, leur port est raide, leur texture dure et coriace, leur limbe épais, cassant, vert foncé sur la face supérieur et chagriné, blanchâtre sur la face inférieure et ses bords sont enroulés sur le dessous (**Quezel et Santa, 1963 ; Teuscher et al., 2005**), linéaires à marge révoluée, en forme d'aiguilles. Les fleurs d'un bleu pale, maculées de violet sont disposées en courtes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (**Kothe, 2007 ; Benikhlef, 2014**), en petites grappes disposées à l'aisselle des feuilles, le calice bilabié a la forme d'une clochette ovale et duveteuse (**Teuscher et al., 2005**).

5. Classification :

La classification botanique de *Rosmarinus officinalis L* est comme suit :

Tableau 01. Classification botanique de l'espèce de *Rosmarinus officinalis L* (**Berkane, 2014**).

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

6. Habitat :

Rosmarinus officinalis L est localisé au niveau des forêts, des broussailles, sur substrats calcaires. Il est répandu dans le Rif oriental et le Moyen Atlas oriental. Il se développe dans les bioclimats semi-acides et subhumides. C'est une plante très résistante à la sécheresse et qui présente des caractères apparents (petites feuilles...) (**Boukil et al., 2014**).

Le romarin fait partie de la famille des labiées c'est l'un des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres. Le romarin pousse sur les côtes méditerranéens, et le sud-ouest de l'Asie et souvent cultivé dans le jardin comme clôture. Le romarin affectionne particulièrement les terrains calcaires. En Algérie, le romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50000 hectares sur le territoire national (**Benyessad et Mouici, 2015**).

7. Composition biochimique :

La feuille de romarin est riche en composés phénoliques, flavonoïdes et acides phénoliques. Les flavonoïdes sont représentés par des hétérosides du lutéolol, du diosmétol et de flavones méthoxylées en C-6 et/ou en C-7 (genkwanine et dérivés, cirsimaritrine, scutellaréine). Les acides-phénoliques (3,5 %) sont des dérivés caféiques : acides caféique, chlorogénique et rosmarinique. Ce dernier est l'ester de l'acide caféique et de l'acidoxy-dihydrocaféique. Certains acides-phénols et une acétophénone existent dans la plante sous la forme de glycosides. Le romarin est également caractérisé par la présence de diterpènes tricycliques : acide carnos(ol)ique et carnosol (majoritans), rosmanol...etc ainsi que par celle de triterpènes (acide ursolique et oléanolique, amyrones) (**Bruneton, 2009**).

La composition de romarin séché selon les normes ISO 11164 est comme suit :

- Huile essentielle ;
- Phénols diterpéniques ;
- Dérivés de l'acide cinnamique (tanins des Lamiacées) ;
- Flavonoïdes ;
- Triterpènes et stérols (**Teucher et al., 2005**).

8. Principes actifs :

Les principaux constituants actifs du romarin responsables des différentes propriétés sont : (**Bessas, 2008**).

- **Les acides phénoliques** : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique.
- **Flavonoïdes** : genkwanine, cirsimaritrine ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline et apigénine.

8.1 Composés phénoliques :

8.1.1. Généralité :

Les composés phénoliques regroupent un ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins (**Bessas, 2008**).

Ils constituent un des groupes les plus importants chez les végétaux, issus de la grande voie d'aromagenèse ; shikimates ou acide shikimique et de la voie acétate-malonate et peuvent être divisés en diverses classes sur la base de leur structure moléculaire, et plus de 8000 composés différents ont été décrits (**Mohammedi, 2013**).

Il existe différentes classes de polyphénols (**Tableau 02**), notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignines, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols et les plus importants sont (**Bessas, 2008**) :

- Les acides phénols (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques).
- Les flavonoïdes qui représentent la classe la plus abondante et la plus étudiée (**Saffidine, 2015**) ;
- Les tanins et lignanes (**Saffidine, 2015**) ;
- Et plus rares, les coumarines et les stilbènes (**Saffidine, 2015**).

Les flavonoïdes, les acides phénoliques, les stilbènes, les tanins et les lignines sont majoritairement présents dans les feuilles, les fleurs et l'écorce de bois. Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections (**Saffidine, 2015**).

8.2. Flavonoïdes :

8.2.1 Généralité :

Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) sont des substances généralement colorées ré pondues chez les végétaux ; ils sont trouvés dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (**Bessas, 2008**).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en diverses classes selon leur structure moléculaire ; les groupes principaux sont les flavanols, les flavones, les flavanones, les flavonols, les isoflavones et les anthocyanidines. (Mohammedi, 2013).

Tableau 02. Les différentes classes des composés polyphénols (Hardman, 2014 ; Richter, 1993 ; Basheer, Kerem, 2015 ; Thati et al., 2007).

	Classe	Exemple	Activité
Les non flavonoïdes	Les stilbènes	Resvératol Piceatannol	Anti-inflammatoire Anti-cancer
	Les tanins	Tannin gallique orobinetinidine	Antioxydant Anticancéreux
	Les lignines	Pinorésinol Laricirésinol Matairésinol	Antioxydant Anticancéreux
	Les comarines	Psoralène Columbiandine Sésélene	Anti-inflammatoire Antimicrobienne
Les acides phénoliques	Acides hydroxycinnamique	Acides ferulique Acide caféique Acide sinapique	Anti-oxydant Anti-inflammatoire
	Acides hydroxybenzoïque	Acide gallique Acide vanillique Acide syringique	Anticancéreux

8.2.3 Structure :

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (figure 02) (Bessas, 2008).

Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C. Les flavonoïdes sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones,

les flavanones, et les anthocyanes. Ces molécules se rencontrent à la fois sous forme libre, mais sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre. Ils sont localisés dans divers organes : fleurs, fruits, feuilles, tiges et racine. Les aglycones sont plutôt présents sous forme de cire dans les feuilles, les écorces et les bourgeons. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une caractéristique des flavonoïdes (Saffidine, 2015).

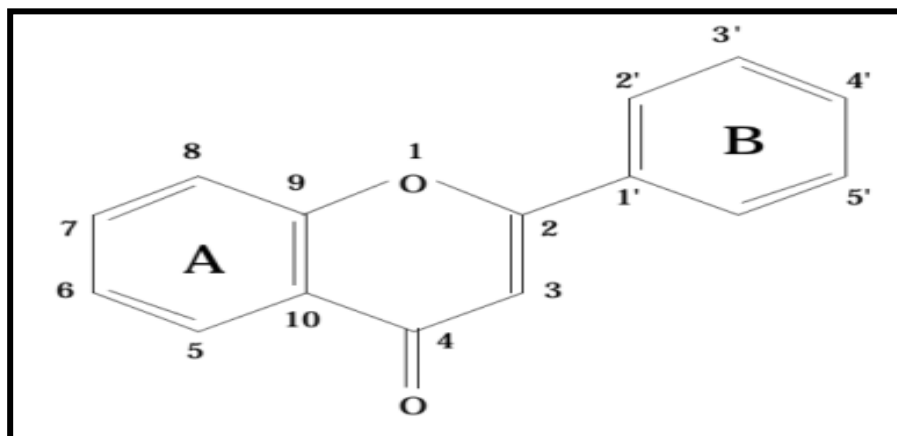


Figure 02. Structure de base des flavonoïdes (Saffidine, 2015).

8.2.4. Propriétés des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs. Les flavonoïdes sont largement étudiés dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités, anti-inflammatoires, anti-allergiques et anti-cancéreuses. La famille des flavonoïdes peut diviser en six classes par leurs structures chimiques (Bessas, 2008) :

➤ Flavonols :

Les flavonols sont les constituants flavoniques les plus abondants des aliments. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempférol et la quercétine. Ces dernières possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres (Saffidine, 2015).

➤ Flavones :

Les flavones sont abondantes chez les plantes supérieures sous les deux formes aglycones ou glycosylées. Certaines sont responsables de l'aspect blanc ou ivoire de

certaines fleurs, comme les roses et les œillets. Ils ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales (**Saffidine, 2015**).

➤ **Flavanones :**

Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle. Les flavanones sont fréquemment rencontrés chez les Myrtacées. Dans l'alimentation, les flavanones se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents en grandes quantités dans les agrumes. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'héspéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron (**Saffidine, 2015**).

➤ **Isoflavones :**

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation, glycosylées ou non. On les rencontre aussi dans les légumineuses (**Saffidine, 2015**).

➤ **Flavanols :**

Les flavanols existent sous forme de monomères : l'unité la plus simple est la catéchine, ou polymérique appelés proanthocyanidines. La catéchine est présente dans de nombreux fruits comme la pomme, le chocolat et le thé qui restent les principales sources de ce composé (**Saffidine, 2015**).

➤ **Anthocyanes :**

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes, capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (**Bessas, 2008**).

8.2.5. Activités biologiques des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour lutter contre les microorganismes pathogènes. On leur reconnaît des activités antivirales,

antitumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer (**Saffidine, 2015**).

➤ **Activité antioxydant :**

Les flavonoïdes sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure, se rapportant en particulier à la position des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques, et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique. Ces dernières années, un intérêt particulier a été accordé aux propriétés antioxydants des flavonoïdes, qui seraient attribuées à :

- Leur capacité à piéger directement les radicaux libres.
- Leur pouvoir de chélate les ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives (**Saffidine, 2015**).
- Leur intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Talbi et al., 2014**).
- Ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Talbi et al., 2014**).

➤ **Activités toxique et pro-oxydante :**

Les bienfaits des flavonoïdes sur la santé humaine sont reconnus actuellement. Plusieurs études néanmoins indiquent un effet mutagène et génotoxiques dans certains systèmes expérimentaux bactériens ou mammifères ; effet lié à une activité pro-oxydante. De nombreuses études ont montré une évidence que les activités biologiques des flavonoïdes sont doubles. Ils peuvent agir en tant qu'antimutagène/pro-mutagène, antioxydant/pro-oxydant. Tout dépend largement des quantités consommées et des conditions physiologiques de l'organisme (**Saffidine, 2015**).

➤ **Activité antimicrobienne :**

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes (**Saffidine, 2015**). Les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes

hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pourtant inactivé les adhésions microbiennes et les protéines de transport (**Cowan, 1999**).

9. Propriétés du Romarin :

Le romarin est une herbe médicinale bien connue et considérablement évaluée, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle. Elle est très appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes et anti-tumorales (**Beloued, 2001**).

9.1. Activité antifongique :

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du romarin. Selon les auteurs les résultats indiquent le potentiel de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre l'*Aspargillus parasiticu* (**Rasooli et al., 2008**).

9.2. Activité antivirale :

Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (**Aruoma et al, 1996**) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (**Paris et al., 1993**).

9.3. Effet anti-carcinogène :

Grâce à certains composants (carnosol, rosmaridiphénol, rosmanol et l'acide rosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer (**Atikbek et al., 2007**). L'étude élaborée par (**Singletary, 2003**) a démontré que l'extrait commercial du romarin et le carnosol sont des inhibiteurs des tumeurs mammaires.

9.5. Autres effets :

L'extrait éthanolique des pièces aériennes du romarin possèdent une activité antinociceptive et anti-inflammatoire très importante, ce qui renforce l'utilisation médicinale traditionnelle de cette plante (**Gonzalez et al., 2007**).

10. Domaine d'utilisation de la plante :

10.1. Industrie agro-alimentaire :

10.1.1. Alimentation :

L'épice et l'huile du Romarin sont largement utilisés en alimentation, l'épice est utilisée dans les boissons alcoolisées, l'aliment cuit, viande et produit de viande, les aliments industriels, sauce (**Benyessad et Mouici, 2015**).

10.1.2. Alimentations diététiques, tisanes, herbales :

Le Romarin est utilisé sous forme d'infusions, des poudres, extrait sec ou autres préparations galénique, pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac (**Benyessad et Mouici, 2015**).

10.1.2.1. Usage interne :

Dans le cas de trouble digestif, le Romarin est préconisé pour améliorer les fonctions hépatiques. Le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, les bronchites, les coliques, les infections des voies respiratoires, les troubles des voies urinaires, les problèmes cardiaques et nervosité (**Teuscher et al., 2005**).

10.1.2.2. Usage externe :

Le Romarin est utilisé dans le cas de rhumatisme et les troubles circulatoires, et pour traiter les états de fatigue sous forme de pommade et d'huile corporelle. La drogue peut utiliser pour favoriser la cicatrisation, en cas de plaies, de légère brûlure et de dermites et pour traiter la chute des cheveux (**Teuscher et al., 2005**).

10.2. Industrie cosmétique et parfumerie :

Au 19^{ème} siècle l'essence de romarin servait à la préparation de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui elle rentre dans la composition de savonnerie, détergent, crème et la plupart des eaux de Cologne (**Benyessad et Mouici, 2015**).

10.2.1. Usage thérapeutique :

Le romarin soulage rapidement les maux de tête dus au surmenage et à la tension nerveuse. Il associe au tilleul (*Tilia ssp*) pour soulager les céphalées liées à

l'hypertension artérielle. Il peut avoir aussi une action bénéfique sur la migraine **(Chevallier, 2008)**.

Le romarin stimule les fonctions digestive et circulatoire. Il est efficace pour lutter contre la fatigue physique, en particulier liée à une hypotension artérielle ou un manque d'appétit. Il accélère le rétablissement après une longue maladie **(Chevallier, 2008)**.

Cheveux fatigués une infusion de feuilles de romarin constitue un après-shampoing naturel excellent : il tonifie le cuir chevelu et renforce les cheveux **(Chevallier, 2008)**.

Chapitre III : Généralités sur les intoxications alimentaires

Introduction :

Le risque engendré par l'ingestion d'un aliment contaminé par des micro-organismes est bien sur très différent en fonction du type de micro-organisme ingéré, de la dose des micro-organismes ingérée et de la personne intoxiqué (**Branger et al., 2007**)

La plupart des maladies bactériennes se traduit par des symptômes gastro-intestinaux survenant plus ou moins rapidement après la consommation d'un repas. Pour cette raison, elles sont désignées sous de termes génériques tels que (**ait Abdelouahab, 2001**) :

- Intoxication alimentaire.
- Empoisonnements alimentaires.
- Toxi-infections alimentaires.

1. Définitions :

Des germes non pathogènes peuvent se multiplier abondamment, produire des substances toxiques spécifiques (toxines « enzymatiques » pouvant favoriser un pouvoir infectieux), mais au des catabolites toxiques : ceci peut se produire in vivo mais survient-le plus souvent en dehors de l'organisme, par exemple dans un aliment qui devient toxique. Par ailleurs, des endotoxines peuvent, après lyse des micro-organismes contribués à la toxicité (**Guiraud, 2012**).

Les intoxications alimentaires sont de nature de gravité fort variable : du botulisme, rare mais souvent mortel, aux intoxications staphylococciques bénignes atteignant de nombreuses personnes en même temps (**Joffin, Joffin, 1999**).

