

République Algérienne démocratique et populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D' AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mlle AISSAOUI NOR EL Houda

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité CONTROLE DE QUALITÉ DES ALIMENTS

THÈME

**Effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique de
Romarinus officinalis (Romarin) chez *Staphylococcus aureus*
au cours de la conservation de la viande ovine à 4°C.**

Soutenue publiquement le 17.07. 2019

Devant le Jury

Président	BOUZOUINA .Mohamed	: MCA	U.Mostaganem
Encadreur	M. AIT SAADA.D	: MCA	U.Mostaganem
Examineur	Mme. AIT CHABANE. O	: MCA	U.Mostaganem
Invité	Melle. BABADJI Khadidja	: Doctorante	U.Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition U.Mostaganem

Année universitaire 2018 / 2019

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon dieu le tout puissant et le tout miséricordieux pour la volonté aussi que la patience qui nous a donné durant toutes les années d'études et d'avoir guider nos pas vers la voie du savoir.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon encadreur, Monsieur AIT SAADA.D ; d'avoir accepté de m'encadrer, pour ses orientations et conseils fructueux.

J'exprime mes sincères gratitudees à Mr BOUZOUINA. M de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

J'exprime dans la même ligne de conduite mes sincères considérations et remerciements à Mme AIT CHABANE.O d'avoir accepté de juger a titre d'examineur ce modeste mémoire.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à tous les professeurs du département d'agronomie et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont bien guidé mes réflexions dans le domaine de la recherche entrepris dans cette étude et ont accepté de me rencontrer et de répondre à toutes mes questions.

Je tiens, également, à remercier la doctorante BABADJI Khadidja pour tous les aides, accompagnement et orientations prodigués afin de réaliser ce modeste travail.

Enfin, j'adresse nos sincères remerciements à l'ensemble du personnel du Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition pour leurs aides, soutiens et les moments agréables passés ensemble durant le stage pratique.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts
a celui que j'aime le plus au monde ma mère, leur sacrifices et leur
encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes
sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les
remercier assez de m'avoir donné le meilleur.*

A mes chers frères Ayoub et Sadik.

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

Souhyla, Kheira, Meriem, Chahra et karima.

A toute ma famille et à tout ce qui me connais-je-vous aime.

Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation d'une plante médicinale *Rosmarinus officinalis* L. (Romarin) poussant à l'état spontané dans la région de Naama-Algérie. L'étude a consisté à suivre les effets antimicrobiens de l'extrait de la plante vis-à-vis d'un germe pathogène (*Staphylococcus aureus*) impliqué dans les intoxications alimentaires au cours de 9 jours de conservation de la viande de gigot ovin issue des pâturages steppiques à Bougtab relevant de la wilaya d'El Bayedh, Algérie. L'extraction des principaux actifs de la plante a été effectuée par macération du végétal dans un mélange hydroéthanolique à 80/20, (solvant/eau, v/v). L'extrait de romarin obtenu après évaporation du solvant a été dilué à 20, 40, 60, 80, et 100%, respectivement. Quinze prélèvements de 300 g de viande ont été effectués aléatoirement sur des carcasses de moutons après ressuyage, puis aseptisés sous UV, ensuite contaminés avec 2 ml d'inoculum d'une souche de référence (ATCC 25923) de *Staphylococcus aureus* et repartis en lots de 3 morceaux (de 300 g) de viande. Les échantillons de chaque lot ont été traités par ajout d'extrait de romarin à 0, 3, 6, 9 et 12 ml, respectivement et conservés dans des sachets stériles pendant 9 jours à 4°C. Plusieurs techniques de mesures ont été effectuées en triples essais dont : méthode de contact direct, méthode des disques, Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides (CMI et CMB). Les résultats ont subi une analyse de variance et une comparaison des moyennes selon le modèle de Newman et Keuls.

L'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. a présenté, notamment à l'état pur une activité antimicrobienne intéressante et proche de la gentamicine vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Le mode d'action de cet extrait contre le germe étudié est de type bactéricide.

Par rapport au témoin, l'ajout comme additif naturel à des quantités d'extrait de romarin variables de 1, 2, 3 et 4 ml par 100g de viande a permis de réduire à 72, 85, 95 et 98% respectivement le niveau de contamination au *Staphylococcus aureus* des produits expérimentaux conservés au froid à 4°C pendant 9 jours.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* (Romarin), extrait, antimicrobien, viande ovine, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Abstract

This work focused on the development of a medicinal plant *Rosmarinus officinalis* L (Rosemary) growing spontaneously in the Naama region, Algeria. The study consisted of monitoring the antimicrobial effects of the plant extract on a pathogenic germ (*Staphylococcus aureus*) implicated in food poisoning during 9 days of storage of the ovine leg meat pastures at Bougtob in the El Bayedh wilaya, Algeria.

Extraction of the main active ingredients of the plant was carried out by maceration of the plant in a 80/20 hydroethanol mixture (solvent / water, v / v). The rosemary extract obtained after evaporation of the solvent was diluted to 20, 40, 60, 80, and 100%, respectively.

Fifteen samples of 300 g of meat were randomly made on sheep carcasses after washing, then sanitized under UV, then contaminated with 2 ml of inoculum of a reference strain (**ATCC 25923**) of *Staphylococcus aureus* and distributed in batches. 3 pieces (of 300 g) of meat. Samples from each lot were processed by adding rosemary extract at 0, 3, 6, 9 and 12 ml, respectively, and stored in sterile pouches for 9 days at 4 ° C. Several measurement techniques have been carried out in triplicate tests including: direct contact method, disk method, Minimal Inhibitory Concentrations and Bactericides (MIC and CMB). The results were analyzed for variance and averaged by Newman and Keuls. The hydroethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L exhibited, especially in its pure state, an antimicrobial activity of interest and close to gentamicin with respect to *Staphylococcus aureus*. The mode of action of this extract against the studied germ is of bactericidal type.

Compared to the control, the addition as a natural additive to variable amounts of rosemary extract of 1, 2, 3 and 4 ml per 100g of meat allowed reducing to 72, 85, 95 and 98% respectively of level of *Staphylococcus aureus* contamination of the experimental products kept cold at 4 ° C for 9 days.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique.

Na Cl: Chlorure de Sodium.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

UFC : Unité forment colonie.

Aw : Activité de l'eau.

Mb : Myoglobine.

pH : Potentiel hydrogène.

ISO 8402 : Management et assurance de la qualité.

WHC: Water Holding Capacity.

PRE : pouvoir de rétention d'eau

MEC : Matrice extracellulaire.

Liste des figures

Figure 01. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	20
Figure02. Aspect morphologique du Romarin	21
Figure 03. <i>S. aureus</i> vu au microscope après coloration de Gram.....	27
Figure 04. Méthode d'extraction de l'extrait hydroethanolique de <i>R. Officinalis</i>	37
Figure 05. Les échantillons de gigot de la viande ovine d'Ouled Djellall	40
Figure 06. Aseptisation des échantillons de viande sous UV durant 15 à 20 minutes	41
Figure 07. Contamination et traitement de la viande à l'extrait de romarin	42
Figure 08. Effets de l'extrait à l'éthanol de <i>Rosmarinus officinalis</i> de Naama sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Figure 09. Effets des concentrations en extrai hydroéthanolique de <i>Rosmarinus</i> sur le diamètre d'inhibition de <i>Staphlococcus aureus</i>	46
Figure 10. Détermination de CMB de l'extrait à l'éthanol de <i>Rosmarinus officinalis</i> récolté à Naama chez <i>Staphulococcus aureus</i>	49
Figure 11. Effet de l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux cours de la conservation de la viande ovine a 4°C	50

Liste des tableaux

Tableau 01. Composition biochimique moyenne de la viande rouge	03
Tableau 02. Germes d'altération des viandes	11
Tableau 03. Germes pathogènes des viandes	11
Tableau 04. Composition des éléments nutritifs de romarin séché.....	22
Tableau 05. Matériels et produits du laboratoire utilisé	35
Tableau 06. Effet de l'extrait de Romarin sur la croissance de <i>S. aureus</i>	45
Tableau 07. Effet des concentrations en extrait hydroethanolique de <i>R. officinallis</i> sur le taux de croissance de <i>S. aureus</i>	46
Tableau 08. Effet de l'extrait éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de la région de Naama sur les diamètres d'inhibitions (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i>	47
Tableau 09. Effet de l'extrait Ethanolique de <i>R. officinalis</i> prélevée de région de Naama sur le taux d'inhibition de <i>S. aureus</i>	48
Tableau 10. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des concentrations de l'extrait hydroéthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Tableau 11. Type d'inhibition de l'extrait de romarin de Naama chez <i>staphylococcus aureus</i>	49
Tableau 12. Effet d'incorporation de l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur le niveau de contamination de la viande à 4°C	52
Tableau 13. Effet d'incorporation de l'extrait de <i>Rosmarinus officinales</i> sur le taux d'inhibition de <i>staphylococcus aureus</i> dans la viande conservée à 4°C	53

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	

Introduction	01
---------------------------	-----------

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la viande ovine.

1. Définition de la viande	02
2. Composition et valeur nutritionnelle de la viande	02
3. Qualités de la viande	03
3.1. Qualités organoleptiques	02
3.2. Qualité technologique.....	05
3.3. Qualité hygiénique.....	06
4. Facteurs influençant la qualité de la viande	06
5. Détermination de la couleur de la viande.....	07
5.1. Problème de couleur lié au pH	08
6. Méthode de conservation de la viande	08
6.1. Réfrigération.....	09
6.1.1.. Objectifs	09
6.1.2. Incidence microbiologique du stockage de la viande	10
6.1.3. Influence des paramètres de réfrigération	11
6.1.4. Influence sur la flore superficielle de contamination.....	12
6.1.6. Influence sur les germes anaérobies profonds	13
6.1.7. Techniques de réfrigération.....	13
6.2. Congélation	13
6.2.1. Influence de la congélation sur les microorganismes	14
6.2.1.1. Action de procédé de congélation	14
6.2.1.2. Influence de la température de congélation	14
6.2.1.3. Influence de la vitesse de congélation	15
6.2.1.2. Action de stockage en congélation.....	15

6.3. Produits chimiques.....	15
6.4. Utilisation des antioxydants dans la viande	16
7. Désinfection par UV	17

Chapitre II : *Rosmarinus officinalis*

1. Généralités	18
2. Historique	18
3. Noms vernaculaires	18
4. Définition	18
5. Origine du nom.....	19
6. Description botanique.....	19
7. Classification	20
8. Caractéristique de la famille des Lamiacées.....	20
9. Répartition géographique	20
10. Récolte du Romarin	20
11. Saveur, arôme et valeur nutritionnelle	21
12. Composés phénoliques	22
12.1. Généralités	22
12.2. Propriétés du Romarin.....	23
12.2.1. Activité antibactérienne	23
12.2.2. Activité antioxydant	24
13. Utilisation du Romarin	24
13.1. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques	24

Chapitre III: Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Définition	26
2. Historique	26
3. Taxonomie et propriétés.....	27
4. Habitat	28
5. Classification phylogénique.....	29
6. Caractéristiques du genre de l'espèce.....	29
7. Pouvoir pathogène.....	31
8. Isolement	31
9. Identification	32

10. Intoxication alimentaire.....	33
10.1. Toxi-infections alimentaires (TIA) à <i>S.aureus</i>	33
10.1.2. Tableau clinique.....	34
10.1.3. Préventions	34

Partie 2 : Méthodologie

1. Objectif.....	36
2. Matériels	36
3. Méthodes	37
3.1.Région de prélèvement	37
3.2.Préparation de la poudre végétale.....	37
3.3.Méthode d'extraction.....	37
4. Etude des effets antimicrobiens de l'extrait à l'éthanol de Romarin.....	38
4.1.Activation d'inocula microbien	38
4.2.Méthode de contacte directe	38
4.3.Méthode des disques par diffusion sur gélose	39
4.4. Concentration minimale inhibitrice CMI	39
4.5. Concentration minimale bactéricide CMB	41
5. Effets de l'extrait de Romarin sur la qualité de la viande	41
5.1.Echantillons de viande.....	41
5.2. Traitement de la viande	42
5.3.Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	43
5.3.1. Technique et dénombrement	44
5.3.2. Lecture	44
5.3.3. Expression des résultats.....	44
6. Traitement statistique	44

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats	46
1.1. Croissance du germe <i>Staphylococcus aureus</i>	46
1.2.Taux de croissance.....	47
1.3.Diamètre d'inhibition	48
1.4. Taux d'inhibition	49
1.5.Concentration minimale inhibitrice	50

1.6. Concentration minimale bactéricide	51
1.7. Type d'inhibition de l'extrait de Romarin	51
1.8. Effets d'incorporation de l'extrait de Romarin sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux cours de la conservation de la viande	52
1.9. Effets d'adjonction d'extrait de romarin sur les taux d'inhibitions de <i>Staphylococcus aureus</i> dans la viande ovine au cours de la conservation.....	53
2. Discussion	55
Conclusion	58
Bibliographie	60
Annexes	

Introduction

Depuis l'antiquité à ce jour l'homme continue d'utiliser de très nombreuses plantes, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs (**Decaux, 2002**).

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis*) fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des lamiacées, très appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales. (**Atik bekkara et al.2007**).

Une grande partie des recherches actuelles sont surtout portées sur l'étude des composés bioactifs des plantes comme les composés poly phénoliques. Plusieurs travaux de recherches ont été portés sur l'étude de l'activité antimicrobienne de *Rosmarinus officinalis* sur les germes responsables de toxi-infections alimentaires. (**Yesil et al. 2005**).

Parmi les espèces pathogènes les plus connues dans le monde Bacteria on distingue *Staphylococcus aureus*. Cette bactérie appartient à la famille de Staphylococcaceae, capable de produire une catalase (**Bourgeois et al., 1988**). Elle est très répandue dans la nature (**Jean-claude, 1973**). Elle se caractérise par son pouvoir de sécréter plusieurs entérotoxines (**Michel, 2005**).

Les aliments incriminés dans les toxi-infections alimentaires à *S. aureus* sont souvent des produits cuits contaminés après cuisson (viandes, poissons, tranches de charcuterie, pâtisseries, et crème glacée) ou des produits à teneur en eau réduite ou des fromages (**Bourgeois et al., 1988**).

Ces dernières années les études sont orientées à la recherche de nouvelles méthodes biologiques sont suggérées pour la conservation des aliments fragiles dont la viande, le lait et dérivés.

Parmi ces méthodes figure l'utilisation de probiotiques et des composés bioactifs comme le ***Rosmarinus officinalis*** (Bourgeois et Larpent, 1989).

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait à base de polyphénols vis-à-vis de *S. aureus* aux cours de la conservation de la viande ovine à 4°C.

Le manuscrit est scindé en trois parties. Une première partie a été consacré à l'étude bibliographique comportant l'essentiel des connaissances actualisées sur la viande ovine, l'espèce végétale *Rosmarinus officinalis* et l'espèce microbienne *Staphylococcus aureus*. Une seconde partie, retrace le matériel et les méthodes utilisées dans l'étude expérimentale.

Enfin, la dernière partie fait passer en revue d'une manière successive et objectif la discussion des résultats expérimentaux obtenus achevée par des perspectives de recherche et développement dans le domaine d'intérêt entrepris.

Partie I:

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la viande rouge

1. Définition de la viande

La viande est un aliment constitué de tissus musculaires de certains animaux, dont les mammifères (Ovin, bovin, caprin, camelin ...), les oiseaux (poulet, dinde, pintade ...), les reptile et celle des poissons (**Donzo, 2016**). Selon l'organisation mondiale de la santé animale le terme viande désigne toutes les parties comestibles en provenance des animaux mammifères et certains types des oiseaux, celle-ci peuvent inclure essentiellement le tissu musculaire puis le tissu adipeux et quelques organes internes (**Belitz et al., 2009**).

Les viandes se caractérisent par une grande hétérogénéité, elles sont principalement constituées de muscles striés squelettiques qui comportent aussi d'autres tissus en quantité très variable selon les espèces, les races, les âges, les régimes alimentaires et la région anatomique concernée. Ce sont surtout les tissus conjonctifs, adipeux parfois les os et la peau. Les viandes sont aussi classées selon la couleur en : Viandes rouges et viandes blanches et selon la richesse en graisse en: Viandes maigres et viandes plus ou moins riches en graisse.

