

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



DEPARTEMENT DE BILOGIE

N°...../SNV/2018

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Brahimi Houaria
Merzouk Aicha
Guenouna Hanane

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : MICROBIOLOGIE FONDAMENTAL E

Effets antimicrobiens des extraits de romarin

(*Rosmarinus officinalis*) chez *Staphylococcus aureus*

Soutenue publiquement le **04/07/2018**

DEVANT LE JURY

Président	M. BEKADA. A	Professeur	C.U. Tissemsilt
Encadreur	M. AIT SAADA. D	MCA	U. Mostaganem
Examineur	M^{me} AIT CHABANE. O	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire pédagogique de microbiologie au niveau de l'université de Mostaganem et le laboratoire de Technoogie Aliment et Nutrition Université de Mostaganem

Dedicaces

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts
A ceux que j'aime le plus au monde mes très cher parents,
leurs sacrifices et leurs 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
donner le meilleur.*

A ma chère soeur Roubi et son marie Mohammed.

A mes chers frères Montassar et Mouloud.

A mes chères sœurs Fati, Halima, Racha et Amina

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

Fatima, Amina , Zahia , Naima, Amel, Ahlam et Fayrouz.

*A mon binôme Houaria et Hanane avec qui j'ai partagé les bons
et les durs moments.*

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

Aicha

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qui nous a donné durant toutes les années d'études et d'avoir guider nos pats vers la vie du savoir.

Nos sincère remerciement s'adressent aussi à notre encadreur Monsieur AIT SAADA Djamel et ceci pour la confiance, les conseils que vous nous avez accordés tout le long de ce travail. Merci pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse .Nous tenons à remercier mes dames et messieurs les membres de jury de L'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions tous les enseignants du département "Biologie" Ainsi que tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pendant toutes les années d'études.

Nous remercions également MM. Nadia katrousi. Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude pour nous avoir accueillie au sein de votre laboratoire. Soyez assurées de nos profonds respects et de nos vives reconnaissances pour nous avoir fait aussi bénéficié de votre expérience et de votre rigueur scientifique ainsi que et professionnelle.

DEDICACE

je dédie ce modeste travail :

Aux deux être le plus chers au monde, qui
ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de
leur amour, mes parents.

A mon père pour son patient avec moi et son
encouragement ;

A ma source de bonheur, la prunelle de mes
yeux, ma mère ;

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé ;

Je dédie aussi ce modeste travail :

A mon fiancé ;

A mes très chers frères et mes sœurs ;

Ainsi que pour toutes mes amies ;

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce
projet soit possible.

HOUARIA

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Photo de <i>Rosmarinus officinalis</i>	11.
Figure 2. <i>S. aureus</i> vu au microscope après coloration de Gram.....	22.
Figure 3. Rotavapor	36.
Figure 4. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de région de Mostaganem sur la croissance de <i>staphylococcus aureus</i>	40.
Figure 5. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de région de Naama sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	41.
Figure 6. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de région de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i>	45.
Figure 7. Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de région de Naama sur le diamètre d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i>	46.
Figure 8. Détermination de CMB des extraits Hex , éth, mét, et l'eau de <i>Rosmarinus officinalis</i> de région de Mostaganem sur <i>Staphulococcus aureus</i>	53.
Figure 9. Détermination de CMB des extraits Hex ,éth, méth, et l'eau de <i>Rosmarinus officinalis</i> de région de Naama sur <i>Staphylococcus aureus</i>	54.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. Composition des éléments nutritifs de romarin séché.....	13.
Tableau 02. Espèces constituant le genre <i>Staphylococcus</i>	21.
Tableau 03. Les principaux constituants de l'urine.....	29.
Tableau 04. Principales espèces bactériennes responsables de l'infection urinaire.....	32.
Tableau 05. Effets des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée des régions de Mostaganem et de Naama sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	43.
Tableau 06. Effets des extraits de <i>Rosmarinis officinallis</i> prélevée des régions de Mostaganem et de Naama sur Le taux de croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
.	
Tableau 07. Effets des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de la région de Mostaganem sur le taux d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i>	48.
Tableau 08. Effets des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> prélevée de la région de Naama sur les diamètres d'inhibition (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i>	49.
Tableau 09. Effets des extraits de <i>R. officinalis</i> prélevée de régions de Mostaganem et Naama sur le taux d'inhibition de <i>S. aureus</i>	50
Tableau 10. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de <i>Rosmarinus officinalis</i> de région Mostaganem et de Naama sur la croissance de <i>staphylococcus aureus</i>	52.
Tableau 11. Types d'inhibition des extraits de <i>R.officinalis</i> chez <i>staphylococcus aureus</i>	55.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique.

ECBU : Examen cytobactériologique des urines.

IST : Infection sexuellement transmissible.

IU : Infection urinaire.

Na Cl: Chlorure de Sodium.

NTED : neonatal toxic shock syndrome-like exanthematous disease.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ORL : Oto-rhino-laryngologie.

PVL : leucocidine de Panton-Valentine.

REDD : recalcitrant erythematous desquamating disorder.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

UFC :Unité formant colonie.

TABLE DE MATIERE

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

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la phytothérapie

1.	
Généralité.....	02
2. Historique de la phytothérapie.....	02
3. Définition.....	03
3.1. Différents types de Phytothérapie.....	03
4. Avantages de la phytothérapie.....	03
5. Définition des plantes médicinales.....	04
5.1. Les Principes actifs.....	04
5.1.1. Le Poly-phénols.....	05
5.1 .2. Les alcaloïdes.....	06
6. Le pouvoir des plantes.....	06
7. Importance des plantes aromatiques et médicinales.....	07
7.1. Action des plantes médicinales.....	07
7.2 .Les indications thérapeutiques.....	07
7.3. La protection de la nature.....	08
8. Efficacité des plantes entières.....	09

Chapitre II : *Rosmarinus officinalis*

1. Généralités	10
2. Historique	10

3. Le romarin est bien connu sous plusieurs noms vernaculaires.....	10
4. Définitions	10
5. Origine du nom.....	11
6. Description botanique.....	11
7. Caractéristiques de la famille des Lamiacées.....	11
8. Classification.....	12
9. Répartition géographique.....	12
10. Saveur, arôme et valeur nutritive.....	12
11. Récolte du Romarin.....	12
12. Principes actifs.....	14
12.1. Les composés phénoliques.....	14
12.1.1. Généralités.....	14
12.1.2. Principales classes des composés phénoliques.....	15
12-1-2 -1 .Les acides phénoliques simples.....	15
12.1.2 .2. Les flavonoïdes.....	15
12.1.2 .2.1. Généralités.....	15
12.1.2.2.2. Structure.....	16
12.1.2.2.3. Classification.....	16
12.1.2.2.4. Localisation.....	16
12.1.2.2.5. Distribution.....	17
12.1.2.2.6. Propriétés des flavonoïdes.....	17
12.1.2.2.6.1. Propriétés antibactériennes.....	17

12.1.2.2.6.2. Autres propriétés des flavonoïdes.....	17
13. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques.....	18
14. Activité antibactérienne.....	18
14.1. Etude de l'activité sur <i>Staphylococcus aureus</i>	18
15. Utilisations du <i>Romarin</i>	19

Chapitre III: Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Notions d'histoire.....	20
2. Taxonomie et propriétés.....	21
3. Habitat.....	22
4. Caractéristiques du genre et de l'espèce.....	23
5. Pouvoir pathogène.....	24
5.1. Infections suppuratives.....	25
5.2. Infections associées aux toxines.....	25
5.2.1. Intoxications alimentaires.....	25
5.2.2. Entérocolites.....	26
5.2.3. Syndrome de choc toxique staphylococcique.....	26
5.2.4. Manifestations cutanées.....	27
5.2.5. Pneumopathies nécrosantes.....	28

Chapitre IV : l'infection urinaire

1. Définition de l'urine.....	29
2. Caractères physicochimiques de l'urine.....	29
3. Constitution physiologique de l'urine.....	29
4. Généralités sur l'infection urinaire.....	30
5. Physiopathologie.....	30
5.1. Source des germes.....	30
6. Les type d'infection urinaire.....	31
7. Les germes responsables.....	31

8. Diagnostic para clinique.....	32
8.1. Bandelettes urinaires.....	32
8.2. ECBU.....	33

Partie 2 : Matériel et méthode

1. Matériels.....	34
1.1. Matériel végétal.....	34
1.2. Matériel du laboratoire utilisé.....	34
2. Méthodes.....	34
2.1. Région de prélèvement.....	34
2.2. Préparation de la poudre végétale.....	35
2.3. Méthode d'extraction.....	35
2.4. Etude des effets antimicrobiens des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i>	36
2.4.1 Activation des inocula microbiens.....	36
2.4.2. Méthode de contact direct.....	37
2.4.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	37
2.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	38
2.4.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide.....	39
2.4.6. Traitement statistique.....	39

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats.....	40
1.1. Croissance du germe <i>Staphylococcus aureus</i>	40
1.2. Taux de croissance.....	42
1.3. Diamètre d'inhibition du germe <i>Staphylococcus aureus</i>	45
1.4. Taux d'inhibition.....	47
1.5. Concentration minimal inhibitrice(CMI).....	51

1.6. Concentration minimal bactéricide (CMB) de Mostaganem et Naama	51
1.7. Type d'inhibition des extraits expérimentaux.....	51
2. Discussion.....	56
Conclusion	59
Bibliographie	60

Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation d'une plante médicinale (*R. officinalis*) poussant à l'état spontané dans deux régions différentes du pays (Mostaganem et Naama). L'étude consiste à suivre les effets antimicrobiens de ces extraits vis-à-vis d'un germe pathogène (*S. aureus*) responsable de multiples maladies (nosocomiales, infections urinaires, maladies dermatiques, infections vaginales...etc).

L'extraction des composés bioactifs a été effectuée en utilisant quatre solvants à différentes polarités (hexane, méthanol, éthanol, l'eau). Les mesures et contrôles réalisés en triples essais ont concerné; (Tests de croissance, test de diffusion sur disque, concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB).

D'une façon globale, les extraits purs à l'eau et éthanolique de *Rosmarinus officinalis* ont présenté des activités antimicrobiennes très proches de la gentamicine connue comme étant un antibiotique à large spectre.

Ces extraits ont révélé un mode d'action de type bactéricides vis-à-vis de la souche étudiée *staphylococcus aureus*.

Les mots clés : *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*, activité antimicrobienne, CMI, CMB.

Abstract

This work focuses on the valuation of a medicinal plant (*R. officinalis*) growing spontaneously in two different regions of the country (Mostaganem and Naama). The study consists of monitoring the antimicrobial effects of these extracts against a pathogenic microorganism (*S. aureus*) responsible for multiple diseases (nosocomial infections, urinary tract infections, dermal diseases, vaginal infections, etc.). The extraction of the bioactive compounds was carried out using four solvents with different polarities (hexane, methanol, ethanol, water).

Measurements and controls carried out in triple tests concerned; (Growth tests, disk diffusion test, minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (CMB).

In a general way, the pure water and ethanolic extracts of *Rosmarinus officinalis* showed antimicrobial activities very close to the gentamicin known as an antibiotic at the age spectrum.

These extracts revealed a mode of action of bactericidal type vis-à-vis the *staphylococcus*.

Key word : *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial activity, CMB, CMI.

المخلص

يركز هذا العمل على تقييم نبات طبي *Rosmarinus officinalis* ينمو بشكل عفوي في مطقتين مختلفتين من البلاد مستغانم و النعامة وتتكون الدراسة من رصد الاثار المضادة للميكروبات لهذه المستخلصات ضد الكائنات الحية الدقيقة *aureus Staphylococcus* المسببة للأمراض المتعددة (عدوى المستشفيات، التهابات المسالك البولية، الأمراض الجلدية، العدوى المهبالية). تم استخلاص المركبات النشطة باستخدام اربعة مذيبات بأقطاب مختلفة (هيكسان، ميثانول، ايثانول، و الماء).

القياسات و الضوابط المنفذة في الاختبارات الثلاثة المعنية (اختبارات النمو، اختبار انتشار القرص، MIC، CMB).

الكلمات المفتاحية: *officinalis Rosmarinus*، *aureus Staphylococcus*، CMI، CMB، النشاط المضاد للميكروبات.

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies **(Farnsworth et al., 1986)**.

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier *Rosmarinus officinalis*.

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

Chapitre I : Généralités sur la phytothérapie

1. Généralité

Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans, 2007**). Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon OMS (Organisation Mondiale de la Santé) plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (**Farnsworth et al., 1986**).

En effet sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (**Millogo et al., 2005**).

2. Historique de la phytothérapie

Durant des milliers d'années, les plantes constituent la principale source de remèdes pour l'Homme contre de nombreuses maladies. C'est la méthode la plus populaire d'auto-traitement (**Carole, 2008**).

L'histoire des plantes médicinales et aromatiques est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine traditionnelle et moderne (**Bammi et al., 2002 ; Elamri et al., 2014**).

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autre au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Paul, 2001**).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes: on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes médicinales et aromatiques occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, pharmaceutique et phytothérapie (**Duraffourd et al., 1997**).

3. Définition

Le mot phytothérapie vient du grec « *phuton* » qui signifie « plante » et « *therapeueine* » qui signifie « traitement ». Il s'agit de l'utilisation des plantes médicinales et de leurs extraits à titre thérapeutique (Moatti, 1990; Caroline, 2013).

3.1. Types de Phytothérapie

_ **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

_ **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.

_ **Herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

_ **Homéopathie** : a recours aux plantes d'une façon prépondérante ; mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

_ **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (Strang, 2006).

4. Avantages de la phytothérapie

La phytothérapie a surtout pour but de soigner l'être humain dans sa globalité. De façon holistique elle recherche à renforcer les capacités d'auto guérison et harmoniser son terrain (Elaerts, 2014).

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par

les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme **(Paul, 2001)**.

L'effet thérapeutique reconnu de ces plantes, dépend de la nature chimique des substances actives qu'elles contiennent ; c'est selon cet effet que les plantes médicinales sont réparties en groupes. Ainsi, et tenant compte de la possibilité qu'une plante médicinale peut souvent traiter à la fois plusieurs affections, une même plante peut faire partie de plusieurs groupes de plantes médicinales **(Rubin, 1988)**.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite **(Iserin et al., 2001)**.