3. Principales causes d'intoxications alimentaires :

Les causes d'intoxication alimentaires sont multiples dont :

3.1. Présence d'un produit chimique toxique (différents d'une toxine) :

Ce produit chimique n'est pas lié à la présence de micro-organismes : actes criminels, pollution par l'arsenic, les cyanures, certains ions de métaux lourd (**Joffin, Joffin, 1999**).

Le produit chimique également peut être fabriqué par des micro-organismes qui ne sont pas alors directement responsables de l'intoxication. Cette intoxication est due aux produits de métabolisme microbien comme l'histamine (**Joffin, Joffin, 1999**).

3.2. Présence de micro-organismes et /ou de leurs toxines :

➤ **Intoxication :**

Une toxine protéique préformée dans l'aliment est la cause de manifestations pathologiques (botulisme, intoxication staphylococcique) (**Joffin, Joffin, 1999**).

➤ **Infection d'origine alimentaire :**

Des micro-organismes vivants, présent dans l'aliment peuvent provoquer de manifestations pathologiques par leur multiplication dans l'individu d'abord, accompagnée parfois d'invasion avec éventuellement la production de toxines protéiques ou lipopolysidiques (LPS) (Salmonellose, Shigelloses, intoxication à *Clostridium perfringens* A, Choléra, hépatites virales...) (**Joffin, Joffin, 1999**).

➤ **Conditions de la toxinogénèse :**

Pour qu'il ait toxinogénèse, il est indispensable que la bactérie se multiplie dans l'aliment, ce qui suppose au moins conditions : (**Joffin, Joffin, 1999**).

- ✓ Anaérobiose ;
- ✓ pH du milieu supérieur à 4,5 (en général) ;
- ✓ Concentration en NaCl du milieu inférieure à 10 g.dm⁻³.

4. Prévention des intoxications alimentaires :

Les trois règles et les dix commandements de la lutte contre les intoxications alimentaires sont :

Trois règles fondamentales : (**Joffin, Joffin, 1999**).

- Eviter les apports de micro-organismes.
- Limiter la multiplication.
- Assainir en détruisant les micro-organismes (dont les spores) et les toxines.

Tableau 02. Les dix commandements de l'hygiène alimentaire appliquent ces principes selon (Joffin, Joffin, 1999).

Prévenir	En évitant les apports de micro-organismes	<p>1-Ne mettre en œuvre qu'un équipement adapté (locaux et matériels) et en parfait état.</p> <p>2-N'utiliser que des produits sains et les protéger. Attention aux mélanges de denrées d'origine différentes, produits animaux, denrées crus, toujours suspects.</p> <p>3-Surveiller étroitement la santé et l'hygiène du personnel (porteurs sains, plaies aux mains, hygiène corporelle et vestimentaire, propreté, danger fécal)</p> <p>4-Eviter le contact des denrées saines avec les secteurs Souillés ; manipuler correctement ; ne pas parler, fumer, cracher, savoir goûter et se laver ; réaliser nettoyage et désinfection rigoureux.</p>
	En limitant la multiplication	<p>5-Denrées de conservation limitée : la consommation doit être le plus rapprochée possible de la préparation.</p> <p>6-La zone de danger (de 65 °C à 10 °C) doit être traversée dans les deux sens très rapidement (moins de deux heures)</p> <p>7- Respectes la chaine du chaud : maintien de la température supérieur à 65 °C de la cuisson à la consommation.</p> <p>8-Respectes la chaine du froid : maintien de la température à 0 °C et 3 °C pour les produits réfrigérés (durée de conservation limitée) et au-dessous de -18 °C pour les produits surgelés (longe conservation, ne pas recongeler après décongélation).</p>
Assainir	En détruisant les micro-organismes	9-Respecter les conditions de cuisson (barème temps-température ; même règles pour la stérilisation ou de la pasteurisation)

Chapitre IV : Principaux germes responsables d'intoxications alimentaires

Généralité :

L'environnement est la cause de près de 21% des maladies dans le monde (OMS, 2000 in DFID, 2003). Les influences délétères de cet environnement sur notre organisme le mettent en face d'une défense intégrale. De plus, il est fondamental de comprendre que le contenu de notre tube digestif fait encore partie de cet environnement ambiant et c'est à ce niveau que nous sommes le plus fragile et le moins bien protégés (**Bouza, 2009**).

1. *Pseudomonas aeruginosa* :

1.1. Historique :

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* du grec pseudo « imitation » et du latin aeruginosa « couvert de rouille » (**Mérens et al., 2013**). A été isolé en 1882 par un pharmacien militaire français **carle Gassard** à partir du pus bleu d'infections cutané post-chirurgicales, *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) était tenu pour responsable d'infections graves uniquement observées en milieu chirurgical. Cependant, avec l'ère des antibiotiques le bacille pyocyanique a émergé comme une cause majeure d'infections nosocomiales. Actuellement, 100 des infections observées en milieu hospitalier sont extrêmement résistantes aux antibiotiques et aux antiseptiques (**Gailard, Simonet, 1988**).

1.2. Définition :

P.aeruginosa est un germe ubiquitaire, hydrotellurique très répandu dans les environnements humides. C'est un saprophyte du sol humide des plantes qui sont la source de la contamination animale et humaine. De nombreux légumes frais sont contaminés superficiellement avec des bacilles pyocyaniques d'origine tellurique, cela explique que la bactérie soit souvent retrouvée dans le tube digestif des sujets sains et sur les endroits humides du revêtement cutané (périnée, creux axillaire) des sujets sains (**Gailard, Simonet, 1988 ; Mérens et al., 2013**).

1.3. Habitat :

La bactérie est très répondeue dans l'eau et les milieux humides. Elle peut aussi coloniser l'homme (Nauciel, Viladé, 2005).

1.4. Classification :

Tableau 03. Classification de *P. aeruginosa* selon **Bergey's Manuel (2004)** est classé comme suit :

Règne	Bacteria
Embranchement	Procakaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>P.aeruginosa</i>

1.5. Caractères généraux :

1.5.1. Caractère morphologiques et culturaux :

P.aeruginosa est un bacille Gram négatif, fin, de 1,5 à 3µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large. Il est très mobile, à ciliature polaire, aérobie strict, oxydase positive (Gailard, Simonet, 1988). Chimio hétérotrophe et a flagellation polaire. Quelques espèces sont chimiolithotrophes facultatifs. Sa croissance est générale dans les zones de la psychotrophie ; mais il peut se de développer à + 43 °C (Boissonnet et al., 1976). Il peut aussi croitre très facilement sur des milieux ordinaires, car il a très peu d'exigences nutritives. Les colonies de *P.aeruginosa* sont pigmentées en vert de fait de la production de deux pigments : La pyocyanine, pigment bleu hydrosoluble, et la

pyoverdine insoluble dans le chloroforme, qui est un sidérophore (**Gailard, Simonet, 1988**).

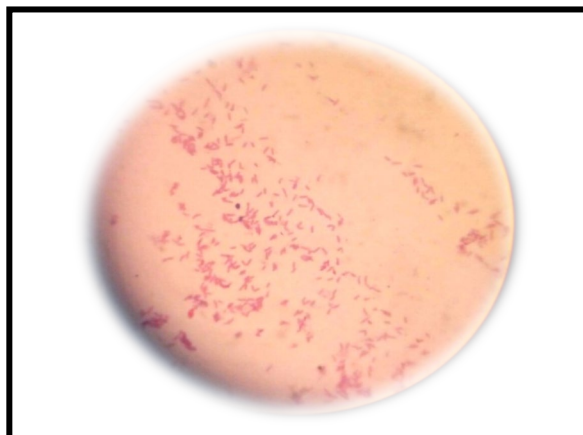


Figure 03. *P. aeruginosa* vu à microscope après coloration de Gram (**Gx100**).

1.5.2. Caractères biochimiques :

P. aeruginosa présente un métabolisme oxydatif (non fermentaire) et toujours respiratoire. Elle donne des réponses positives pour les tests : Arginine, acétate, catalase, oxydase, et des réponses négatives pour les tests : Lysine décarboxylase (LDC), indole, Ornithine décarboxylase (ODC). En l'absence d'oxygène certains font une respiration nitrate (**Boissonnet, et al., 1976 ; Diarra, 2009 ; Touati, 2013**).

1.6. Pathogénicité :

Les infections à *P.aeruginosa* sont remarquablement polymorphes dans leurs expressions cliniques et dans leurs localisations. Elles sont rarement observées chez les sujets en bonne santé. Il peut s'agir d'infections massives (nageur de piscines contaminées...) ou d'inoculations traumatiques directes dans un tissu ou une cavité (méningites ostéomyélites d'inoculation). (**Gailard, Simonet, 1988**). Il peut s'agir de pathogènes opportuniste causant des infections locales ; oculaires, cutanées, urinaire pulmonaires, ostéoarticulaires, méningées (**Boissonnet et al., 1976**).

1.6.1. Infections de la peau :

La plantation de *P.aeruginosa* sur le revêtement cutané est favorisé l'humidité (localisation aux zones périnéales, fréquence des infections en régions tropicales...) et par l'existence de lésions sous-jacentes (eczémas, dermatites, traumatismes, brûlures, ulcères de décubitus). Il s'agit alors de pyodermites invasives accompagnées de

nécrose tissulaire avec tendance hémorragique et production d'un exsudat purulent parfois bleu-vert. L'infection diffuse volontiers au tissu cellulaire sous-cutané et peut envahir les vaisseaux du derme. (**Gailard, Simonet, 1988**).

1.6.2. Infections du système nerveux :

Il peut s'agir de méningites purulentes ou d'abcès du cerveau. Ces infections sont secondaires à une inoculation directe (ponction lombaire, traumatisme crânien, intervention chirurgicale), à une infection locale (ostéomyélite) ou encore à une dissémination hématogène (septicémie) (**Gailard, Simonet, 1988**).

1.6.3. Infections de l'œil :

Ces infections sont particulièrement redoutables. Elles sont secondaires à une lésion cornéenne traumatique ou à une intervention ophtalmologique. L'infection de la cornée débute par un petit ulcère nécrotique et hémorragique avec fièvre. Cet ulcère est rapidement extensif, perforant la cornée et entraînant une fonte purulente de l'œil souvent après 48h. C'est une urgence médicale redoutée des ophtalmologistes. L'attentive oculaire peut également être une localisation métastatique d'une septicémie (**Gailard, Simonet, 1988**).

1.7. Aliments impliqués :

De nombreux légumes frais (tomates, végétaux divers) peuvent être contaminés superficiellement avec des bacilles pyocyaniques d'origine tellurique. Les infections à pyocyaniques proviennent en partie de la flore endogène des malades (**ait Abdelouahab, 2001**).

1.8. Transmission :

Elle peut se faire à travers des sources environnementales (eau, sol...), soit directement, soit par l'intermédiaire de matériels lavés à l'eau du réseau. La pression de sélection des antibiotiques en milieu hospitalier augmente le risque de colonisation (**Nauciel, Viladé, 2005**).

1.9. Traitement :

P.aeruginosa est une des bactéries opportunistes les plus résistantes aux antibiotiques. Cette espèce bactérienne est naturellement résistante aux pénicillines du

groupe A (ampicilline et dérivés), aux céphalosporines de première et deuxième génération, aux chloramphénicol, aux tétracyclines et triméthoprim. Les pénicillines actives sont les carboxypénicilline (carbénicilline, ticacilline) et les acyluréidopénicilline (azlocilline, la pipéracilline) (**Gailard, Simonet, 1988**).

Le traitement d'une infection disséminée à *P.aeruginosa* est une urgence et doit associer deux antibiotiques bactéricides (un aminoside et une pénicilline type ticacilline ou cefusulodine) utilisés à fortes dose par voie parentérale. Ce traitement doit s'accompagner d'un traitement de la porte d'entrée (nettoyage des plaies, ablation du matériel infecté.). En fonction des résultats de l'antibiogramme et du pouvoir bactéricide des antibiotiques associés. La durée du traitement varie en fonction du contexte clinique, mais ne saurait être inférieur à 2 semaines (**Gailard, Simonet, 1988**).

2. *Staphylocoques aureus* :

2.1. Historique :

Pasteur a observé, en 1879, dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite « un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petit amas ». Les staphylocoques, qu'il venait de décrire, sont des cocci à Gram positif très répandus dans la nature (sol, eaux, air...) et responsables d'un très grand nombre d'infections chez l'homme et l'animal. Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement (**Fauchère, Avril, 2002**).

2.2. Définition :

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie que l'on trouve normalement sur la peau et les muqueuses. Certains *S. aureus* produisent des toxines qui peuvent être responsables de divers syndromes comme intoxication alimentaire, les infections communautaires et nosocomiales (**Nauciel, Viladé, 2005 ; Gerad et al., 2015**).

2.3. Habitat :

La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées (**Nauciel, Viladé, 2005**).

2.4. Classification :

Tableau 04. Classification de *S.aureus* selon **Bergey's Manuel (2004)** est classé comme suit :

Embranchement	Eubacterie
Classe	Asporulales
Ordre	Micrococcales
Famille	Micrococcaceae
Tribu	Staphylococceae
Genre	<i>Staphilococcus</i>
Espèce	<i>S.aureus</i>

2.5 . Caractères généraux :

2.5.1. Caractère morphologiques et culturaux :

Les staphylocoques apparaissent à l'examen microscopique cocci à Gram positif, bactéries sphériques de 0,8 à 1 μm , regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappes de raisin). Ils sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. *S. aureus* est une bactérie mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37 °C en fonction des souches (**Fauchère, Avril, 2002**). Elle est capable de se multiplier à des valeurs de pH compris entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7 à 7,5. Elle est halotolérante et peut se multiplier en présence de concentration élevées de chlorure de sodium (en général jusqu'à 10%) (**Sutra et al., 1998**). Les *S. aureus* sont des mésophiles, supporte 7,5 à 15% de NaCl, ils sont caractérisés par un **aw** réduite inférieure à 0,95 (**ait Abdelouahab, 2001**).

Les staphylocoques sont aéro-anaérobies, se cultivant facilement en 24 heures sur milieux ordinaires et peut être aussi isolé sur milieux sélectifs (milieu hypersalé de Chapman). Les colonies de *S. aureus* sont convexes, lisses de 1 à 4 mm de diamètre.

De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré, non diffusible (Fauchère, Avril, 2002).

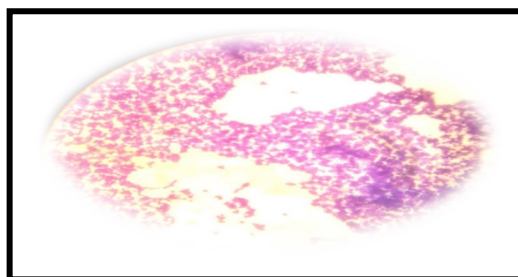


Figure 4. *S. aureus* vu au microscope après coloration de Gram (Gx100).