2. Composition et valeur nutritionnelle de la viande

La composition du muscle est variable entre les animaux et chez un même animal d'un muscle à l'autre. Mais il y a une composition moyenne qui est retenue indiquée dans le **Tableau 01 (Coibion, 2008)**.

Tableau 01. Composition biochimique moyenne de la viande rouge (**Coibion, 2008**).

Composants	Moyennes (%)
Eau	75
Protéines	15,5
Lipides	3
Substances azotées non protéiques	1,5
Glucides et catabolites	1
Composés minéraux	1

3. Qualités de la viande

Selon la définition **ISO 8402**, estimer la qualité d'une entité c'est définir l'ensemble des caractéristiques de cette entité (activité, produit ou organisme) qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites en vue de son utilisation à la consommation et/ou à la transformation. La qualité est l'aptitude du produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs. En ce qui concerne la viande cette qualité regroupe plusieurs critères qui sont :

3.1. Qualités organoleptiques

Les principales caractéristiques sensorielles de la viande sont : la couleur, la tendreté, la jutosité et la saveur (**Grunert et al., 2004**).

3.1.1 Couleur

La couleur est la première caractéristique perçue par le consommateur. C'est souvent la seule dont il dispose car la couleur de la viande influence les décisions d'achat plus que tout autre facteur de qualité. De plus, les consommateurs utilisent à tort ou à raison la décoloration comme un indicateur de la nature et de la détérioration éventuelle de la qualité du produit (**Smith et al., 2000**). Le consommateur recherche, en général, une viande ni trop pâle ni trop foncée et de couleur homogène. La couleur dépend de la quantité de myoglobine, liée au pourcentage de fibres rouges (**Monin, 1991**). De l'état chimique de ce pigment, de l'âge ainsi que de la structure du muscle. L'abaissement du pH augmente la quantité d'eau extracellulaire et, en conséquence, la réflexion de la lumière incidente, ce qui confère un aspect clair aux viandes à bas pH.

3.1.2 Saveur

La saveur de la viande est le résultat complexe des sensations olfactives et gustatives lors de la digestion. Elle représente ce qui est perçu par le nez interne (arômes), la langue et les muqueuses buccales qui elles-mêmes détectent les saveurs. La perception de l'odeur est produite par des composés chimiques volatils de faible poids moléculaire. Le goût est généralement sollicité par des substances solubles dans l'eau et d'un poids moléculaire plus élevé. La saveur dépend essentiellement de la teneur en lipides dont le rôle important est attribué aux phospholipides dans le développement de la saveur caractéristique de la viande

cuite, du régime alimentaire et de l'espèce (**Hocquette et al., 2005**). La viande crue a une saveur peu prononcée (**Micol et al., 2010**).

3.1.3 Jutosité

La jutosité ou l'impression de libération de jus au cours de la mastication, appelée aussi succulence se présente sous deux aspects : la jutosité initiale, perçue au premier coup de dent, elle est surtout liée à la quantité d'eau présente et libérée lors de la mastication, la seconde est en relation avec la teneur en lipides de la viande, qui induit une plus ou moins grande salivation. Elle représente le caractère plus ou moins sec de la viande au cours de la consommation (**Micol et al., 2010**).

La jutosité varie avec le pouvoir de rétention d'eau (**PRE**) de la viande, les pertes à la cuisson et la présence de lipides. Aussi le pH est déterminant pour la jutosité, car il affecte la structure musculaire. Une viande à pH très bas a tendance à perdre son eau (viande exsudative à l'œil) et à être sèche en bouche et les viandes à pH élevé ont une très bonne rétention d'eau et présentent une jutosité supérieure (**Coibion, 2008**).

3.1.4 Tendreté

Mesure la facilité avec laquelle la viande va se laisser mastiquer. À l'inverse, la dureté désigne la résistance que la viande présente au tranchage ou à la mastication. La tendreté correspond à une somme de sensations perçues lors de la mastication de la viande.

La tendreté est influencée par différents facteurs et elle dépend de deux composantes protéiques structurales. La première correspond aux myofibrilles, plus particulièrement aux protéines constitutives des myofibrilles et aux différentes protéines qui leur sont associées et qui en assurent l'intégrité structurale. Les myofibrilles jouent un rôle important après l'abattage, au cours de la transformation du muscle en viande (phase de maturation de la viande), car c'est leur évolution qui est à l'origine de l'attendrissage de la viande. En effet, la protéolyse ménagée qui a lieu après la mort de l'animal favorisera la fragilisation de la structure myofibrillaire sous l'action de différents systèmes protéolytiques. La seconde composante musculaire correspond au tissu conjonctif et plus précisément le collagène qui est la protéine la plus abondante de la matrice extracellulaire (MEC). Elle représente, selon le muscle, jusqu'à 15% de la matière sèche (**Evrat- Georgel, 2008**).

3.2. Qualités technologiques

La qualité technologique de la viande correspond à ses aptitudes à subir une transformation. La qualité de la matière première doit être définie par rapport à l'utilisation envisagée.

3.2.1 Pouvoir de rétention en eau

Indiquée communément avec le terme anglais Water Holding Capacity ou avec le sigle **WHC**. Elle dépend de l'humidité libre (qui constitue plus du 95% du contenu hydrique total du muscle), la viande fraîche est la capacité des 20 % de protéines musculaires à retenir les 75 % d'eau présents ; c'est une caractéristique essentielle pour la fabrication de viande cuite. Il est fortement influencé par la vitesse de chute du pH *post mortem* ; une chute trop rapide du pH combinée à une température élevée provoque la dénaturation des protéines, conduisant à une réduction du pouvoir de rétention. Cela, entraîne une diminution du rendement de fabrication de viande cuite.

Une basse capacité de rétention d'eau signifie une plus grande quantité d'eau expulsée pendant la mastication, donc une plus grande jutosité (**Gaddini, 2000**), et est corrélée positivement avec la tendreté (**Gigli et al., 1994**).

3.2.2 PH

Le PH est déterminé à l'abattage (pH0) et après 24 heures (pH24), il est le premier indicateur de la qualité de la viande et permet d'évaluer la potentialité du muscle animal à devenir de la bonne viande ; ce paramètre donne même une mesure de l'aptitude à la conservation de tel aliment. En effet, des basses valeurs de pH limitent la croissance microbienne et préviennent par conséquent des possibles altérations (**Dell'Orto et al., 2000**).

Pour avoir une viande de bonne qualité, le pH doit diminuer, après l'abattage, pour l'augmentation dans le muscle de l'acide lactique, provoqué par la glycolyse post mortem du glycogène : cette chute doit être graduelle parce que, une baisse trop rapide, peut induire une dénaturation des protéines et une chute de la capacité de rétention d'eau (**Lanza et al., 1990**).

3.3. Qualité hygiénique

La qualité hygiénique de la viande constitue l'exigence principale pour le consommateur. Elle peut être altérée par la prolifération de microorganismes néfastes, de parasites et/ou la

présence de composés toxiques. La viande peut être contaminée par des microorganismes à différentes étapes de la chaîne de transformation. Le contrôle des proliférations microbiennes dépend avant tout du respect de la chaîne du froid (**Vierling, 2003**).

4. Facteurs influençant la qualité de la viande

4.1 Dépôt adipeux

Les lipides influent sur les qualités organoleptiques de la viande, ce qui gêne à étudier chacune indépendamment pour le même paramètre qui est le dépôt adipeux.

4.2 Age

Les phases d'évolution des caractéristiques des carcasses des moutons en fonction de leur âge à l'abattage sont relativement identiques que soit la race : de 3 à 6 ans, les poids des carcasses augmentent alors que la conformation et l'état d'engraissement sont relativement stables (**Bauchart et al., 2002**).

Au cours de la croissance et du vieillissement, la structure et la composition des muscles évoluent en augmentant la dureté, l'intensité de la saveur et de la couleur, variable selon les muscles, en fonction de leur position anatomique et de leur physiologiques (**Pierre et al., 2002**).

4.3 Génétique

Geay et Renard en 1994, ont démontré que la génétique était en partie responsable de dépôt adipeux et des qualités organoleptiques qui en découlent.

Les dépôts adipeux visibles peuvent être intramusculaires et leurs proportions varient non seulement entre les races, mais aussi au sein d'une même race. En effet, à même conditions d'élevage, il existe une grande variabilité entre animaux.

Généralement, on retrouve à un extrême les races de viande britanniques, caractérisées par les viandes les plus grasses, qui s'opposent aux races culardes aux viandes particulièrement maigres. Les races à viande continentales et les races mixtes se situent entre ces deux extrêmes. Il est à noter que les races mixtes sont plus grasses que les races à viande continentales. (**Gandemer et al., 1996**).

Une variabilité génétique intra race élevée pour l'adiposité des carcasses et pour la teneur en muscles en lipides. Par ailleurs, des animaux de différentes races élevées ou engraisées dans des conditions identiques présentent des différences significatives de poids et de composition de carcasse. Cependant, peu de différences marquées se retrouvent au niveau des caractéristiques des muscles de ces animaux. (Geay *et al.*, 1994).

4.4 Alimentation

L'alimentation diffère d'un type d'élevage à un autre et même d'une exploitation à une autre. Selon la nature des ressources alimentaires disponibles, la région, et aussi selon la saison, les aliments doivent apporter aux animaux les composants utiles à leurs fonctions vitales et leur croissance dont les nutriments : l'eau, les glucides, les protéides, les lipides, les minéraux et les vitamines.

5. Détermination de la couleur de la viande

Au moment de l'achat, le consommateur, en général, anticipe la dépense qu'il est prêt à engager pour le produit dont la viande d'après sa couleur. Cependant, il tient aussi de la fraîcheur, évaluée en fonction de l'humidité de surface et de la quantité de graisse dans le produit (Mancini et Hunt, 2005).

La couleur de la viande est déterminée par la quantité de myoglobine. Lorsque l'animal atteint l'âge adulte, la concentration de myoglobine augmente et la chair devient rouge. La couleur peut être classée subjectivement par comparaison avec une grille de cartes de couleur, mais peut également être mesurée objectivement et de façon reproductible par colorimétrie avec des spectrophotomètres.(Albertí *et al.*, 2017).

Enfin, quelques millimètres sous la surface, là où les pressions partielles en oxygène sont faibles, mais pas nulles, se trouvent une troisième forme du pigment : la myoglobine oxydée, encore appelée metmyoglobine (MetMb), dont la couleur brune est peu attractive (Moëvi, 2006).

5.1. Problèmes de couleur liés au pH

Plusieurs types de problèmes peuvent se rencontrer, liés à la vitesse de chute du pH ou au pH atteint en finale dans la viande : le pH ultime. Dans certaines conditions, la chute du pH peut être hétérogène au sein du muscle et conduire à l'apparition momentanée d'une double coloration de viande. Ce phénomène est connu sous le nom de « heat ring », ce qui signifie «

anneau de chaleur ». Il apparaît suite à une réfrigération rapide des carcasses et se caractérise par une zone sombre en périphérie de certains muscles. La coloration spécifique de cette zone provient d'un pH plus élevé qu'à cœur du muscle. Les problèmes de couleur relatifs au pH ultime concernent les viandes insuffisamment acidifiées, à pH élevé, appelées viandes à coupe sombre ou encore viandes D.F.D. : sombres, fermes, sèches (de l'Anglais « Dark, Firm, Dry») (Moëvi, 2006).

6. Méthodes de conservation de la viande

La conservation de la viande est devenue essentielle pour le transport de la viande pour longues distances sans altérer la texture, la couleur et la valeur nutritive après le développement et la croissance rapide des supermarchés (Nychas *et al.*, 2008).

Les viandes sont des denrées très périssables ; leur production industrielle n'est envisageable que si elle est associée à des méthodes de conservation fiables et de durée convenable.

La conservation est le procédé de traiter et manipuler les nourritures d'une manière telle qu'elle arrête ou ralentit la croissance des bactéries, champignons et autres microorganismes ainsi que de retarder l'oxydation des graisses qui provoque le rancissement.

Les méthodes traditionnelles de conservation de la viande telles que le séchage, le fumage, le saumurage, la fermentation, la réfrigération et la mise en conserve ont été remplacées par de nouvelles techniques de conservation telles que l'ajout de produits chimiques et les techniques non thermiques (Zhou *et al.*, 2010).

Les méthodes actuelles de conservation de la viande sont largement classées en trois méthodes visant au contrôle de la température, le contrôle de l'activité de l'eau et l'utilisation de produits chimiques ou de bio conservateurs (Zhou *et al.*, 2010). Une combinaison de ces techniques de conservation peut être utilisée pour diminuer le processus de détérioration (Bagamboula *et al.*, 2004).

6.1. Réfrigération

C'est le développement progressif de la chaîne du froid qui a donné à l'industrie de la viande son ampleur actuelle. Elle consiste à abaisser la température de la viande à une température légèrement supérieure à son point de congélation (-0.4°C pour les carcasses).

Il est employé par deux méthodes : refroidissement par immersion, dans lequel le produit est plongé dans un liquide de refroidissement (4°C) et refroidissement de l'air, dans lequel les

carcasses sont vaporisées d'eau dans une pièce avec circulation d'air frais (**Carroll et al.,2008**).

La durée de la réfrigération de la viande est influencée par les espèces d'origine, la charge microbienne initiale, l'emballage et la température ainsi que le taux d'humidité pendant le stockage. Le porc et la volaille commencent par charge microbienne comparativement élevée. Indépendamment des espèces d'origine, un soin maximum doit être pris lors de la manipulation de la viande afin de vérifier la contamination microbienne supplémentaire. La température de réfrigération favorise la croissance des organismes psychrophiles responsables de la détérioration de la viande en temps voulu (**Mahendra, 2018**).

Généralement, la viande fraîche reste en bon état pendant une période de 5 à 7 jours si elle est conservée à une température de réfrigération de $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Raccourcissement à froid et le durcissement peut résulter du refroidissement ultrarapide de la viande pré-rigor (**Ockerman et al.,2004**). Il est souligné que la viande transformée doit être stockée sous condition réfrigérée jusqu'à ce qu'elle soit finalement consommée. La viande bien conservée a une durée de conservation améliorée par rapport à la viande fraîche (**Mahendra Pal, 2018**).

6.1.1. Objectifs

Les objectifs de la conservation de la viande par le froid sont multiples dont :

Contrôler les infections d'origine alimentaire et les intoxications ; Assurer la sécurité des aliments des microbes ; Empêcher la détérioration des aliments ; Prolonger la durée de vie des aliments ; Améliorer la qualité de conservation des aliments et réduire les pertes financière (**Pal, 2014**).

6.1.2. Incidences microbiologiques du stockage de la viande

Pratiquement seules les germes superficiels peuvent évoluer (**Chougui, 2015**).

6.1.2.1 Germes d'altération

La croissance des germes psychrophiles aérobies gram négatifs responsables d'altérations (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Staphylocoques*...) des viandes est en général ralentie entre 0 et 4°C et des A_w inférieur à 0.96.

Tableau 2 : Germes d'altération de la viande (Chougui, 2015).

Types d'altération	Bactéries	Mécanisme
Putréfaction profonde	<i>Clostridium perfringens</i>	Protéolyse
Putréfaction superficielle	<i>Pseudomonas ; Acinetobacter</i>	Protéolyse
Production d'odeurs: acide fromage soufrée	Bactérie lactiques ; <i>Brochotrix thermosphacta</i> <i>S.liquefaciens/ ; Alteromonas</i>	Glucidolyse AG volatils AA soufrés
Altération de couleur verdissement	<i>Pseudomonas ; Brochotrix</i> <i>thermosphacta ; Lactobacilles</i>	Production H ₂ S Production H ₂ O ₂

6.1.2.2 Germes pathogènes

La réfrigération limite l'activité des germes susceptibles de provoquer des intoxications alimentaires. Leur multiplication s'effectue surtout au voisinage de 37°C

Tableau 3 : Germes pathogènes de la viande (Chougui, 2015)

Bactéries	Intoxication/Symptômes
<i>Clostridium botulinum</i> * A et B E	Dédoubllement de la vision, Gorge sèche, puis paralysie des muscles (respiratoires) et mort en absence de traitement
<i>Staphylococcus aureus</i> *	Vomissements suivi quelques heures après des diarrhées, Guérison rapide ; mais risque d'hypotension parfois mortelle,
<i>Salmonella, Shiguella</i>	Gastro-entérite aigues, forte fièvre, vomissements 2j après convalescence longue et mort parfois.
<i>Clostridium perfringens Bacillus cereus</i>	Douleurs abdominales, diarrhées, parfois vomissements 14j après et guérison rapide.
<i>E. coli vérotoxigène</i>	Coliques hémorragiques, défaillance rénale aigue
<i>Listéria monocytogene</i>	Si immuno-déprimé : méningite (maux de tête), avortement.....

