

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



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

N° /SIVV/2019

DEPARTEMENT DE BILOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BettaharKhedidja

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : BIOTECHNOLOGIE ET VALORISATION DES PLANTES

Thème

Effets antimicrobiens des extraits aqueux aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis* L chez *Candida albicans*.

Soutenue publiquement le: 26/09/2019

DEVANT LE JURY

Président :	<i>M. BEKADA A.M.A</i>	MCA	Université de Mostaganem
Encadreur :	<i>M. AIT SAADA.D</i>	MCA	Université de Mostaganem
Examineur :	<i>Mme. AIT CHABANE. Ouïza</i>	MCB	Université de Mostaganem
Examineur :	<i>Mme. Naas Awda</i>	MCB	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2018/2019

Dédicaces

Ce travail est dédié particulièrement à Mes chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toute ma vie.

A mes très chères grand-mères et à mon grand père.

A mon cher frère Youcef.

A mes chères Sœurs Soumia ,Imen, Yousra, Israa et Hadil.

Sans oublié la générosité illimitée de mes amis (es).

A toute ma famille et à tout ceux que j'aime et je respecte.

Remerciements

Je remercie en premier lieu le bon dieu, le tout puissant d'avoir renforcé mon courage et ma volonté pour achever bien le parcours de mon travail.

Je présente mes chaleureux remerciements et j'exprime ma profonde gratitude à M. Aït Saada Djamel d'avoir accepté de m'encadrer, pour la confiance et pour ses conseils et orientations fructueuses qu'il m'a accordé tout le long de ce travail ; Merci pour votre disponibilité et votre gentillesse.

Nous tenons à remercier M. BEKADA A ainsi que Mme. AIT CHABANE. Ouïza et Mme. Naas Awda d'avoir accepté de faire partie des membres du jury et d'examiner cette modeste étude.

J'exprime aussi mes grands remerciements au tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et les responsables ainsi que les techniciens de labo pour leurs orientations fructueuses.

Mes remerciements vont aussi à toute personne qui a participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail.

BETTAHAR Khedidja

Lists des tableaux

Tableau 1. Classement de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	3
Tableau 2. Classification botanique de <i>Candida albicans</i>	12
Tableau 3. Les principaux constituants de l'urine.....	32
Tableau 4. Effets des extraits de <i>Rosmarinus officinalis L</i> prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de <i>Candida albicans</i> (UFC/ml).....	49
Tableau 5. Effets des extraits de la <i>Rosmarinus officinalis L</i> prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur le taux de croissance <i>Candida albicans</i> (%).....	50
Tableau 6. Effets des extraits de la <i>Rosmarinus officinalis L</i> prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur le diamètre d' inhibition de <i>Candida albicans</i>	54
Tableau 7. Effets des extraits de la <i>Rosmarinus officinalis L</i> prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur le taux d' inhibition de <i>Candida albicans</i> (UFC/ml)....	55
Tableau 8. Evaluation des concentrations minimales inhibitrices des extraits bioactifs de <i>Rosmarinus officinalis L</i> récolté des régions de Mostaganem et à Naama sur la croissance de <i>Candida albicans</i>	57
Tableau 9. Type d'inhibition des extraits de <i>Rosmarinus officinalis L</i> chez <i>Candida albicans</i>	60

Lists des figures

Figure 1 . Aspect de <i>Rosmarinus officinalis</i>	2
Figure 2 . Feuilles, et Fleurs du romarin.....	4
Figure 3 . <i>Candida albicans</i>	11
Figure 4 . Organisation moléculaire de la paroi de <i>Candida albicans</i>	14
Figure 5 . Formation de biofilm chez <i>Candida albicans</i>	16
Figure 6 . Morphologie de <i>Candida albicans</i>	17
Figure 7 . Appareil urinaire.....	30
Figure 8 . Appareil génital féminin.....	36
Figure 09 . Mélange de l'échantillon avec les solvants.....	41
Figure 10 .Filtration avec du papier filtre.....	41
Figure 11 .Evaporation dans un rota vapeur sous vide.....	41
Figure 12 .Activation de la souche.....	42
Figure 13 .Ensemencement sur milieu Sabourau.....	42
Figure 14 .Test de la sensibilité au 5- flocytosime.....	43
Figure 15 .Activité antifongique.....	44
Figure 16 .Effets des extraits de <i>RosmarinusofficinalisL</i> prélevé de la région de Mostaganem chez <i>Candida albicans</i>	46
Figure 17 . Effets des extraits de <i>Rosmarinus officinalisL</i> de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition chez <i>Candida albicans</i>	47
Figure18 . Effets des extraits de <i>RosmarinusofficinalisL</i> de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition chez <i>Candida albicans</i>	51
Figure19 . Effets des extraits de <i>Rosmarinus officinalisL</i> collecté à Naaama sur les diamètres d'inhibition de <i>Candida albicans</i>	52
Figure20 . Détermination des CMB des extraits de <i>Rosmarinusofficinalis L</i> récolté a Mostaganem chez <i>Candida albicans</i>	58
Figure21 . Détermination des CMB des extraits de <i>Rosmarinus officinalis L</i> récolté a Naama chez <i>Candida albicans</i>	59