5. Définition des plantes médicinales

Ce sont toutes plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles **(Abayomi, 2010)**. Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents **(Sanago, 2006)**.

Donc les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés thérapeutiques, et qui est inscrite sur la liste des plantes médicinales pharmacologiques **(Motti et Musarella, 1993)**.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme **(Paul, 2001)**.

5.1. Principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisée pour la fabrication des médicaments **(Pelt, 1980)**. Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous

pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (**Sarnimanchado et Cheynier, 2006**).

Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

Parmi les Différents groupes des principes actifs on s'intéresse dans notre étude par :

5.1.1. Les Poly phénols

Les poly phénols, groupe de molécules de structures variées (**Hennebelle et al., 2004**), et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. (**Derbel et Ghedira, 2005**). Ils sont classés en flavonoïdes, anthocyanes, tanins et stilbènes. (**Derbel et Ghedira, 2005**).

Ce sont de métabolite secondaire caractères par la présence d'au moins un noyau aromatique possédant un ou plusieurs groupe hydroxyles substitue (**Abderrazak Marouf et al., 2007**). Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**), sont des molécules largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus (**Waksmundzka-Hajnos et al., 2011**).

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Plus de 8000 structures ont été identifiées allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (**Dai, et Mumper, 2010**).

La localisation des composés phénoliques dans les différents tissus et organes végétaux à l'échelle cellulaire, la localisation des composés est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : d'une part la paroi cellulaire où sont présentes les lignines et les flavonoïdes pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration. A l'échelle tissulaire, on observe également des répartitions très inégales des différents composés phénoliques, sont généralement présent dans les couches cellulaires externes des organes végétaux en particulier les épidermes de fruits et des feuilles (Sarni et Cheynier, 2006).

5.1 .2. Les Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton, 2009).

Un alcaloïde donné peut être confiné dans des organes particuliers comme par exemple les racines, les feuilles ou les jeunes fruits (William, 2003), beaucoup d'alcaloïde possèdent des propriétés antibiotiques ce qui suggère qu'ils constituent un moyen de défense contre les infections microbiennes, la plante elle-même n'a pas besoin de ces alcaloïdes, on peut le trouver dans toutes les parties de la plantes. Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (Hopkins, 2003 ; Hartmann, 1991). Des anticancéreuses (Iserin et al., 2001).

6 .Le pouvoir des plantes

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance considérable car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (Iserin et al., 2001).

7. Importance des plantes aromatiques et médicinales

7.1. Action des plantes médicinales

Les plantes sont universellement reconnues comme un élément essentiel de la diversité biologique du monde et une ressource essentielle pour la planète. Elles peuvent améliorer la qualité de la vie et le milieu de travail, de plus, les plantes oxygènent l'air et favorisent ainsi l'éveil et la concentration (**Bremness, Larousse, 2005**).

Plusieurs milliers de plantes sauvages ont une grande importance économique et culturelle, en fournissant de la nourriture, des médicaments, du carburant, des vêtements et des abris pour l'homme dans le monde entier. Les plantes jouent également un rôle clé dans le maintien de l'équilibre écologique de la terre et de la stabilité des écosystèmes. Elles fournissent des habitats pour les animaux et les insectes (**Djoghlaïf et al., 2009**).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie: elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Chevallier, 2001**).

7.2. Indications thérapeutiques

Chaque plante possède une activité thérapeutique traditionnelle, soit par voie orale, soit en usage local (**Bremness, 1996**). La consécration officielle de l'utilisation des plantes médicinales est leur inscription à "la liste officielle des indications thérapeutiques des médicaments à base de plantes" des cahiers de l'Agence de 1998. Certains usages, correspondant à des pathologies sévères n'y sont pas mentionnés. Il est donc uniquement fait mention des indications thérapeutiques correspondant à des pathologies mineures et du quotidien. Cependant, bien d'autres plantes sont employées, soit sur prescription médicale ou sur simple demande d'acheteurs, soit par les fabricants de spécialités pharmaceutiques. La Pharmacopée européenne comporte de nombreuses monographies de plantes, que l'on retrouve également dans les Pharmacopées française, suisse, ou encore russe. Les drogues d'importance primordiale figurent, bien entendu, dans toutes les Pharmacopées. Pourtant, des plantes sont retenues par certains pays, et non par le nôtre (**Bézanger-Beauquesne et**

al., 1986). La lecture des éditions anciennes peut être fructueuse, car elle remémore certaines plantes évincées ultérieurement. En 1973, à l'initiative de la Commission Nationale de Pharmacopée, fut réalisé un inventaire général des inscriptions assurant à quelque 900 espèces, scrupuleusement enregistrées, le caractère pharmaceutique. Habituellement, le nombre d'indications thérapeutiques autorisé pour un médicament à base de plantes est limité à deux. Ces indications sont choisies par le fabricant, parmi celles figurant dans "la liste officielle des Indications thérapeutiques des médicaments à base de plantes" des cahiers de l'Agence de 1998, pour le ou les principes actifs de ce médicament. Si, pour un médicament comportant une association de plusieurs principes actifs, deux indications sont revendiquées, elles ne sont habituellement acceptées que si elles sont complémentaires dans un même domaine thérapeutique (**Agence du Médicament, Paris, 1998**).

7.3. Protection de la nature

Nous ne pouvons qu'éprouver le plus grand respect devant les plantes médicinales et leurs principes actifs, véritables miracles de la nature. Nous le manifestons particulièrement quand nous les récoltons. Certaines d'entre elles, très répandues autrefois, sont devenues rares aujourd'hui. Les champs, les forêts et les prés ne doivent pas être considérés sous le seul angle du profit matériel ; ils sont aussi des sources de joie et d'énergie pour tous les hommes qui ont gardé un contact, même épisodique, avec la nature. Au moment de la récolte des plantes, il convient de laisser en place au moins le quart de chaque peuplement. En France, selon l'Inventaire National du Patrimoine Naturel, il est estimé que 486 espèces, soit 10% environ des espèces indigènes françaises sont menacées, 107 étant des endémiques strictes. Cet endémisme est notamment important en Corse et dans les grands massifs des Alpes et Pyrénées. 73% sont des espèces sub-endémiques (présentes en France et dans un autre pays), et 306 sont présentes dans 3 pays ou plus. (**Olivier et al., 1995 ; Galland et al., 1995 ; Maurin et al., 1995**). Plusieurs pays ont réglementé la cueillette de certaines plantes. En France, une protection nationale a été mise en place. S'appuyant sur la loi du 10 juillet 1976 relative à la protection de la nature, La France s'est dotée en 1982 d'un arrêté, modifié en 1995, constitué de deux annexes. La première interdit la destruction, le colportage, la commercialisation, l'utilisation de tout ou partie des espèces qui y sont citées. L'annexe II n'interdit que la destruction, tandis que le ramassage, la récolte, l'utilisation, le transport ou la cession sont soumis à autorisation

ministérielle. Si cette mesure est valable "en tout temps" et "sur l'ensemble du territoire national", les parcelles cultivées en sont exclues (ce qui pose problème pour la conservation des plantes compagnes des moissons). A moindre échelle, des protections régionales et départementales s'appuient sur les listes qui complètent localement l'arrêté national. Le principe de protection s'appuyant sur 39 annexes différentes est repris, permettant de protéger des plantes rares ou menacées à l'échelle régionale. Enfin des arrêtés préfectoraux s'appuient sur une liste nationale d'espèces végétales pouvant faire l'objet d'une réglementation préfectorale. Ces arrêtés peuvent interdire ou limiter, de manière permanente ou temporaire, le ramassage, la récolte ou la cession de ces végétaux. Les espèces concernées par cette liste sont essentiellement celles pouvant être localement menacées par des prélèvements intensifs (salades sauvages, narcisses, plantes médicinales, etc.) (**EULF, 2008**). Ces protections nous intéressent à un plus haut point car elles nous font bien prendre conscience que, même si notre planète est une source immense et renouvelable de plantes médicinales, une gérance suivie des générations des différentes espèces est de la plus haute importance pour pouvoir continuer à fabriquer et à délivrer les médicaments et les préparations à base de plantes (**Audrey, 2008**).

8. Efficacité des plantes entières

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

Chapitre II : *Rosmarinus officinalis L*

1. Généralités

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 et de la podagr (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. Le romarin est bien connu sous plusieurs noms vernaculaires dont

Ikilil Al Jabal, Klil, Hatssa louban, Hassalban, Lazir, AzÎir, Ouzbir, Aklel, Touzala (Lucienne, 2007).

4. Définitions

Le romarin *Rosmarinus officinalis L.* est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage. Le romarin aime les terrains calcaires et s'accommode très bien a des contrées arides et rocailleuses. 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.

5. Origine du nom

Le romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin *ros*, rosée et *marinus*, marin. En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on 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 est un arbrisseau de la famille des labiées, peut atteindre jusqu'à 1,5 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).



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

7. 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. Thym, Lavande, Romarin sont des Lamiacées caractéristiques de la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares dans les montagnes et les régions arctiques. Elles sont utilisées en herboristerie, en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates. (Dupont et Guignard, 2007 ; Botineau, 2010).

8. Classification

La Classification classique du romarin est comme suit :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis*

La Classification phylogénétique :

Rosmarinus officinalis appartient à :

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (Wikipédia, 2018).

9. Répartition géographique

Rosmarinus officinalis 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 (**Flora of Turkey, 1982; Davi, 1982**) ; on le trouve dans tout le sol algérien (**quezel, 1963**).

10. Récolte du Romarin

De manière générale, la récolte d'une plante est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum, afin de pouvoir compter sur des effets utiles et constants. 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 ; 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**).

La récolte des parties aériennes en fleur se fait soit à la machine pour les cultures de Romarin soit à la serpette (manuellement) pour les parcelles de Romarin sauvage (**Fernandez et Chemat, 2012**).

La plante rapidement 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 : espacées sur des claies garnies de papier, remuées de temps en temps, dans une pièce ensoleillée ou à l'étuve (**Reclu, 2004**). Une fois sec, conserver le Romarin dans des bocaux ou boîtes garnis de papier et bouchés ou en petites bottes enveloppées dans du papier et gardées au sec. Conservation : environ un an (**Reclu, 2004**).

11. Saveur, arôme et valeur nutritive

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 01).

Tableau 01. Composition des éléments nutritifs de romarin séché.

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	µg	0.00
Acides gras saturés	g	7.371
Acides gras, mono insaturés	g	3.014
Acide gras polyinsaturés	g	2.339

(**USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2011**).

12. Principes actifs

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont :

_ **Acides phénoliques** : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique (**Ibañez et al., 2003 ; Ramirez et al., 2004 ; Caverro et al., 2005 ; Herrero et al., 2005 ; Muchuweti et al., 2007 ; Pérez et al., 2007**).

_ **Flavonoïdes** : genkwanine, cirsimaritrine (**Ibañez et al., 2000; Caverro et al., 2005**), ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (**Okamura et al., 1994 ; Del Baño et al., 2004**), et apigénine (**Yang et al., 2008**).

12.1. Composés phénoliques

12.1.1. Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires 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 traces 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**).

12.1.2. Principales classes des composés phénoliques

12.1.2.1 .Acide phénoliques simples

A / Acides hydroxybenzoïques :

- _ Sont des dérivés de l'acide benzoïque.
- _ Ont une structure générale de base de type (C6-C1).
- _ Existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

B / Acides hydroxycinnamiques :

- _ Dérivent de l'acide cinnamique.
- _ Ont une structure générale de base de type (C6-C3).
- _ Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques.
- _ Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

C/ Coumarines :

- _ Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale.
- _ Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (**Macheix et al, 2005**).

12.1.2.2. Flavonoïdes

12.1.2.2.1. Généralités

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (**Piquemal, 2008**), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (**Karaali et al., 2004 ; Malešev et Kuntić, 2007**).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (**Nijveldt et al., 2001**). Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (**Ghedira, 2005; Malešev et Kuntić, 2007**). Prés de 4000 flavonoïdes ont été décrits (**Medić-Šarić et al., 2004**).

12.1.2.2.2. Structure

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Erdman et al., 2007**). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3- C6 (**Emerenciano et al., 2007**), en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (**Narayana, 2001; Malešev et Kuntić, 2007**).

12.1.2.2 .3. Classification

Les principales classes des flavonoïdes sont :

1. Flavones ;
2. Flavonols ;
3. Flavanols ;
4. Flavanones ;
5. Anthocyanidines ;
6. Isoflavones. (**Narayana et al., 2001; Erdman et al., 2007**).

12.1.2 .2.4. Localisation

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (**Hutzler et al., 1998**). Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles (**Piquemal, 2008**), la répartition de ces composés montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement. Ainsi, les flavonoïdes qui ont une localisation épidermique ont un rôle d'écran vis-à-vis des rayonnements solaires, tandis que ceux qui sont impliqués dans les mécanismes de défense ont plutôt une localisation sous épidermique (**Boudet, 2000**).

12.1.2.2.5. Distribution

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (**Verhoeven et al., 2002**), ils peuvent aussi être rencontrés dans certains boissons et chez certains fourrages (ex: trèfle) (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (Lahouel, 2005 ; Piquemal, 2008).

12.1.2.2.6. Propriétés des flavonoïdes

12.1.2 .2.6.1. Propriétés antibactériennes :

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les poly phénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

12.1.2 .2.6.2. Autres propriétés des flavonoïdes

Parmi les principales autres propriétés on cite souvent :

- _ Protection des plantes contre les radiations UV ;
 - _ Ils sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales ;
 - _ Agissent comme des pigments ou des Co-pigments ;
 - _ Modulation de la distribution d'auxine ;
 - _ Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire ;
 - _ Régulation de l'élongation des tiges ;
 - _ Interviennent dans la maturité des fruits ;
 - _ Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores ;
- (Park et Cha, 2003 ; Subsamanian et al., 2007 ; Yang et al., 2008).

13. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

Plante très connue, le romarin est originaire du bassin méditerranéen. Depuis l'antiquité, il 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. 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, améliorant concentration et 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 récente blessure (Okamura et al., 1994). Les feuilles de la plante sont Utilisées généralement comme épices et comme source de composés antioxydants utilisés dans la conservation de nourriture. La décoction de romarin des feuilles peut être utilisée comme contre l'eczéma et d'autres maladies cutanées (Altinier et al., 2007).