L'arrêt de la croissance des microorganismes est observé :

- Pour les germes pathogènes vers 7°C (3°C pour *Clostridium botulinum* E)
- Pour l'ensemble des bactéries vers -8°C, pour les levures vers -10°C
- Pour les moisissures vers -12°C

6.1.3. Influence des paramètres de réfrigération (température, vitesse de réfrigération)

Pendant le refroidissement il y a un échange de chaleur entre une ambiance froide et le produit. Si la teneur en eau de l'environnement et de surface du produit n'est pas en équilibre, il se produira aussi un transfert de masse à l'interface provoquant une dessiccation en surface, des changements de poids dus à l'évaporation, migration de l'eau dans le produit.

La viande chaude dans une ambiance froide va donc perdre à la fois de la chaleur et de la vapeur d'eau. La température de la viande va ainsi baisser progressivement et sa masse va diminuer avec le temps jusqu'à obtention d'un équilibre.

La vitesse de refroidissement est très variable selon les conditions appliquées (température de l'air, vitesse de l'air, humidité relative, durée) et selon les caractères du produit (composition en matière grasse, géométrie, dimension, épaisseur). Le refroidissement est d'autant plus rapide que la température est plus basse et la vitesse de l'air est plus grande (**Chougui Nadia 2015**).

6.1.3.1. Température de stockage en réfrigération

Les altérations que la viande va subir après la mort dépendront du niveau de la température. La température a un effet sélectif: le type de bactérie se développant sur la viande est différent selon la température de stockage **Chougui Nadia 2015**.

6.1.3.2. Vitesse de réfrigération

Une carcasse chaude (35-40°C) introduit dans une chambre à -1°C se refroidit rapidement en surface. Il faudrait 2 h30 à 3 h pour qu'une épaisseur de ½ cm atteigne une température de 0°C.

Le refroidissement en profondeur est beaucoup lent. Pour atteindre une température de 5°C, il faudrait 60 h en réfrigération lente et 24 h en réfrigération rapide. Cette durée peut être réduite jusqu'à 8 h mais avec risque de congélation de la surface de la carcasse.

Plus la vitesse de refroidissement est rapide plus le temps de conservation est plus long **Chougui Nadia 2015**.

6.1.4. Influence sur la flore superficielle de contamination

La vitesse de réfrigération et la vitesse de l'air conditionnent la dessiccation de la viande. Il a été montré que la vitesse de dessiccation est un facteur aussi important que la vitesse de refroidissement dans la limitation du développement microbien.

Pour obtenir un meilleur résultat, il est préférable que la dessiccation des tissus superficiels se produise au moins pendant les premières 24 h de réfrigération (plus la vitesse de l'air est rapide plus la teneur en eau de la viande est faible et plus le développement microbien est réduit).

Pour réduire les pertes d'eau il faut maintenir une humidité élevée dans les chambres de réfrigération (80-95 %) et de préférence augmenter la vitesse de refroidissement en début de refroidissement, pendant un temps réduit, puis diminuer la vitesse une fois la température de surface atteint une température basse **Chougui Nadia 2015** .

6.1.6. Influence sur les germes anaérobies profonds

Pendant les 10 premières heures *post-mortem*, les éventuels contaminants anaérobies profonds ne peuvent se multiplier en raison de la réserve en oxygène. Quand celui-ci est épuisé, la prolifération microbienne des anaérobies commence si la carcasse n'a pas refroidi rapidement **Chougui Nadia 2015**.

6.1.7. Techniques de réfrigération

Cas de grosses carcasses

➤ **Réfrigération lente** : Procédé traditionnel de refroidissement à l'air ambiant à une température voisine de 15°C.

➤ **Refroidissement rapide** : Dans une chambre moderne de réfrigération avec circulation forcée d'air à des températures voisines de 5°C. C'est la technique la plus utilisée actuellement (**Chougui Nadia 2015**).

6.2. Congélation

La congélation est une méthode idéale pour conserver les caractéristiques d'origine de viande fraîche. Elle consiste à abaisser suffisamment la température du produit de façon à transformer une grande partie de son eau en glace et à maintenir cet état pendant toute la durée de la conservation.

La viande contient environ 50-75% en poids d'eau, selon l'espèce, et le processus de congélation convertit la majeure partie de l'eau en glace (Heinz et al., 2007). Elle arrête la charge microbienne et retarde l'action des enzymes (Mahendra, 2018).

L'avantage le plus important de la congélation est la rétention de la plupart des valeurs nutritives de la viande pendant le stockage, avec une très faible perte de nutriments présents dans le goutte-à-goutte au cours du processus de décongélation. C'est important d'emballer la viande fraîche dans un film d'emballage approprié avant de congeler autrement la viande subite une brûlure par congélation. Cette condition anormale se produit en raison de déshydratation progressive de la surface entraînant la concentration des pigments de la viande sur la surface (Mahendra, 2018).

La qualité de la viande congelée est également influencée par son taux de congélation. Dans la congélation lente, il y a formation de gros cristaux de glace, ce qui peut causer dommages physiques aux tissus musculaires, ce qui lui donne un aspect déformé. En congélation rapide, de nombreux petits cristaux de glace sont formés uniformément dans tout le tissu de la viande. Le taux de congélation est augmenté avec des baisses de température, près de 98% de l'eau gèle à -20 °C et la formation complète de cristaux se produit à 65 °C (Rosmini et al., 2004). Ainsi, le problème du rétrécissement de la fibre musculaire et de l'apparence distendue n'est pas présent dans le tissu de la viande. Les pertes par égouttement pendant la décongélation sont considérablement basses que l'eau gèle dans la fibre musculaire elle-même, nombreuses petites glaces cristaux à la surface de la viande surgelée sont également importants ; ils donnent une couleur claire désirable comparée à la viande congelée lente (Mahendra, 2018). La croissance microbienne s'arrête à -12 °C et l'inhibition totale du métabolisme cellulaire dans les tissus animaux s'opère à des températures inférieure à - 18 °C (Perez-Chabela et al., 2004). Cependant, les réactions enzymatiques, le rancissement oxydatif et la cristallisation de la glace joue un rôle important dans la détérioration de la viande (Zhou et al., 2010). Pendant la congélation, environ 60% de la population microbienne viable meurt, mais la population restante peut augmenter progressivement pendant la congélation (Mahendra, 2018).

6.2.1. Influence de la congélation sur les microorganismes

6.2.1.1. Action du procédé de congélation

La congélation empêche les microorganismes (bactéries, champignons microscopiques) de se multiplier.

La congélation agit sur la flore microbienne de plusieurs manières : abaisse la température (réduit la vitesse de multiplication), transforme l'eau en glace (réduit l' A_w), altère la structure ou le métabolisme des germes (lésions des membranes et dénaturation des protéines par les cristaux d'eau) **Chougui Nadia 2015.**

6.2.1.1.1 Influence de la température de congélation

Les températures de congélation élevées sont plus létales que les basses températures (de -4°C à -10°C), un plus grand nombre de microorganismes sont inactivés jusqu'à -15°C , et à -30°C l'inactivation est nulle. La survivance des Salmonelles sur le poulet est plus grande à -20°C qu'à -2°C . Il semble qu'aux températures de congélation élevées un grand nombre de protéines (enzymes) sont détruites.

La vitesse de destruction des germes est rapide aux hautes températures et lente à basse température d'où l'utilisation de la conservation des souches de bactéries à très basse température **Chougui Nadia 2015.**

6.2.1.1.2 Influence de la vitesse de congélation

La congélation très lente ($0,05^{\circ}\text{C}/\text{min}$) favorise la formation de gros cristaux de glace de ce fait elle a un effet plus néfaste que la congélation rapide (1 à $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$) sur les pertes d'eau lors de la décongélation (augmentation de la concentration des cellules en soluté) et sur la survie des bactéries. Cet effet est plus marqué dans les premières minutes de la descente en température.

C'est pourquoi la congélation ultra rapide est utilisée pour la conservation des germes car la pénétration rapide du froid maintient l'eau sous forme de cristaux de tailles très fines.

De plus certains constituants de la viande ont un effet protecteur vis-à-vis de l'action létale de la congélation (NaCl, glycérol, glucose..).

La congélation rapide préserve mieux l'intégrité des tissus de la viande et même celle des microorganismes **Chougui Nadia 2015.**

6.2.1.2. Action du stockage en congélation

La destruction des microorganismes est d'autant plus importante que le stockage est long. La destruction des germes est graduelle, touchant plus les cellules les plus sensibles. Les plus résistantes persistent et survivent à la congélation le long de la durée de stockage **Chougui Nadia 2015**.

6.3. Produits chimiques

La congélation est le meilleur moyen de préserver la carcasse, la viande et les produits à base de viande pendant plus longtemps, ce qui inhibe la croissance bactérienne, mais pas les psychrophiles et les spores. La plupart de ceux-ci survivent à la congélation et se développent pendant la décongélation (**Neumeyer et al., 1997**).

Ils existent des produits chimiques ont été utilisés comme additifs alimentaires pour la conservation de la viande, mais chaque pays a établi ses règles et règlements et des limites afin de prévenir les effets nocifs pour l'homme (**Cassens, 1994**). La conservation par congélation ne peut pas empêcher l'oxydation et l'altération microbienne et enzymatique (**Jay et al., 2005**).

Les conservateurs antimicrobiens sont des substances qui sont utilisées pour prolonger la durée de conservation de viande en réduisant la prolifération microbienne lors de l'abattage, transport, traitement et stockage (**Rahman, 1999**). Les composés antimicrobiens ajoutés durant le traitement ne doivent pas être utilisés comme un substitut à de mauvaises conditions de traitement ou de couvrir un produit déjà gâté (**Ray, 2004**). Ils offrent une bonne protection pour la viande en combinaison avec la réfrigération (**Cassens, 1994**).

Plusieurs acides organiques ont généralement été reconnus comme sûrs. L'acide benzoïque, l'acide citrique, l'acide propionique, l'acide sorbique et leurs sels sont des inhibiteurs de moisissures efficaces. L'acide acétique et l'acide lactique empêchent la croissance bactérienne alors que le sorbate et l'acétate sont capables d'arrêter la croissance des levures dans l'aliment. L'acide ascorbique (vitamine C), l'ascorbate de sodium et le D-isoascorbate (érythorbate) ont été utilisés comme des conservateurs de la viande. Leurs propriétés antioxydantes peuvent oxyder les espèces réactives d'oxygène produisant de l'eau. L'acide ascorbique a montré une bonne aptitude à améliorer l'activité antimicrobienne des sulfites et des nitrites (**Mahendra, 2018**).

6.4. Utilisation des antioxydants dans la viande

L'utilisation d'antioxydants est une action primordiale de l'industrie de la viande augmenter la durée de conservation de leurs produits (**Lorenzo et al., 2018**). Celles-ci les composés exercent un rôle spécifique, par exemple, rompre la chaîne oxydative réaction, chélatant les métaux de transition et piégeant les radicaux libres et réactifs espèces (**Augustyniak et al., 2010**), empêche l'activité antimicrobienne. Cependant, l'impact incertain de sources synthétiques d'antioxydants dans la santé a été considéré comme inconvenient pour les consommateurs en raison du risque potentiel pour la santé. Dans ce scénario conflictuel d'utilisation à grande échelle dans les produits carnés et les produits de santé, antioxydants synthétiques sont suggérés pour être remplacés par des composés naturels dans l'industrie de la viande (**Fernandes et al., 2016**).

I.7. Désinfection par UV

Dans l'industrie alimentaire, il est très important de maintenir des niveaux maximaux d'hygiène et de sécurité contre les germes qui peuvent endommager les produits. La législation devient de plus en plus sévère, mais les bactéries, les champignons et les levures ont tendance à croître dans tous les coins.

La stérilisation par rayonnement ultraviolet est une méthode de stérilisation reposant sur la sensibilité des microorganismes à l'exposition aux basses longueurs d'onde des ultraviolets. Cette méthode est utilisée dans les laboratoires de recherche pour préparer les plans de travail stériles, pour la conservation des aliments, ou encore la purification de l'air ou l'eau. Les ultraviolets sont connus pour leur caractère mutagène depuis le début du XX^e siècle.

L'utilisation des basses longueurs d'onde des ultraviolets affecte l'intégrité des génomes des organismes exposés par l'accumulation de dommages tels que l'apparition de dimères de pyrimidines. L'accumulation de ces dommages conduit à la mort des organismes exposés.

Contrairement aux méthodes de désinfection de l'eau par les produits chimiques, l'irradiation par lumière UV inactive rapidement et efficacement les microorganismes par un processus physique. Lorsque les bactéries, les virus et les protozoaires sont exposés aux longueurs d'ondes germicides de la lumière UV, ils deviennent incapables de se reproduire et perdent leur pouvoir d'infection.

La lumière UV a démontré son efficacité contre les organismes pathogènes, notamment ceux qui sont responsables du choléra, de la polio, de la typhoïde, de l'hépatite et d'autres maladies d'origine bactérienne, virale et parasitaire. En outre, trojan exploite la lumière UV (seule ou

associée au peroxyde d'hydrogène) pour détruire les contaminants chimiques tels que pesticides, solvants industriels et produits pharmaceutiques par un procédé nommé l'oxydation par UV (**Trojan Technologies, 2019**).

Chapitre II : Généralités sur le *Rosmarinus officinalis.L*

1. Généralité

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (Mailhebiau, 1994).

2. Historique

Le romarin, chargé de symboles chez les anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes (Botineau, 2010). Les médecins arabes utilisaient beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (Fuinel, 2003).

3. Noms vernaculaire

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

4. Définition

Il appartient à la famille des Lamiaceae, il est très commun dans tous le bassin méditerranéen (Bruneton, 1999). Selon Gonzalez-Trujano *et al.* (2007) le romarin est un petit arbuste aromatique, mesurant environ 0,8- 2m, ces fleurs sont violettes avec des bouts violet-bleus. Cette plante possède des feuilles touffus, persistantes et qui sont sessiles, opposées, linéaires et coriaces, enroulées sur les bords (Bruneton, 1999 ; Zegura *et al.*, 2011). Elle est riche en métabolites actives, et utilisée en médecine traditionnelle (Abutbul *et al.*, 2004). Le romarin ou romarin officinal (*Rosmarinus officinalis L*) est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage, en particulier dans les garrigues arides et rocailleuses, sur terrains calcaires. On le reconnaît aisément, toute l'année. Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, qu'on aura pris le soin de sécher, qui souvent utilisées en phytothérapie. Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques (Gianmario *et al.*, 2007), et une action sur le système nerveux (Gonzalez

et al., 2007 ; Suzana et al .,2007). Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne (Jones, 1998 ; Thoresen et Hildebrand, 2003). Le romarin, comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes.



Figure 1. *Rosmarinus officinalis* (Wikipédia, 2018)

5. Origine du nom

Le romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin « *ros marinus* », (rosée de mer). Il est appelé également « herbe-aux-couronnes ». En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouve seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* (Escuder, 2007).

6. Description botanique

Le romarin appartient à la famille des lamiacées au sein du genre *Rosmarinus officinales L.* C'est un arbrisseau toujours vert, peut atteindre jusqu'à 2 mètre de hauteur. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La floraison commence dès le mois de février (Ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *Rosmarinus officinalis albiflorus*). Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base. Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tetrakène de couleur brune (Wikipédia, 2018).

7. Classification

La classification botanique du romarin est comme suit (QUEZEL et SANTA, 1963). :

Embranchement: Spermaphytes

Classe: Dicotylédones

Ordre : Lamiales (labiales)

Famille: Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce: *Rosmarinus officinalis L.*



Figure 2 : Aspects morphologiques du Romarin (QUEZEL et SANTA, 1963).

8. Caractéristiques de la famille des Lamiacées

Cette famille, très homogène, comprend environ 7000 espèces. C'est une famille dont l'aire de répartition est vaste avec une prépondérance dans les régions méditerranéennes. Elles sont utilisées en herboristerie, en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates. (Dupont et Guignard, 2007 ; Botineau, 2010).