2.5.2. Caractère biochimique :

Toutes les espèces du genre *Staphylococcus* sont à catalase positive et capable de fermenter le glucose et la plupart des sucre (notamment, le mannitol et le tréhalose) (Sutra et al., 1998) et de produire des enzymes extracellulaires (staphylocoagulase, ADNase) (Fauchère, Avril, 2002).

2.6. Pathogénicité :

La production d'entérotoxines est le propre de certains isolats de *Staphylococcus aureus*, coagulas positif dits "pathogènes". Mais certains Staphylocoques coagulase négatif synthétisent des entérotoxines (ait Abdelouahab, 2001).

Toutes les souches "pathogènes" d'origine humaine n'élaborent d'ailleurs pas une entérotoxine (mais seulement 60% d'entre elles). Les souches toxine + possèdent généralement une coagulase, une thermo nucléase et une DNase ou au moins deux de ces enzymes (ait Abdelouahab, 2001).

- **Lésions suppurées :**

Les plus dominants lésions suppurées sont d'ordres cutanés et sous-cutanés : folliculite, furoncle, surinfection de plaies traumatiques. *S. aureus* est responsable aussi de mastites chez les femmes qui allaitent et aussi dominantes dans les infections osseuses primitives. Des atteintes pulmonaires sont aussi observées chez les nourrissons et les malades sous ventilation assistée (Nauciel, Viladé, 2005).

- **Les symptômes engendrés :**

Les symptômes apparaissent brutalement après une période d'incubation de 2 à 4 h : nausées, douleurs abdominales et surtout vomissements violents souvent accompagné de diarrhée. Il n'y a pas de fièvre. Le rétablissement intervient dans les 24 ou 48 h (**Branger et al., 2007**).

2.7. Transmission :

La transmission interhumaine s'opère par contact direct (**Nauciel, Viladé, 2005**) :

- A partir de lésions ouvertes ou d'un simple portage asymptomatique chez le sujet source.
- Auto inoculation des fosses nasales.

La transmission peut surgir d'une manière indirecte par les vêtements ou la laiterie ou les aliments.

2.8. Aliments impliqués :

Plusieurs aliments sont impliqués dans les intoxications alimentaires à *S. aureus* sont (**ait Abdelouahab, 2001**) :

- la charcuterie et jambon.

-la pâtisserie, crème au lait, aux œufs et crème anglaise ; et les laitages, et crèmes glacées.

- mayonnaise.

2.9. Traitement :

Les infections à staphylocoques posent des problèmes thérapeutiques parfois difficiles du fait de la fréquence des souches polyrésistantes aux antibiotiques. Des souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G, et un pourcentage parfois important de souches résistent à d'autres antibiotiques tels que les tétracyclines, l'érythromycine, la lincomycine, voire les aminosides (**Fauchère, Avril, 2002**).

Certaines souches de *S. aureus* sont dites tolérantes à la méticilline, par déficit des autolytiques, Ces souches nécessitent, pour être lysées, des concentrations d'antibiotiques très nettement supérieures aux concentrations inhibitrices

bactériostatiques. Il existe une sensibilité pratiquement constante à la vancomycine, à la pristinamycine et à la rifampicine (**Fauchère, Avril, 2002**).

3. *Salmonella typhi* :

3.1. Historique :

Salmonella a été découvert en 1888 par Gartner au niveau du tube digestif des animaux chez l'homme (**ait Abdelouahab, 2001**).

Les salmonelles ont été classées en fonction de leurs antigènes O et H et capsulaires. On connaît une soixantaine d'antigènes O différents. Les antigènes H sont également très variables et peuvent exister chez la même bactérie sous deux formes différentes, en raison du phénomène de variation de phase. Enfin quelques sérovars peuvent présenter un antigène capsulaire, l'antigène Vi. C'est la combinaison de ces différents antigènes qui permet de définir un sérovar. On en connaît plus de 2 000 (**Nauciel, Viladé, 2005**).

3.2. Définition :

Les salmonelles sont des bactéries mésophiles ubiquitaire dont le réservoir principal est le tractus digestif des mammifères et des oiseaux ou sont susceptibles d'héberger. Ils ont une température optimale de croissance de 35/37° C. La très grande majorité des *salmonelles* présents dans l'environnement ou dans l'aliment destiné à l'homme proviennent d'une contamination fécale (**Nauciel, Viladé, 2005 ; Robinson et al., 2000**).

3.3. Habitat :

Les salmonelles sont des bactéries de l'intestin. Chez de nombreux sujets elles peuvent être présentes sans entraîner de symptômes (porteurs sains) (**Nauciel, Viladé, 2005**). Certains sérovars sont spécifiquement humains ; *Typhi* et *paratyphi* ; alors que, d'autre ne se rencontrent que chez l'animal (**Nauciel, Viladé, 2005**).

3.4. Classification et Taxonomie :

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et phénotypiquement proche des genres *Citobacter* et *Hafnia* (**Sutra et al., 1998**).

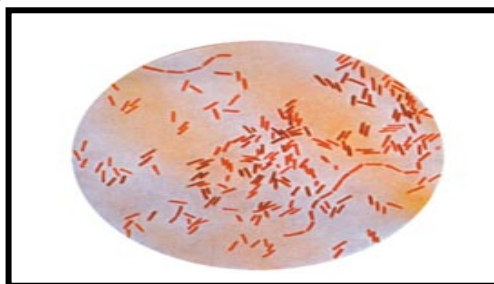
Tableau 5. Classification de *Salmonella typhi* selon **bergey's** Manuel (2001) est classée comme suit :

Règne	Procaryota
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Salmonella</i>
Espèce	<i>Salmonella entireca</i>
Sous espèce	<i>Entireca</i>
Sérotype	<i>Typhi</i>

3.5. Caractères généraux :

3.5.1. Caractères morphologiques et cultureux :

Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif, appartenant à la famille des entérobactéries. Ces microorganismes sont capables de se multiplier dans des conditions aérobies ou anaérobies dans une gamme de température très large (de 5 °C: croissance très ralentie, à 46 °C) avec un optimum à 37 °C. Des pH inférieurs à 4 et supérieurs à 9 sont considérés comme bactéricides. L'aw minimale est de 0,94 (Branger *et al.*, 2007).



(<http://www.bccdc.ca/health-info/diseases-conditions/typhoid-fever-salmonella-typhi>)

Figure 05. *S. Typhi* vu au microscope après coloration de Gram (Gx100).

3.5.2. Caractère biochimique :

Les principaux caractères biochimiques du genre *Salmonella* sont : l'absence d'une uréase active, de tryptophane ou de phénylalanine désaminase. L'absence de production d'indole et d'acétoïne. La décarboxylation fréquente de la lysine et de la l-homithine, elles ont commun de fermenter le glucose et l'absence de fermentation du lactose, de réduire les nitrates en nitrites et d'être dépourvues d'oxydase (**Grimonet et al., 2000**).

3.6. Transmission :

La contamination humaine se fait habituellement par l'ingestion d'eau au d'aliments contaminés. Ces derniers sont le plus souvent d'origine animale. La contamination des aliments peut aussi être d'origine humaine et liée à des manipulations par un personnel porteur de salmonelles (**Fauchère, Avril, 2002**).

3.7. Pathogénicité :

Toutes les salmonelles sont potentiellement pathogènes pour l'homme et les animaux (**ait Abdelouahab, 2001**).

Parmi elles : *Salmonella typhi* et *Salmonella paratyphi* qui produisent les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes ou SYNDROME TYPHOÏDIQUE (**ait Abdelouahab, 2001**).

➤ Fièvre typhoïde :

Elle est due aux sérovar *Typhi* et *Paratyphi* A, B ou C. Elle est fréquente dans les pays à bas niveau d'hygiène (**Nauciel, Viladé, 2005**).

➤ Infections intestinales :

Elles sont dues à des sérovars typhi murium et Entéridis. Les infections à salmonelles peuvent se représenter sous forme sporadiques ou d'épidémies. La maladie apparaît 12 à 48h après l'ingestion de l'aliment contaminant (**Nauciel, Viladé, 2005**).

Les Salmonelles produisent une endotoxine de nature lipo-polysaccharidique dont les effets sur les différents tissus et les fonctions tissulaires sont connus (**ait Abdelouahab, 2001**).

La toxine ne joue un rôle que quand elle est libérée dans l'intestin, à partir des corps microbiens vivants en phase de multiplication. L'ingestion de germes vivants permet de reproduire la maladie ; celle des mêmes bactéries tuées par la chaleur, ou celle des filtrats de leurs cultures est sans effet (**ait Abdelouahab, 2001**).

Les symptômes de toxi-infections dûes à des Salmonelles apparaissent après absorption de 10^7 à 10^9 germes et après incubation de quelques heures (8 à 12 h) exceptionnellement à quelques jours (4 à 7 jours) (**ait Abdelouahab, 2001**).

La destruction intra-ganglionnaire du bacille typhique libère l'endotoxine responsable, par ordre de fréquence et de gravité, de (**ait Abdelouahab, 2001**) :

- Douleurs abdominales intenses et continues qui peuvent s'irradier vers les cuisses. Elles forcent le malade à se courber en position fœtale ;
- diarrhées fétides avec selles liquides et jaunâtres (quelquefois sanguinolentes) survenant 8 à 15 fois / jour.
- vomissements ; Fièvre et frissons une hyperthermie caractéristique peut faire suite a de cette toxi-infection : 38 °C au premier jour pour se maintenir 39,5 °C (**ait Abdelouahab, 2001**).

3.8. Aliments impliqués :

Les plus fréquemment à l'origine de ces accidents sont d'origine animale : œufs, viandes de volailles et de mammifères, produits laitiers, poissons, crustacés et mollusques. Il s'agit surtout d'aliments crus ou mal cuits ou encore d'aliments préparés à l'avance sans conservation au froid. La contamination a lieu en général au cours des manipulations (**ait Abdelouahab, 2001**).

3.9. Traitement :

La thérapie consiste à :

- Favoriser les vomissements ou même recourir au lavage d'estomac pour éliminer les aliments contaminés (**ait Abdelouahab, 2001**).
- Eventuellement un traitement symptomatique pour lutter contre la déshydratation : donner des anti-diarrhéiques (bismuth, charbon, laudanum.) (**ait Abdelouahab, 2001**).

- La vaccination anti-typho-paratyphoïdique : vaccin T.A.B. (suspension de bacilles typhiques T et paratyphiques A et B tués par la chaleur) est un moyen très actif pour lutter contre les épidémies (**ait Abdelouahab, 2001**).

4. *Escherichia coli* :

4.1. Historique :

C'est en 1885 que le pédiatre allemand Théodore Escherich isole et pour la première fois le bacille bacterium coli, fréquemment présent dans les selles des nourrissons. En 1919, en hommage aux travaux d'Escherich, Castellani et Chalmers proposent de nommer cette bactérie *Escherichia coli* qui appartient à la famille des entérobactéries (**Jean et al., 1992**).

La bactérie *E.Coli* est un modèle unicellulaire procaryote utilisé depuis de nombreuses années par les généticiens, les biologistes moléculaires et microbiologistes. C'est aussi une espèce économiquement importante. Puisqu'elle est utilisée par les industries pharmaceutiques et agroalimentaires (**Joffin, Joffin, 2010**).

4.2. Définition :

E. Coli est un hôte normal de la microflore digestive de l'homme et de nombreuses espèces animales (les bovins particulièrement) (**Branger et al., 2007**).

Mais certaines souches ont acquis des facteurs de virulence qui rendent capable de provoquer divers troubles intestinaux (**Fauchère, Avril, 2002**). Elles résistent aux défenses immunitaires de l'hôte (l'homme et animal) et induisent des lésions au niveau des cellules du tube digestif (**Sutra et al., 1998**).

Dans le domaine pharmaceutique, *Escherichia Coli* recombinée est utilisée pour la production (**Joffin, Joffin, 2010**) :

- D'insuline (hormone hypoglycémiant pancréatique) ;
- D'hormone hypophysaire croissance pour lutter contre le nanisme ;
- De vaccins.

4.3. Habitat :

E. coli est une espèce commensale de tube digestif de l'homme et des animaux (Levine, 1987 ; Cattoir, 2005). Dans l'intestin, *E. coli* est l'espèce quantitativement la plus importante, présente à raison de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de selles. Cette population bactérienne ne représente qu'environ 1% de celle des anaérobies (Avril et al., 2000). Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel et validé, 2005).

4.4. Classification :

Tableau 06. Classification de *Escherichia coli* Selon Bergeys Manuel (2007) appartient au :

Règne	Procaryota
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteria
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia Coli</i>

4.5. Caractères généraux :

4.5.1. Caractères morphologiques et culturels :

Escherichia Coli correspond à des bacilles à coloration de Gram négatif, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, et au genre *Escherichia* (Dromigny, 2012). *E. Coli* est une bactérie aéro-anaérobie facultative. Elle se cultive facilement sur les milieux ordinaires à 37 °C et à pH 7,5 de forme bâtonnet à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche, non sporulée mais parfois capsulée,

mesurant de 2 à 44 μm de longe (**Oulymata, 2007**). Sur la gélose nutritive : donne des colonies arrondies, humides brillantes et de couleur blanchâtre lisse ou rugueuse. Sur milieu EMB elle donne des colonies d'un violet foncé avec éclat métallique (**denis et al., 2007**).



Figure 06. *E. Coli* vu au microscope après coloration de Gram (**Gx100**).

4.5.2. Caractères biochimiques :

Escherichia coli fermente le glucose, le lactose, le mannitol avec production de gaz, capable de réduire les nitrates en nitrites. *E. Coli* est un coliforme fécal indole positif à 44 °C (**Dromigny, 2012**). Mais ne produit pas de H_2S , possède une β -galactosidase, une lysine décarboxylase, possède une catalase mais dépourvu d'oxydase (**Le Minor et al., 1990 ; Avril et al., 2000**).

4.6. Pathogénicité :

4.6.1. Infections extra-intestinales :

➤ Infections urinaires :

E. coli est l'agent pathogène urinaire le plus répandu chez les patients non hospitalisés de tous les âges. L'IU est diagnostiquée par un dénombrement de 10^5 bactéries par ml d'urine (**Orskov et Orskov, 1885**).

➤ Méningites néonatales :

Dues au sérotype K1 ; Antigène capsulaire ou polysaccharidique proche de l'antigène capsulaire du méningocoque de type B (**Flaudrois, 2004**).