Liste des abréviations

°C	Degré Celsius
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
SIDA	Syndrome d'immunodéficience humaine acquit
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
5FC	5 Fluoro-Cytosine
AMB	Amphotériosine B
ANI	Anidulafungine
Cm	Centimètre
df-di	Différence de la densité optique finale et initiale des solutions expérimentales
Df-Di	Différence de la densité optique finale et initiale des solutions témoins
ECBU	Examen Cytobactériologique des Urines
FCZ	Fluconazole
IEP	Immunoélectrophorèse
ITZ	Itraconazole
MTL	Mating Type Locus

Résumé :

Ce travail s'intéresse à l'étude de l'activité antifongique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L récolté de deux régions différentes du pays (Mostaganem et Naama) sur la croissance de *Candida albicans* impliqué dans les infections urogénitales chez les patients de sexe féminin. Les extraits ont été obtenus par macération d'une prise du végétal dans différents solvants aqueux à polarités croissante dont : l'hexane, le méthanol, l'éthanol et l'eau. Les extraits récupérés après évaporation ont été ensuite concentrés à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement. Les mesures et contrôles réalisées en triples essais sur les différents extraits expérimentaux ont concerné : le test de croissance, le test de diffusion sur disque, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ainsi que de la concentration minimale fongicide (CMF). Les données ont subi une analyse statistique de la variance bifactorielle en randomisation et une comparaison des valeurs moyenne deux à deux.

Les extraits aqueux aux solvants à différentes polarité de *Rosmarinus officinalis* L récolté à Naama et à Mostaganem ont montré notamment à l'état pur et à une concentration de 80% un effet antimicrobien de type fongicide vis-à-vis de l'espèce microbienne *Candida albicans*. A ces concentrations aucune croissance de ce microorganisme n'a été observée et les diamètres d'inhibitions démontrées par le test de diffusion sur gélose ont été remarquablement proches de ceux de la gentamicine considéré comme étant un antibiotique puissant à large spectre.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* L, extraits, solvant, polarité, activité, antifongique, *Candida albicans*.

Summary :

This work investigates the antifungal activity of extracts of *Rosmarinus officinalis* L harvested from two different regions of the country (Mostaganem and Naama) on the growth of *Candida albicans* involved in urogenital infections in female patients. The extracts were obtained by maceration of a plant intake in various aqueous solvents with increasing polarities including: hexane, methanol, ethanol and water. The extracts recovered after evaporation were then concentrated at 0, 20, 40, 60, 80 and 100%, respectively. The measurements and controls carried out in triplicate tests on the various experimental extracts concerned: the growth test, the disk diffusion test, the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and

the minimum fungicidal concentration (CMF). The data were statistically analyzed for bifactorial variance in randomization and a comparison of mean two-to-two values.

The aqueous extracts with solvents with different polarity of *Rosmarinus officinalis* L harvested in Naama and Mostaganem showed in particular in the pure state and at a concentration of 80% an antimicrobial effect of fungicidal type vis-à-vis the microbial species *Candida albicans*. At these concentrations no growth of this microorganism was observed and the diameters of inhibitions demonstrated by the agar diffusion test were remarkably similar to those of gentamicin considered as a powerful broad-spectrum antibiotic.

Key words: *Rosmarinus officinalis* L, extracts, solvent, polarity, activity, antifungal, *Candida albicans*.

ملخص:

التي يتم حصادها في جزأين *Rosmarinus officinalis* L يفحص هذا العمل النشاط المضاد للفطريات لمستخلصات مختلفين من البلاد (مستغانم ونیما) على نمو المبيضات البيض المشاركين في التهابات الجهاز البولي التناسلي لدى المرضى. في الهكسان والميثانول والإيثانول والماء. ثم تم تركيز المستخلصات المستعادة بعد التبخر عند 0 و 20 و 40 و 60 و 80 و 100 ٪ ، على التوالي. القياسات والضوابط التي أجريت في سياق الاختبارات الثلاثية على مختلف المقطعات والحد (MIC) التجريبية المعنية هي كما يلي: اختبار النمو ، واختبار نشر القرص ، وتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط وقد تم تحليل البيانات إحصائيا عن التباين (CMF) الأدنى لتركيز مبيدات الفطريات

، التي يتم *Rosmarinus officinalis* أظهرت المستخلصات المائية التي تحتوي على مذيبات ذات قطبية مختلفة من حصادها في عفو ومستغانم خاصة في حالة نقية وبتركيز 80 ٪ ، تأثير مضاد للميكروبات على مبيدات الفطريات ضد أنواع المبيضات الميكروبية. البيض. في هذه التركيزات ، لم يلاحظ أي نمو لهذه الكائنات الحية الدقيقة وأقطار المانع التي يتضح من اختبار نشر أجار كانت قريبة بشكل كبير من تلك التي من الجنتاميسين تعتبر مضاد حيوي واسع الطيف

، مقطعات ، مذيب ، قطبية ، نشاط ، مضاد للفطريات ، المبيضات *Rosmarinus officinalis* L: الكلمات المفتاحية البيضاء.