14. Activité antibactérienne

Le Romarin a été testé sous différentes formes contre différentes bactéries à Gram positif ou négatif responsables de différents types de pathologies.

14.1. Etude de l'activité sur *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries (Gram positif) commensales de l'homme. *Staphylococcus aureus* est responsable de nombreuses infections nosocomiales et communautaires représentant un problème de santé publique.

Le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) fait partie des bactéries les plus difficiles à traiter chez les patients et à éradiquer en milieu hospitalier. Le nombre de décès imputable aux SARM a considérablement augmenté (Oluwatuyi et al., 2004).

Une étude de 2004 a évalué les principaux constituants (acide carnosique et carnosol) d'un extrait chloroformique des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* pour leur activité antibactérienne contre les souches de *S. aureus* possédant des mécanismes de résistance. Ni l'acide carnosique ni le carnosol n'ont d'activité sur la pompe d'efflux multi-drogue NorA. L'acide carnosique inhibe modestement l'efflux de bromure d'éthidium (substrat pour de

nombreuses pompes multi-drogue), mais cette activité est susceptible d'être liée à l'inhibition de pompe(s) autre que NorA. 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).

15. 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).

Chapitre III: Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Historique

Plusieurs 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 chaînettes, les *Streptococcus* et ceux en grappe, les *Staphylococcus*, scindant ainsi le genre en deux (Hill, 1981).

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).

2. Taxonomie et propriétés

Sur la base de 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 (Tableau 2) (Bes et Brun, 2002).

Tableau 2. Espèces constituant le genre *Staphylococcus*.

Espèces et sous-espèces isolées en clinique humaine	Espèces et sous-espèces isolées principalement chez l'animal, les produits dérivés et l'environnement
<i>S. aureus subspecies aureus</i>	<i>S. arlettae</i>
<i>S. auricularis</i>	<i>S. aureus subspecies anaerobius</i>
<i>S. capitis subspecies capitis</i>	<i>S. capitis subspecies urealyticus</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. carnosus subspecies carnosus</i>
<i>S. cohnii subspecies cohnii</i>	<i>S. carnosus subspecies utilis</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. chromogenes</i>
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. cohnii subspecies urealyticus</i>
<i>S. hominis subspecies hominis</i>	<i>S. condimenti</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>S. delphini</i>
<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. felis</i>
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. fleurettii</i>
<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. gallinarum</i>
<i>S. saprophyticus subspecies saprophyticus</i>	<i>S. hominis subspecies novobiosepticus</i>
<i>S. schleiferi subspecies schleiferi</i>	<i>S. hyicus subspecies hyicus</i>
<i>S. simulans</i>	<i>S. kloosii</i>
<i>S. xylosum</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. lutrae</i>
	<i>S. muscae</i>
	<i>S. piscifermentans</i>
	<i>S. pulvereri</i>
	<i>S. saprophyticus subspecies bovis</i>
	<i>S. schleiferi subspecies coagulans</i>
	<i>S. sciuri subspecies sciuri</i>
	<i>S. sciuri subspecies carnaticus</i>
	<i>S. sciuri subspecies rodentium</i>
	<i>S. succinus</i>
	<i>S. vitulinus</i>

(Flandrois, 1997)

Les *Staphylococcus* sont des cocci à coloration de Gram positive d'environ 1 µm de diamètre, se disposant le plus souvent en amas ou grappes (figure 2). Ils sont immobiles et ne produisent pas de spores. S'ils sont généralement capsulés *in vivo*, ils perdent progressivement leur capsule en culture (Flandrois, 1997).

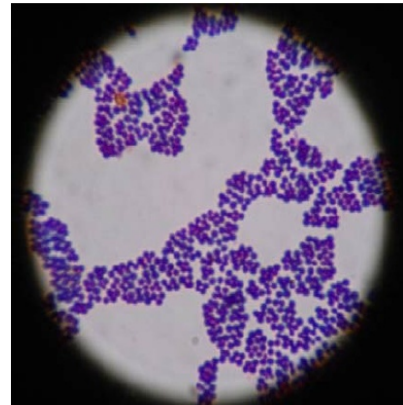


Figure 2. *S. aureus* vu au microscope après coloration de Gram (IJVS, 2014).

3. Habitat

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur, mais aussi en commensal des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux.

L'Homme constitue un réservoir de plusieurs espèces de staphylocoques, dont *Staphylococcus aureus*. La bactérie colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveau-nés puis reste en portage chronique chez 20 % des individus sains et en portage intermittent chez 30 à 50 % d'entre eux. Les porteurs chroniques sont colonisés par une souche présente en forte densité, au contraire des porteurs intermittents colonisés par des clones différents au fil du temps et présents à des densités plus faibles. De ce fait, les porteurs chroniques sont plus à risque d'infection (Wertheim et al., 2005).

Différents facteurs de risque de colonisation liés à l'hôte sont identifiés : les sujets masculins, un âge supérieur à 60 ans, l'éthylisme chronique, le diabète, la présence d'un néoplasie, d'une insuffisance rénale terminale ou encore les pathologies pulmonaires chroniques (Wertheim et al., 2005).

La localisation préférentielle de *Staphylococcus aureus* est le rhinopharynx (fosses nasales et gorge), mais il est également présent dans le tube digestif et le périnée en plus faible quantité. Il dissémine par intermittence à partir des sites de portage vers les zones humides comme les aisselles. Il est également capable de disséminer par aérosol sur la peau à partir du rhinopharynx. Sa capacité à résister à la dessiccation

explique que cette bactérie puisse être retrouvée sur les vêtements et dans les squames présentes dans les poussières environnementales, permettant non seulement une transmission directe manu portée, mais également une transmission indirecte par les objets et les poussières (Caby et al., 2010).

4. 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 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 vont croître en présence de concentrations en chlorure de sodium allant jusqu'à 15% (Cohen, 1972 ; Sneath, 1986).

Les staphylocoques sont 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 de 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 post-opératoires 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).

5. 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 E 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).

5.1. Infections suppuratives

Le plus fréquemment, *Staphylococcus aureus* provoque des infections locorégionales de localisations cutanées superficielles, sous-cutanées et muqueuses : impétigos, folliculites, panaris, abcès, furoncles, anthrax, cellulites, lymphangites. Plusieurs facteurs favorisent la survenue d'infections à partir d'une simple colonisation, parmi lesquelles on retrouve les atteintes cutanées (plaies quelle que soit leur origine, brûlures, ulcères), le diabète, les traitements immunosuppresseurs et les corticoïdes, mais aussi les déficits immunitaires cellulaires (Flandrois, 1997). Les souches sécrétrices de PVL sont fréquemment impliquées dans les atteintes cutanées récidivantes et les tableaux de furunculoses familiales (Vandenesch et al., 2011). *Staphylococcus aureus* est également un agent pathogène responsable d'infections de la sphère ORL (otites, sinusites, mastoïdites, angines), mais aussi de pneumopathies (Flandrois, 1997).

Des infections profondes peuvent compliquer les infections superficielles soit par extension directe locorégionale, comme c'est le cas pour la staphylococcie maligne de la face secondaire à un furoncle de l'aile du nez, soit par dissémination par voie hématogène (Flandrois, 1997).

Staphylococcus aureus est alors responsable de septicémies, à l'origine de localisations viscérales pleuro-pulmonaires (abcès bulleux), ostéo-articulaires (ostéomyélites, arthrites), cardiaques (endocardites), méningées, cérébrales (abcès cérébraux) et urinaires (phlegmons péri-néphrétiques) (Vincenot et al., 2008).

5.2. Infections associées aux toxines

Plusieurs pathologies sont liées à des infections toxiques de *Staphylococcus aureus*.

5.2.1. Intoxications alimentaires

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 centres nerveux responsables de la diarrhée et du vomissement (Vincenot et al., 2008).

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 ont été 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**).

5.2.2. Entérocolites

Les entérocolites staphylococciques surviennent majoritairement au décours d'une antibiothérapie, qui semble être à l'origine de la sélection de souches intestinales de *Staphylococcus aureus* résistantes aux antibiotiques administrés et sécrétrices d'entérotoxines. Elles se caractérisent cliniquement par une fièvre et une diarrhée intense sanglante avec déshydratation. L'aspect coloscopique de la muqueuse digestive évoque une entérocolite pseudomembraneuse (**CNRS, 2013**).

5.2.3. Syndrome de choc toxique staphylococcique

Le syndrome de choc toxique staphylococcique est provoqué par la diffusion dans l'organisme de la toxine du choc toxique staphylococcique ou d'une entérotoxine. Le tableau clinique se caractérise par une fièvre supérieure à 39°C, une hypotension, une érythrodermie de type scarlatiniforme desquamative ainsi que d'au moins trois manifestations systémiques parmi les suivantes : diarrhées, vomissements, myalgies, augmentation de la créatine phospho-kinase, hyperhémie vaginale, oropharyngée ou conjonctivale, insuffisance rénale aiguë, cytolyse hépatique, thrombopénie, troubles de la conscience (**CNRS, 2013**).

Si ce syndrome a d'abord été identifié comme une complication d'infections suppuratives en pédiatrie, de nombreux cas (19 en 2011) ont été décrits par la suite chez des femmes en période menstruelle liés à l'utilisation de tampons au fort pouvoir absorbant. Le pronostic semble alors plus favorable (**Vandenesch et al., 2011**). D'autres sites colonisés ou infectés peuvent être à l'origine de ce tableau, qui est plus fréquemment provoqué par des infections suppuratives que par une colonisation des voies aériennes supérieures (**CNRS, 2013**).

La scarlatine staphylococcique se traduit par un érythème scarlatiniforme fébrile suivi d'une desquamation fine, sans choc ni syndrome de défaillance multi viscérale (**CNRS, 2013**).

Sept cas ont été recensés en 2011, tous chez des enfants (avec un âge médian de 5,4 ans). Ces cas sont survenus au décours d'infections staphylococciques diverses (cutanée, ostéite, pharyngite, arthrite), d'origine communautaire comme nosocomiale (**Vandenesch et al., 2011**).

Le *neonatal toxic shock syndrome-like exanthematous disease* (NTED) survient en période néonatale et associe fièvre, éruption cutanée et thrombocytopenie, là encore sans choc ni syndrome de défaillance multiviscérale.

Le *recalcitrant erythematous desquamating disorder* (REDD) a été majoritairement observé chez des patients atteints par le VIH au stade SIDA. Les manifestations cliniques sont des lésions érythémateuses extensives chroniques associées à des défaillances d'organes multiples sans état de choc (**Flandrois, 1997**).

5.2.4. Manifestations cutanées

Les exfoliatines A et B de *Staphylococcus aureus* sont responsables de syndromes staphylococciques cutanés bulleux. Les décollements bulleux sont liés à un clivage intra épidermique provoqué par les exfoliatines, ce qui permet le diagnostic différentiel avec des nécrolyses épidermiques toxiques ou allergiques présentant un plan de clivage dermoépidermique (**CNRS, 2013**).

Le syndrome d'exfoliation généralisé ou syndrome de la peau ébouillantée est provoqué par ces toxines, qui diffusent à partir d'un foyer de colonisation ou d'infection à *Staphylococcus aureus*. Il touche essentiellement les jeunes enfants, mais aussi les adultes immunodéprimés et les insuffisants rénaux. Il se traduit cliniquement par un rash douloureux de type scarlatiniforme, suivi en quelques heures d'un décollement cutané spontané ou provoqué. En l'absence de surinfection, le contenu des bulles est stérile. La souche toxigène ne doit pas être recherchée au niveau des bulles mais en portage rhinopharyngé ou sur le site d'une infection suppurative. Si ce syndrome est relativement bénin lorsqu'il est bien pris en charge, la mortalité atteint 4 % en l'absence d'antibiothérapie (**CNRS, 2013**).

Une forme mineure de ce syndrome semble exister, associant un exanthème desquamatif du cou et des plis inguinaux et axillaires, un syndrome fébrile et un impétigo de la face (**Vandenesch et al., 2011**).

Par opposition avec ce tableau, l'impétigo bulleux est provoqué par des souches de *Staphylococcus aureus* produisant des exfoliatines au sein des lésions cutanées. Le nombre de bulles, dont le contenu est trouble et contient le staphylocoque et sa toxine,

est variable et prédomine au niveau des extrémités. L'évolution se fait vers la rupture des bulles, la formation d'ulcérations puis de croûtes. La recherche de la souche toxigène responsable de l'infection doit ici se faire dans les lésions bulleuses (CNRS, 2013).

5.2.5. Pneumopathies nécrosantes

Les pneumopathies nécrosantes à *Staphylococcus aureus* sont souvent liées à des souches sécrétrices de PVL. Le tableau clinique associe une pneumopathie sévère avec détresse respiratoire, atteinte pleurale, hémoptysie et leucopénie. Elle fait généralement suite à un syndrome grippal et touche préférentiellement des sujets jeunes, enfants et adultes jeunes sans comorbidités, avec un âge médian de 14,8 ans. L'évolution clinique est rapidement défavorable dans plus de la moitié des cas, avec apparition d'une défaillance multi viscérale et un décès rapide en moins de 5 jours après le début de l'hospitalisation.

La mortalité est importante, environ 60 %, malgré une antibiothérapie adaptée (CNRS, 2013).

Chapitre IV : Les infections urogénitales

1. Définition de l'urine

L'urine est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, elle est secrétée par les reins par filtration du sang, qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire (Zerari et kouadio, 2014).

2. Caractères physicochimiques de l'urine

L'urine d'un sujet présente plusieurs paramètres :

- Volume : 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grande chaleurs ou de divers exercices corporels.
- Couleur : jaune ambrée liée aux pigments qu'elle contient tels l'urochrome et l'uroerythrine.
- Limpidité : l'urine normale fraîchement émise renferme toujours des cellules épithéliales, du mucus de sédiment, et constitue le dépôt floconneux. Les leucocytes qu'elle contient peuvent également de façon légère diminuer sa clarté.
- Odeur : légère, cependant des bactéries peuvent transformer l'urée en carbonate d'ammonium (cas de cystite) et donner une odeur ammoniacale.
- Poids : déterminé à l'aide d'un pycnomètre l'urine recueillie 24h pèse environ 1,020 Kg. (Djaballah et Talbi, 2013).