9. Répartition géographique

Rosmarinus officinalis L. est une plante spontanée de tout le bassin méditerranéen et plus particulièrement du littoral qui demande un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec. De par ces exigences, elle est indigène des pays méditerranéens tels que, Italie, Espagne, Tunisie, Maroc, Algérie, Ex-Yougoslavie, Albanie, Egypte, Palestine, Grèce, Chypre et jusqu'en Asie mineure, au Portugal, au nord ouest de l'Espagne (Davi, 1982) ; Il est retrouver dans tout le sol algérien (Quezel, 1963).

10. Récolte du Romarin

De manière générale, la récolte d'une plante (Romarin) est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum. Les feuilles et tiges herbacées sont récoltées lorsque la fleur commence à se développer, 12 à 18 mois après plantation (Reclu, 2004). Les feuilles se récoltent toute l'année mais sont plus parfumées au printemps. Il faut donc les cueillir à cette période. La récolte se fait par temps chaud et sec soit deux ou trois heures après le lever du soleil quand la rosée s'est dissipée (Reclu, 2004 ; Gilly, 2005 et Harding, 2011).

Quant aux fleurs et sommités fleuries (partie supérieure du végétal), elles sont récoltées au même moment de la journée que les feuilles quand les fleurs commencent à s'épanouir.

L'odeur résidant principalement dans le calice, celui-ci doit être pris délicatement et séché. La récolte des sommités fleuries a lieu au mois de juillet (Reclu, 2004). Séchée est passée au crible afin de n'obtenir plus que des feuilles et des fleurs (Gilly, 2005). Afin de ne pas abîmer les plantes sauvages, les récoltes seront modestes (Scherf, 2012).

Pour le séchage des feuilles et tiges herbacées : étalées sur des châssis de toile à larges mailles ou sur de la paille bien sèche, et séchées dans une pièce exposée aux rayons du soleil. Il faut les brasser régulièrement afin que l'air pénètre uniformément. A conserver dans une pièce non humide (Reclu, 2004). Les feuilles séchées sont ensuite séparées des tiges (Scherf, 2012).

Fleurs et sommités fleuries sont espacées sur des claies garnies de papier, remuées de temps en temps, dans une pièce ensoleillée ou à l'étuve. Une fois sec, conserver le Romarin environ une année dans des bocaux ou boîtes garnis de papier et bouchés ou en petites bottes enveloppées dans du papier et gardées au sec. (Reclu, 2004).

11. Saveur, arôme et valeur nutritionnelle

Le romarin possède une odeur légèrement camphrée et une saveur piquante et parfumé assez prononcée (Mini-encyclopédie des aliments, 2008), il contient plusieurs éléments nutritifs (Voir Tableau 1).

Tableau 04. Composition des éléments nutritifs de romarin séché (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2011).

Nutriments	Unités	Valeurs par 100 g
Eau	g	9.31
Energie	Kcal	331
Protéine	g	4.88
Lipides Totaux (matières grasses)	g	15.22
Glucides, par différence	g	64.06
Fibres	g	42.6
Calcium	mg	1,280
Vitamine C	mg	61.2
Vitamine B6	mg	1.740
Vitamine B12	mg	0.00
Acides gras saturés	g	7.371
Acides gras, mono insaturés	g	3.014
Acide gras polyinsaturés	g	2.339

12. Composés phénoliques

12.1. Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Urquiaga et Leighton, 2000**). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Macheix et al., 2005**). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**), les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheix et al., 2005**).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (**Macheix et al., 2005**).

12.2. Propriétés du Romarin.

12.2.1. Activité antibactérienne

Le phénol fut le premier antiseptique et désinfectant largement utilisé pour réduire le risque d'infections durant les interventions chirurgicales. Il agit par dénaturation des protéines et altération des membranes cellulaires des bactéries (**Prescott et al., 2003**). Les flavonoïdes peuvent affecter la croissance et le métabolisme bactérien par inhibition de la synthèse de l'acide nucléique, inhibition des fonctions liées aux membranes cytoplasmiques et du

métabolisme énergétique. Des études effectuées par **Rodriguez vaquero et al., (2006)** ont montré l'effet bactéricide de l'acide hydrocynamique sur *Listeria monocytogenes*. Cela est dû à la propriété de la chaîne latérale de l'acide hydrocynamique qui est moins polaire comparée aux autres composés phénoliques et peut ainsi facilement traverser la membrane cellulaire de la bactérie et se lier aux constituants cellulaires perturbant ainsi le métabolisme bactérien. D'autres études sur *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* ont montré que l'acide coumarique, l'acide cinnamique, l'acide caféique, et l'acide ferulique provoquaient une inhibition à une concentration élevée (10mg.ml⁻¹).

Le Romarin a été testé sous différentes formes contre différentes bactéries à Gram positif ou négatif responsables de différents types de pathologies. Depuis que l'imperméabilité de la membrane bactérienne est considérée comme un mécanisme de résistance, il est clair que compromettre cette barrière par sa perméabilisation serait une approche efficace pour la lutte contre la résistance aux antimicrobiens.

L'activité antimicrobienne et la modification de la résistance des constituants du Romarin ont été démontrées. Bien que l'activité antimicrobienne puisse ne pas être d'une importance clinique, l'action de modification de la résistance est intéressante puisqu'il n'existe pas d'agent modifiant la résistance connu dans l'utilisation clinique actuelle (**Oluwatuyi et al., 2004**).

12.2.2. Activité antioxydant

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

13. Utilisations du romarin « *Rosmarinus officinalis* »

Le romarin est à la fois une plante ornementale, aromatique et médicinale. Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées en tant que condiment et rentrent dans la composition des thés et infusions. *Rosmarinus officinalis* sous forme de feuille séchées ou d'huile essentielle, trouve sa principale utilisation pour la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, tonifiants de cheveux, shampooings et autres préparations). *Rosmarinus officinalis* sert aussi pour produire les antioxydants naturels qui ont plusieurs utilisations dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et en pharmaceutiques. (**Chafai Elalaoui et al., 2014**).

13.1. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

Depuis l'antiquité, le romarin est employé pour améliorer et stimuler la mémoire. Encore aujourd'hui, en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens. Le romarin est en effet considéré comme une plante tonique, revigorante, stimulante: autant de vertus que reflète sa saveur aromatique bien particulière. Il agit sur le système nerveux central comme stimulant et pour usage externe, comme cicatrisant. L'infusion des feuilles ont plusieurs actions physiologiques: stimulant générale, cholagogue, antiseptique, diurétique, emménagogue. Le romarin stimule la circulation cérébrale, améliore mémoire. Il soulage également céphalées et migraines. Il favorise la pousse des cheveux en stimulant l'irrigation du cuir chevelu (**Iserin et al., 2001**).

En Tunisie, les feuilles de *R.officinalis* sont utilisées comme antispasmodiques pour les voies digestive et comme vermifuges. Les feuilles séchées, moulues et mélangées avec de l'huile d'olive sont mises sur la circoncision due à une récente blessure (**Okamura et al., 1994**). Les feuilles de la plante sont utilisées généralement comme épices et comme source de composés antioxydants susceptible d'améliorer la conservation des nourritures. La décoction de romarin des feuilles peut être utilisée contre l'eczéma et d'autres maladies cutanées (**Altinier et al., 2007**).

Chapitre III : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Définition

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*.

2. Historique

L'existence d'un monde bactérien fut méconnue jusqu'à l'invention de microscope au début du XVIII siècle. Les travaux réalisés dans les années 1870 ont mis en évidence la présence de cocci dans des pus et des abcès. Considérés comme une entité unique, ils furent nommés *Coccobacteria septicum* par Billroth en 1874. Leur implication possible en tant qu'agents pathogènes ne fut démontrée que plus tard par Ogston, qui mit en évidence des espèces saprophytes colonisant la peau, et d'autres responsables de furoncles et de surinfections de plaies. Il fit également la distinction entre les cocci en chainettes, les *Streptococcus* et ceux en grappe, les *Staphylococcus*, scindant ainsi le genre en deux (Hill, 1981).

Les Staphylocoques ont été découverts par PASTEUR en 1880. En 1883 OGSTAN a créé le monde "Staphylocoque" pour décrire ces grains (KOKKOS) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Staphylos). En 1884 ROSBACH a obtenu des cultures pures de ces bactéries.

L'espèce *Staphylococcus aureus*, ainsi nommée en raison de sa pigmentation, fut décrite en 1884 par Rosenbach. Ce dernier différençia *Staphylococcus pyogenes aureus* des autres cocci à Gram positif en amas, nommés *Staphylococcus pyogenes albus* et *Staphylococcus pyogenes citreus*, en fonction de la couleur du pigment. L'appellation *Micrococcus* était également employée sans distinction (Hill, 1981).

La séparation des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*, mais aussi des *Neisseria*, a été ébauchée à partir de 1925 par l'utilisation progressive de tests biochimiques d'identification tels que la capacité d'utilisation du mannitol ou du glucose, la présence d'une gélatinase, d'une hémolysine ou d'une leucocidine, la production d'ammoniaque à partir d'arginine, d'acide à partir du glycérol ou encore la présence d'une coagulase. Une méthode de classification basée sur ces tests a permis à Hill en 1959 (Hill, 1981) de montrer que le groupe des souches identifiées comme *Staphylococcus aureus* formait un groupe homogène et une espèce à part entière.

Le genre *Staphylococcus* a été définitivement différencié de celui des *Micrococcus* par l'étude de leur ADN et de leur contenu en guanine et cytosine (GC %), qui est faible pour les *Staphylococcus* (30 à 38 %) mais élevé pour les *Micrococcus* (65 à 75 %). L'introduction de techniques génomiques en 1976 a permis la vérification de certaines classifications tout en engendrant de nombreuses modifications, amenant progressivement à la taxonomie actuelle (Hill, 1981).

3. Taxonomie et propriétés

La maladie humaine d'origine alimentaire est une intoxication due à l'ingestion d'enterotoxines staphylococciques (SE (1)), protéines thermorésistantes préformées dans l'aliment, dans lequel *S. aureus* (ou tout autre staphylocoque) producteur de SE a pu se développer et produire sa (ou ses) toxine(s).

D'après l'analyse du gène codant l'ARN ribosomal 16S, le genre *Staphylococcus* est depuis 2002 classé dans la famille des *Staphylococcaceae*, ainsi que *Gemella*, *Macrococcus*, *Jeotgalicoccus* et *Salinococcus*.

Le genre *Staphylococcus* comporte 47 espèces et 24 sous-espèces, dont 17 sont retrouvées chez l'homme (Bes et Brun, 2002).

S. aureus est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, se disposant le plus souvent en amas ou en grappes, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. S'ils sont généralement capsulés *in vivo*, ils perdent progressivement leur capsule en culture. *S. aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré, produit de nombreuses toxines dont les SE, produites par certains *S. aureus* (ceux portant les gènes de ces toxines) et qui sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie (Flandrois, 1997).

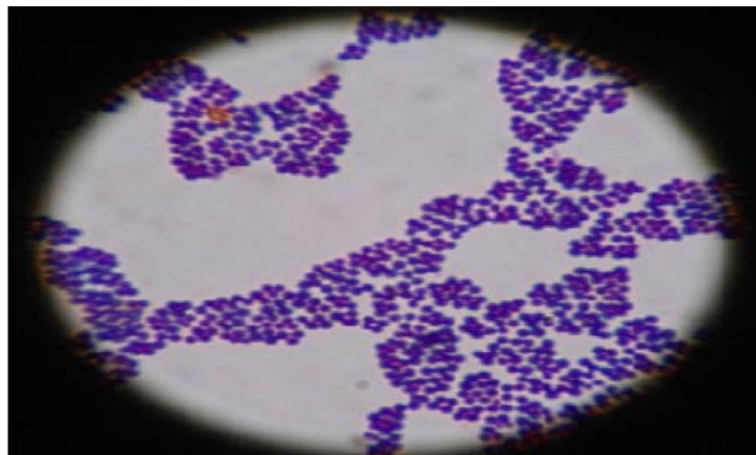


Figure 3: *S.aureus* vu au microscope après coloration de Gram (IJVS, 2014).

4. Habitat

L'espèce *Staphylococcus aureus* est un germe ubiquitaire (**Jean-louis et Jean-loup, 2002**). Elle est très répandue dans la nature, on la trouve fréquemment dans l'eau, l'air, les poussières (saprophyte) et au niveau de la peau de l'homme et des animaux (**Jean-Claude, 1973**).

C'est une commensale des muqueuses de l'homme, on la trouve à l'état normale dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau du périnée, ou des aisselles, un tiers des individus sains est porteur de *S.aureus* au niveau des fosses nasal (**Jean-louis et Jeanloup,2002**). En milieu hospitalier, un malade peut développer une infection à partir des bactéries de sa propre flore ou être contaminé par transmission manu portée à location des soins. *S .aureus* est un agent majeur d'infection nosocomiale (**Jean-Louis et Jean-Loup, 2002**).

Un aliment faiblement contaminé lors de sa préparation peut s'il a été conservé à température ambiante, permettre la multiplication d'une souche produisant de l'enterotoxine et être responsable d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) (**Jean-Louis et Jean-Loup, 2002**). *Staphylococcies aureus* représente l'une des espèces staphylocoque pathogène (**Michael et al., 2007**).

5. Classification phylogénique

Il existe plusieurs types de classification de *S. aureus* dont la plus utilisée est la classification de **Bergey**:

- **Domaine** : *Bacteria* ou *Eubacteria*.
- **Phylum XIII** : Firmicutes.
- **Classe** : Bacilli.
- **Ordre** : Bacillales.
- **Familles** : Staphylococcaceae.
- **Genre** : *Staphylococcus*.
- **Espèces** : *aureus*. (**Camille, 2007**).

6. Caractéristiques du genre et de l'espèce

Les staphylocoques ont été décrits pour la première fois dans les années 1880, en Écosse, par un chirurgien nommé Sir Alexander Ogston, qui créa le genre *Staphylococcus* (**Cohen, 1972 ; Lowy, 1998**). Ce genre comprend des coques à Gram positif de 0,8 à 1 micromètre de diamètre (**Prescott et al., 2003**).

En microscopie, ces bactéries peuvent être observées isolées, en paires ou en tétrades, mais le plus souvent ce sont des amas ressemblant à des grappes (Prescott *et al.*, 2003). Les staphylocoques sont non-mobiles, ne forment pas de spores et sont généralement anaérobies facultatifs (Prescott *et al.*, 2003 ; Sneath, 1986).

Les *Staphylococcus* sont également de forts producteurs de catalase. Cette caractéristique permet de les différencier facilement des *Streptococcus* qui sont catalase négatifs (Cohen, 1972 ; Sneath, 1986).

Ils sont résistants à la bacitracine et aux conditions adverses telles que la concentration en NaCl, la chaleur, les désinfectants et la présence de lysozyme. Ces caractéristiques jouent un rôle important dans la pathogénicité de ces bactéries (Cohen, 1972 ; Prescott *et al.*, 2003 ; Sneath, 1986 ; Tortora *et al.*, 2003).

Sir Alexander Ogston fut le premier, vers 1880, à décrire des infections à staphylocoques plus précisément des septicémies et la formation d'abcès (Lowy, 1998).

Louis Pasteur observa également ce type d'infection durant cette même période (Cohen, 1972). Cependant, c'est en 1884 qu'un autre chirurgien, le Dr. Rosenbach, nommera les tous premiers *Staphylococcus aureus* d'après la pigmentation dorée des colonies en culture pure obtenues d'isolats de lésions purulentes. Il est probablement le premier à avoir isolé *S. aureus* en culture pure (Cohen, 1972). Les *S. aureus* font partie de la flore commensale d'environ le tiers de la population américaine (Smith *et al.*, 2008). Ils colonisent principalement le nez, mais peuvent se retrouver sur la peau et dans le système gastro-intestinal (Sneath, 1986).

Les *S. aureus* sont des bactéries anaérobies facultatives ayant une meilleure croissance dans des conditions aérobiques (Cohen, 1972 ; Sneath, 1986). Ces bactéries sont présentes dans divers environnements et sont différenciées des autres *Staphylococcus* par le fait qu'elles sont catalase positifs et provoquent une double zone d'hémolyse lorsque elles sont cultivées sur gélose sang (Cohen, 1972 Prescott *et al.*, 2003). Les souches vont croître à des températures très variables allant de 6,5 à 46°C et des pH entre 4,5 et 9,3. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C et le pH entre 7,0 et 7,5 (Cohen, 1972 ; Cui *et al.*, 2009). La plupart des souches peuvent croître en présence de concentrations en chlorure de sodium allant jusqu'à 15% (Cohen, 1972 ; Sneath, 1986).