4.6.2. Infections intestinales :

Les souches responsables d'infections intestinales sont :

- *E. coli* Entérohémorragiques (E.C.E.H) : responsable de diarrhée hémorragique, ils peuvent être aussi à l'origine du syndrome hémolytiques et urémique (SHU) et du purpura thrombocytopenique. Elles adhèrent fortement à la cellule intestinale et libérant des toxines **(Nauciel et Viladé, 2005)**.
- *E. coli* à adhérence diffuse (E.C.A.D) : responsable de diarrhées. Elles adhèrent de façon diffuse aux cellules intestinales, par l'intermédiaire de fimbriae **(Nauciel et Viladé, 2005)**.
- *E. coli* Entéro-agrégants (E.C.E.A) : responsable de diarrhées infantiles aiguës et de quelques épidémies de toxi-infections alimentaires. Ce sont des souches qui s'adhèrent aux cellules intestinales en formant des agrégats **(Nauciel et Viladé, 2005)**.
- *E. coli* Entéro-invasifs (E.C.E. I) : provoquent des syndromes dysentériques (Diarrhées mucopurulentes et sanglantes) **(Mainil, 2003)**.
- *E. coli* Entérotoxigènes (E.C.E.T) : responsable de diarrhées liquidiennes cholériques **(Denis et al., 2007)**. Ils sont reconnus aussi comme les principaux agents responsables de diarrhées du voyageur.
- *E. coli* Entéropathogènes (E.C.E.P) : responsables de gastro-entérites infantiles, en absence de traitement elle peut être mortelle **(Oulymata, 2007)**.

4.7. Aliments impliqués :

Produits d'origine animale, légumes 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 et Joffin, 2010)**. Les graines germées, les jus de fruits et de légumes non pasteurisés **(Dromigny, 2012)**.

4.8. 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**).

4.9. 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* Entéro-pathogènes (E.C.E.P) : Réhydratation, antibiotique en cas de persistance des symptômes.

Partie 2 : Matériels et méthodes

1. Objectifs

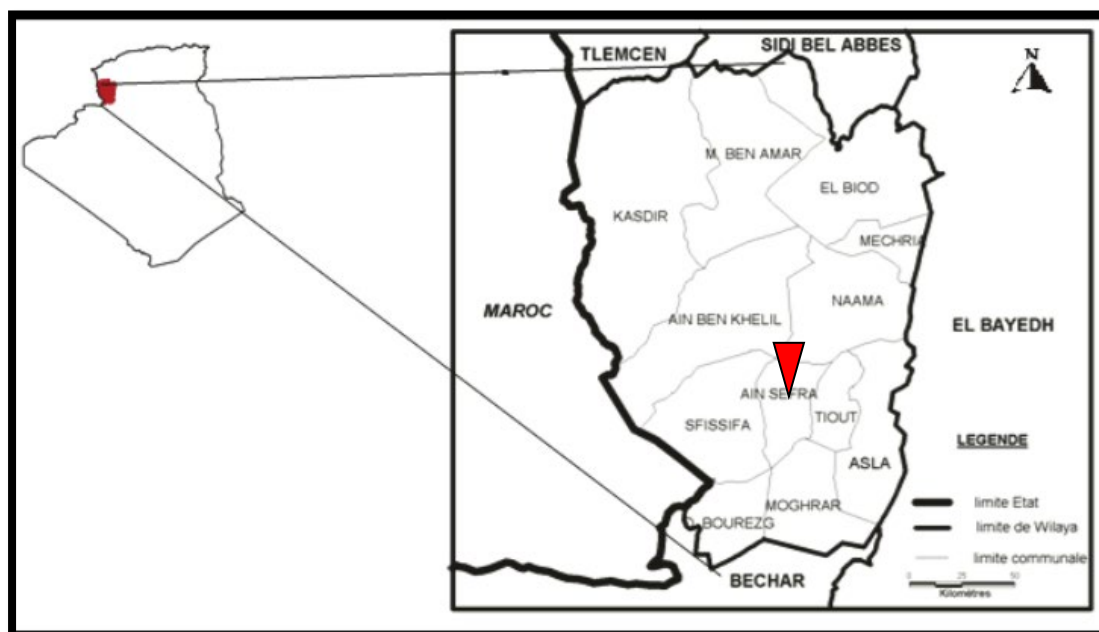
L'objectif de cette étude a porté sur l'évaluation in vitro des effets antimicrobiens de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* riche en composés phénoliques bioactifs sur la croissance de certains germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires.

2. Matériels :

2.1. Matériel végétal :

Les parties de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis L* utilisées sont plus précisément les parties aériennes : feuilles et fleurs. Cette plante a été récoltée le mois de février 2019 dans la région de Naama (Djebel Morghad) sur site situé à une longitude de 24 Km et à 2135 m de latitude.

La plante une fois récoltée a été lavée à l'eau courante afin de la débarrasser de la poussière et toutes autres particules puis séchée à la lumière dans un endroit bien aéré. Ensuite, les parties végétales ont été récupérées et bien conservées jusqu'à leurs utilisations ultérieures.



[https:// fr.m.wikipedia.org/wiki:A%C3%AFn_Sefra.](https://fr.m.wikipedia.org/wiki:A%C3%AFn_Sefra)

Figure 7. Région de prélèvement du matériel végétal expérimental (Naama) (Wikipédia).

2.2. Matériel de laboratoire utilisé :

- **Milieux de culture :** Bouillon MH et Gélose Muller Hinton.
- **Verrerie :** Tubes à essai, pipette pasteur, erlenmeyers, verre de montre, entonnoir, béchers, erlen sous vide, verre fritté, pipette graduée, ...
- **Appareils utilisés :** Rotavapeur, agitateur, balance, autoclave, plaque chauffante, bain marie, étuve, bec bunsen, spectrophotomètre, broyeur électrique.
- **Solvants utilisés :** Eau physiologique, Hexane, Eau distillée.
- **Micro-organismes :** Les principaux germes de référence utilisés sont : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella typhi* (ATCC), *Escherichia coli* (ATCC 25922).



Figure 8 : *Rosmarinus officinalis L* récoltée dans la région de Naama (Djebel Morghad).

3. Méthode :

3.1. Méthode d'extraction :

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus chez *Rosmarinus officinalis L* (Romarin) 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 est réalisée par usage d'un solvant polaire à savoir l'hexane. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de matière végétale broyée de 10 g. Chaque échantillon de broyat de matière végétale est mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid du

mélange est laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation (**figure 8**). 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.



Figure 9. Etape de Macération.

L'extrait à l'hexane, obtenu est filtré en utilisant un papier filtre Whatman N°3 ayant une porosité de 0,3 μ m et débarrassé de solvant par évaporation (**Figure 9**) sous vide à 37 °C.



Figure 10. Etape d'évaporation sous-vide et de récupération d'extrait de *Rosmarinus officinalis L*

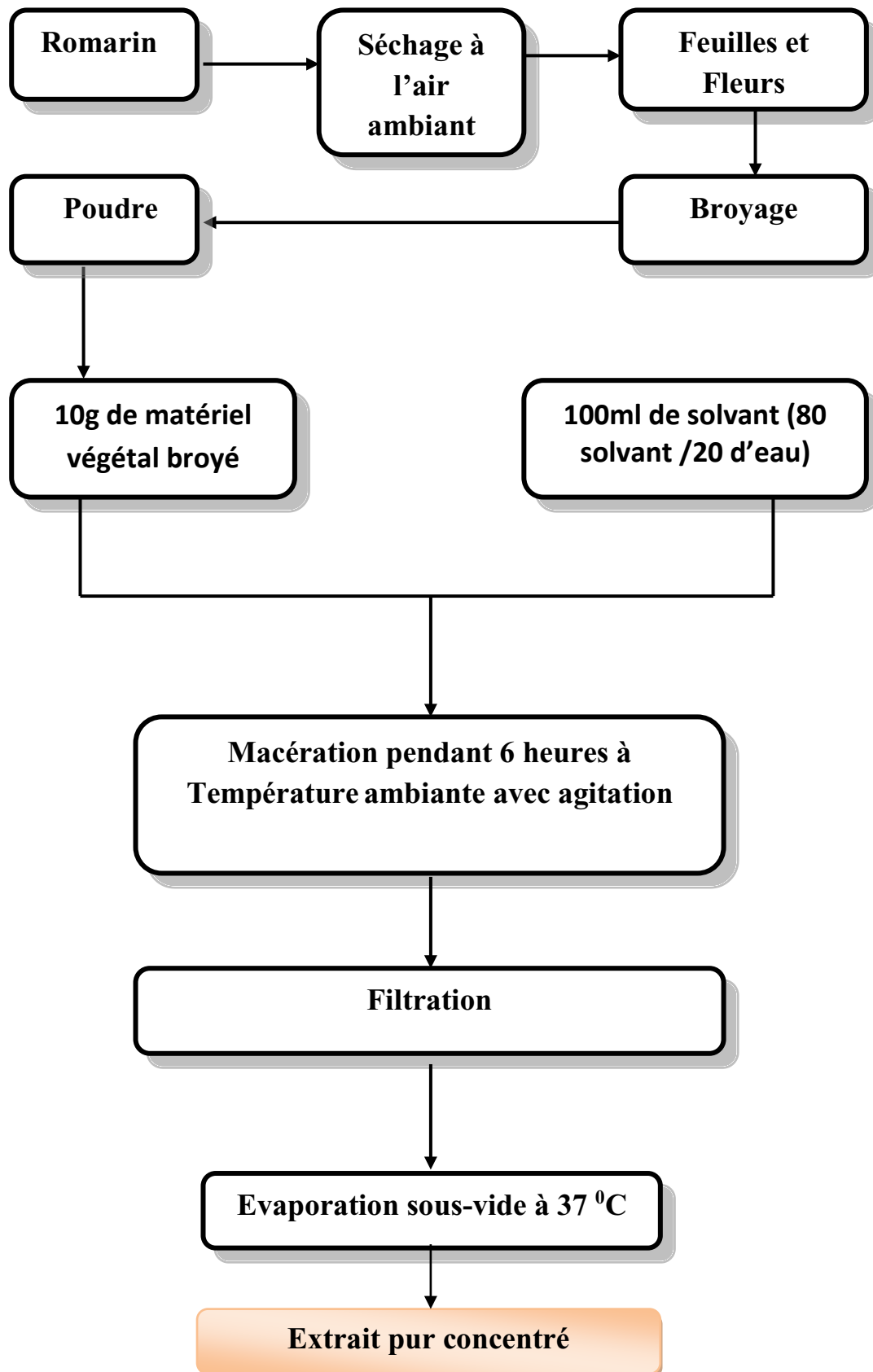


Figure 11. Différentes étapes d'extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* L (Sultana *et al.*, 2009).

L'extrait pur riche en composés bioactifs récupéré est enfin dilué à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement (**figure 11**).

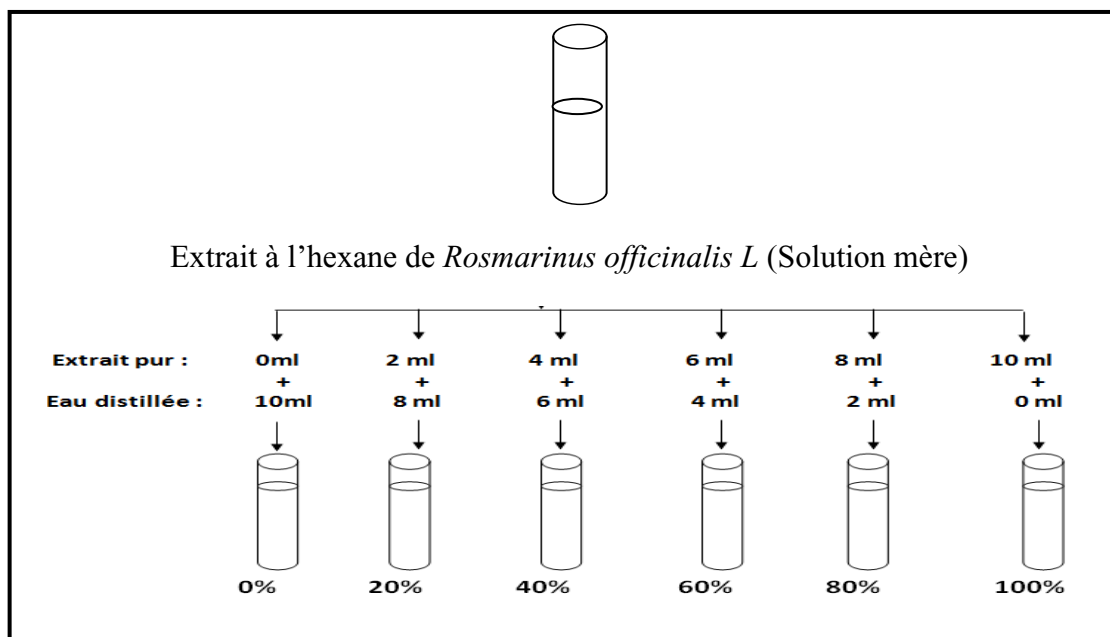


Figure 12. Concentration de l'extrait à l'hexane de *Rosmarinus officinalis* L.

3.2. Activation des souches bactériennes :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont des germes de référence pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*) provenant de l'institut de Pasteur d'Alger (**Tableau 7**). Elles sont entretenues par repiquages successifs et réguliers d'une colonie dans des tubes stériles contenant 10 ml de bouillon MH et incubé à 37 °C (**Dennai et al., 2000 ; Fournaud, 1982 ; Heredia et al., 2001 et ROSSET, 1982**).

Tableau 7. Souches de références testées.

Type de souches	Référence	Fournisseur	Type d'ensemencement
<i>P.aeruginosa</i>	Institut Pasteur Alger	ATCC 27853	Surface
<i>S.typhi</i>		ATCC	
<i>S.aureus</i>		ATCC 25923	
<i>E. coli</i>		ATCC 25 922	

3.3. Méthode de contact direct :

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé MH a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune est ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon MH, suivi d'une incubation à 37°C pendant 03 heures.

A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue la solution mère d'une espèce de bactérie donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-5} pour chaque espèce. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de l'extrait de *Rosmarinus officinalis L* dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu gélosé MH. La lecture du nombre de colonies développé est effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**) (**figure 12**).