3. Constitution physiologique de l'urine

L'urine est composée de 95% d'eau dans la quelle les déchets du métabolisme sont dissous. Les principaux constituants sont mentionnés dans le tableau 03.

Tableau 03. Les principaux constituants de l'urine.

Principaux constituants d'urine	Volume habituelles
-Eau	950 g/l
-Urée	20 à 30 g/l
-Chlorure	6 à 10 g/l
-Sodium	5 à 6,5 g/l
-Phosphatases	1,5 à 3 g/l
-Sulfate	2 g/l
-Créatine	1 à 1,5 g/l
-Ammoniaque	0,5 à 1 g/l
-Acide hippurique	0,5 g/l
-Acide urique	0,4 à 0,8 g/l
-Calcium	0,008 à 0,3 g/l

(Chouba et al., 2006)

4. Généralités sur l'infection urinaire

Le terme d'infection urinaire regroupe des situations cliniques hétérogènes qui ont comme caractéristiques communes la présence de quantités significatives de bactéries dans les urines. Il est classique de distinguer :

- les cystites : infections localisées à la vessie, le plus souvent d'origine bactérienne, bénignes, toujours d'origine ascendante.

- l'urétrite : Si l'infection touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire), on l'appelle urétrite. Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont la chlamydia et le gonocoque (la bactérie responsable de la gonorrhée).

- les pyélonéphrites aiguës : infections urinaires bactériennes présumées ascendantes, avec atteinte du parenchyme rénal, qui sont potentiellement graves : elles peuvent être cause de lésions rénales et de diffusion systémique. L'interprétation de ces lésions est parfois difficile, car certaines sont acquises mais d'autres sont congénitales. (**Loudyi ,2007**).

L'infection correspond à l'agression d'un tissu par un ou plusieurs microorganisme(s) générant une réponse inflammatoire, des signes et symptômes de nature et d'intensité variable selon le site atteint et le terrain.

5. Physiopathologie

5.1. Source des germes:

Lors d'une infection urinaire, le micro-organisme peut se localiser à différents niveaux en allant de sa source jusqu'à l'appareil urinaire (**Caron, 2003 ; Turck et Stamm, 1998**).

a- Appareil urinaire : C'est la source la plus importante, en effet une infection urinaire peut prendre naissance à partir de trois grands niveaux :

- niveau vésical : diverticulose vésicale,

- niveau calculeux : à ce niveau, le germe peut s'installer en se protégeant par la structure du canal excréteur,

- niveau urétral : urétrite chronique et diverticules urétraux.

b- Appareil génital : C'est une source que l'on observe chez les deux sexes :

- Chez l'homme, une prostatite chronique : l'existence d'une cystite fébrile doit évoquer cette éventualité, et un massage prostatique peut être à l'origine d'une infection urinaire.

- Chez la femme : une cervicite chronique, une vaginite sont souvent évoquées dans l'apparition des infections urinaires.

c- L'intestin : Des germes retrouvés dans les urines sont présents dans les selles. Ceci explique bien que certaines infections urinaires peuvent avoir comme source l'intestin.

d- Oropharynx : L'apparition d'une infection urinaire peut coïncider avec la présence de foyers infectieux amygdaliens ou dentaires.

Les germes peuvent métastaser dans les reins à la faveur d'une bactériémie. Des études ont montré qu'après une amygdalectomie, les cystites ne sont plus reproduites.

e- Source exogène : Le cas d'une souillure observée lors d'une manipulation d'un cathétérisme non stérile en est un exemple.

6. Types d'infection urinaire

Il existe quatre types d'infections urinaires (Moreddu, 2007).

6.1. Cystite : C'est une inflammation de la vessie et de l'urètre d'origine infectieuse. Le germe en cause : *Escherichia coli* dans 75 à 80%.

6.2. L'urétrite infectieuse : si l'infection touche uniquement l'urètre, Il s'agit souvent d'infection sexuellement transmissible courante chez les hommes et les femmes. Le germe en cause : la chlamydia et le gonocoque.

6.3. Pyélonéphrite : c'est une inflammation aiguë ou chronique du parenchyme rénal et des cavités excrétrices rénales, survient plus souvent chez la femme. Le germe en cause : *Escherichia coli*.

6-4-Prostatite : est une inflammation de la prostate causée par des agents infectieux (bactéries, champignons, mycoplasmes) ou par une affection (par exemple rétrécissement de l'urètre, hyperplasie de la prostate). Le germe en cause : *Escherichia coli* (Bare, 2011).

7. Les germes responsables des infections urinaires

De nombreux micro-organisme peuvent infecter les voies urinaires, mais les agents les plus fréquents sont : *E. coli* qui est majoritaire (70-95%), *Staphylococcus saprophyticus* (5%). Les autres germes comme : *Klebsiella*, *Proteus* ou les entérocoques, Staphylocoque doré sont rares, les levures sont identifiées à 2% et

retrouvés essentiellement chez les patients immunodéprimés (Lobel et Soussy, 2007). Dans certaines circonstances des levures représentent une infection réelle des voies urinaire, les deux principaux organismes pathogènes sont *le Candida albicans* et plus rarement *le Candida tropicalis*. Ce type de champignon ou levure se rencontre habituellement chez des malades sondés et ayant reçu une antibiothérapie prolongée (Chartier, 2002) (Voir le tableau 04).

Tableau 04. Principales espèces bactériennes responsables de l'infection urinaire.

Espèces Bactériennes	Origine	Rôle infectieux	Type d'IU
Entérobactéries	- <i>E. coli</i> - <i>Proteus mirabilis</i> - <i>Providencia</i> - <i>Klebsiella</i> - <i>Entérobacter</i> - <i>Serratia</i>	-Iléon terminal, colon -Voies génitales basses, urètre antérieur -Environnement hospitalier	C, BA, PN, P. C, BA, PN. BA, PN, P.
Cocci Gram Positif	- <i>Entérocoques</i> - <i>Streptocoque du groupe D.</i>	-Iléon terminal, colon -Voies génitales basses -L'urètre antérieur et postérieur	C, BA, PN.
	<i>Staphylocoques</i> - <i>S. aureus</i> - <i>S. épidermidis</i> <i>S. saprophytica</i>	- Voies génitales basses - Urètre antérieur Peau (commensaux) -Environnement hospitalier	C, BA, PN.

C: Cystite ; **BA:** Bactériurie asymptomatique ; **PN:** Pyélonéphrite ; **P:** Prostate (Kouta, 2009).

8. Diagnostic para-clinique

8.1. Bandelettes urinaires:

Une première approche peut être l'examen d'urines par bandelette urinaire recherchant nitrite; protéines, hématies et leucocytes. Si l'ensemble de ces quatre données est négatif, le diagnostic d'I.U. est peu probable (faux négatif < 10 %). Par contre, la positivité d'un seul paramètre doit faire pratiquer un ECBU :

- N+ : I.U. presque certaine (spécificité 98 % ; faux positif 2 % seulement).
- L+ : moins performant (spécificité 90 % ; faux positif 10 %)

(NB : ces bandelettes n'ont pas été testées chez le nouveau-né et le très jeune nourrisson) (**Burns et al., 1987**).

8.2. ECBU :

Il permet d'affirmer ou d'infirmer l'I.U: bactériurie supérieure ou égale à 10^5 germes/ml (critères de Kass) avec ou sans leucocyturie pathologique (plus de 20 000 leucocytes/ml). Cependant, sous traitement antibactérien, une bactériurie à 10^3 ou 10^4 germes/ml peut avoir une valeur pathologique. L'examen direct peut mettre rapidement en évidence la présence de pus (nombreux leucocytes altérés en amas) et de germes. La culture et l'identification du germe nécessitent 24 heures, l'antibiogramme 36 à 48 heures (attention, lors d'IU à Streptocoque, la culture est parfois plus lente). Attention : ces critères ne sont valables que si les conditions de prélèvement et de conservation des urines sont correctes :

- chez l'enfant : toilette soignée, élimination du 1er jet urinaire, recueil dans un flacon stérile, transport rapide au laboratoire dans de la glace.
- chez le nouveau-né, le nourrisson sans miction volontaire : poche stérile (technique la plus facile), idéalement à changer toutes les 30 mn, nombreuses causes de contamination avec nombreux faux positifs : germes présents dans les 1ers cm de urètre ; mauvais décalottage = 30 % de faux positifs ; sécrétion vaginale.
- Le contrôle d'un prélèvement fait dans de mauvaises conditions doit être réalisé avant tout traitement pour ne pas porter de diagnostic en excès. Dans certains cas, la ponction vésicale sus pubienne peut affirmer le diagnostic.

Le sondage vésical est à éviter. Exceptionnellement, il existe des néphrites avec ECBU négative ; lors de douleurs abdominales avec fièvre et syndrome inflammatoire biologique important, la réalisation d'hémocultures et d'une échographie rénale peut rétablir le diagnostic (**Burns et al., 1987**).

Objectif

Notre étude a porté sur les propriétés antimicrobiennes – in vitro - d'extraits de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

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

1.2. Matériel du laboratoire utilisé

- **Verrerie** : béchers, tubes à essais, pipette pasteur, fioles, erlenmeyers, flacons, entonnoir, verre de montres.
- **Autres matériels** : papier filtre stérile, écouvillons, anse à platine, disques en papier stériles (6mm), bec benzène, boîtes Petri.
- **Milieus de culture utilisés** : milieu Chapman, gélose Muller Hinton, bouillon nutritif, bouillon Muller Hinton.
- **Appareils utilisés** : balance, rota vapeur, autoclave, étuve, plaque chauffante, bain marie, spectrophotomètre.
- **Micro-organisme** : la bactérie utilisée est : *Staphylococcus aureus*, qui une souche de référence (ATCC 33862) prévenant de l'institut pasteur Alger-Algérie.

2. Méthodes

2.1. Région de prélèvement

Les parties aériennes de la plante (Romarin) ont été prélevées au stade de floraison de deux régions du pays à savoir : Naama et Mostaganem.

2.2. Préparation de la poudre végétale

Au laboratoire, les échantillons frais 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 (feuilles) a été broyé séparément en poudre fine à l'aide d'un mortier en porcelaine. 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) est grande est plus le parcours moyen du soluté est petite (**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.

2.3. Méthode d'extraction

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les poly phénols contenus dans les 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 à été réalisée par usage de plusieurs solvants à polarité croissante (Hexane, méthanol, éthanol et eau). Elle à été effectuée séparément pour chaque solvant d'extraction sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale à été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange à été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

Les extraits à l'hexane, à l'eau et hydro alcooliques obtenus ont été filtrés en utilisant un papier filtre Whatman N°5 ayant une porosité de 0,6µm et débarrassés des solvants par évaporation sous vide à 45 °C.

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



Figure 3. Rotavapor

2.4. Etude des effets antimicrobiens des extraits de *Rosmarinus officinalis*

2.4.1 Activation des inocula microbiens :

L'étude concerne la souche pure de *Staphylococcus aureus* connue comme étant l'espèce microbienne la plus impliquée dans les infections urogénitales.

L'espèce bactérienne à été tout d'abord activée. Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C, ou d'une colonie (pour la souche clinique) est au tout d'abordensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures.

2.4.2. Méthode de contact direct

Une colonie issue d'une culture jeune de l'espèce microbienne à été prélevées à l'aide d'une anse à platine stérile, elle à été ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures.

A partir de ces dernières solutions, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant à 10⁻⁴ ont été effectuées.

Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait des plantes testés dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boites de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu Chapman spécifique de croissance de l'espèce microbienne testée. La lecture du nombre de colonies développé à été effectuée après incubation du milieuensemencé à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

2.4.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 5), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Après activation de l'espèce bactérienne, Une colonie à étéensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boites de Petri 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 boite de Petri contenant le milieu gélosé Muller Hinton (**Prescott et al., 2003**).

La lecture des diamètres d'inhibition à été effectuée à l'aide d'un pied à colis après incubation des boites de Petri à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (**Guignar, 1998**).

2.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI

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

Dans notre étude, c'est les principes actifs des extraits de Romarin obtenus par extraction aux différents solvants 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 activé dans 10 ml de bouillon nutritif pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula.

Des prises de 0,2 ml 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 18 à 24 heures (Moroh et al, 2008).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI à été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du *Staphylococcus aureus*.

La CMI correspondra 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 à été égale à df .

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

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

S : Taux de survie du microorganisme en %.

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 sans extraits deRomarinavant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

2.4.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide: CMB

La concentration minimale bactéricide d'une espèce 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 est ensemencée 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, également ensemencé 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} correspondra à la CMB.

3. Traitement statistique

Les résultats expérimentaux ont subi une analyse de variance bi factorielle en randomisation et une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Heuls (Logiciel.stat Box 6.4).

1. Résultats

1. Croissance du germe *Staphylococcus aureus*

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinu officinalis* prélevée des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* sont illustrés dans les figures (4 et 5).