Les staphylocoques constituent une part non négligeable de la flore normale nasale, mucoale, cutanée et digestive des humains et des animaux. Par contre, certaines espèces peuvent être des pathogènes opportunistes. Ils sont généralement associés à la formation d'abcès et des lésions suppuratives. Ils sont également une cause importante de toxi-infections alimentaires (Cohen, 1972 ; Prescott *et al.*, 2003).

En médecine vétérinaire, les staphylocoques causent d'importantes mammites bovines (**Cohen, 1972 ; Reyher et al., 2011**). En médecine humaine, les *S. aureus* sont associés à plusieurs infections, dont des infections cutanées (plaies), des intoxications alimentaires, des septicémies, des endocardites, des pneumonies et des complications postopératoires importantes telles des ostéomyélites (**Koreen et al., 2004 ; Salyers et al., 2002**).

Ils causent, également, plusieurs types d'infections en médecine vétérinaire notamment des abcès, des mammites, des infections cutanées, des otites et des infections urinaires (**Koreen et al., 2004**).

7. Pouvoir pathogène

Les infections à *S. aureus* possèdent différentes caractéristiques. Tout d'abord, ces infections sont suppurées, souvent profondes et destructrices, au niveau de la porte d'entrée ou dans les foyers métastatiques (**Batard et al., 2017**). Elles se caractérisent ensuite par une dissémination rapide des métastases septiques et par des signes généraux qui peuvent être très marqués (**Batard et al., 2017**).

Enfin, ces infections peuvent persister, parfois plusieurs dizaines d'années (**Batard et al., 2017**). De plus, le nombre important des facteurs de virulence présents chez *Staphylococcus aureus* explique le caractère polymorphe des manifestations cliniques (**Vincenot et al., 2008**).

8. Isolement

Lorsque les Staphylocoques se trouvent dans un produit pathologique non souillé (hémoculture par exemple), leur isolement ne pose pas de problème particulier : on peut utiliser simplement la gélose nutritive ou la gélose au sang (**PILET et al., 1983**). En revanche, lorsque le produit à étudier est polymicrobien (certains pus, lésions ouvertes, produits alimentaires), il est indispensable d'employer des milieux sélectifs. Parmi ceux-ci, on peut retenir :

Le milieu de Chapman qui, grâce à sa forte teneur en NaCl, inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que le Staphylocoque et donne en même temps une indication quant à l'action sur le mannitol de la souche isolée.

Le milieu de Baird-Paker (dont l'agent sélectif est le tellurite de potassium et qui contient du jaune d'œuf), utilisée surtout en bactériologie alimentaire. Sur ce milieu, les colonies de Staphylocoques pathogènes apparaissent, après 24 heures d'étuve à 37 °C, sous forme de points noirs de 1 à 1,5 mm de diamètre. Ces colonies sont entourées d'un halo d'éclaircissement de 2 à 5

mm de diamètre, tranchant sur le reste de la surface du milieu (le halo est dû à l'action d'une lipoprotéase). Le milieu de *Baird-Parker* convient particulièrement aux souches de vitalité réduite (Pilet *et al.*, 1983).

9. Identification

L'identification de *S.aureus* est basée sur la mise en évidence de la coagulase à partir de plusieurs colonies prélevées sur milieu BP (*Baird-Paker*). Chaque colonie estensemencée dans 0,5 ml de bouillon coeur-cervelle. Après 24 heures d'incubation à 37 °C, on ajoute 0,5 ml de plasma de lapin et le mélange est incubé à 37 °C puis examiné périodiquement jusqu'à 24 heures d'incubation. La présence de coagulase se traduit par une prise en masse du milieu (Michel, 2005).

Selon les normes, l'identification de *S.aureus* se limite à la détection d'une coagulase. Une identification plus précise peut être obtenue par la recherche de caractères complémentaires (clumping factor, nucléase, galerie de tests biochimiques). De nombreux réactifs disponibles sur le marché permettent de mettre en évidence instantanément par agglutination sur lame le clumping factor (CF, facteur d'affinité pour le fibrinogène). Certains réactifs peuvent combiner la mise en évidence du CF et celle d'autres composés spécifiques de *S.aureus* (protéines de surface, polysides capsulaires) à l'aide d'anticorps monoclonaux (Michel, 2005).

Enfin, une identification moléculaire est possible à l'aide de sondes nucléiques. Une hybridation des fragments de restriction de l'ADN bactérien avec une sonde universelle d'ADN ou d'ARN permet d'obtenir des profils, appelés en l'occurrence des ribotypes, spécifiques d'espèce. L'automate Riboprinter (Qualicon Inc, USA) utilise ce principe pour identifier toutes les espèces bactériennes (y compris les staphylocoques) incluses dans sa base de données. D'autres systèmes utilisent des sondes spécifiques de *S.aureus*. Le Kit Accuprobe *S.aureus* de Gen-Probe identifie uniquement cette espèce grâce à une sonde d'ARN 16S spécifique de *S.aureus*. D'autres sondes non commercialisées telles que celle détectant le gène de la nucléase thermostable de *S.aureus* ont été décrites. De nombreuses autres techniques basées sur une amplification génique (Polymérase Chain Réaction, PCR) ont été développées. Elles ciblent un gène, une portion de gène ou une séquence intergénique spécifique de *S.aureus*. La détection des gènes d'enterotoxines staphylococciques est particulièrement intéressante en bactériologie alimentaire puisqu'elle permet à la fois d'identifier *S.aureus* et d'évaluer son potentiel entérotoxigène (Michel, 2005).

La présence des entérotoxines staphylococciques peut être mise en évidence par des tests immunologiques : immunofluorescence, électro-immunodiffusion, hémagglutination, double diffusion en lame, La recherche de l'entérotoxine doit être effectuée dans les produits car une production de toxines peut précéder un traitement antimicrobien et donc la mort des staphylocoques (**Joseph-pierre et Jean-philippe, 2004**).

10. Intoxication alimentaire

L'intoxication alimentaire est une maladie courante généralement bénigne mais qui, parfois, peut être mortelle. Elle se produit lorsqu'une personne absorbe un aliment ou une boisson contaminée (e) par une bactérie ou une toxine. Il peut arriver, très rarement, que les toxines provenant de produits chimiques ou de pesticides causent une intoxication alimentaire. Il peut être difficile de savoir si un aliment ou une boisson est contaminé(e), car son aspect, son goût et son odeur peuvent être inchangés. L'intoxication alimentaire peut affecter une personne, ou bien un groupe de personnes si elles ont toutes mangé le même aliment contaminé. La plupart des intoxications alimentaires sont dues à des toxines produites par les bactéries ou par la quantité de bactéries elles-mêmes. Certaines bactéries peuvent se développer (se multiplier) d'une à plusieurs millions dans les bonnes conditions d'humidité, de terrain alimentaire, de chaleur et de temps. Plus il y a de bactéries présentes, plus il y a de risques de contracter une infection ou une maladie. Les types de bactéries infectieuses les plus courantes sont le *Campylobacter*, l'*E. Coli*, salmonelle et Staphylocoques.

10.1. Toxi-infections alimentaires (TIA) à *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un agent responsable d'intoxications alimentaires survenant après l'ingestion d'entérotoxines thermostables préformées dans les aliments contaminés (viande, produits laitiers) et mal conservés. Les entérotoxines staphylococciques sont en effet presque toutes émétisantes. Ces toxines provoquent la synthèse d'acide arachidonique par les mastocytes, qui agit sur les récepteurs neuronaux du système gastro-intestinal, conduisant à la stimulation des centre nerveux responsables de la diarrhée et du vomissement (**Vincenot et al., 2008**).

Un aliment faiblement contaminé lors de sa préparation peut s'il a été conservé à température ambiante, permettre la multiplication d'une souche produisant de l'enterotoxine et être responsable d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) (**Jean-Louis et Jean-Loup, 2002**). *S.aureus* représente l'une des espèces staphylocoque pathogène (**Michael et al., 2007**).

Cliniquement, après une incubation courte (1 à 6 heures après ingestion), surviennent des nausées, des vomissements, des crampes abdominales et des diarrhées, le tout en l'absence de fièvre. L'évolution est en général spontanément favorable sans traitement, mais des collapsus cardio-vasculaires sont souvent décrits. La recherche de souches toxigènes et des entérotoxines peut être réalisée dans l'aliment ou dans les vomissements des patients **(Flandrois, 1997)**. Quinze à 30 % des toxi-infections alimentaires collectives seraient liées à *S. aureus* **(Vincenot et al., 2008)**.

10.1.2. Tableau clinique

Les symptômes les plus fréquemment observés lors de ces intoxications sont des vomissements répétés, des nausées, des diarrhées aqueuses et des douleurs abdominales. Occasionnellement peuvent être observés : maux de tête, transpiration, frissons, crampes musculaires, faiblesse générale et hypotension. Les TIA à *S. aureus* étant dues à des toxines préformées dans l'aliment et non à une colonisation digestive par une bactérie entéropathogène, il n'y a en général pas de fièvre ou une fièvre modérée **(Michel, 2005)**. Les symptômes surviennent après une période d'incubation courte, entre 2 et 4 heures en moyenne après la consommation du repas contaminé, et disparaissent spontanément après 18 à 24 heures.

Les cas de décès à la suite de TIA à *S. aureus* sont très rares et surviennent chez les jeunes enfants et les personnes âgées à la suite d'une déshydratation brutale provoquée par les vomissements et les diarrhées **(Michel, 2005)**.

Du point de vue clinique, les intoxications provoquées par *S. aureus* ressemblent au syndrome émétique dû à certaines souches de *Bacillus cereus* (incubation courte, prédominance des vomissements, durée des symptômes). Elles se différencient des pathologies digestives dues à *Clostridium perfringens* ou de syndrome diarrhéique dû à certaines autres souches de *Bacillus cereus*, qui présentent une incubation plus longue et se manifestent surtout par des diarrhées **(Michel, 2005)**.

10.1.3. Prévention

Les TIA à staphylocoques peuvent être évitées à condition de respecter les règles d'hygiène tout au long de la chaîne alimentaire et spécialement lors de la préparation des repas **(Bourgeois et al., 1988)**.

La contamination des aliments par des staphylocoques d'origine humaine peut être minimisée par l'éloignement des personnes infectées de la préparation des denrées, par la réduction des manipulations, par la propreté et les bonnes pratiques des manipulateurs. Ceux-ci doivent être convenablement informés de l'existence des microbes afin d'être sensibilisés aux problèmes d'hygiène (**Bourgeois et al., 1988**). La contamination par les staphylocoques d'origine animale peut être réduite par le contrôle des mammites bovines, et en évitant les contaminations croisées entre peau et carcasse à l'abattoir puis entre aliments crus et cuits à la cuisine. Les staphylocoques présents dans l'environnement et sur les ustensiles de cuisine peuvent être éliminés par nettoyage et désinfection (**Bourgeois et al., 1988**).

Ces mesures ne suffisant pas à supprimer totalement la contamination des aliments par les staphylocoques, il faut détruire les germes par la chaleur avant qu'ils ne se soient multipliés (pasteurisation, cuisson) ou bien arrêter leur multiplication en maintenant les aliments en-dessous de 6°C. Le respect de la chaîne du froid est le point capital de la prévention des TIA à staphylocoques. Par exemple, une erreur fréquente et pourtant tout à fait évitable consiste à préparer le repas trop longtemps à l'avance puis à laisser les plats à température ambiante jusqu'à leur consommation. En règle générale, toute technologie alimentaire pratiquée dans une zone de température "dangereuse " doit être de courte durée ou bien doit faire appel à d'autres paramètres que la température (flore inhibitrice, atmosphère modifiée, additifs, Aw, pH) pour arrêter la multiplication de *S. aureus* (**Bourgeois et al., 1988**).

Les contrôles bactériologiques effectués régulièrement permettent de surveiller le niveau des contaminations et de prévenir les accidents (**Bourgeois et al., 1988**). *S.aureus* représente l'une des espèces staphylocoque pathogène (**Michael et al., 2007**).

Partie II:

Méthodologie

Partie 2 : Méthodologie

1. Objectifs

L'étude est portée sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis L* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* aux cours de la conservation de la viande ovine fraîche de gigot pendant 9 jours à 4°C.

2. Matériels

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie aérienne d'une espèce médicinale, en l'occurrence, *Rosmarinus officinalis L*. Cette espèce a été choisie, surtout, à cause de sa disponibilité dans le pays et ses utilisations courantes, dans les différents domaines d'intérêts tel que la médecine traditionnelle pour lutter contre certaines maladies ainsi que dans les préparations culinaires pour rehausser surtout le goût de la viande et dans le domaine agroalimentaire à titre d'additif naturel en vue de conserver leurs qualité microbiologique et sanitaire des denrées alimentaires.

2.2. Matériel du laboratoire utilisé dans l'étude

Le matériel et les produits chimiques de laboratoire utilisés pour aboutir cette étude sont mentionnés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Matériel et produits utilisés.

Verrerie	Autres matériels	Milieux de culture utilisés	Appareils utilisés	Micro-organisme
-Béchers -Tube à essais -Pipette pasteur -Fioles -Erlenmeyer -Flacons -Entonnoir -Verre de montre	-Papier filtre stérile -Ecouvillon -Anse à platine -Disques en papier stériles (6 mm) -Bec benzène -Boîtes pétri	-Milieu Chapman -Gélose M H -Bouillon M H	-Balance -Rota vapeur -Autoclave -Etuve -Plaque chauffante -Bain marie -Spectrophotomètre	La souche de référence (ATCC 25923) provenant de l'institut pasteur Alger-Algérie. La viande ovine Le romarin.

3. Méthodes

3.1. Région de prélèvement du matériel végétale

Les parties aériennes de la plante Romarin ont été prélevées au stade de floraison de la région de Naama (Ain safra) à la fin du mois de mars 2019 à (-0.9056) de longitude et à (33.435) de latitude.

3.2. Préparation de la poudre végétale

Au laboratoire, les échantillons frais ont été étalés et laissés sécher à l'air libre, à l'abri de la lumière et à la température ambiante.

Après séchage, le matériel végétal constitué surtout de (feuilles) a été broyé séparément en poudre fine à l'aide d'un broyeur à lames électriques. Ce broyage a permis de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaires ; plus la matière est divisée finement et plus la surface d'échanges (ou interface) et grande est plus le parcours moyen du soluté est élevée (**Gaucher et Lusson, 2001**).

La poudre ainsi préparée a été emballée et conservée dans des bocaux à l'abri de l'humidité et de la lumière afin d'éviter toute réaction chimique pouvant entraîner des modifications au niveau des principes actifs présents dans la poudre de la plante étudiée.

3.3. Préparation de l'extrait

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

L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage d'un solvant polaire à savoir l'éthanol. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant/eau, v/v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante

4.2. Méthode de contact directe

Une colonie issue d'une culture jeune de l'espèce microbienne a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, elle a été ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant trois heures.

A partir de cette dernière solution, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant à 10^{-5} ont été effectuées.

Des prélèvements de 01 ml de dernière dilution décimale a été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait de plante testé concentré à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés chacune en triple essais (03 boîtes de Pétri) en surface à raison de 0.2 ml sur le milieu gélosé MH. La lecture du nombre des colonies développées a été effectuée après incubation des boîtes de pétri enensemencées à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**)

4.3. 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.

Après activation de l'espèce bactérienne, Une colonie a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif. Des prises de volume de 0.2 ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu Muller Hinton. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque concentration d'extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé Muller Hinton (**Prescott et al., 2003**).

La lecture des diamètres d'inhibitions a été effectuée à l'aide d'un pied à colisse après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (**Guignar, 1998**).

4.4. Concentration minimale inhibitrice : CMI

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

Dans notre étude c'est les principes actifs de l'extrait de Romarin obtenus par extraction à l'éthanol qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez *Staphylococcus aureus*.

Une colonie jeune de l'espèce *Staphylococcus aureus*, a été prélevée à l'aide d'une anse à platine et activée dans 10 ml de bouillon nutritif pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum.

Des prises de 0,2 ml de l'inoculum ont été introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie 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 de *Staphylococcus aureus*.

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 d_f .

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

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

Où 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 18 heures.

Df-Di : Différence de densité optique de la solution témoin sans extraits de Romarinensemencée avec l'inoculum microbien avant et après incubation à 37°C durant 18 heures

4.5. Concentration minimale bactéricide : CMB

La concentration minimale bactéricide d'une espèce microbienne 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 de *Staphylococcus aureus*) à été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. 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, 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.

5. Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarins officinalis* sur la qualité de la viande ovine.

5.1. Echantillons de viande

L'expérimentation à portée sur la viande ovine BIO de la race Ouled Djellel issue des élevages steppiques menés dans la région de Bougtoub relevant de la Wilaya d'EL Bayadh. Les carcasses une fois les animaux au nombre de 5 moutons ont été sacrifiés chez le Boucher ensuite, laissées ressuyer pendant 18 heures dans une chambre froide à 4°C.

18 morceaux de 300g de viande de gigot ont été ensuite prélevés aléatoirement des carcasses en termes de ressuyage en respectant toutes les règles d'hygiènes ; utilisation d'un couteau propre, port de gant stériles, et découpe des morceaux de la viande sur une surface couvertes d'un papier propre. Enfin, les échantillons ont été transportés immédiatement à moins de 10 min au laboratoire dans une glacière isotherme.



Figure 5 : Echantillons de 300g de gigot de la viande de gigot de mouton de race Ouled Djellal.

5.2. Traitement de la viande

Les échantillons de la viande ovine au nombre de 18 morceaux de 300 g de gigot, ramenés au laboratoire, ont été tout d'abord stérilisés sous UV durant 20 minutes et mis chacun aseptiquement dans un sachet stérile.

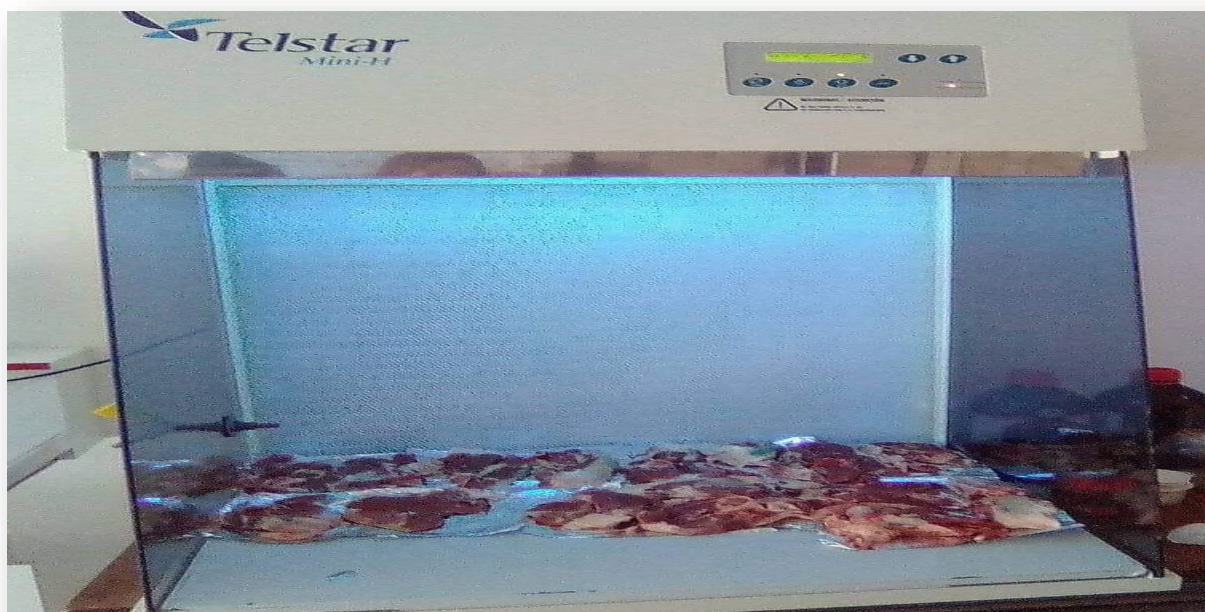


Figure 6: Asepsation des échantillons de viande de gigot sous UV durant 20 minutes.

Les échantillons aseptisés ont été, ensuite, contaminés d'une manière homogène par pulvérisation en surface de 1ml d'inoculum bactérien de la souche de référence de (*Staphylococcus aureus*) (ATCC 25923) après activation comme précédemment.

Puis, les échantillons contaminés de viandes, ont été traités en surface à raison de 3 morceaux de 300g de viande par l'ajout a chaque morceaux de viande de 6ml d'inoculum de Romarin préparées à des taux de 0, 3, 6, 9 et 12 %, respectivement.

Les échantillons expérimentaux contaminés au *staphylococcus aureus* et additionnés ou non d'extrait de Romarin comme additif naturel ont été enfin conservés au froid positif à 4°C dans les sachets stériles pendant une période n'excédant pas 10jours (**Figure 7**).



Figure 7 : Contamination et traitement de la viande à l'extrait de romarin

5.3. Recherche des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement microbiologique des *Staphylococcus aureus* a été effectué sur tous les échantillons expérimentaux, chaque 2 jour à partir du troisième jour de l'étude et pendant toute la période de 10 jours d'entreposage des prélèvements de viande à 4 °C.

Des prises de poids de 25 g de chaque échantillon de viande ont été mélangées à 225ml d'eau physiologique stérile. Le mélange de chaque prélèvement a été broyé (malaxé) dans un sachet de stomacker à l'aide d'un mortier en porcelaine grâce à un pilon. La solution mère de chaque échantillon récupérée a été diluée respectivement à 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} .

5.3.1. Technique de dénombrement

Porter 1ml de chaque dilution (10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5}) en surface des boites de Pétri contenant le milieu Chapman préalablement coulé et refroidi. Etaler, ensuite, soigneusement l'inoculum le

plus rapidement à la surface de la gélose en essayant de ne pas toucher les bords de la boîte avec un l'étaloir confectionné à partir d'une pipette pasteur sous bec benzène. Incubation enfin les boîtes couvercle en bas à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent enfin de lecture, de couleur noire brillante, d'aspect bombée et entourées d'un liséré blanc opaque et d'un halo d'éclaircissement.

5.3.2. Lecture

- Dénombrer les colonies de formes lenticulaires qui poussent en masse et noter la dilution correspondante.
- Tenir compte des boîtes ayant un nombre compris entre 15 et 300
- Retenir 2 dilutions successives.

5.3.3. Expression des résultats

$$N = C / 1.1 \times d$$

C : $c_1 + c_2$ (c_1 = nombre de colonies de la 1^{ère} dilution et c_2 = nombre de colonies de la 2^{ème} dilution)

d : le taux de dilution de la 1^{ère} boîte retenue.

6. Traitement statistique

Les résultats expérimentaux ont subi une analyse de variance mono et bi factorielle en randomisation totale ainsi qu'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls. Les données ont été traitées statistiquement par un logiciel Softward disponible au sein du laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition à savoir le **STAT BOX 6.4**.

Les effets des traitements expérimentaux sur les variables mesurées ont été démontrés aux deux seuils de probabilité **P<0.05** et **P<0.01**.

Partie III :

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Croissance du germe *Staphylococcus aureus*

Les effets de l'extrait à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de l'étude (Naama) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* sont illustrés dans la Figure 4 et le Tableau 06.

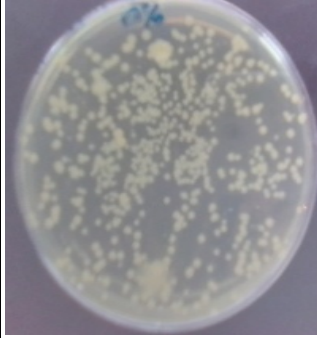

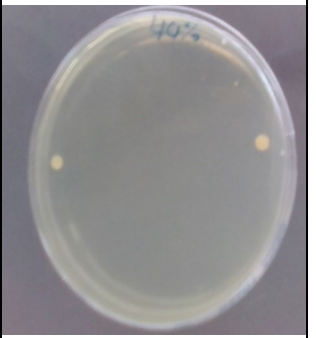
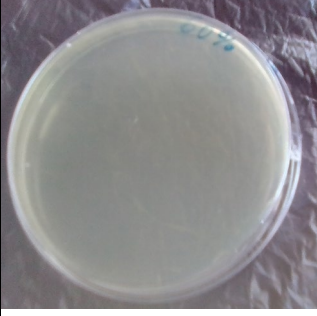
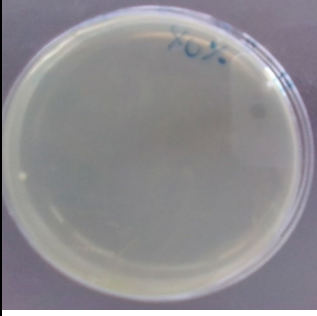
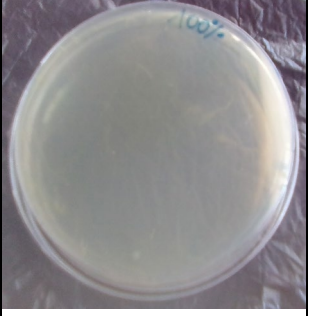
Concentrations	0%	20%	40%	
Croissance de S. aures				
	Concentrations	60%	80%	100%
				

Figure 8 : Effets de l'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinales* sur la croissance de germe étudié *Staphylococcus aureus*.

L'extrait à l'éthanol aqueux de romarin a enregistré par rapport au témoin une nette baisse du nombre de germes *Staphylococcus* à des concentrations de 40 et 60%. ($P < 0.01$) ; de 248.10^5 à 200.10^3 UFC/ml et de 248.10^5 à 66.10^3 UFC/ml, respectivement.

A des forts taux de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* de 80 et 100% aucune prolifération de ce germe n'a été observée.

Tableau 06 : Effet des concentrations hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*

Concentrations en extrait de romarin	Moyennes (UFC/ml)	Groupes homogènes			Effet des concentrations en extrait de Romarin
0%	248.10 ⁵	a			P<0.01
20%	128.10 ⁵		b		
40%	200.10 ³			c	
60%	0			c	
80%	0			c	
100%	0			c	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=3 ; a, b, c : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié « concentrations en extrait hydroéthanolique de Romarin.

1.2. Taux de croissance

L'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinales* préparé à 20% à induit un faible taux de croissance chez *Staphylococcus aureus* estimé à 51.16%, en moyenne.

Les solutions préparés à des fortes concentrations de 40, 60, 80 et 100% de l'extrait hydroethanolique de la plante ont occasionné, néanmoins, une presque totale d'inhibition de la croissance du germe étudié ; avec *des taux de croissance variables (P<0.01) de 0 à 0.81% ; en moyenne. Tableau7.*

Tableau 07. Effet des concentrations d'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* sur le taux de croissance de *S. aureus*

Concentration en extrait de romarin	Moyennes (%)	Groupes homogènes			Effet des concentrations en extrait de Romarin
0%	100	a			P < 0.01
20%	51.157		b		
40%	0.81			c	
60%	0.301			C	
80%	0			C	
100%	0			C	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=3 ; a, b, c : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et Keuls; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié « concentrations en extrait hydroéthanolique de Romarin.

1.3. Diamètre d'inhibition

Les effets des concentrations de l'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* sur les diamètres d'inhibitions développés chez *S. aureus* sont mentionnés dans la figure 9 et le tableau 08.

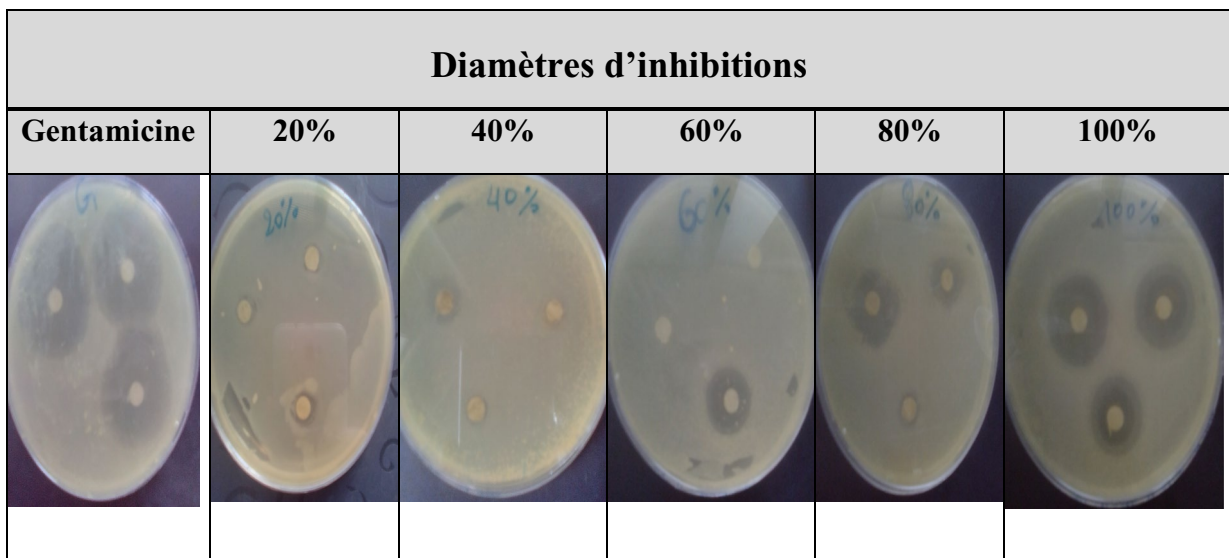


Figure 09. Effets des concentrations en extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur le diamètre d'inhibition de *Staphylococcus aureus*.

En fonction des augmentations des concentrations d'extrait de (20 à 100%), il à été observé des hausses significatives ($P<0.05$) de 10 à 29.33 mm des diamètres d'inhibitions chez le germe étudié *Staphylococcus aureus*.

Toute fois, ces diamètres ou (zones) d'inhibitions s'avèrent très faibles ($P<0.01$) devant l'action de la Gentamicine ; 51.33 mm, en moyenne.

Tableau 08 : Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* prélevé dans la région de Naama sur les diamètres d'inhibitions (mm) de *Staphylococcus aureus*.

Traitement		Moyennes mm)	Groupes homogènes				Effets des concentrations en extrait de romarin
Gentamicine		51,333	a				P<0.05
Concentrations en extrait de Romarin	20%	10		b			
	40%	12.66			c		
	60%	21.33			c		
	80%	19.66				d	
	100%	29.33				d	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts type correspondants, avec un nombre de répétitions n=3 ; a, b, c : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et Keuls; p<0.01 : Effet significatif du facteur étudié « concentrations en extrait hydroéthanolique de Romarin ».

1.4. Taux d'inhibition

L'extrait à l'éthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis*, semble exercer par ses composés bioactifs des effets inhibiteurs marquants ($P<0.01$) chez *Staphylococcus aureus* dont les résultats sont enregistré dans le **Tableau 09**.

Apparemment, les taux d'inhibitions du germe étudié à augmenté sensiblement ($p<0.01$) de 19.60 à 57.51% avec l'augmentation de 20 à 100% des concentrations en extrait de la plante testées.

Tableau 09. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de Naama sur les taux d'inhibitions (%) de *Staphylococcus aureus*.

Traitements		Moyennes (%)	Ecart type	Groupe homogène			Effet des concentrations en extrait à de romarin
Gentamicine		100	0	a			P<0.05
Concentrations en extrait de Romarin	20%	19.60	3.92		b		
	40%	24.83	5.99			c	
	60%	41.83	2.26			c	
	80%	38.56	13.91			d	
	100%	57.51	2.26			d	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec de nombre de répétitions n=3 ; a, b, c : Groupeshomogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon teste de Newman et Keuls; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié « concentrations en extrait hydroéthanolique de Romarin.

1.5. Concentration minimale inhibitrice CMI

La CMI vis à de *Staphylococcus aureus* a été réalisée avec l'extrait à l'éthanol aqueux concentrés à 20% (Tableau 10).

Tableau 10. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* chez *Staphylococcus aureus*.