3.4. Méthode des disques par diffusion sur gélose :

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

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

La lecture des diamètres d'inhibition a été effectuée après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'un pied à coulisse (Guignard, 1998) (figure 13)

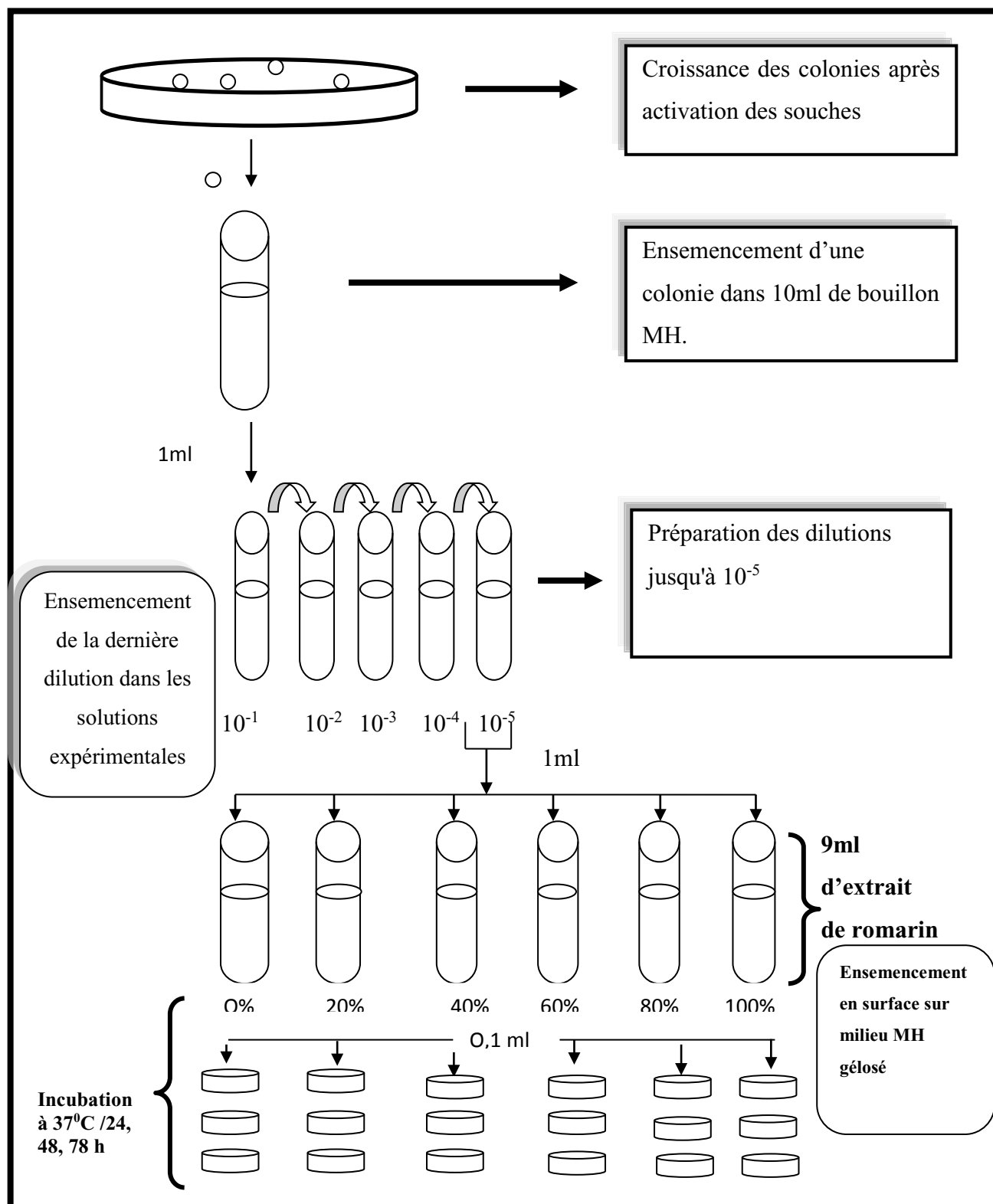


Figure 13. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980).

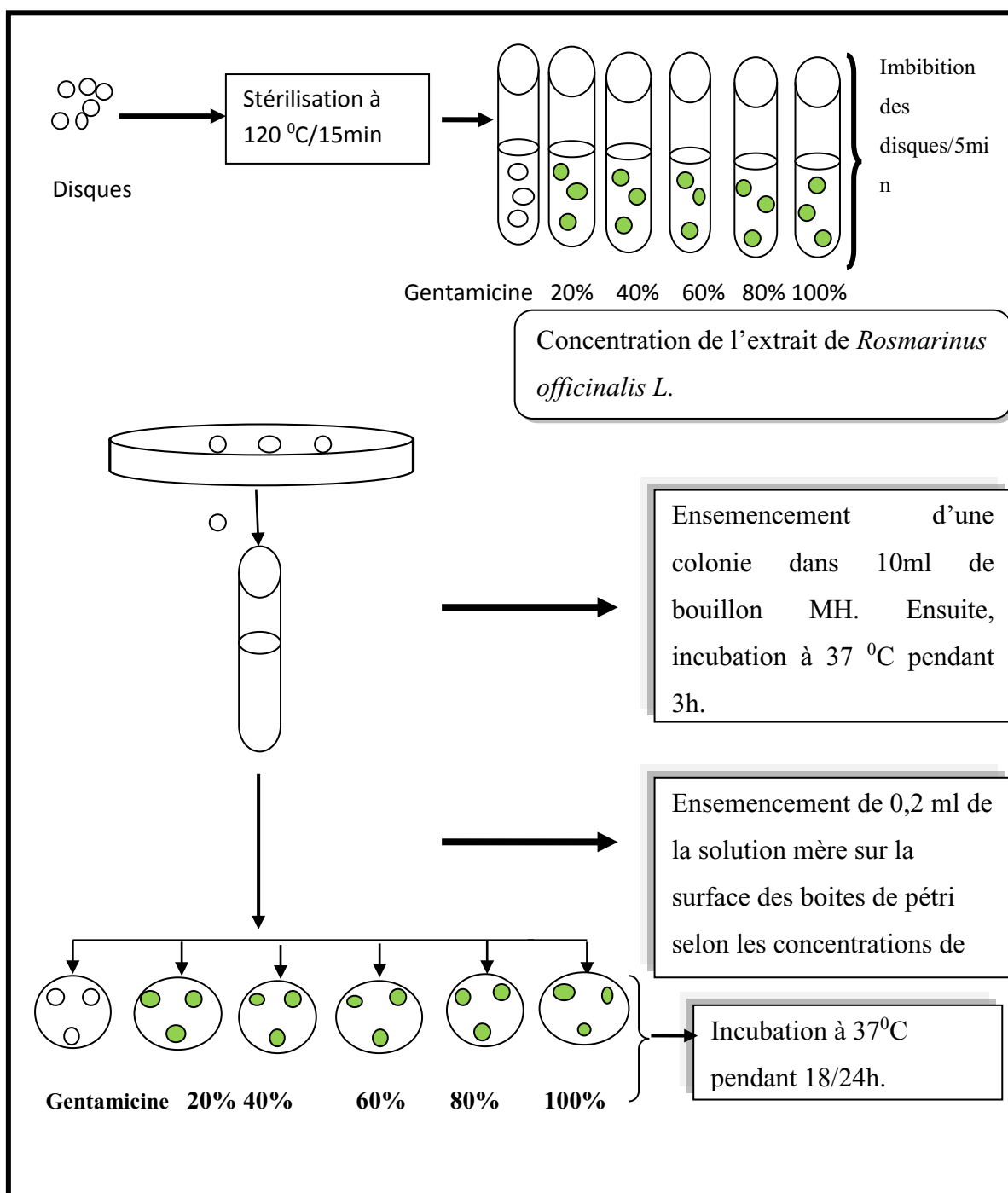


Figure 14. Méthode des disques par diffusion sur gélose MH (Prescott et al., 2003).

3.5. 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 cette étude, c'est les principes actifs de l'extrait de matières végétales de *Rosmarinus officinalis L* (Romarin) obtenu par extraction au solvant aqueux qui est utilisé pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germes (*P.aeruginosa*, *S.aureus*, *S.typhi*, *E.coli*) responsables d'intoxications alimentaires. Ainsi, des prises à raison d'une colonie jeune de chaque germe étudié prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon MH ont été incubées pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inoculas. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum sont introduites respectivement dans 2 ml de l'extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

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

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI 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 est égale à df ($d_i = df$).

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

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

S : Taux de survie du microorganisme en %.

df-di : différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 24 heures.

Df-Di : différence de densité optique sans extrait de *Rosmarinus officinalis L* avant et après incubation à 37°C durant 24 heures (kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007).

3.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

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

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme test. Elle estensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum bactérien, égalementensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 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 14**).

4. Traitement statistique :

Les résultats ont été traité statistiquement par une analyse de la variance, suivie d'une comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls. Le logiciel utilisé pour le traitement des données est le stat Box 6.4. L'effet du traitement a été démontré dans l'étude entreprise aux deux seuils de probabilité : $p < 0,05$ et $p < 0,01$. Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants.

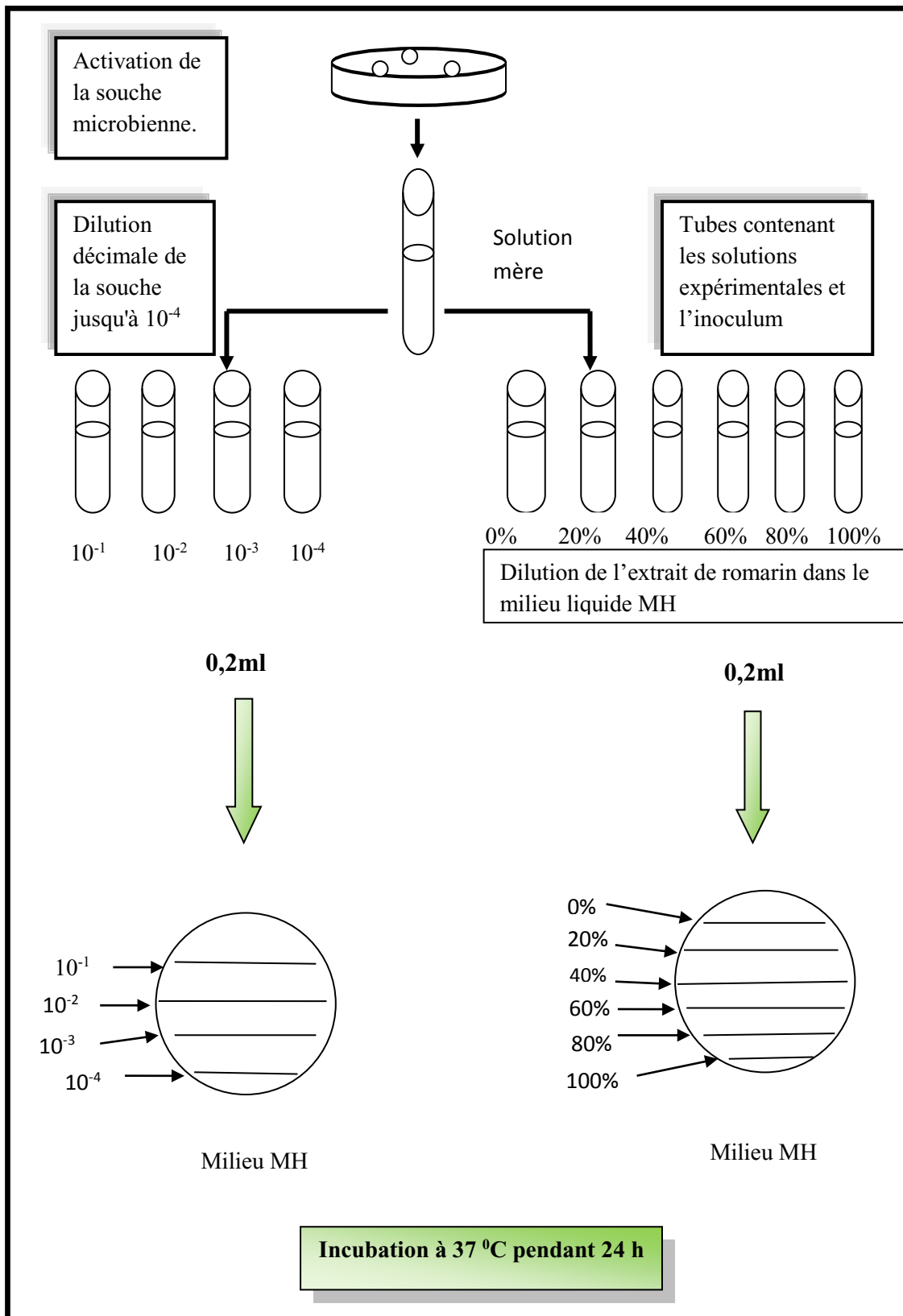


Figure 15. Méthode de la détermination de la CMB (Moroh et al., 2008).

1. Résultats :

1.1. Croissance des germes pathogènes.

L'effet des extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* récolté dans la région de Naama sur la croissance de certains germes pathogènes est représenté dans (la Figure 16 et le Tableau 9).

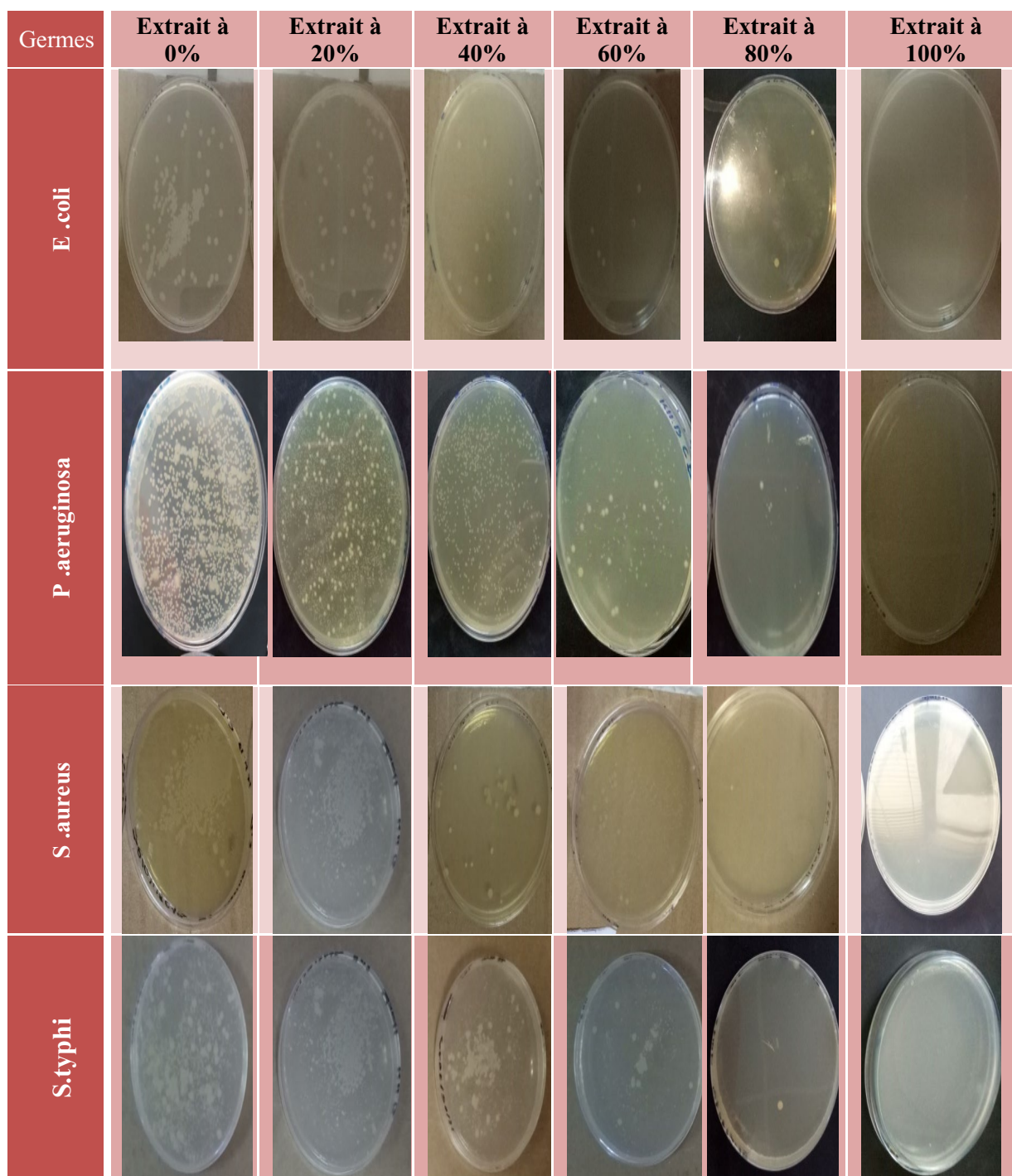


Figure16. Méthode de contact direct d'évaluation de l'effet de l'extrait phénolique à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations sur la croissance de certains germes pathogènes.