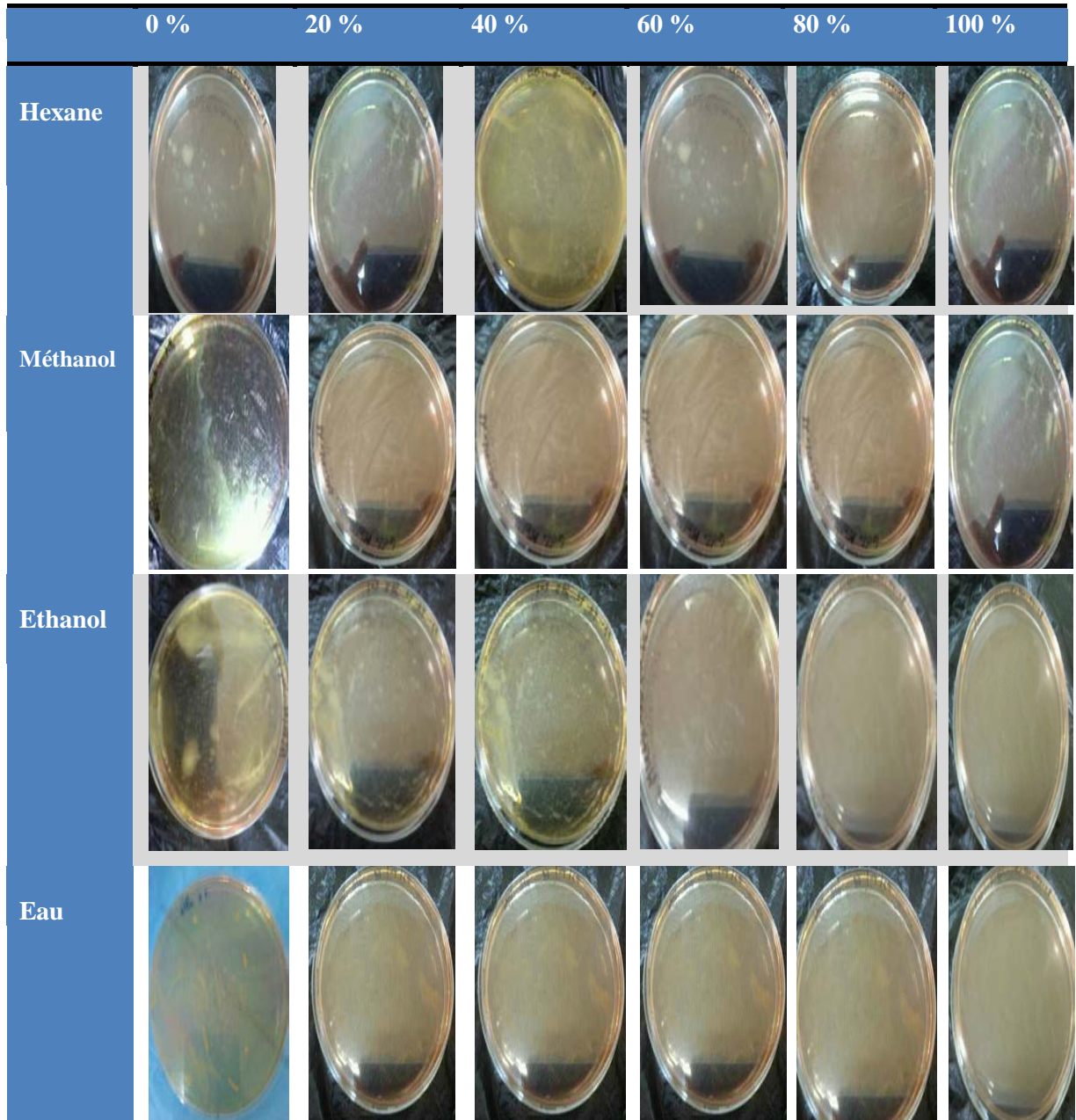


Figure 4. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de Mostaganem chez *Staphylococcus aureus*.

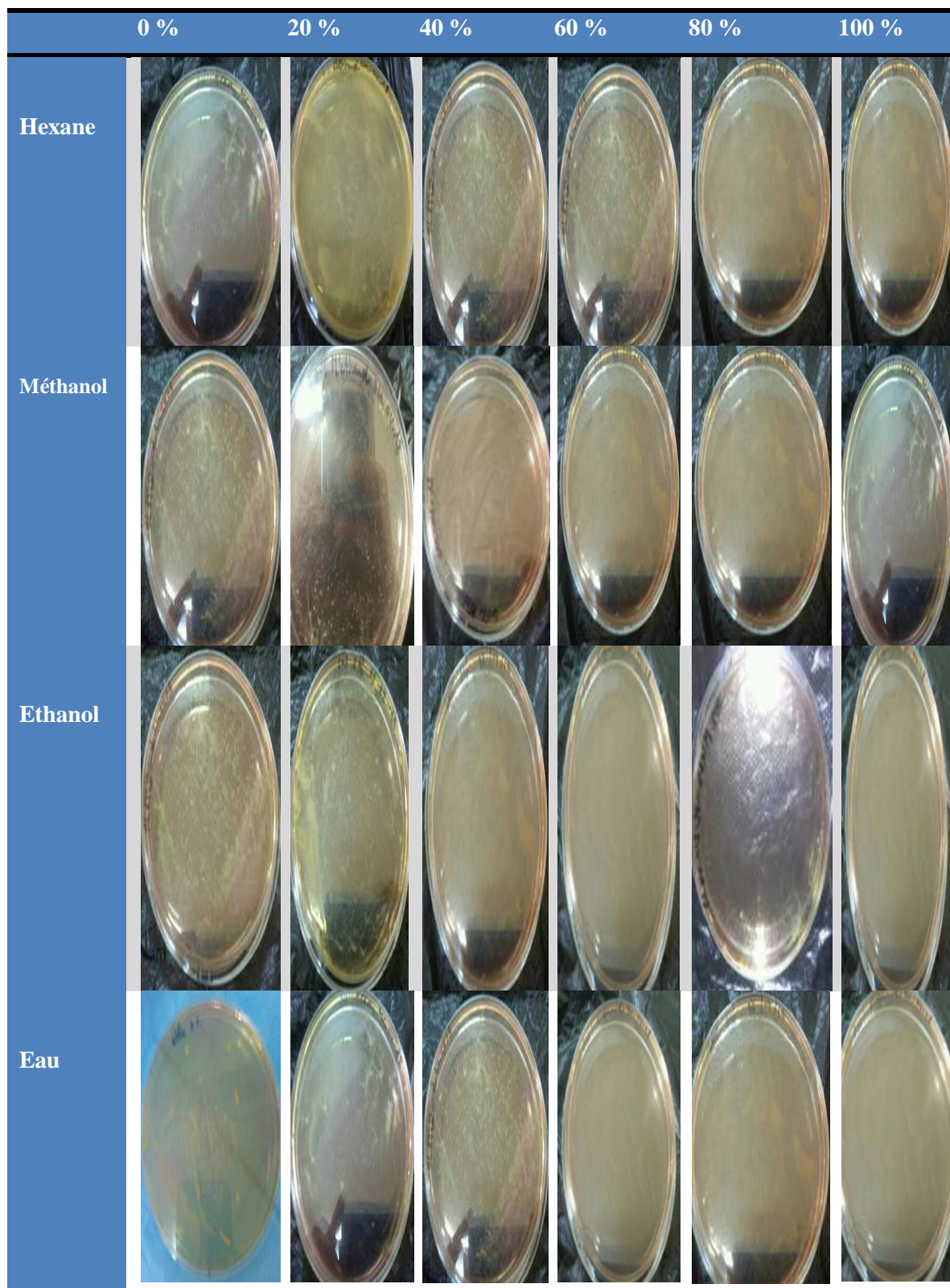


Figure 5. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis* de Naama chez *Staphylococcus aureus*.

Les extraits à l'eau de *Rosmarinus officinalis* de Mostaganem a engendré une faible croissance du germe *Staphylococcus aureus* par rapport aux extraits à l'hexane, au méthanol, et l'éthanol ($p < 0.01$); ($12 \cdot 10^5$; $19 \cdot 10^5$; $19 \cdot 10^5$; $30 \cdot 10^5$; UFC/ml), respectivement.

Les extraits à l'hexane, à l'éthanol, et à l'eau de romarin de Naamaa enregistré une nette baisse du nombre de germes *Staphylococcus* par comparaison à l'extrait au méthanol qui a enregistré le nombre le plus élevés ($p < 0.01$); $28 \cdot 10^5$ vs $29 \cdot 10^5$ vs $20 \cdot 10^5$ vs $42 \cdot 10^5$.

Les extraits aux solvants (hexane, méthanol, éthanol, et eau) de la plante récoltée à Mostaganem à présenté une faible prolifération microbienne par rapport aux extraits aux solvants de la région de Naama.

A des forts taux d'extraits, de *Rosmarinus officinalis* de 80 et 100% aucune prolifération de *Staphylococcus aureus* n'est observée (Tableau 5).

2. Taux de croissance

Les extraits à l'eau de *Rosmarinus officinalis* prélevée des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) ont induit de faibles taux de croissance chez *Staphylococcus aureus* ($p < 0.01$); de 30.13 et 27,70%, en moyenne.

Les autres extraits aux différents solvants ont enregistré des taux de croissance plus élevés ($p < 0.01$) et variables de 37.4 à 39.45% dans les extraits de Mostaganem et de 30.62 à plus de 48% dans ceux de Naama.

Les extraits de romarin des deux régions de l'étude préparés à des fortes concentrations de 80 et 100% ont occasionné une totale inhibition de la croissance du germe *Staphylococcus aureus* (Tableau 6).

3. Diamètre d'inhibition du germe *Staphylococcus aureus*

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis* prélevé des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur le diamètre d'inhibition de *Staphylococcus aureus* sont mentionnés dans les figures (5et 6).

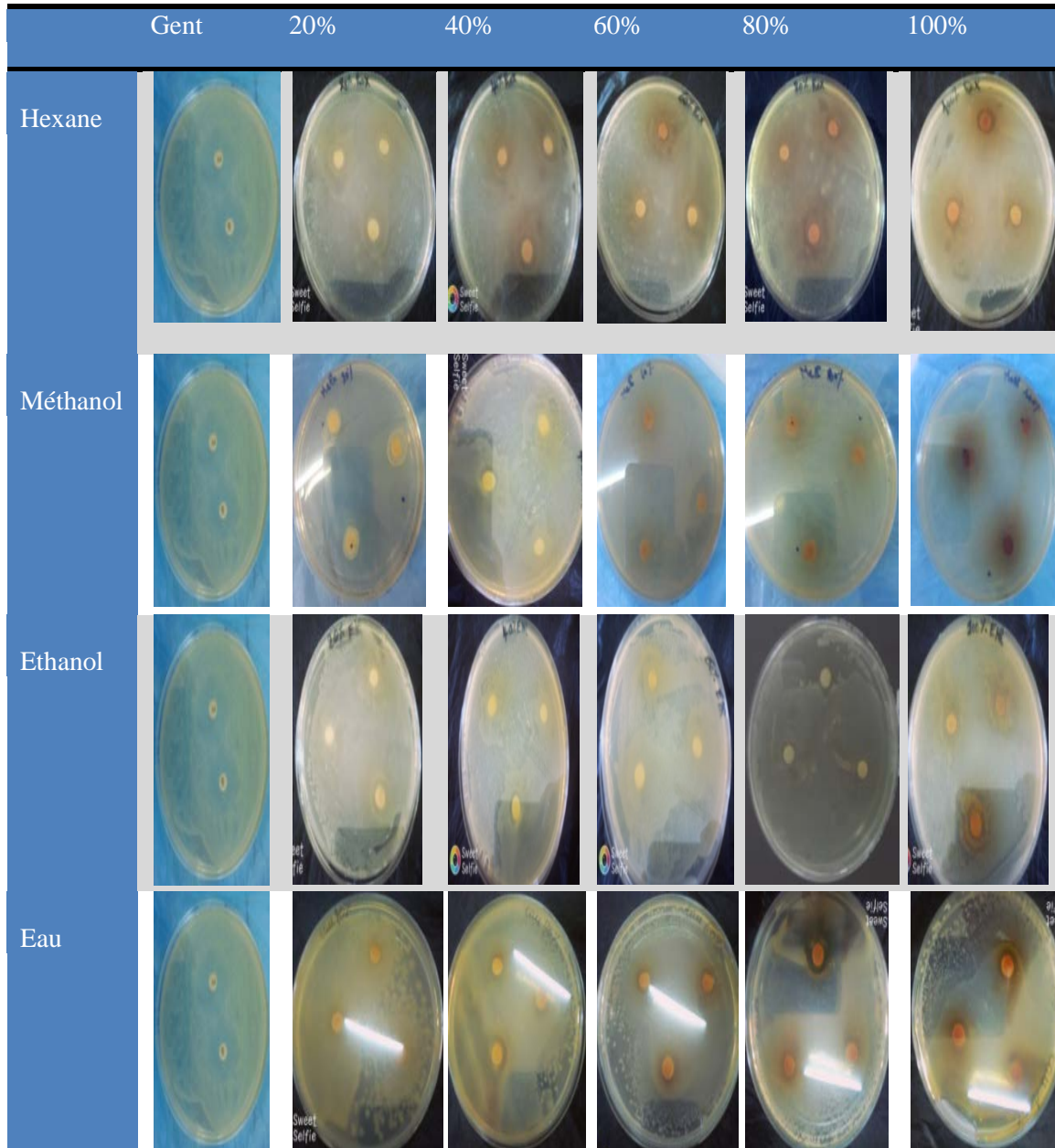


Figure 6. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de Mostaganem sur les diamètres d'inhibitions de *Staphylococcus aureus*.