Concentration	Témoin(%)	20%	40%	60%	80%	100%
Paramètre						
Di	0.124	2.529	2.798	2.904	3.000	2.219
Df	0.494	2.735	3.000	2.768	2.734	3.000
df-di	1.37	0.143	0.202	-0.136	-0.266	0.781
S	1	0	0	0	0	0
CMI : Extrait à 20%						

CMI : Concentration minimale inhibitrice ; S : taux de survie ; Di : densité optique initiale ; Df : densité optique finale ; Df-Di : différence de densité optique

1.6. Concentration minimale bactéricide CMB

La CMB du germe expérimental *Staphylococcus aureus* a été obtenue avec la solution d'extrait de la plante étudiée (*Rosmarinus officinalis* L) diluée à 40%(**figure 10**)

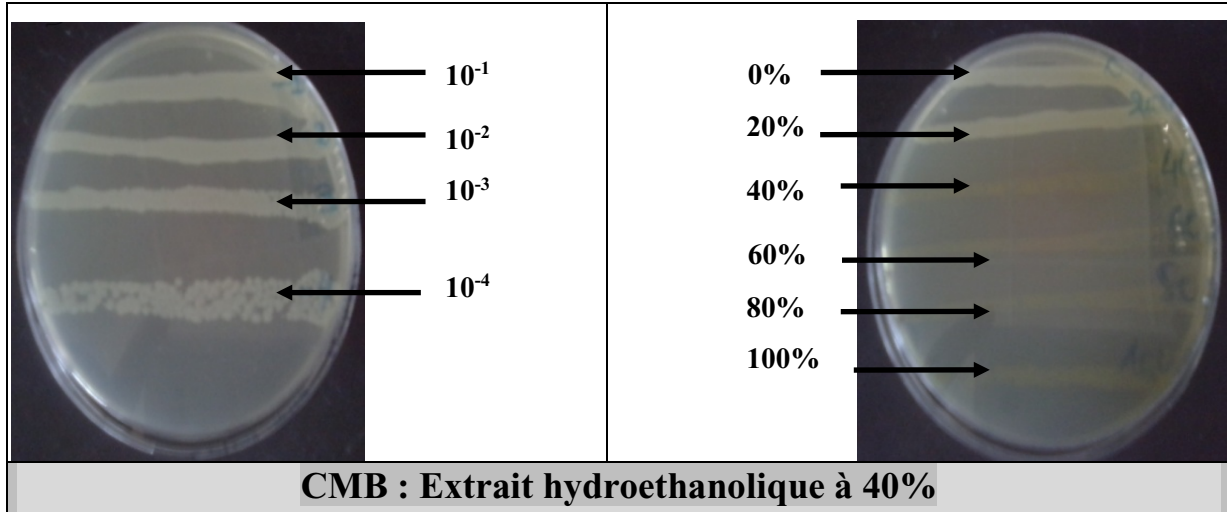


Figure 10. Détermination de la CMB de l'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* chez *Staphylococcus aureus*

1.7. Type d'inhibition de l'extrait de Romarin

D'après le rapport CMB/CMI évalué à 2, il apparaît que l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* exerce un effet de type bactéricide vis-à-vis du germe étudié *Staphylococcus aureus* (**Tableau 11**).

Tableau 11. Type d'inhibition de l'extrait hydroethanolique de romarin chez *Staphylococcus aureus*.

CMI	CMB	Rapport CMB/CMI	Type d'inhibition
20%	40%	2	Bactéricide
D'après (Olivier 2007)			
CMB/ CMI d 2 (Effet bactéricide); CMB/ CMI >2 (effet bactériostatique)			
D'après (Marmonier 1990).			
CMB/ CMI d 4 (Effet bactéricide); CMB/CMI > 4 (effet bactéristatique)			

Interprétation

1.8. Effets d'incorporation de l'extrait de Romarin sur la croissance de *Staphylococcus aureus* aux cours de la conservation de la viande.

Les variations du niveau de contamination au *Staphylococcus aureus* au cours de la conservation à 4°C des échantillons de viande de gigot d'agneau sont mentionnées dans la (Figure 11 et le tableau 12).

Apparemment durant toute la période de stockage, l'ajout d'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* L. comme additif naturel à différent taux de 0,3, 6,9 et 12ml s'est traduit par des baisses notables ($p < 0.01$) du niveau de contamination des viande conservées au froid au germe *Staphylococcus aureus*, de 100.10^3 , à 298.10^2 , à 162.10^2 , à 53.10^2 et à 14.10^2 UFC.g⁻¹ en moyenne, respectivement.

C'est au 7^{ème} jour et au 9^{ème} jour d'entreposage que les fortes contaminations des échantillons de viande ($p < 0.05$) ont été constatées (50.10^3 UFC/g); alors que les faible ($P < 0.01$) charge au *Staphylococcus aureus* ont été plutôt appréciées dans la viande au 3^{ème} (155.10^2 UFC/g) et au 5^{ème} (145.10^2 UFC/g) jour expérimentale.

Toutefois, le nombre de germes enregistré entre le 3^{ème} et le 5^{ème} jour et entre le 7^{ème} et le 9^{ème} jour s'avère comparable ($P < 0.05$) dans l'ensemble des échantillons expérimentaux.

1.9 : Effets d'adjonction d'extrait de romarin sur les taux d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* dans la viande ovine au cours de la conservation.

Les effets des quantités d'extrait hydroéthanolique de romarin ajoutées comme additif sur les taux d'inhibition de *staphylococcus aureus* dans la viande ovine conservée au froid sont illustrés dans le (Tableau 13).

Par rapport au témoin contrôle, sans additif naturel de romarin, ayant accusé la plus faible charge microbienne, les taux de croissance semblent diminuer significativement ($P < 0.01$) de 27.78, à 14.73, à 4.86 et à 1.75% pour une augmentation de 3,6,9 et 12 ml de quantités d'extrait de la plante ajoutés, respectivement à la viande.

Par ailleurs, les faibles niveaux de contamination ($P < 0.01$) de la viande ont été remarqués entre le 3^{ème} et le 7^{ème} jour, avec des taux de croissance variables de 23.96 à 25.89. En revanche au 9^{ème} jour, les échantillons expérimentaux ont constaté un taux de croissance maximal de 45.4 %.

Tableau 12 . Effet d’incorporation de l’extrait de romarin sur le niveau de contamination de la viande ovine au cours de la conservation au froid à 4°C.

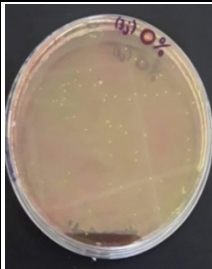
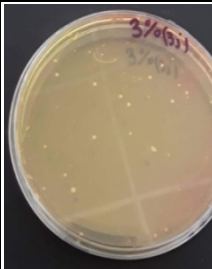
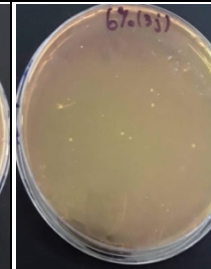
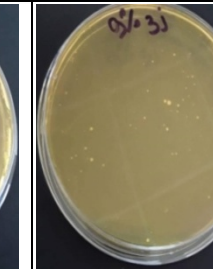
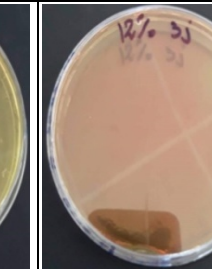

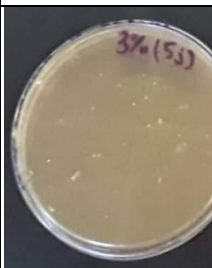
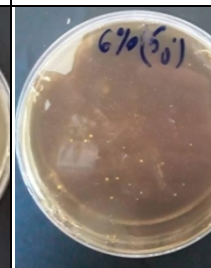
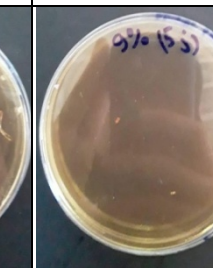
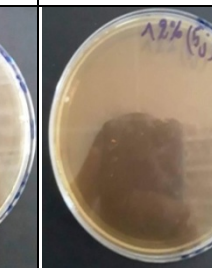
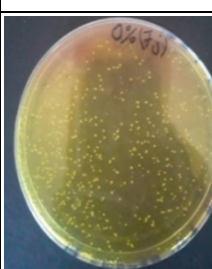
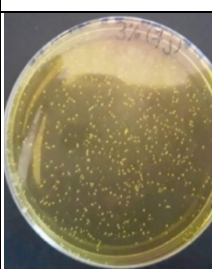
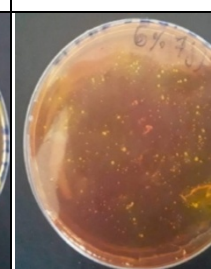
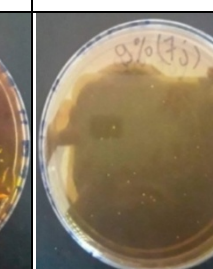
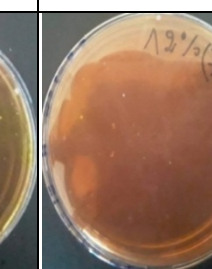
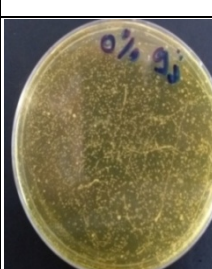
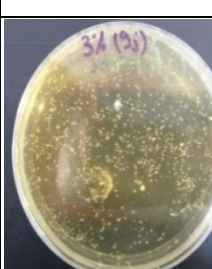
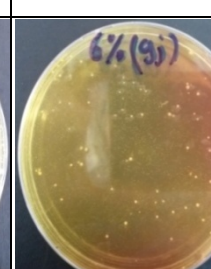
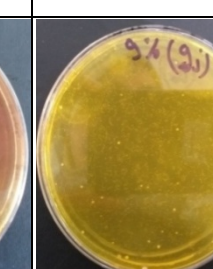
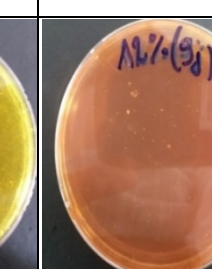
Paramètres Etudiés	Périodes				Périodes (n=15)				Quantités de l’extrait ajoutées (n=12)					Effets des facteurs étudiés			Normes (JORA.....)		
	3J	5J	7J	9J	3j	5j	7j	9j	0ml	3ml	6ml	9ml	12ml	F1	F2	Int (F ₁ X F ₂)	maximale (UFC/g)	minimale (UFC/g)	
Quantités d’extrait ajoutées	0 ml	60.10 ³ cd	60.10 ³ cd	205.10 ³ a	110.10 ³ b	155.10 ² b	145.10 ² b	494.10 ² a	500.10 ² a	1090.10 ² a	298.10 ² b	162.10 ² bc	53.10 ² c	14.10 ² c	P<0.01	P<0.01	P<0.01	10 ²	10 ³
	3 ml	53.10 ² e	83.10 ² e	173.10 ² e	88.10 ³ bc														
	6 ml	53.10 ² e	26.10 ² e	146.10 ² e	423.10 ² de														
	9 ml	43.10 ² e	6.10 ² e	86.10 ² e	76.10 ² e														
	12 ml	26.10 ² e	3.10 ² e	10.10 ² e	16.10 ² e														

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec n le nombre de répétitions , Int.(F₁ X F₂) : interaction des facteurs étudiés ; F₁ : Facteur étudié(périodes de conservation de la viande au froid à 4°C); F₂: Facteur étudié quantités de l’extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* ajoutées à la viande ; a, b, c, d...etc,: Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls ; P<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié, J :jours.

Tableau 13. Effets d'incorporation d'extrait de romarin sur les taux d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* dans la viande ovine conservées à 4°C.

Paramètres Etudiés	Périodes				Périodes avec (n=15)				Quantité de l'extrait avec (n=12)					Effets des facteurs étudiés			Normes	
	3j	5j	7j	9j	3j	5j	7j	9j	0ml	3ml	6ml	9ml	12ml	F1	F2	Int		
Quantités d'extrait ajoutées	0ml	100 a	100 a	100 a	100 a	25.886 b	23.955 b	24.072 b	45.391 a	100 a	27.784 b	14.726 c	4.875 d	1.745 d	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	
	3ml	8.883 d	13.733 d	8.523 d	79.997 b													
	6ml	8.887 d	4.393 d	7.14 d	38.483 c													
	9ml	7.217 d	1.1 d	4.217 d	6.967 d													
	12ml	4.443 d	0.55 d	0.48 d	1.507 d													

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec n le nombre de répétitions Int.(F₁ X F₂) : interaction des facteurs étudiés ; F₁ : Facteur étudié(périodes de conservation de la viande au froid à 4°C) ; F₂ : Facteur étudié quantités de l'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* ajoutées à la viande ; a, b, c, d...etc.: Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et keuls ; P<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié, J :jours.

Q P	0ml	3ml	6ml	9ml	12ml
3j					
5j					
7j					
9j					

Q : quantités en ml d'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* ajoutées à 300g de viande d'agneau de gigot lors du traitement, P : périodes de conservation ; J : jours.

Figure 11. Effet de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* aux cours de la conservation de la viande ovine à 4°C

2. Discussion

L'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis*.L (romarin) sur la souche à montré une bonne activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche étudiée *Staphylococcus aureus* parmi les principale bactéries responsable d'intoxication alimentaire. En effet, le *Staphylococcus aureus* est l'un des microorganismes que l'on trouve normalement sur la peau et les muqueuses. Certains *Staphylococcus* produisent des toxines qui peuvent être responsables de divers syndrome comme intoxication alimentaire, les infections communautaires et nosocomiales **(Gerad et al.,2015)**.

Les niveaux de croissance obtenus par l'application de l'extrait de la plante a démontré clairement que le nombre de germes diminuent significativement avec l'augmentation de la concentration d'extrait hydroéthanolique appliqué. Ainsi, l'extrait à 80 et 100% ont réduit totalement la prolifération du germe.

L'activité antibactérienne à été également exprimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* L vis-à-vis du germe étudié. Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions ont révélé que *Staphylococcus aureus* est très sensible vis-à-vis de l'extrait testé à différentes concentrations.

Par ailleurs, l'extrait pur et concentré à 80% ont dévoilé un fort pouvoir antimicrobien par comparaison à la gentamicine ; estimé à 57.51 et 38.56%, respectivement.

Ces résultats sont certainement dus aux composés phénoliques contenues dans l'extrait hydroéthanolique et dont l'efficacité antimicrobienne vis-à-vis du germe étudié s'avère s'accroît en fonction de la concentration en extrait de la plante et donc en composés phénoliques contenus dans de la solution inhibitrice testée.

Au faite, les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ces composés participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle dans les signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie) ou bien en lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. D'un point de vue chimique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales **(Brahimi et al., 2018)**.

Par ailleurs, il est bien établi que toutes les plantes de la famille des Lamiaceae comme *Rosmarinus officinalis* L (romarin) sont riches en principaux composés phénoliques a fort pouvoir antimicrobien à l'égard d'une multitude de germes pathogène responsables de

plusieurs contaminations et maladies infectieuses dont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa* (Gortzi et al.,2007)

D'après, Faiscuva et Faise (2008), l'activité antimicrobienne du romarin contre le germe testé peut être attribuée aux flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide osmarinique, l'acide caféique et l'acide chlorogénique présents à de fortes teneurs dans la plante et dont une grande partie de ces composés secondaires se sont retrouvés assurément en majorité dissout après extraction hydroéthanolique dans l'extrait expérimentale récupéré (Faiscoraz.S, 2008)

D'une façon générale, La sensibilité des micro-organismes peut varier selon le germe testé car un extrait peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches et bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet (Hermal ,1993). Apparemment, l'extrait de romarin testé a prouvé un effet antimicrobien considérable contre *Staphylococcus aureus* qui est une coque à Gram⁺. A ce propos, il est bien connu que les bactéries à Gram- sont plus résistantes aux extraits bioactifs des plantes que les Gram⁺; ceci est dû sans doute aux différences structurales de la proie microbienne (Burt, 2004). La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du gram (Dorman et Deans, 2000), et dépendante aussi de la nature de l'extrait utilisées (Deans et Ritchie, 1987).

Daprès(Olivier 2007), étant donnée le rapport CMB/CMI est inférieur ou égale à 2 l'extrait expérimental de *Rosmarinus officinalis* prélevé à Naama a exercé un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis du germe *Staphylococcus aureus*. A ce propos, plusieurs études antérieures (Moreira et al., 2005; Santoyo et al., 2005; Billerbeck, 2007; Ouibrahim et al., 2013; Lograda et al., 2014 et Belkhiri, 2015) sur l'extrait brut alcooliques de *Rosmarinus officinalis* ont révélé aussi des activités antimicrobiennes de type bactéricide contre plusieurs microorganismes dont *Staphylococcus aureus*; ceci confirme les résultats obtenus dans la présente étude.