Tableau 9. Effet de l'extrait phénolique à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations sur la croissance de certains germes pathogènes.

Germes	Concentration en extrait phénolique à l'hexane de Romarin (%)						Effet des Concentrations D'extrait de Romarin
	0	20	40	60	80	100	
<i>E.coli</i> (UFC/ml)	236.10 ^{5a}	57. 10 ^{5b}	263. 10 ^{4c}	90. 10 ^{4c}	3 ^c	0 ^c	P<0,01
<i>S.typhi</i> (UFC/ml)	68. 10 ^{5a}	51. 10 ^{5ab}	42. 10 ^{5ab}	273. 10 ^{4bc}	166. 10 ^{3c}	0 ^c	P<0,01
<i>S.aureus</i> (UFC/ml)	181. 10 ^{8a}	61. 10 ^{8b}	41. 10 ^{8b}	183. 10 ^{7b}	233. 10 ^{6b}	0 ^b	P<0,01
<i>P.aeruginosa</i> (UFC/ml)	114. 10 ^{5a}	133. 10 ^{4b}	116. 10 ^{4b}	233. 10 ^{3b}	0 ^b	0 ^b	P<0,01

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

En fonction de l'augmentation de (0 à 20, à 40, à 60, à 80 et à 100%) de la concentration en extrait phénolique a l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* le nombre de germes s'avère diminuer significativement (p<0,01) : de 236.10⁵, à 57.10⁴, à 236.10⁴, à 90.10⁴, à 3 et à 0 UFC/ml chez *Escherichia coli* ; de 68.10⁵, à 51.10⁵, à 42.10⁵, à 273.10⁵, à 166.10³ et à 0 UFC/ml chez *Salmonella typhi* ; de 181.10⁸, à 61.10⁸, à 41.10⁸, à 183.10⁷, à 233.10⁶ et à 0 UFC/ml chez *Staphylococcus aureus* et de 114.10⁵, à 133.10⁴, à 116.10⁴, à 233.10³, et à 0 UFC/ml chez *Pseudomonas aeruginosa*, respectivement.

Ainsi, comparativement à l'extrait témoin à base d'eau distillé, les germes *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été très sensibles (p<0,01) à l'extrait de romarin pur concentré à 80%.

Par ailleurs, aucune prolifération des germes *Salmonella typhi* ainsi que de *Staphylococcus aureus* n'a été constaté dans l'extrait pur de la plante.

1.2. Taux de Croissance des germes pathogènes.

Les variations des taux de croissance de certain germes pathogènes en fonction des différentes concentrations d'extrait à l'hexane de romarin riche en principaux composés phénolique sont illustrées dans le (tableau 10).

Tableau 10. Effet des extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* sur le taux de croissance de certains germes pathogènes.

Germes (%)	Concentration en extrait phénolique de Romarin (%)						Effet des Concentrations d'extrait de Romarin
	0	20	40	60	80	100	
<i>E.coli</i> (%)	100 ^a	24,09 ^b	11,13 ^c	3,8 ^c	0 ^c	0 ^c	P<0,01
<i>S. typhi</i> (%)	100 ^a	75,49 ^{ab}	62,26 ^b	40,20 ^b	2,45 ^c	0 ^c	P<0,01
<i>S.aureus</i> (%)	100 ^a	33,87 ^b	23,02 ^c	10,13 ^d	1,29 ^d	0 ^d	P<0,01
<i>P.aeruginosa</i> (%)	100 ^a	11,63 ^b	10,17 ^b	2,04 ^c	0 ^c	0 ^c	P<0,01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L*) ; P<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a,b,c,d....etc. : groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN-KEULS.

Comparativement au témoin, les meilleurs taux de croissance sous l'effet de l'extrait à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* (p<0,01), ont été enregistrés chez *Escherichia coli* (3,8 à 24,09%) ; puis chez *aeruginosa* (2,04 à 11,63 %), suivi de *Staphylococcus aureus* (1,29 à 33,87 %) et enfin chez *Salmonella typhi* qui semble plus résistante (2,45 à 75,49 %).

L'extrait préparé à 80% à inhibe totalement la croissance d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* ; alors que les germes *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus* ont été inhibées à des concentrations plus élevées de 100%.

1.3. Diamètre d'inhibition des germes :

L'effet de l'extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations sur le diamètre d'inhibition de certains germes pathogènes est mentionné dans la (figure 17 et le tableau11).

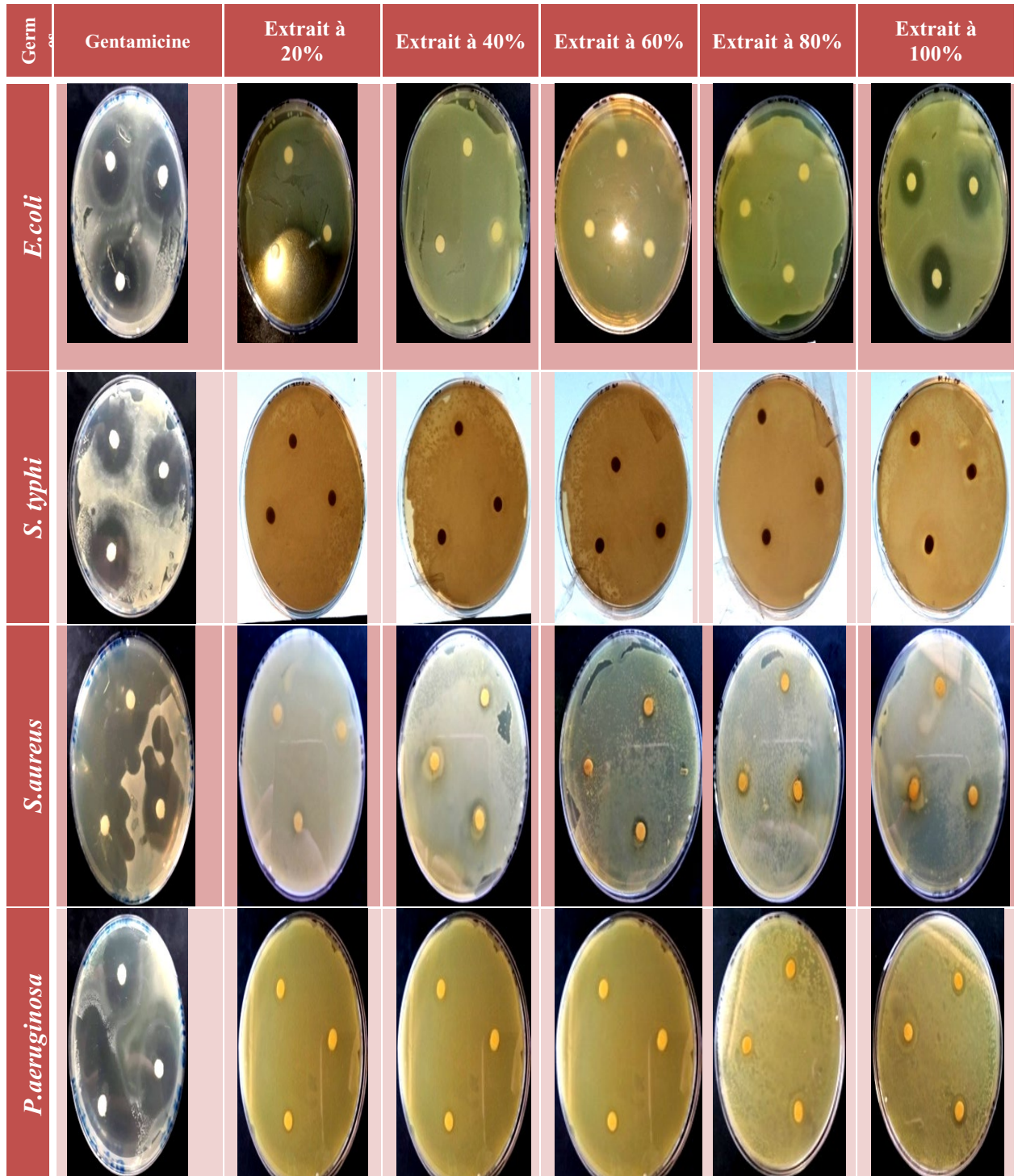


Figure 17. Effet des extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* sur le diamètre d'inhibition (mm) de certains germes pathogènes.

Tableau 11. Effet de l'extrait phénolique à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations le diamètre d'inhibition en (mm) de certains germes pathogènes.

Germes	Concentration en extrait phénolique de Romarin (%)						Effet des concentrations d'extrait de Romarin
	Gentamicine	20	40	60	80	100	
<i>E.coli</i> (UFC/ml)	38±0,2 ^a	6,33±0,115 ^d	6,33±0,058 ^d	9,33±0,115 ^c	9,67±0,058 ^c	20±0,2 ^b	P<0,01
<i>Styphi</i> (UFC/ml)	32,67±0,252 ^a	9,67±0,208 ^a	8,67±0,058 ^b	10±0,1 ^b	11±0,173 ^b	11±0,1 ^b	P<0,01
<i>S.aureus</i> (UFC/ml)	50±0,2 ^a	11±0 ^c	10±0 ^c	10,33±0,153 ^c	17±0,436 ^b	12±0,265 ^c	P<0,01
<i>P.aeruginosa</i> (UFC/ml)	30±0,1 ^a	12,67±0,153 ^b	13,33±0,153 ^b	12±0,52 ^b	14,33±1,321 ^b	12,33±0,321 ^b	P<0,01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L*) ; P<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; P>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a,b,c,d...etc. :groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN-KEULS

La gentamicine a engendré les meilleurs diamètres d'inhibitions ($p < 0,01$) des germes *Escherichia coli* (38 mm), *Salmonella typhi* (32,67 mm), *Staphylococcus aureus* (50 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (30 mm) par rapport à l'extrait de romarin préparé à différentes concentrations et ayant enregistrées des valeurs variables ($p < 0,01$) : de 6,33 à 20 mm ; de 9,67 à 11 mm ; de 11 à 17mm et de 12,67 à 14,33 mm, respectivement.

1.3.Taux d'inhibition :

Les effets de l'extrait de *Rosmarinus officinalis L* sur les taux d'inhibitions des germes pathogènes étudiés sont représentés dans le (tableau 12).

Tableau12. Effet des extraits phénoliques a l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* sur le taux d'inhibition de certains germes pathogènes.

Germes (%)	Concentrations en extrait phénolique de Romarin (%)						Effet des concentrations d'extrait de Romarin
	Gentamicine	20	40	60	80	100	
<i>E.coli</i> (%)	100 ^a	16,67 ^d	16,67 ^d	24,56 ^c	25,44 ^c	52,63 ^b	P<0,01
<i>S.typhi</i> (%)	100 ^a	29,59 ^b	26,53 ^b	30,61 ^b	33,67 ^b	33,67 ^b	P<0,01
<i>S.aureus</i> (%)	100 ^a	22 ^c	20 ^c	20,67 ^c	34 ^b	24 ^c	P<0,01
<i>P.aeruginosa</i> (%)	100 ^a	42,22 ^b	44,44 ^b	40 ^b	47,78 ^b	41,11 ^b	P<0,01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions $n=3$; $P < 0,01$: Effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L*) ; $P < 0,05$: effet significatif du facteur étudié ; $P > 0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; a,b,c,d...etc. : groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test NEWMAN-KEULS.

Le meilleur taux d'inhibition d'*Escherichia coli* est réalisé avec la solution à base d'extrait pur de la plante (*Rosmarinus officinalis L*) ; 52,63%.

Par ailleurs, comparativement à la gentamicine, les taux les plus élevés des autres étudiés dont *Salmonella typhi* (33,67%), *Staphylococcus aureus* (34%) et *Pseudomonas aeruginosa* ont été remarqué à une concentration d'extrait de romarin plus faible ($P < 0,01$) de 80%.

1.4. Concentrations minimales inhibitrices :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'*Escherichia coli* est remarquée avec l'extrait préparé à 100%. Quant aux *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa*, les CMI ont été enregistrés avec l'extrait concentré à 80%.

Enfin, la CMI chez *Staphylococcus aureus* a été remarquée à 60% d'extrait de romarin (tableau 13).

Tableau 13. Evaluation des concentrations minimales inhibitrices de l'extrait phénolique à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations chez certains germes pathogènes.

Germes	Concentration en extrait phénolique de romarin (%)						
	Paramètres	Témoin	20	40	60	80	100
<i>E. coli</i>	Di	0,751	0,246	0,595	0,633	0,789	1
	Df	0,933	0,994	0,983	0,984	0,954	1
	Df-Di	0,88	0,748	0,388	0,351	0,165	0
	S%	100	85	44	39	18	00
	CMI	CMI=100%					
<i>S. typhi</i>	Di	0,741	0,281	0,798	0,909	1	0,931
	Df	0,893	0,86	1	1	0,933	0,735
	Df-Di	0,852	0,579	0,202	0,091	0	0
	S%	100	68	24	11	00	00
	CMI	CMI=80%					
<i>S. aureus</i>	Di	0,849	0,238	0,838	0,832	0,764	0,938
	Df	1,055	0,877	0,84	0,811	0,656	0,844
	Df-Di	0,906	0,639	0,002	0	0	0
	S%	100	70	2	00	00	00
	CMI	CMI=60%					
<i>P.aeruginosa</i>	Di	0,764	0,251	0,84	0,851	0,883	0,88
	Df	0,998	1	0,966	0,915	0,812	0,845
	Df-Di	0,934	0,749	0,179	0,064	0	0
	S%	100	35	19	6,8	00	00
	CMI	CMI=80%					

Di : densité optique initiale avant l'incubation ; Df : densité optique finale après incubation ; S : Taux de survie ; CMI : concentration minimale inhibitrice

1.5. Concentrations minimales bactéricides :

Les concentrations minimales bactéricides d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* ont été obtenues avec l'extrait à l'hexane pur de Romarin.