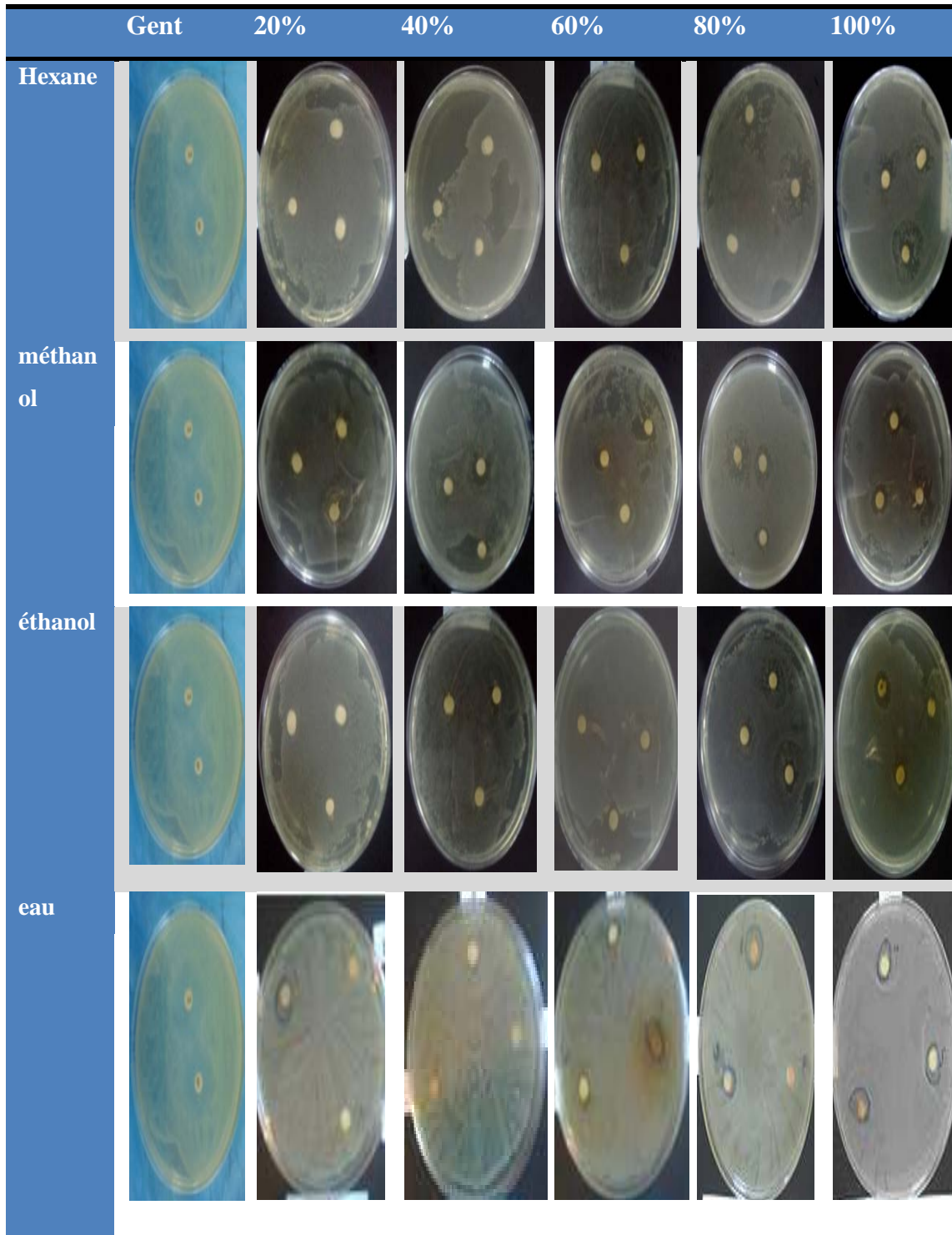


Figure 7. Effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de Naama sur les diamètres d'inhibitions de *Staphylococcus aureus*.

Concernant *Rosmarinus officinalis* de Mostaganem les extraits à l'eau (11.13 mm) et à l'éthanol (11.82 mm) ont présenté des diamètres d'inhibition significativement les plus élevés ($p < 0.01$) à ceux de l'hexane (9.21 mm) et au méthanol (9.82 mm). En fonction des augmentations des concentrations d'extraits de (20 à 100%) il a été observé des hausses de 7.2 à 13.07 mm en diamètres d'inhibition chez le germe étudié *Staphylococcus aureus*. Toute fois, ces diamètres (ou zones) d'inhibition s'avèrent très faibles ($p < 0.01$) devant l'action de la Gentamycine ; 15.33 mm, en moyenne (Tableau 7).

A propos des composés bioactifs du romarin prélevé de Naama, les extraits à l'eau et préparés à de forte concentration notamment employés à l'état pur ont accusé les meilleurs résultats (Tableau 8).

4. Taux d'inhibition

Pour *Rosmarinus officinalis*, collectée à Mostaganem, les effets marquants ($p < 0.01$) de ses composés bioactifs chez *Staphylococcus aureus* apparaissent surtout dans les extraits éthanoïques, puis dans les extraits à l'eau et au méthanol et enfin en dernier lieu les extraits à l'hexane qui ont enregistré de médi.....résultats ; 77.10, vs 71.48 et 64.10 et vs 60.11%, respectivement.

Quanta la plante de Naama, les taux d'inhibitions du germe *S. aureus* les plus élevés ont été réalisé avec l'extrait à l'eau ($p < 0.01$) ; 54.24 mm contre 42.80, 44.03 et 42.19 mm pour les autres extraits (à l'hexane, au méthanol et à l'eau, successivement).

Apparemment, dans les deux régions, les taux d'inhibitions du germe étudié augmente sensiblement ($p < 0.01$) avec la concentration des extraits expérimentaux utilisés.

Ainsi, les extraits purs ont enregistré des taux d'inhibitions les plus élevés ($p < 0.01$) ; 85.22 et 42.07%, en moyenne (Tableau 9).

Tableau 7. Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de Mostaganem sur les diamètres d'inhibitions (mm) de *Staphylococcus aureus*.

Facteurs		Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)					F ₁	F ₂	(F ₁ ×F ₂)	
Solvants		Hex	Méth	Eth	Eau	Hex	Mét	Eth	Eau	Gent a	20%	40%	60 %	80 %	100 %			
Concentrations des Extraits	Genta	30.551± 153.333	30.551± 153.333	30.551± 153.333	30.551± 153.333	9.211 ^b	9.816 ^b	11.8222 ^a	11.127 ^a	15.333 ^a	7.2 ^d	9.125 ^c	8.575 ^c	9.675 ^c	13.0583 ^b	p<0.01	p<0.01	p<0.01
	20%	7.638± 58.333	10.263± 58.667	5.292± 96	5± 75													
	40%	5± 75	16.073± 83.333	5± 115	10.408± 91.667													
	60%	13.65± 80.667	7.638± 81.667	10.408± 91.667	6.557± 89													
	80%	7.638± 91.667	5.508± 103.667	7.638± 88.333	15.275± 103.333													
	100%	7.095± 93.667	12.014± 108.333	15± 165	5.033±3 155.333													

Hex : hexane ; **Méth** : méthanol ; **Eth** : éthanol ; **Genta** : Gentamycine ; **Int** : interaction des facteurs étudiés ; **F₁** : Facteur étudié solvants d'extraction ; **F₂** : Facteur étudié concentrations de l'extrait ; **(a, b, c, d)** : Groupe homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux ; **n** : Nombre de répétitions ; **P<0.05** : Effet significatif du facteur étudié ; **p<0.01** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; **p>0.05** : Effet non significatif du facteur étudié.

Tableau 8. Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis* prélevée de la région de Naama sur les diamètres d'inhibitions (mm) de *Staphylococcus aureus*.

		Facteurs	Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentrationdes extraits (n=12)					F ₁	F ₂	Int (F ₁ ×F ₂)
		Solvants	Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex	Mét	Eth	Eau	Gén ta.	20 %	40 %	60 %	80 %			
Naama	Genta	27.839 ± 245	27.839± 245	27.839± 245	27.839± 245	10.822 ^b	10.788 ^b	10.344 ^b	13.288 ^a	15.333 ^a	7.016 ^c	8.258 ^c	8.241 ^c	9.041 ^c	10.808 ^b	p<0.01	p<0.01	p> 0.05
	20%	6.028± 59.333	6.429± 67.333	9.018± 50.667	15.275± 103.333													
	40%	5.508± 73.667	7.638± 68.333	7.638± 78.333	20± 110													
	60%	11.015± 67.333	14.933± 84	10± 80	29.297± 98.333													
	80%	13.229± 85	17.214± 87.667	13.229± 75	14.422± 114													
	100%	36.428± 119	13.229± 95	10.408± 91.667	25.166± 126.667													

Hex : hexane ;**Méth** : méthanol ;**Eth** : éthanol ; **Genta** : Gentamycine ;**Int** : interaction des facteurs étudiés ;**F₁** :Facteur étudié solvants d'extraction ;**F₂** :Facteur étudié concentrations de l'extrait ; **(a, b, c)** : Groupe homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux ; **n** : Nombre de répétitions ; **P<0.05** : Effet significatif du facteur étudié ; **p<0.01** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; **p>0.05** : Effet non significatif du facteur étudié.

Tableau05. Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

	Facteurs	Int. des facteurs ($F_1 \times F_2$) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F ₁	F ₂	Int ($F_1 \times F_2$)	
		Solvants	Hex	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0 %	20 %	40 %	60 %	80 %				100 %
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	52.10 ⁵	49.10 ⁵	80.10 ⁵	41.10 ⁵	19.10 ⁵ a b	19.10 ⁵ a b	30.10 ⁵ a	12.10 ⁵ b	55.10 ⁵ a	34.10 ⁵ b	16.10 ⁵ c	16.10 ⁵ c	00 ^d	00 ^d	p<0.01	p<0.01	p> 0.05
		20%	42.10 ⁵	28.10 ⁵	46.10 ⁵	19.10 ⁵													
		40%	10.10 ⁵	23.10 ⁵	26.10 ⁵	6.10 ⁵													
		60%	12.10 ⁵	15.10 ⁵	29.10 ⁵	8.10 ⁵													
		80%	00	00	00	00													
		100 %	00	00	00	00													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	79.10 ⁵ b	13.10 ⁶ a	59.10 ⁵ bcd	73.10 ⁵ b c	28.10 ⁵ b	42.10 ⁵ a	29.10 ⁵ b	20.10 ⁵ b	87.10 ⁵ a	53.10 ⁵ b	30.10 ⁵ c	9.10 ⁵ d	00 ^d	00 ^d	p<0.01	p<0.01	p<0.01
		20%	48.10 ⁵ bcde	71.10 ⁵ bc	61.10 ⁵ bcd	31.10 ⁵ cdef													
		40%	34.10 ⁵ cdef	45.10 ⁵ bcdef	32.10 ⁵ cdef	10.10 ⁵ ef													
		60%	86.10 ⁵ ef	00 ^f	22.10 ⁵ def	6.10 ⁵ f													
		80%	00 ^f	00 ^f	00 ^f	00 ^f													
		100 %	00 ^f	00 ^f	00 ^f	00 ^f													

Hex : hexane

; Méth : méthanol ; Eth : éthanol ; Int : interaction des facteurs étudiés ; F₁ : Facteur étudié solvants d'extraction ; F₂ : Facteur étudié concentrations de l'extrait ; (a, b, c, d, e, f) : Groupe homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux ; n : Nombre de répétitions ; P<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; p>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié.

Tableau 6. Effets des extraits de *R. officinallis* prélevée des régions de Mostaganem et de Naama sur le taux de croissance de *S. aureus*.

<i>Facteurs</i>		Int. des facteurs (F₁×F₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F ₁	F ₂	Int (F ₁ ×F ₂)	
		Solvants	Hex	Méth	Eth	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0%	20%	40%	60%	80%				100%
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	100	100	100	100	37.471	39.453	37.601	30.1332	100	60.49^b	28.348^c	28.171^c	00^d	00^d	p>0.05	p<0.01	P>0.05
		20%	81.527	57.817	57.02	45.597													
		40%	19.74	46.933	32.227	14.397													
		60%	23.56	31.967	36.357	20.8													
		80%	00	00	00	00													
		100%	00	00	00	00													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	100	100	100	48.388	30.621	40.909	27.698	100	70.568	40.194	40.662	00	00	p>0.05	p>0.05	p>0.05	
		20%	82.95	51.43	104.517														43.373
		40%	58.517	32.293	55.363														14.603
		60%	48.86	00	55.58														8.21
		80%	00	00	00														00
		100%	00	00	00														00

Hex : hexane ; **Méth** : méthanol ; **Eth** : éthanol ; **Int** : interaction des facteurs étudiés ; **F₁** : Facteur étudié solvants d'extraction ; **F₂** : Facteur étudié concentrations de l'extrait ; **(b, c, d)** : Groupe homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux ; **n** : Nombre de répétitions ; **P<0.05** : Effet significatif du facteur étudié ; **p<0.01** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; **p>0.05** : Effet non significatif du facteur étudié.

Tableau 9. Effets des extraits de *R. officinalis* prélevée de régions de Mostaganem et Naama sur le taux d'inhibition de *S. aureus*.

<i>Facteurs</i>		Int. des facteurs (F₁×F₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)					F ₁	F ₂	Int (F ₁ ×F ₂)		
		Solvants	Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	Genta	20%	40%	60%				80%	100%
Mostaganem	Concentrations des Extraits	Genta	100^a	100^a	100^a	100^a	60.106^c	64.019^c	77.098^a	71.484^b	100^a	45.326^e	59.507^{cd}	55.919^d	63.093^c	85.215^b	p<0.01	p<0.01	p<0.01
		20%	38.04^g	38.257^g	62.603^{bcde}	42.403^{fg}													
		40%	48.91^{efg}	54.343^{def}	75^b	59.777^{bcde}													
		60%	52.607^{def}	53.257^{def}	59.777^{def}	58.037^{ede}													
		80%	59.777^{bcde}	67.607^{bcd}	57.603^{ede}	67.387^{bcd}													
		100%	61.3^{bcde}	70.65^{bc}	107.607^a	101.303^a													
Naama	Concentrations des Extraits	Genta	100	100	100	100	42.808^b	44.032^b	42.199^b	54.236^a	100^a	28.633^d	33.703^{cd}	33.634^{cd}	36.871^c	42.07^b	p<0.01	p<0.01	P>0.05
		20%	24.213	27.477	20.673	42.17													
		40%	30.063	27.887	31.97	44.893													
		60%	27.477	34.28	32.65	40.13													
		80%	34.69	35.777	30.49	46.527													
		100%	40.403	38.77	37.41	51.697													

Hex : hexane ; **Méth** : méthanol ; **Eth** : éthanol ; **Int** : interaction des facteurs étudiés ; **F₁** : Facteur étudié solvants d'extraction ; **F₂**:Facteur étudié concentrations de l'extrait ; **(a, b, c, d, e, f,g)** : Groupe homogène de comparaison statistique des moyennes deux à deux ; **n** : Nombre de répétitions ; **P<0.05** : Effet significatif du facteur étudié ; **p<0.01** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; **p>0.05** : Effet non significatif du facteur étudié.

1.5. Concentration minimale inhibitrice(CMI) :

Les CMI de *Staphylococcus aureus*, ont été obtenues, de la plante étudiée (*R.officinalis*) collectée à Mostaganem :

- avec les extraits à l'hexane et à l'éthanol concentrés à 60% ;
- et avec les extraits aqueux et méthanolique préparés à 20% ;

Par contre, pour la plante cueillie dans la région de Naama, les CMI vis à de *Staphylococcus aureus* ont été réalisées avec les extraits à l'hexane et au méthanol concentrés à 60% ainsi que avec les extraits à l'eau et à l'éthanol préparés à 20% (**Tableau 10**).