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

A ce propos plusieurs auteurs (**Mena 2016 ; Hernandez 2016**) rapportent l'existence dans l'extrait de *Rosmarinus officinalis* de nombreux composés bioactifs dont l'acide rosmarinique , l'acide carnosolique , le carnosol, le rosmanol exerçant un fort pouvoir antimicrobien sur certains germes pathogènes comme *clostridium perfringens*, *Salmonella* , *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* responsables de la détériorations fréquente des aliments au cours de la conservation.

Il apparait, toute fois, qu'en fonction du temps de conservation, l'extrait riche en composés phénoliques ajoutées a la viande comme additif perd de sont efficacité a préserver le produit d'une éventuelle contaminations prépondérantes au germe *Staphylococcus aureus* .

Selon (**Djenane et al, 2012**) , les composées poly phénolique d'extrait de plante étant des molécules fragiles , peuvent s'hydrolyser partiellement en fonction du temps surtout lorsqu'ils sont mal conservées ce qui peut expliquer par voie de conséquences , les baisses d'activités antimicrobiennes de l'extrait hydroéthanoliques de romarin constatées particulièrement au 7^{ème} et 9^{ème} jour de conservation de la viande de gigot chez le mouton de race Ouled Djellal.

Par ailleurs, l'ajout d'extrait de romarin naturel comme additif a montré son efficacité a réduire le niveau de contamination aux germes *Staphylococcus aureus* dans la viande conservée au froid a 4°C. Ainsi, l'élévation des taux d'incorporations de l'extrait de 0, 3, 6,9 à 12ml par 100g de viande a occasionné des baisses drastiques ($P < 0.01$) du nombre de ces germes ; de 109.10^3 , à 298.10^2 , à 162.10^2 , à 53.10^2 et à 14.10^2 UFC/g, en moyenne , respectivement.

En fonction de ces concentrations d'extrait de *Rosmarinus offinalis* ajoutées par rapport au témoin les chutes enregistrées dans la croissance du germe étudié *Staphylococcus aureus* ont été estimées à 72.66, 85.14, 95.14 et 98.72%, successivement.

Cette étude vient de confirmer que l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinales* riche en composés phénoliques contient l'essentiel des composés bioactifs capables d'inhiber la croissance du germe pathogène *Staphylococcus aureus*.

Conclusion générale

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparaît que l'extrait hydroethanolique de *Rosmarinus officinalis* récolté dans la région de l'étude (Naama, Algérie) a inhibé efficacement la croissance du germe testé de référence (**ATCC 25923**) *S. aureus*.

Apparemment, l'extrait utilisé à l'état pur et dilué à 80% a manifesté un grand pouvoir antimicrobien contre ce germe responsable d'intoxication alimentaire ou aucune prolifération microbienne n'a été constatée.

La méthode des disques a bien confirmé cette efficacité antimicrobienne de l'extrait à 80% et l'extrait pur de romarin vis-à-vis de la gentamicine qui est un antibiotique à large spectre ; avec des taux d'inhibitions (**P<0.01**) chez *Staphylococcus aureus* de 38.56% et 57.61%, respectivement.

Par ailleurs, la concentration minimale inhibitrice a été obtenue à 20% d'extrait de romarin ; alors que la concentration minimale bactéricide a été remarquée à une concentration plus importante de 40%.

Ainsi, l'extrait de la plante de *Rosmarinus officinalis* objet de l'étude s'avère exercer un effet antimicrobien de type bactéricide à l'égard de l'espèce microbienne *Staphylococcus aureus*.

L'adjonction de l'extrait pur comme additif à raison de 1, 2, 3,4 ml par 100 g de viande de gigot de mouton de race Ouled Djellal a préservé la viande d'une éventuelle contamination remarquable au germe *Staphylococcus aureus* à environ 72.66, 85.13, 95.14 et 98.72%, respectivement par rapport au témoin contrôle, sans additif.

Néanmoins, en fonction du temps de conservation l'extrait phénolique de romarin semble perdre de son efficacité antimicrobienne ; un nombre élevé (**P<0.01**) de *Staphylococcus aureus* de 494.10^2 et 500.10^2 UFC/g a été enregistré au 7^{ème} jour et 9^{ème} jour de conservation au froid à 4°C par comparaison au 3^{ème} jour où le nombre était très réduit (155.10^2 UFC/g).

L'ensemble des résultats obtenus sur la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de la souche testée (*S. aureus*) ne constitue qu'une première ébauche dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives de la plante. D'autres recherches sont donc nécessaires pour compléter les informations déjà acquises. Les études doivent être orientées surtout à l'étude sélectives des principaux composés actifs de la plante (poly phénoliques – huiles essentielles et les Alcaloïdes) sur la croissance d'autres germes pouvant contaminer la viande en particulier et d'autres aliments fragiles comme le lait à l'origine de toxi-infection alimentaire.

Les études pouvant aussi être orientées afin de :

- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et susceptibles d'être utilisées comme une alternative aux médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments anti radicalaires à base des plantes, doués d'une activité antioxydant.
- Réaliser des études approfondies et complémentaires de l'activité antibactérienne et antioxydant des composés poly phénoliques en particulier des nombreuses plantes médicinales autochtones poussent à l'état spontanée dans le pays dont *Mentha piperita*, *Tymus vulgaris*, *R. officinalis....etc*).

Références bibliographiques

A

Azeredo, M.H.C., (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability e a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 2365e2376.

G. Altinier, S. Sosa, R.P. Aquino, T. Mencherini, R.D. Loggia, A. Tubaro Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (2007), pp. 1718-1723

Alberti et al., 2017 :Etude de la couleur des différents types de viande bovine vendus en Espagne. a revue française de la recherche en viandes et produits carnés ISSN 2555-8560.

Augustyniak, A., Bartosz, G., ipak, A., Duburs, G., Horáková, L. U., Auczaj, & } arkovi , N. (2010). Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*, 44(10), 1216-1262.

B

Bauchart. D et Thomas. A., (2002). Facteurs d'élevage et valeur de santé des acidesgras des viandes. *Edition Quae ; 10 : p131-142.*

Bes et Brun, 2002 *Staphylococcus*: actualités taxonomiques et identification.

Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73: 413-421.

Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J (2004). Inhibitory effect of thyme and basileessential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and peymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol* 21: 33-42.

Botineau, 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Michel BOTINEAU, LAVOISIER /TEC ET DOC 06/2010.

Bruneton, 1999 . pharmacognosie, phytochimie- plantes médicinales- 3^{ème} Ed. Techniques et documentations. Paris. Pp :227-310-312-313-314-494.

C

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

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

Chougui Nadia 2015 Technologie et qualité des viandes.

Cohen, J. O. 1972. The Staphylococci. John Wiley & Sons, Inc., Atlanta, Georgia.

Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.

costs. American Journal of Medicine 2002; 113:5S-13S.Up to date

CoibionL., (2008).: Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovineadaptation à la demande du consommateur. p 7-25.

Cassens, 1994 : Meat Preservation, Preventing Losses and Assuring Safety.1stEdn., Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, USA, pp: 79-92.

Carroll CD, Alvarado CZ (2008). Comparison of air and immersion chilling on meatquality and shelf life of marinated broiler breast fillets. Poultry Sci 87: 368-372.

Chipley JR (2005). Sodium benzoate and benzoic acid. In: Antimicrobials in Food, 3rdEdn, Davidson PM, Sofos JN and Branen AL (Eds.). CRC Press, FL. pp: 11-48.

D

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

Deans S.G. & Ritchie G., 1987- Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5 (2): 165-180.

Donzo,2016 : Commercialisation des viandes (bovine, caprine, porcine)à Kikwit: analyse comparative de la rentabilité financière. Obtention d'un master enAgroéconomie. Université de Kikwit , 2 pBelitz et al. , 2009.

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

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

Dell'Orto V., SGOIFO ROSSI C.A. (2000) Aspettinutrizionali e gestionali perla produzione di carne bovina di qualità. L'InformatoreAgrario, 14: 45-56.

E

Evrat-Georgel C., (2008) : Bibliographie critique des méthodes instrumentales etmesure de la tendreté de la viande bovine, Office d'élevage et Interbev.

F

Flora of Turkey, 1982; Davi, 1982: An introduction to *flora*, life form, and distribution of *plants* in two protected lowland ... weedy and cultivated forms throughout *Turkey* (Davis 1982; Küçük 1996).

Fernandes, R.P.P., Trindade, M.A., Tonin, F.G., Lima, C.G., Pugine, S.M.P., Munekata, P.E.S., ... de Melo, M.P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lambburgers. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 451-460.

Flandrois J-P. *Bactériologie médicale*. Presse Universitaire de Lyon; 1997.

(IJVS, 2014

Fernandez-Lopez J, Zhi N, Aleson-Carbonell L, PerezAlvarez JA and Kuri V (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Sci.*, 69: 371-380.

Fuinel, 2003. Chroniques végétale, secret des plantes médicinales , Editeur : mot passant Eds Du , juin 2003.

G

Gonzalez-Trujano et al. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. Using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 111:476-482.

Gaucher et Lusson, (2001). Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 72 :299-304

Gianmario A., Silvio S., Rita P.A., Teresa M., Roberto D.L., Aurelia T., 2007. Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis*. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 1718-1723.

Grunert K.G., Bredahl L., Brunso K., (2004): Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector a review. *MeatSci.* 66:259-272.

Geay et al., 1994 : Valeur diététique et qualité sensorielle des viandes des ruminants. Incidence de l'alimentation sur les animaux. *INRA Productions Animales*, 15,35-52.

Gaddini Andrea 2000 .La race ovine merinizzata italiana da carne thèse de fin d'études Universitaires.

Gandemer, G., Pichou, D., Bouguennec, B., Caritez, J.C., Berge, P., Briand, E. et Legault, C. (1990). Influence du système d'élevage et du génotype sur la composition chimique et les qualités organoleptiques du muscle Long dorsal chez le porc. Journées Rech. Porcine France, 22 : 101-110.

H

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.

Hocquette J.F., Gigli S., (2005): The challenge of quality. In: J.F. Hocquette and S.Gigli (eds.), Indicators of milk and beef quality, EAAP Publ. 112, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp 13-22.

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.

(Hill, 1981) . Taxonomy of the staphylococci. *The staphylococci*. Aberdeen University

Heinz G, Hautzinger P (2007). Meat Processing Technology. For Small-to Medium Scale Producers. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific.

I

Iserin et al., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF ? 2^{ème} Ed., Paris : 14,275.

J

Jones C. (1998). Rosemary's Whole-Plant Properties Counter Cancer. Nutrition Sciences News , 1- 4.

Jay J M, Loessner MJ, Golden DA (2005). Modern Food Microbiology, 7th Ed., Springer Science and Business Media. NY. pp: 63-101.

L

LANZA A., BIONDI L. (1990) Miglioramento e valutazione della qualità della carne negli ovicaprini. In: Atti del II Simposio Internazionale : "Nuove prospettive della ricerca sugli ovicaprini.", Varese-Ville Ponti, 23 novembre: 129-170.

Lorenzo, J.M., Munekata, P.E.S., Sant'Ana A.S., Carvalho, R.B., Barba, F.J., Toldrá, F., Mora, L., & Trindade, M.A. (2018). Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 1-10.

M

Mini-encyclopédie des aliments, 2008 La Mini-encyclopédie des aliments fournit des informations essentielles sur l'achat, la préparation et la conservation de plus de 1 000 aliments. Écrit dans un style clair et simple, ce livre pratique et compact constitue un outil de cuisine indispensable. 2008-08-26.

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

Monin G., (1991) : Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *INRA Productions Animales* 4 (2): 151-160.

Macheix JJ, Fleuriot A and Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.

Micol D., Jurie C., and Hocquette J. F., (2010): Qualités sensorielles de la viande bovine. Impacts des facteurs d'élevage In: D. Bauchart and B. Picard (eds.) *Muscle et viande de ruminant*. p 163-172.

Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121.

MOËVLI (2006). Le point sur la couleur de la viande bovine rédigé par l'Institut de l'Élevage INTERBEV : 149, rue de Bercy – 75595 Paris cedex 12.

Michel, M.C., Kuiken, F. and Vedder, I. 2007. "Effects of Task Complexity and Task Condition on Dutch L2". *International Review of Applied Linguistics* 45(3): 241-259.

Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, 2008. *Study of the antibacterial activity of Morinda morindoides (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatic extract (ACE) on in-vitro growth of Escherichia coli strains.*

N

Nychas GJE, Skandamis PN, Tassou CC, Koutsoumanis KP (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Sci* 78: 77-89.

Neumeyer K, Ross T, Thomson G, McMeekin TA (1997). Validation of a model describing the effect of temperature and water activity on the growth of psychrotrophic pseudomonads. *Int J Food Microbiol* 38: 55-63.

O

Ockerman HW, Basu L (2004). Carcass chilling and boning. In: *Encyclopedia of meatsciences*, Jensen, WK (Ed.), Oxford: Elsevier. pp: 144-149.

Okamura et al., 1994. Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves phytochemistry , 37(5) : 1463-1466.

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

P

Perez-Chabela ML, Mateo-Oyague J (2004). Frozen meat: Quality and shelf life. In: *Handbook of Frozen foods*. Hui YH, P Cornillon, IG Legaretta, MH Lim, KD Murrell, Kit Nip W (Eds.), Marcel Dekker Inc. New York, USA.

Prescott M, et al. (2003) Subunit gamma-green fluorescent protein fusions are functionally incorporated into mitochondrial F1F0-ATP synthase, arguing against a rigid cap structure at the top of F1. *J Biol Chem* 278(1):251-6

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

Pal M (2014). Preservation of various foods. Ph.D. Lecture Note, Addis Ababa University, College of Veterinary Medicine and Agriculture, Debre Zeit, Ethiopia. pp.1-11.

Philippe Mailhebiau, 1994# #

Boca Raton : BarCharts, Inc., 2015.

Q

QUEZEL et SANTA, 1963, Nouvelle flore d'Algérie des régions désertiques méridionales. Tom II. C.N.R.Sc. paris. Pp. 781-783-793.

R

Rosmini MR, Perez-Alvarez JA, Fernandez Lopez J (2004). Operational Processes for Frozen Red meat. In: Handbook of frozen foods. Hui YH, P Cornillon, IG Legaretta, MH Lim, KD Murrell and W Kit Nip, (Eds.) Marcel Dekker Inc. NY. pp: 177-179.

Rahman SF (1999b). Food preservation by freezing. In: Handbook of Food Preservation. Rahman SF (Ed), Marcel Dekker, NY. pp: 259, 262, 268.

Rodriguez Vaquero, M.J., Alberto, M.R., Manca de Nadra, M.C. 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. Food Control, 18: 93–101. S

SEBROTYNEK et al (2005) : Comparison of natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat science .69:289-296.

S

Smith T.P., Casas E., Rexroad C.E. III, Kappes S.M. and Keele J.W. (2000): Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. Journal of Animal Science, 78(10):2589-2594.

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

Smith, T. C., M. J. Male, A. L. Harper, J. S. Kroeger, G. P. Tinkler, E. D. Moritz, A. W. Capuano, L. A. Herwaldt, and D. J. Diekema. 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers. PLoS ONE 4:e4258.

Sneath, P. H. A. 1986. Bergey's manual of Systematic Bacteriology, 1st ed, vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore.

T

Trojan Technologies, 2019 <https://www.trojanuv.com/fr/uv-basics> Introduction à la méthode de désinfection par les UV - TrojanUV – FR.

U

Urquiaga et Leighton, 2000 : Urquiaga, I. and Leighton, F. (2000) Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biological Research, 33, 55-64.

V

Vierling E, (2003). Les viandes dans l'aliment et boissons. CRDP. France. pp 58-78. p 170.

Z

Zhou GH, Xu XL, Liu Y (2010). Preservation technologies for fresh meat- A review. *Meat Sci* 86: 119-128.

arkovi , N. (2010). Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*, 44(10), 1216-1262.

Annexe

1. Composition du milieu Muller Hinton

- Infusion de viande : 2,0 g.
- Hydrolysate acide de caséine : 17,5 g.
- Amidon soluble: 1, 5. Agar agar: 17,0 g.
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7,3 \pm 0,2$.

Pour préparer ce milieu, il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans un litre d'eau distillé.



2. Composition du milieu de Chapman

- Peptone : 10.0 g.
- Extrait de viande : 1.0 g.
- Chlorure de sodium : 75.0 g.
- Mannitol : 10.0 g.
- Rouge de phénol : 0.025 g.
- Agar –agar : 15.0 g.

Pour préparer ce milieu, il faut peser 111 g de poudre et la mélanger dans un litre d'eau distillé.