En revanche pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* les CMB ont été perçues avec l'extrait de la plante concentrée à 80% (Figure 18).

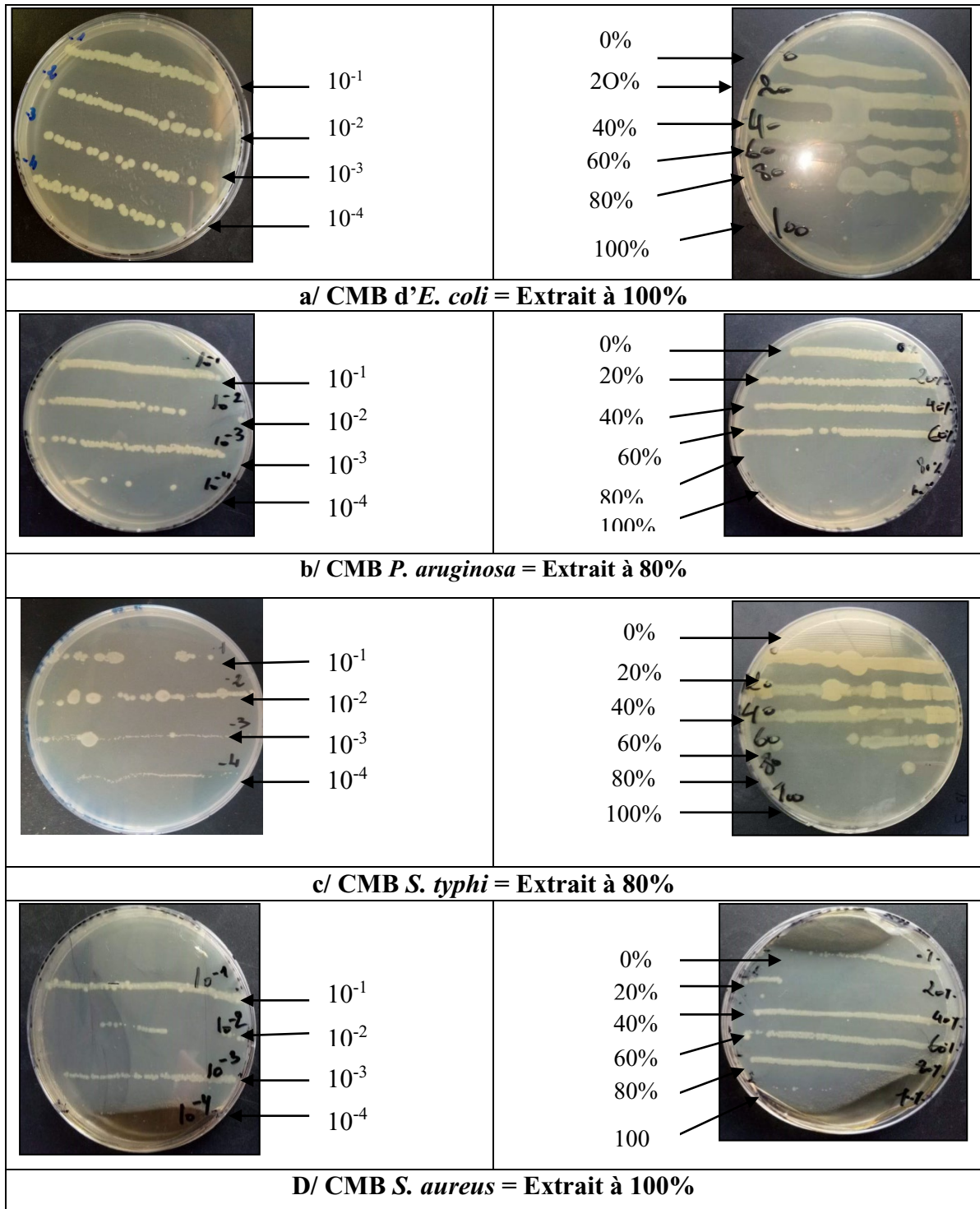


Figure 18. Détermination des CMB des extraits phénoliques à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations vis-à-vis de certains germes pathogènes.

1.6. Types d'inhibition :

Les extraits de *Rosmarinus officinalis L* ont induit un effet de type bactéricide chez les germes *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, successivement (**Tableau 14**).

Tableau 14. Types d'inhibitions de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* préparé à différentes concentrations vis-à-vis de certains germes pathogènes.

Germes	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
<i>E.coli</i>	100%	100%	1	Bactéricide
<i>S. typhi</i>	80%	80%	1	Bactéricide
<i>S.aureus</i>	60%	100%	1,25	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i>	80%	80%	1	Bactéricide
Normes	<ul style="list-style-type: none"> • D'après (Olivier 2007) CMB/ CMI d 2(Effet bactéricide) CMB/ CMI >2(effet bactériostatique) • D'après (Marmonier1990) CMB/ CMI d 4(Effet bactéricide) CMB/ CMI > 4(effet bactériostatique) 			

2. Discussion :

L'analyse des données expérimentales a montré que comparativement au témoin (eau distillée stérile 0%), le nombre des germes *Escherichia coli* ; *Salmonella typhi* ; *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, diminue significativement ($P < 0,01$) avec l'augmentation de la concentration d'extrait à l'hexane de *Rosmarinus officinalis L* de 80 à 100%.

Bourarach et al., (1994) a également, remarqué une bonne activité antibactérienne des extraits hexaniques de romarin vis-à-vis de certains germes comme *Escherichia coli* ; *Salmonella typhi* ; *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces réponses résultent du fait que l'extrait aqueux à l'hexane renferme de multiples composés phénoliques bioactifs antimicrobiens recensés par plusieurs auteurs (**Bourarach et al., 1994 ; Pereira et al., 2007 ; Estevinho et al., 2008**).

En effet, toutes les plantes de la famille des Lamiaceae comme le romarin sont connues pour leur richesse en principaux composés phénoliques, ayant un pouvoir antimicrobien prouvé actif contre une variété de micro-organismes dont (*Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) (**Gortzi et al., 2007**).

De plus, il est bien prouvé que plusieurs classes de polyphénols telles que les acides phénoliques, flavonoïdes et les tannins servent même de mécanismes de défense des plantes contre les micro-organismes, les insectes, et les herbivores pathogènes (**Falleh et al., 2008**).

Aussi (**Kil et al., 2009**), ont démontré que l'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques ; mais également de la présence de divers métabolites secondaires dont (les terpénoïdes et les alcaloïdes).

Apparemment, l'activité inhibitrice de l'extrait à l'hexane de romarin vis-à-vis des germes étudiés (*Escherichia coli* ; *Salmonella typhi* ; *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) est moins efficace que celui de la gentamicine considérée comme étant un antibiotique à large spectre antimicrobien (**Olivier, 2007**).

Le diamètre d'inhibition enregistré chez *Escherichia coli* en présence de l'extrait pur de romarin riche en principaux composés phénoliques est plus important que les autres germes étudiés. Les bactéries à Gram négatif se sont avérées ainsi plus résistantes à l'extrait à l'hexane aqueux de la plante. Plusieurs travaux notamment ceux de (**Hammer et al., 1999 ; Souza et al., 2006 ; Derwich et al., 2010**) ont confirmé la grande résistance des bactéries G- par rapport aux G+. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés phénoliques d'une part et d'autre part à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant (**Inouye et al., 2001 ; Bagamboula et al., 2004**).

Les résultats des CMI ont permis de démontrer que l'extrait hexanique exerce un effet inhibiteur avéré sur la croissance des germes pathogènes étudiés sans exception et quel que soit leur Gram.

En outre, selon les rapports CMB/CMI trouvés de 1 pour les germes *Escherichia coli* ; *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* et de 1,25 pour *Staphylococcus aureus* et d'après (**Olivier, 2007**), étant donné que les rapports CMB/CMI sont inférieurs ou égales à 2, l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* récoltée dans la région de Naama exerce un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis des germes étudiés.

D'après (**Hermal, 1993**), La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car un principe actif peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches, bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet.

Apparemment, le mécanisme d'action des polyphénols est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. Les polyphénols exercent leurs pouvoir antimicrobien en interférant avec la bicouche lipidique de la bactérie en raison de leurs propriétés hydrophobes, ce qui entraîne l'augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, l'acidification de l'intérieur de la bactérie en bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure et la destruction du matériel génétique en conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Par ailleurs, il s'avère que de nombreux flavonoïdes possèdent aussi des propriétés antimicrobiennes (**Saffidine, 2015**). Les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou à d'autres interactions aussi qui peuvent les adhésions microbiennes et les protéines de transport (**Cowan, 1999**).

Conclusion :

Les plantes médicinales ont la capacité de produire des substances naturelles très diversifiées qui accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires représentant une source importante de molécules utilisables dans la thérapie. La présente étude tente d'évaluer l'effet antimicrobien de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* récolté dans la région de Naama au sud d'Algérie sur certains germes pathogènes de références (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*).

La méthode de contact direct a montré que la croissance de ces germes sur milieu Muller-Hinton est inhibée totalement à des concentration d'extrait à l'hexane de 80% pour *Pseudomonas aeruginosa*, de 100% pour *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus*.

L'extrait pur à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des 4 germes testés. Par ailleurs, *Escherichia coli* s'est montré comme étant le germe le plus sensible ; avec un diamètre d'inhibition 20 mm en moyenne.

La concentration minimale inhibitrice de la croissance de *Staphylococcus aureus* a été enregistrée avec l'extrait concentré à 60% contre 80% pour *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* à 100% d'extrait hexanique aqueux de *Rosmarinus officinalis L* pour *Escherichia coli*.

La concentration minimale bactéricide est obtenue avec l'extrait de romarin concentré à 80% pour *Salmonella typhi* ainsi que chez *Pseudomonas aeruginosa* et avec l'extrait pur concentré à 100% pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les composés bioactifs de l'extrait ont montré une action de type bactéricide vis-à-vis des germes étudiés.

Ces résultats préliminaires montrent que l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* témoigne d'une activité antimicrobienne in vitro intéressante contre plusieurs germes pathogènes et responsables d'intoxications alimentaires.

Il serait toutefois intéressant de réaliser d'autres études sur le potentiel in vivo de l'extrait de la plante en prenant compte le rat par exemple comme modèle animal.

Références bibliographiques :

A

Abdelly C, 2008, Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities C. R, Biologies, 331: 372-379.

Abdoune S et Slimani N, 2018, Synthèse et caractérisation du Cobalt par l'extrait de la plante romarin et son application comme capteur électrochimique pour la détection des sulfites, Thèse de Master, Université de Bejaia, 73p.

Ait Abdelouhab N, 2001, Microbiologie Alimentaire, Ed Office Des Publication Universitaire, Ben-Aknoun (Alger), 147p.

Aruoma O., Spencer J., Rossi R., Aeshbach R., Khan A., Mahmood N., Murcia A., Butler J., Halliwell B., 1996, An evaluation of the antioxidant and antiviral of extracts of rosmariny and provencal herbs, 34, page 449-456.

Avril JL., Dahernat H., Denis F., Monteil H., 2000, *Escherichia coli* In : Bactériologie clinique. 3ème édition. Edition ELLIPSE, Paris, Pp175-187.

B

Balière C, 2017, Les *Escherichia coli* potentiellement pathogène dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC, Thèse de doctorat, université de Bretagne Occidentale, 180p.

Barkane A, 2015, la détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L, Mémoire de Master, Université de Khemis Miliana, 66p.

Bassas A, 2008, Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltent dans le sud Algérien, édition universitaire européennes, Allemagne, 160p.

Bekkara F, Bousmaha L, Taleb bendiab S-A et al., 2007, Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant spontané et cultivé de la région de Tlemcen, Biologie et santé, 7 :6-11.

Beloued A, 2001, plantes médicinales d'Algérie, Ed office des publications universitaires, Alger, p277.

Benkhlef A, 2014, Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antimicrobiens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouregla, thèse de master, 36p.

Benyessad Z, Mouici L, 2015, Synthèse chimique et caractérisation des nanoparticules Cu, Ag et Ag-Cu en présence de l'extrait de la plante de romarin : Application antibactérienne et à l'électrooxydation de l'hydrazine, Mémoire de Master, Université de Bejaia, 111p.

Bergey's Manuel., Garrity. G-M., Lilburn. T-G., Cole. J-R., Harrison S-H., Euzéby J., Tindall., B-J., 2007, *In*: Part 10: Taxonomic Outline of the Bacteria and Archeae. Coyright, Michigan State University Board of Trustees.

Blkhodja H, 2016, Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique, thèse de doctorat, université de Mustapha Stambouli Mascara, 174p.

Boissonnet B, Boissonnet G, Larpent J.P, 1976, abrège de bactériologie générale et appliquée, Ed smer, rabat, 238p.

Bourarach k, Sekkazit M, Lamanouer D, 1994, Activité insecticide de quelques plantes médicinales du Maroc *In* : Actes Inst. Agron. Vet (Maroc), 14 (3), 31-36.

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

Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J, 2004, Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cimene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21 : 33-42.

Bouza A, 2009, Gestion de la Qualité des Aliments (GESQUEL) : Les Toxi-infections Alimentaires Collectives dans l'est algérien. Mémoire de stage. Université de Constantine. 66p.

Brahimi H, Merzouk A, Guenouna H., 2018, Effets antimicrobiens des extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) chez *Staphylococcus aureus*, Mémoire de master, Université ben Badis Mostaganem, 90p.

Branger A, Richer M-M, Roustel S., 2007, Alimentation, sécurité et contrôle microbiologiques, Educagi éditions, Djion, 203p.

Bruneton J. 2009, Pharmacognosie biochimique plantes médicinales, éditions tec et Doc, Paris, 1269p.

Bsheer K et Karem Z, 2015, Interaction between CY3A4 and dietary polyphenols Oxidative medicine and cellular longevity, 307p.

Burneton J. 2009, Pharmacogenosie Phytochimie Plantes médicinales, édition Tec et Doc, Paris, 425p.

C

Caillet S et Lacroix M, 2007, Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, 1-8 p.

Cattoir V, 2005, Les bacilles à Gram négatif. Cours de DCEM 1. Faculté de Médecine de Créteil, France.7 p.

Chaker H, 2012, Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites de tryptophane, Thèse de doctorat, Ecole Doctorale ingénierie pour la santé, la cognation et l'environnement, université de grenbol, 255p.