1.6. Concentration minimale bactéricide (CMB) :

Les composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* de Mostaganem ont révélé des concentrations minimales bactéricides (CMB) :

- avec les les extraits méthanoliques et aqueux concentrés à 20% ;
- avec l'extrait à l'hexane de 80% ;
- et avec l'extrait pur éthanolique.

En revanche, pour *R.officinalis* prélevée à Naama, les CMB du germe expérimentale *S.aureus* ont été accusés :

- avec l'extrait à l'hexane, concentré à 60% ;
- avec l'extrait pur méthanolique (100%) ;
- et avec les extraits éthanolique et aqueux concentrés à 20% (**Figure 08et 09**).

1.7. Type d'inhibition des extraits expérimentaux :

Les extraits de *R.officinalis* semblent exercer une inhibition de type bactéricide vis-a-vis de *Staphylococcus aureus* (**Tableau 11**).

Tableau10. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de *Rosmarinus officinalis* prélevé de régions de Mostaganem et de Naama sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Région	Solvants	Paramètres	Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
Mostaganem	Hexane	Di	0,0419	0,083	0,154	0,267	0,315	0,380
		Df	0,837	0,273	0,185	0,127	0,028	0,02
		df-di	0,795	0,19	0,131	-0,14	-0,28	-0,36
		S%	100	23,89	68,94	00	00	00
		CMI						60%
		Méthanol	Di	0,0419	0,144	0,101	0,054	0,006
	Df		0,837	0,265	0,204	0,130	0,055	0,123
	df-di		0,795	0,121	0,103	0,076	0,049	0,093
	S%		100	15,2	85,12	73,78	64,47	189,79
	CMI							20%
	Ethanol		Di	0,0419	0,153	0,390	0,435	0,124
		Df	0,873	0,412	0,486	0,346	0,02	0,045
		df-di	0,795	0,259	0,096	-0,089	-0,104	-0,198
		S%	100	32,57	37,06	00	00	00
		CMI						60%
		Eau	Di	0,0419	0,312	0,360	0,557	0,641
	Df		0,837	0,249	0,142	0,168	0,183	0,523
	df-di		0,795	-0,063	-0,218	-0,389	-0,458	-0,548
	S%		100	00	00	00	00	00
	CMI							20%
	Hexane		Di	0,014	0,252	0,135	0,309	0,903
		Df	0,145	0,427	0,325	0,137	0,301	0,111
		df-di	0,131	0,175	0,19	-0,172	-0,602	-0,783
		S%	100	133,58	108,57	00	00	00
CMI							60%	
Méthanol		Di	0,014	0,132	0,253	0,220	0,057	1,827
	Df	0,145	0,221	0,301	0,343	0,188	0,170	
	df-di	0,131	0,089	0,048	-0,023	-0,131	-1,657	
	S%	100	67,63	53,93	00	00	00	
	CMI						60%	
	Ethanol	Di	0,014	0,924	1,508	1,517	1,621	2,053
Df		0,145	0,516	0,611	0,610	0,633	0,640	
df-di		0,131	-0,408	-0,897	-0,907	-0,988	-1,413	
S%		100	00	00	00	00	00	
CMI							20%	
Eau		di	0,014	1,094	0,289	0,122	0,370	0,490
	df	0,145	1,01	0,273	-0,104	0,218	0,260	
	df-di	0,131	-0,084	-0,016	-0,018	-0,152	-0,230	
	S%	100	00	00	00	00	00	
	CMI						20%	
	Naama	Eau	di	0,014	1,094	0,289	0,122	0,370
df			0,145	1,01	0,273	-0,104	0,218	0,260
df-di			0,131	-0,084	-0,016	-0,018	-0,152	-0,230
S%			100	00	00	00	00	00
CMI								20%

di : densité optique initiale avant l'incubation ; df : densité optique finale après incubation ; S : Taux de survie ; CMI : concentration minimale inhibitrice.

Tableau 11. Représentation de rapport CMB/CMI de *staphylococcus aureus* de Mostaganem et Naama.

	Solvants	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
Mostaganem	Hexane	60%	80%	1.33	Bactéricide
	Méthanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Ethanol	60%	100%	1.66	Bactéricide
	Eaux	20%	20%	1	Bactéricide
Naama	Hexanes	60%	60%	1	Bactéricide
	Méthanol	60%	100%	1.66	Bactéricide
	Ethanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Eaux	20%	20%	1	Bactéricide
Normes	*D'après (<i>Olivier 2007</i>) $CMB/ CMI \leq 2$ (Effet bactéricide) $CMB/ CMI > 2$ (effet bactériostatique) D'après (<i>Marmonier 1990</i>) $CMB/ CMI \leq 4$ (Effet bactéricide) $CMB/ CMI > 4$ (effet bactéristatique)				



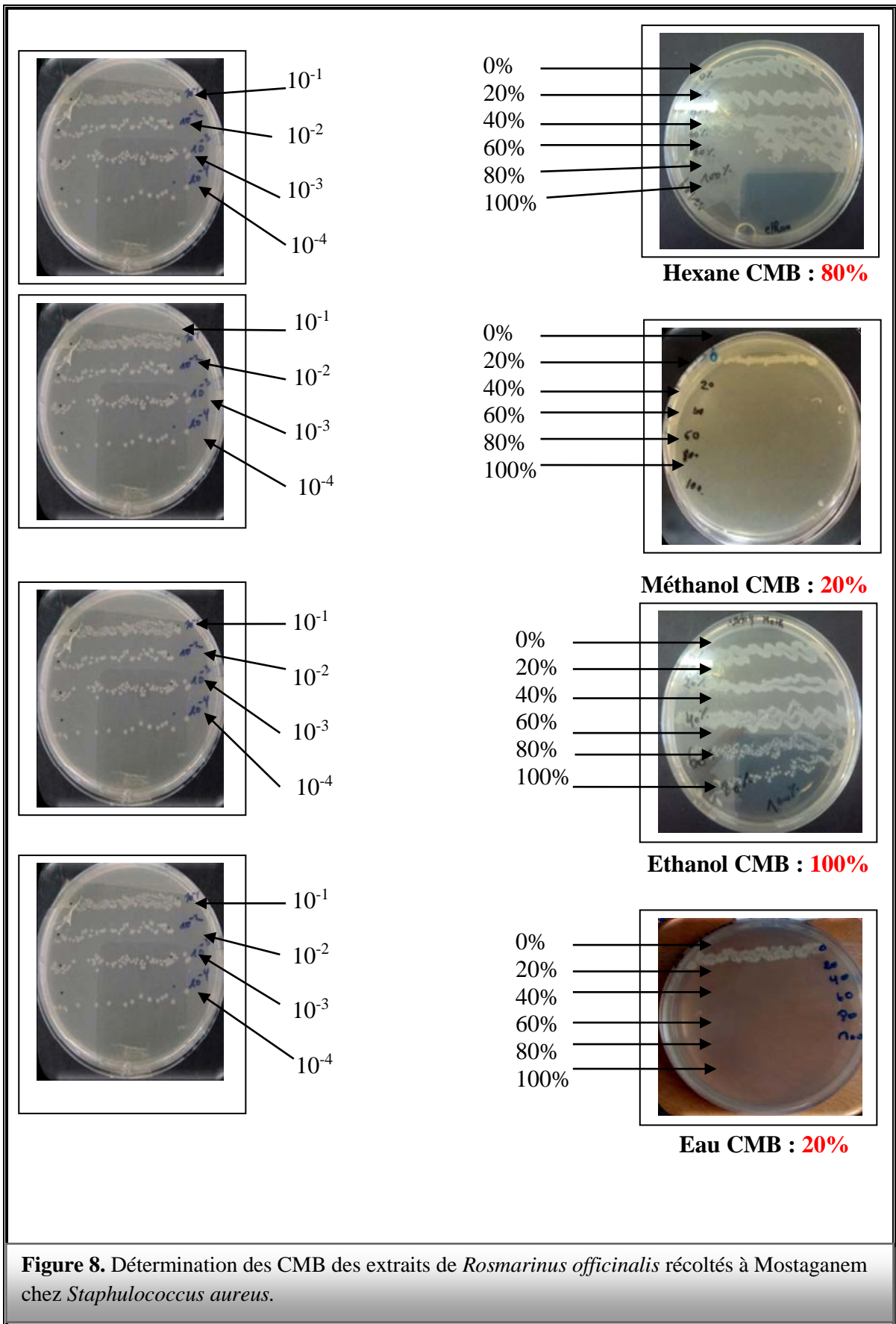


Figure 8. Détermination des CMB des extraits de *Rosmarinus officinalis* récoltés à Mostaganem chez *Staphylococcus aureus*.

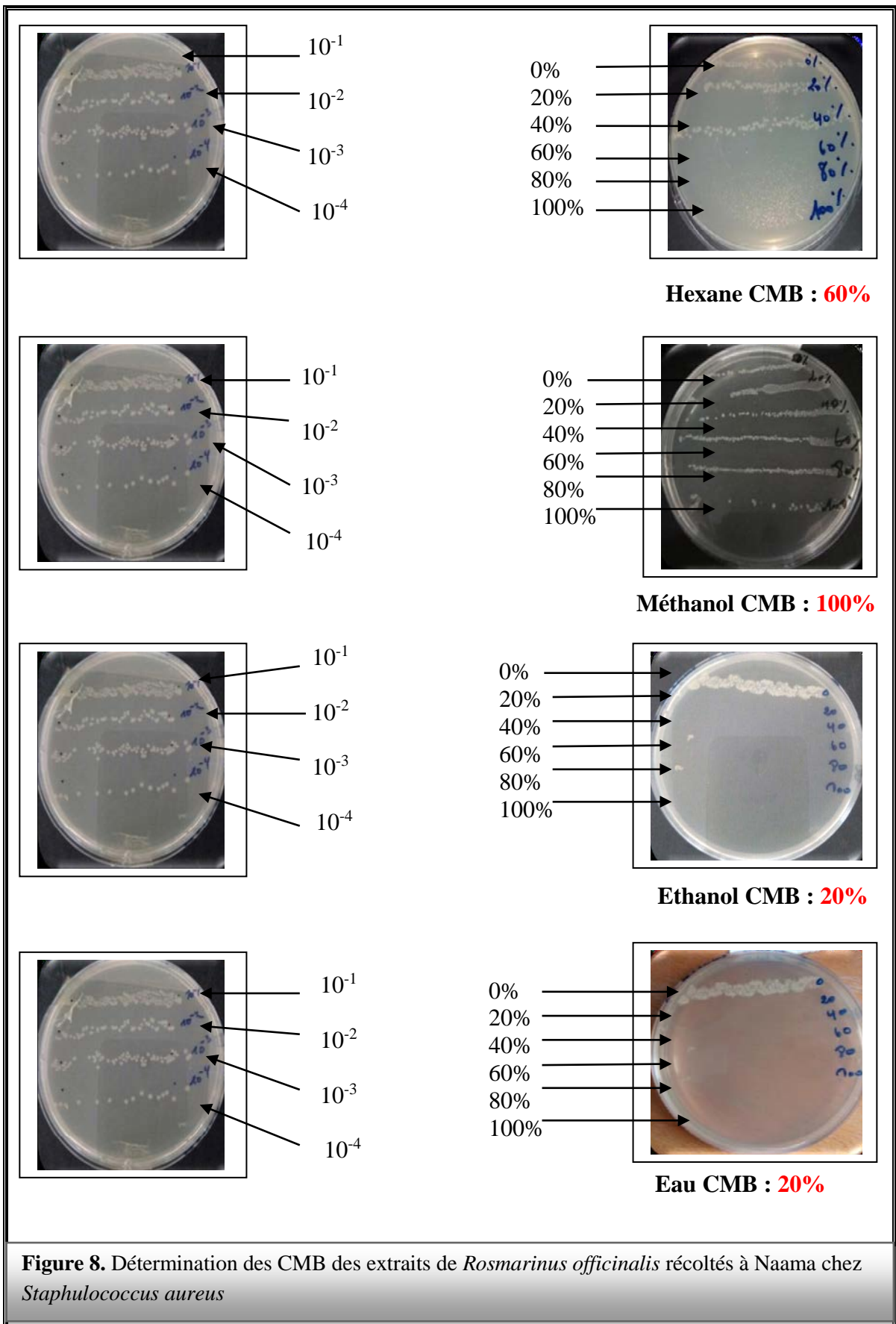


Figure 8. Détermination des CMB des extraits de *Rosmarinus officinalis* récoltés à Naama chez *Staphylococcus aureus*

2. Discussion :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. ces composés participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie) ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. D'un point de vue chimique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales. La présente «étude s'intéresse à l'effet des extraits phénoliques aux solvants à différentes polarité de la plante *Rosmarinus officinalis L* collectée en algérie sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*. Les résultats indiquent que les extraits phénoliques de *Rosmarinus officinalis L* des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) possèdent une bonne activité antimicrobienne contre la souche étudiée *Staphylococcus aureus*. Les niveaux de croissance obtenus par l'application des extraits montrent clairement que le nombre de germes diminuent avec l'augmentation de la concentration d'extrait appliquée. L'aptitude des extraits de *R. officinalis L* à inhiber la croissance bactérienne est tout à fait différente ; cela est marqué par l'activité puissante de l'extrait aqueux par rapport aux autres extraits aux différents solvants à polarités différentes (hexane, méthanol, et éthanol).

L'activité antibactérienne à été également exprimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits de *Rosmarinus officinalis L* à tester vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *Staphylococcus aureus* est très sensible vis-à-vis des extraits testés.

La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du gram (**Dorman et Deans, 2000**), et dépendante de la nature de l'extrait utilisées (**Deans et Ritchie, 1987**). La

sensibilité des micro-organismes peut varier selon le germe testé car un extrait peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches, bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet (**Hermal, 1993**). Le mécanisme d'action de l'extrait phénoliques est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. L'extrait d'une plante riche en composés bioactifs exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne: l'augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires; l'acidification de l'intérieur de la bactérie en bloquant la production de l'énergie cellulaire ainsi que et la synthèse des composants de structure et la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix, 2007**). Apparemment, les bactéries à Gram- sont plus résistantes que les Gram+ ; ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes (**Burt, 2004**).