Chakou F-Z, Medjouja K, 2014, Etude bibliographique sur la phytochimie, université d'Ouargla, 41p.

Christine D, Véronique L, 2001, Larousse encyclopédie de plantes médicinales, Impnmene topane pnnting co 1 td, Hong Kong, 335p.

Chvaillier A, 2008, les plantes médicinales, Ed Grund, Paris, 228p.

Cowan M-M. 1999, Plant products as antimicrobial agents, Department of Microbiology *In: Clin Microbiol Rev*, 12(4).

D

Denis F, Poly MC, Maritin Ch, Bingen E, Quentin R., 2007, Bactériologie médicale, technique usuelle, 2^{ème} édition MASSON, Paris, 784p.

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

Derwich E., Benaabidate A., Sadki O., Belghity D., 2010, Caractisation Physico-Chimiques Des Eaux De La Nappe Alluviale Du Haut Sebou En Aval De Sa Confluence Avec Oued Fes *In : Larhyss Journal*, 8, 101-112.

Diarra F, 2009, Fréquence d'isolement des *Pseudomonas* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Babriel Toure de 2002 à 2008. Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali, 233p.

Dromigny E, 2012, Les critères microbiologiques des denrées alimentaires, édition Lavoisier, Paris, 425p.

Dennai N., Karrati B., EL Yachioui M., 2000, Bovins à l'abattoir *In* : Une microbiologie fluctuante. VPC, 21 (6) : p 191-196.

E

Elalaoui A, Boukil A, Bachar M, Driss L, Guermal A., 2014, Manuel des bonnes pratiques de collecte du Romarin « *Rosmarinus officinalis* » *In* : Projet PAM plantes Médicinales et Aromatique, page N° 03.

Estenviho L., Pereira A P., Moreira L., Dias L., Pereira E., 2008, Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey *In*: Food and Chemical Toxicology, 46, 3774-3779.

F

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M,

Flaudrois J-P, 2008, Bactériologie Générale/ croissance bactérienne cours de bactériologie Médicale, Université Lyon Sud, France, 10 p.

Fauchère J-L, Avril J-L, 2002, Bactériologie générale et médicale, Ellipses édition Marketing, Paris, 365p.

Fournaud J, 1982, Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière *In* : hygiène et technologie de la viande fraîche. Edition du C.N.R.S, pages: 109-119. Of British beef carcasses sample prior to chilling, Meat Sci, 50, p 265-271.

G

Gahbiche S, 2009, Certificat thalassothérapie, Ecole supérieure des sciences et technique de la santé de Sousse, 7 p.

Gaillard J-L, Simonet M, 1988, Bactériologie Bactéries des infections humaines, édition Flammarion, France, 660 p.

Gimont P-A-D., Gimont F., Bouvert P., 2000, Taxonomy of the Genus Salmonella
In: Wray A. (eds) Salmonella in domestic Animals, London, CAB International.

Geoff B, Sue F, Denise G., 2003, Botanica, Ed Random House Australia, NSW
Australia, p1020.

Gerad J., Berdell R., Christine L., Tartora., 2015, Les maladies infectieuses, Ed
Saint-Laurent EPRI, France, 242 p.

Gonzalez-Trujano M-E et al., 2007, Evaluation of the antinociceptive effect of
Rosmarinus officinalis L. using three different experimental models in rodents, 111(3),
476-482

Gortzi O, Lalas S, Chinou, I, Tsaknis J., 2007, Evaluation of the Antimicrobial and
Antioxidant Activities of Origanum dictamnus Extracts before and after
Encapsulation *In*: Liposomes Molecules, 12: 932-945.

Guignard J-L, 1998, Biochimie végétale. Dunod, Paris., pp 274.

Guiraud J-Pe. 2012, Microbiologie Alimentaire, Ed Dunod, Paris, 651p.

H

Hadj Seyad A., Lanez T., Idder M., Benchoura S., 2009, Mise au point d'un
logiciel compilant une base donnée des plantes médicinales Algériennes et les études
de recherches réalisées sur ces plantes *In* : Annales de Faculté des sciences de
l'Ingénieur, Vol (3), page 83.

Haeghebaert S., Le Querrec F., Delaroque Astagneau E., Bouvert P., 1998, Les
toxi-infection alimentaire collective en France, page 01.

Hammer K-A., Carson C-F., Riley T-V., 1999, Antimicrobial activity of essential
oils and other plant extracts *In* : Journal of Applied Microbiology, 86, 985-990.

Hardman W-E, 2014, Diet components can suppress inflammation and reduce
cancer risk Nutrition research and practice ,8(3), 233-240.

Hermal C, 1993, Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et
de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles. Thèse, Faculté de pharmacie,
Université Montpellier I, 87 p.

Heredia N., Garcia S., Rojas G. et Salazar L., (2001), Microbiological Condition of Ground Meat Retailed in Monterrey, Mexico. Food Prot., 64 (8), 1249-1251.

I

Inouye S et Yamaguchi H, 2001, Screening of the antibacterialeffects of a varaiety of esssential oils onrespiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method,259p.

Iserin P., Restellin J-P., Masson M., 2001, Larousse encyclopédie des plantes médicinales, édition VUEF, France, 335p.

J

Jean L., Henry D., François D., Henri M., 1992, Bactériologie clinique 2^{ème} édition, 507p.

Joffin C, Joffin J-N, 1999, Microbiologie Alimentaire, édition Centre Régional de documentation Pédagogique, Aquitaine, 214p.

Kil H., Seong E., Ghimire B., Chung I., Kwon S., Goh E., Heo K., Kim M., Lim J., Lee D., Yu C., 2009, Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract *In: Food Chem.* 115:1234-1239.

K

Kothe Hans w, 2007, 1000 plantes aromatiques et médicinales, Terres éditions, France, 336p.

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

Larry M., Bush M-D., Maria T., Perez M-D., 2018, Infections par *Escherichia coli* *In : Le Manuel MSD pour les grands publics*, p 5-6.

Le Minor L, Veron M, 1990, Bactériologie Médicale « *Staphylococcus* et *Micrococcus* » J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 773-794.

Levine M, 1987, *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent *In : Journal of Infectious Diseases.* (155), 377-389.

Lahssissene H., Kahouadji A., Tijane M., Heini S., 2009, catalogue des plantes médicinales utilisées de la région de zaer (Maroc occidentale) -Lejounia, BE ISSN 457-4184.

M

Mainil J, 2003, Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli*, *Ann. Méd. Vét*, 147, 105-106.

Mérens A., Jault P., Barges J., Cavallo D., 2013, Infections à *Pseudomonas aeruginosa* *In : EMC- Maladies infectieuses*, 10(1), page 2.

Minor L, Popoff MY, Bockemuhl J, 1990, Supplement 1989 to the Kauffmann White scheme. *Res. Microbiol*, (141), 1173-1177.

Mohammedi Z, 2013, Etude Physicochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, Thèse de doctorat, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, 170 p.

Moroh J-L-A., Bahi C., Dje K., Loukou Y.G., Guede-guina F., 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.

Marmonier A, 1990, Technique de diffusion en gélose : Méthode des disques. Dans : *Bactériologie Médicale, Techniques usuelles*, pp 237-244.

N

Nauciel C, Vildé J-L, 2005, *Bactériologie médicale*, édition Masson, Paris, 264p.

O

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

Orskov I, Orskov F, 1985, *Escherichia coli* in extra-intestinal infections *In*: International *Escherichia* and *Klinsiella* centre (WHO), Statens Seruminstitut, Copenhagen, Denmark, 95, page 1-3.

Oteng-Gyang K, 1984, Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chaudes, Ed Lavoisier, Paris, 260 p.

Oulymata G, 2007, Utilisation des méthodes biométrique dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Mali, 21 p.

P

Pereira A., Ferreira I., Marcelino F., Valentao P., Andrade P., Seabra R., Estevinho L., Bento A et Pereira J A., 2007, Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, 12, 1153-1162.

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

Q

Quezel P, Santa S, 1963, nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (TOM 2), éditions du centre national de la recherche scientifique, paris, 1170 p.

R

Richter G,1993, *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*, Suisse, 526p.

Robinson R., Batt C., Patel P., 2000, *Encyclopedia of food Microbiology*, Ed Elsevier, Paris, 1000p.

Rasooli I., Sahegh S., Taghizadeh M., Astaneh S., 2008, Phytotherapeutic prevention of dental biofilm formation, *Phytother, Res* 22, pp1162-1167.

Rosset R, 1982, conséquences hygiéniques des flores microbiennes contaminant la viande : les intoxications alimentaires *In* : *Hyg et Tech de la viande fraîche*, Paris : éd CNRS, p 141-153.

S

Saffidine K, 2015, Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L et de *Plantago major* L, thèse de doctorat, université de Sétif, 132 p.

Serres M, Farouki N, 1997, Bactéries Virus et Champignons, Ed Flammarion, France, 126p.

Sofowora A, 2010, Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, éditions khrthala, Paris, 384p.

Souza C., Taghian M., Lamb P.,2006, An empirical study on the influence of environmental labels on consumers *In* : Corporate Communications An International Journal, 11, 162-173.

Sultana, B., Anwar F., Ashraf M., 2009, Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, (14), 2167-2180.

Sutra L., Federighi M., Jouve J-L., 1998, Manuel de Bactériologie Alimentaire, édition Polytechnica, Paris, 307p.

Singlatery S, Robb G, 2003, Oncologic safety of skin-sparing mastectomy *In*: *Ann SurgOncol*, 10(2), 95-97.

T

Talbi H., Boumaza A., EL-mostafa K., Talbi J., Hilali A., 2014, Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L, page 1-2.

Teucher E., Anton R., Lobstein A., 2005, Romarin *In* : Plantes aromatiques, édition Lavoisier, France, 416-422.

Thati B.,Noble A., Rowan R., Creaven B-S., Walsh M.,Egan D., Kavangh K., 2007, Mechanism of action of coumarin and silve –coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans* *In* :*Toxicology in vitro*, 21, 801-808.

Touati M, 2013, Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau des services de réanimation-CHU Annaba. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.

V

Vierling E, Leyral Guy, 2007, Microbiologie et toxicologie des aliments ,287 p.

W

Wavre A et Nicod L, 2012, *Pseudomonas aeruginosa* et maladie broncho-pulmonaire chronique obstructive, *In* : Revue médicale Suisse, 6, page.

Z

Zeghad N, 2009, Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêts économique (*Thymus Vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Université Mentouri Constantine ,130 p.

Zrihi G.N., Kra A-K-M., Etien D-T., 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.

[https:// fr.m.wikipedia.org/wiki:A%C3%AFn_Sefra](https://fr.m.wikipedia.org/wiki:A%C3%AFn_Sefra).

Institut Européen des substances végétales, 2016.

<http://www.bccdc.ca/health-info/diseases-conditions/typhoid-fever-salmonella-typhi>.

http://fr.hortipedia.com/wiki/Rosmarinus_officinalis.

Milieu de culture :

➤ Muller Hinton agar (38g/l)

-Extrait de viande	3 g
-Tryptone	17,5 g
-Amidon	1,5 g
-Agar Agar.....	18 g
-Eau distillée.....	1 L

Le pH du milieu : $7,3 \pm 0,2$



Milieu Muller Hinton agar

➤ Bouillon Muller Hinton

-Extrait de viande	3 g
-Tryptone	17,5 g
-Amidon	1,5 g
-Eau distillée.....	1 L

Le pH du milieu : $7,3 \pm 0,2$.

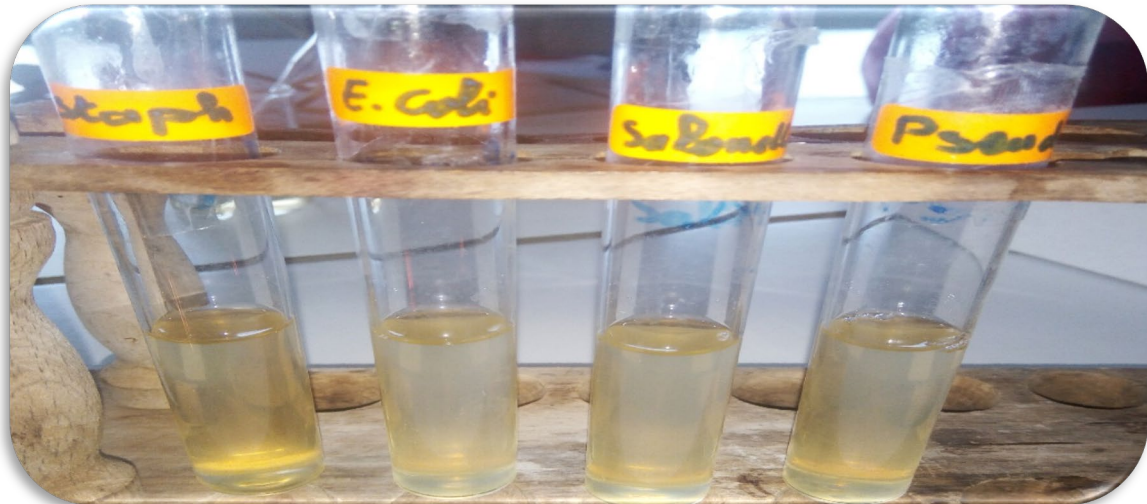


Bouillon Muller Hinton

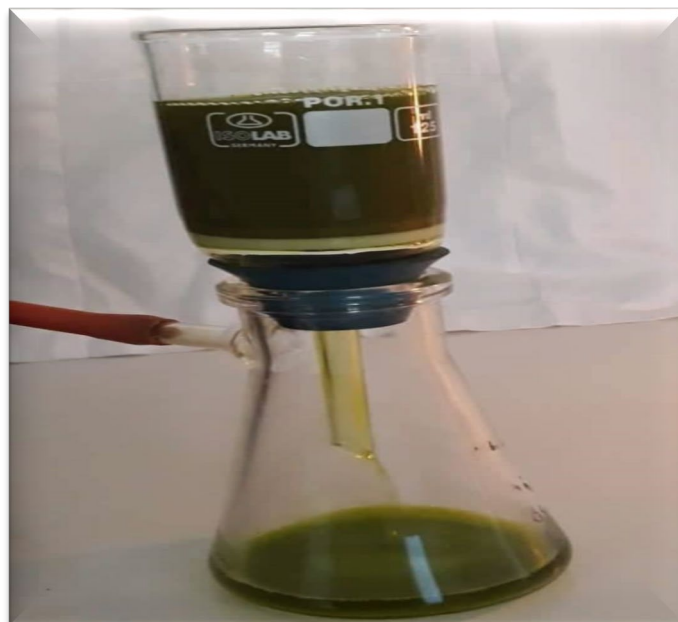
Eau physiologique

Chlorure de Sodium 9 g

Eau distillée **Erreur ! Signet non défini.L**



Etape d'activation des souches microbiennes



Etape de filtration sous-vide