D'après (**olivier 2007**), étant les rapports CMB/CMI inférieures à 2 les extraits expérimentaux de *Rosmarinus officinalis* prélevé à Mostaganem et à Naama semblent exercer un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis du germe *Staphylococcus aureus* objet de l'étude. A ce propos plusieurs études antérieures sur les extraits bruts aqueux et alcooliques de *Rosmarinus officinalis* ont révélé aussi des activités antimicrobiennes contre plusieurs microorganismes dont *Staphylococcus aureus* et indiquent une similitude avec les résultats obtenus dans le présent travail (**Moreira et al., 2005; Santoyo et al., 2005; Billerbeck, 2007; Ouibrahim et al., 2013; Lograda et al., 2014 et Belkhiri, 2015**). En raison de leurs activités antimicrobiennes, les extraits de romarin peuvent être ainsi dans plusieurs domaines d'intérêt dont par exemple l'industrie pharmaceutique pour la production de nouveaux médicaments naturels pour traiter surtout les maladies infectieuses causées par les nombreuses bactéries. Ils

peuvent aussi enfin être ou peuvent être suggérés comme agents naturels de conservation des aliments comme le signalent plusieurs auteurs :**(Fernández-López et al., 2005 ;Balentine et al., 2006 ;Miladi et al.,2013 ;Tahri et al.,2015et Hendel et al.,2016).**

Conclusion

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

Les extraits purs à l'eau et à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis* ont engendré chez *Staphylococcus aureus* par comparaison aux autres extraits étudiés de faible croissance microbienne et des diamètres d'inhibitions proches de la Gentamycine.

Par ailleurs, selon les deux écotypes étudiés les extraits de Mostaganem ont présenté des forts pouvoirs antimicrobiens (exprimés par des faibles taux de croissance et des diamètres d'inhibitions élevés) par rapport aux extraits de Naama chez *S. aureus*.

Enfin tous les principes actifs des extraits expérimentaux ont démontré un effet antimicrobien de type bactéricide chez *S. aureus*.

En perspectives, les études doivent 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 antioxydante des composés polyphénoliques en particulier des nombreuses plantes médicinales du pays (*Menthes, R. officinalis....etc*).

56, No. 8)

Abayomi. S, (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. I. Karthala (Ed.). Académie Suisse des sciences naturelles Barenplatz 2/3011Berne. Diffusion 22-24 boulevard Arago 75013. Paris. France. 978-2-8111-0330-9.

Abayomi. S, (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. I. Karthala (Ed.). Académie Suisse des sciences naturelles Barenplatz 2/3011Berne. Diffusion 22-24 boulevard Arago 75013. Paris. France. 978-2-8111-0330-9.

Abderrazak. M et Joel. R, (2007). La Botanique A à Z. Edition Dunod, paris ; P : 114.

Abderrazak. M et Joel. R, (2007). La Botanique A à Z. Edition Dunod, paris ; P : 114.

Agence du Médicament. Les Cahiers de l'Agence 3 - Médicaments à base de plantes, Paris, **1998.**

An update on uncomplicated urinary tract infection in women. *Curr Opin Urol* 19:368–374

Audrey (page consultée le 12/09/08). La Phytothérapie. <http://www.gralon.net/articles/sante-et-beaute/medecine-douce/article-la-phytotherapie429.htm> *aureus. Rev Francoph Lab.* **2008**;(407):61–9.

bactériologiques. *EMC - Mal Infect.* **2007**;4(3):1–8.

Bammi. J et Douira. A, (2002). Les plantes médicinales dans le foret de l'Achach (plateau central, Maroc). Laboratoire de Botanique et de Protection de Plantes. Faculté des Sciences. Kenitra. Marco. *Acta Botanica Malacitana.* 27-131-145.

Bammi. J et Douira. A, (2002). Les plantes médicinales dans le foret de l'Achach (plateau central, Maroc). Laboratoire de Botanique et de Protection de Plantes. Faculté des Sciences. Kenitra. Marco. *Acta Botanica Malacitana.* 27-131-145.

Batard E, El Kouri D, Potel G. Infections à staphylocoques : aspects cliniques et

Benghanou. M, (2012). La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.

Benghanou. M, (2012). La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56

Bes M, Brun Y. *Staphylococcus*: actualités taxonomiques et identification. *Rev Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M.* Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2 ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur, 1986.

Bremness L. Les plantes aromatiques et médicinales, Collection l'œil nature. Éd. Bordas, 1996

Burns et Kreigner et al. Pediatric urinary infection : diagnosis, signifiencie.. *Pediatric. Clin. North Am*, 1987 ; 34 : 1110-20.

Caby F, Bismuth R, Bossi P. Infections à staphylocoques. *EMC - Traité Médecine Caillet S. & Lacroix M., 2007-* Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, 1-8.

Carole. B.M, (2008). La Phytothérapie pour les animaux. I. Le Manuscrit (Ed). 20 Rue des petits Champs 75002. Paris. France. 978-2-304-00885-2.

Carole. B.M, (2008). La Phytothérapie pour les animaux. I. Le Manuscrit (Ed). 20 Rue des petits Champs 75002. Paris. France. 978-2-304-00885-2.

Caroline. G, (2013). Guide de poche de phytothérapie: Parce qu'il y a forcément une plante qui vous fera du bien. Le duc.s (Ed.).France. 978-2-84899-771-1.

Caroline. G, (2013). Guide de poche de phytothérapie: Parce qu'il y a forcément une plante qui vous fera du bien. Le duc.s (Ed.).France. 978-2-84899-771-1.

Centre National de Référence des Staphylocoques. *Les infections à Staphylocoques.* Disponible sur <http://cnr-staphylocoques.univ-lyon1.fr/webapp/website/website.html?id=2021394&pageId=129389> 2013 [consulté le 30 Août 2013].

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](#)

Cui, S., J. Li, C. Hu, S. Jin, F. Li, Y. Guo, L. Ran, and Y. Ma. 2009. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China. *J Antimicrob Chemother* **64**:680-683.

Dai. J et Mumper. R. J, (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. *Molecules* 15(10), 7313-52.

Dai. J et Mumper. R. J, (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. *Molecules* 15(10), 7313-52.

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

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

Derbel. S et Ghedira. K, (2005).Les phytonutriments et leur impact sur la santé.Phytothérapie, 1, 28-34.

Derbel. S et Ghedira. K, (2005).Les phytonutriments et leur impact sur la santé.Phytothérapie, 1, 28-34.

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.

Duraffourd. C, Lapraz. J.C, Chemli. R, (1997). La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès International. Tunis (Ed.). Granche. Paris. France.

Duraffourd. C, Lapraz. J.C, Chemli. R, (1997). La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès International. Tunis (Ed.). Granche. Paris. France.

Elaerts. V, (2014). La phytothérapie de la femme enceinte. Lulu.com. (Ed.). 1446117278, 9781446117279.

Elaerts. V, (2014). La phytothérapie de la femme enceinte. Lulu.com. (Ed.). 1446117278, 9781446117279.

Elamri. J, Elbadaoui. K, Zair. T, bouharb. H, chakir. S et Alaoui. T. I, (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* 82:7481– 7492. Laboratoire de l'Environnement et santé. laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et l'Environnement. Faculté des Sciences. Université Moulay Ismail. BP 11201 .Zitoune. Meknès. Maroc. 1997–5902.

Elamri. J, Elbadaoui. K, Zair. T, bouharb. H, chakir. S et Alaoui. T. I, (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* 82:7481– 7492. Laboratoire de l'Environnement et santé. laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et l'Environnement. Faculté des Sciences. Université Moulay Ismail. BP 11201 .Zitoune. Meknès. Maroc. 1997–5902.

Encyclopédie universelle de la langue française (page consultée le 13/09/08). L'Herbularius ou le Jardin des Simples. <http://www.encyclopedie-universelle.com/abbaye%20-%20jardin%20des%20simples.html>

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

Fernández-López J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Pérez-Alvarez J.A. & Kuri V., 2005- Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69: 371-380.

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

Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic *Franco Lab.* **2002;**(343):23–30.

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

Hans W. K. 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.

Hennebelle T ; Sahpaz. S ; Bailleul. F ,(2004) . Polyphénols végétaux , sources , utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif . *Phytothérapie ; 1 : 3 – 6.*

Hennebelle T ; Sahpaz. S ; Bailleul. F ,(2004) . Polyphénols végétaux , sources , utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif . *Phytothérapie ; 1 : 3 – 6.*

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 LR. Taxonomy of the staphylococci. *The staphylococci.* Aberdeen University

HOPKINS. W G, (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.

HOPKINS. W G, (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.

International Journal of Veterinary Science www.ijvets.com P-ISSN: 2304-3075
E-ISSN: 2305-4360

Iserin. P., Masson. M., Restellini. J P., Ybert. E., De Laage De Meux A., Moulard. F., Zha. E., De La Roque R., De La Roque O., Vican. P., Deelesalle Feat. T., Biaujeaud. M., Ringuet. J., Bloth. J., Botrel. A, (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.

Iserin. P., Masson. M., Restellini. J P., Ybert. E., De Laage De Meux A., Moulard. F., Zha. E., De La Roque R., De La Roque O., Vican. P., Deelesalle – Feat. T., Biaujeaud. M., Ringuet. J., Bloth. J., Botrel. A, (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.

Koreen, L., S. V. Ramaswamy, E. A. Graviss, S. Naidich, J. M. Musser, and B. N. Kreiswirth. 2004. spa typing method for discriminating among *Staphylococcus aureus* isolates: implications for use of a single marker to detect genetic micro- and macrovariation. *J Clin Microbiol* **42**:792-9.

Lowy, F. D. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* **339**:520-32.

Martin. S et Andriantsitohaina. R, (2002).Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51 : 304–315.

Martin. S et Andriantsitohaina. R, (2002).Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51 : 304–315. médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.

Miladi H., Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A. & Ammar E., 2013- Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties

and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science*, 5(6): 729-739.

Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. 2005. Savoir traditionnel et
Moatti. R., (1990). Utiliser les plantes médicinales à bon escient. Albin Michel (Ed.).
Paris. France. 13- 978- 22260- 3759- 6.

Moatti. R., (1990). Utiliser les plantes médicinales à bon escient. Albin Michel (Ed.).
Paris. France. 13- 978- 22260- 3759- 6.

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.

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

Motti et Musarella, (1993).

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

Paul. S, (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales, identification,
préparations, soins. Larousse-Bordas (Ed.). 21 Rue de Montparnasse 75283 .Paris.
France. 2-03-560252-1.

Paul. S, (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales, identification,
préparations, soins. Larousse-Bordas (Ed.). 21 Rue de Montparnasse 75283 .Paris.
France. 2-03-560252-1.

Paul. S, (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales, identification,
préparations, soins. Larousse-Bordas (Ed.). 21 Rue de Montparnasse 75283 .Paris.
France. 2-03-560252-1.

Pelt J. M, (1980). Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.

Pelt J. M, (1980). Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.

Prescott, Harley, and Klein. 2003. Microbiologie, 2ime française ed. De Boeck
Université.

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

Press; **1981.**

Référence bibliographique

Reyher, K. K., S. Dufour, H. W. Barkema, L. Des Coteaux, T. J. Devries, I. R. Dohoo, G. P. Keefe, J. P. Roy, and D. T. Scholl. 2011. The National Cohort of Dairy Farms--a data collection platform for mastitis research in Canada. *J Dairy Sci* **94**:1616-26.

Rubin. M, (1988). Que Sais-Je? Phytothérapie, 1ere (Ed.). Presses universitaires de France.

Rubin. M, (1988). Que Sais-Je? Phytothérapie, 1ere (Ed.). Presses universitaires de France

Salyers, A. A., and D. D. Whitt. 2002. Bacterial Pathogenesis, A Molecular Approach, Second Edition ed. ASM Press, Washington, D.C.

Sanago. R,(2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.

Sanago. R,(2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53

Sarni Machado .P et Cheynier. V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaire .Ed. Lavoisier ,2- 10.

Sarni Machado .P et Cheynier. V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaire .Ed. Lavoisier ,2- 10.

Sarniman- chado.P et Cheynier. V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaires.

Sarniman- chado.P et Cheynier. V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaires.

Sarni-Manchado. P et Cheynier.V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.

Sarni-Manchado. P et Cheynier.V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.

Schauenberg. P et Paris. F, (2006). Guide des plantes médicinales : analyse description et utilisation de 400 plantes. Delachaux et Nestlé (Ed.). collection les guides du naturaliste. France. 2-603-01454.

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.

Strang C. 2006. Larousse medical. Ed Larousse

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.

Tortora, G. J., B. R. Funke, and C. L. Case. 2003. *Introduction à la Microbiologie*, 7 ed. Éditions du Renouveau Pédagogique inc., Saint-Laurent, Québec.

Urquiaga. I et Leighton. F, (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress.. *Biological Research* ; 33(22) : 55-64.

Urquiaga. I et Leighton. F, (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress.. *Biological Research* ; 33(22) : 55-64

Vandenesch F, Laurent F, Tristan A. Rapport d'activité du CNR des Staphylocoques 2011. *INVS* **2011**.

Vincenot F, Saleh M, Prévost G. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus*

Waksmundzka-Hajnos. M et Sherma. J, (2011). High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical science. *Chromatographic Science Series*, 477-478.

Waksmundzka-Hajnos. M ET Sherma. J, (2011). High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical science. *Chromatographic Science Series*, 477-478.

Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. **2005**;5(12):751–62.

What is the recommended workup for a man with a first UTI? *JFP* August 2007 (Vol.

Wichtl . M et Anton. R, (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

Wichtl . M et Anton. R, (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

Williams. R I., Spencer .JP., Rice-Evans. C, (2004). Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules. *Free Radic Biol Med*, 36(7): 838-849.

Williams. R I., Spencer .JP., Rice-Evans. C, (2004). Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules. *Free Radic Biol Med*, 36(7): 838-849.

Annex

Composition du milieu Muller Hinton (1L) :

Infusion de viande : 2,0.

Hydrolysate acide de caséine : 17,5.

Amidon soluble : 1,5.

Agar agar : 17,0.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7,3 \pm 0,2$.



L'étape de filtration



L'étape de l'agitation