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction général	

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre I Généralité sur *Rosmarinus officinalis* (Romarin)

1. Définition	02
2. Historique.....	02
3. Etymologie.....	03
4. Origine du nom.....	03
5. Classification	03
6. Description morphologique.....	04
7. Description géographique et habitat.....	04
8. Composition chimique du <i>Rosmarinus officinalis</i>	05
8.1. L'huile essentielle.....	05
8.2. Composition phénolique.....	05
8.2.1. Les acides phénoliques.....	05
8.2.2. Flavonoides.....	05
8.2.3. Ditérpenes.....	06
9. Propriétés du romarin.....	06
9.1. Activité antibactérienne	06
9.2. Activité antifongique.....	06
9.3. Activité antivirale	06
9.4. Activité anti-oxydante.....	07
9.5. Activité anti-carcinogène.....	07
9.6. Activité anti –hyperglycémiant.....	07
9.7. Activité anti –hypoglycémiant	07
9.8. Activité anti-acétylcholinestérase.....	07
9.9. Activité anti-hépatotoxique.....	08
9.10. Activité ovicide.....	08
9.8. Activité anti-acétylcholinestérase.....	07
9.9. Activité anti-hépatotoxique.....	08
9.10. Activité ovicide.....	08
9.11. Autres Activités.....	08
10. Propriétés et emploi de l'espèce.....	08
10.1. Usage interne.....	09
10.2. Usage externe.....	09
10.2.1. En industrie agro-alimentaire.....	09
10.2.2. En industrie cosmétique et parfumerie.....	10

Chapitre II Généralité sur Candida Albicans

1. Définition.....	11
2. Historique.....	12
3. Classification.....	12
4. Habitat	13
5. Structure cellulaire.....	13
5.1. Structure intracellulaire.....	13
5.2. La paroi.....	13
6. Forme de résistance.....	14
6.1. La formation de biofilm.....	15
6.1.1. Définition d'un biofilm.....	15
6.1.2. Les étapes d'évolution d'un biofilm.....	16
7. Caractères morphologiques.....	16
8. Caractères physiologiques.....	17
9. Caractères biologiques de Candida albicans.....	18
9.1. Milieu de vie.....	18
9.2. PH	18
9.3. Température.....	18
9.4. Nutrition.....	18
10. Critère d'identification.....	19
11. Pouvoir pathogène.....	20
12. Mode d'action.....	21
13. Mode de contamination	21
14. Milieu de culture.....	22
15. Sérologie.....	23
16. Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence.....	24

Chapitre III : Les infections urogénitales

1. Les Candidoses.....	24
1.1. Définition de candidoses.....	24
1.2. Facteurs de risques d'infection candidosique.....	24
1.2.1. Intrinsèques.....	24
1.2.2. Extrinsèques.....	24
1.3. Les différents types de candidoses.....	25
1.3.1. Les candidoses superficielles.....	25
1.3.1.1. Les candidoses digestives.....	25
1.3.1.2. La candidose orale et VIH.....	26
1.3.1.4. Les candidoses uro-génitales.....	26
1.3.1.5. Les candidoses cutanées et unguéales.....	27
1.3.1.6. Les candidoses cutanéomuqueuses chroniques.....	27
1.3.2. Les candidoses profondes.....	28
2. Les infections urogénitales	29
2.1. Appareil urinaire.....	29
2.2. Les éléments constituant l'appareil urinaire.....	29
2.2.1. Haut appareil urinaire.....	29
2.2.2. Bas appareils urinaires.....	30
2.2.3. L'urine.....	30
a. Définition de l'urine.....	30
b. Caractères physicochimiques de l'urine.....	31

c. Constitution physiologique de l'urine.....	31
2.3. Les infections urinaires.....	32
2.2.1. Les types des infections urinaires.....	32
2.2.1.1. Les infections du bas appareil.....	32
2.2.1.2. Les infections du haut appareil.....	33
2.2.2. Facteurs favorisant l'infection urinaire.....	33
a. Sexe féminin.....	33
2.2.3. Causes de l'infection urinaire.....	34
2.2.4. Symptômes généraux des infections urinaires.....	34
2.4. Appareil génital féminin.....	35
2.4.1. Les Organes génitaux féminin.....	35
2.4.1.1. Les organes génitaux internes.....	35
2.4.1.2. Les organes génitaux externes.....	36
2.5. Infection génital.....	37
2.5.1. Flore normale.....	37
2.6. Types des infections génitales.....	37
2.6.1. Infections basses.....	38
2.6.2. Infections hautes.....	38
2.7. Microorganismes responsables des infections génitales féminines.....	38

Partie 2 : Matériels et méthodes

1.Objectif.....	39
2.Matériel.....	39
2.1. Matériel végétal.....	39
2.2. Matériel du laboratoire utilisé.....	39
3. Méthodes.....	40
3.1. Méthode d'extraction des composés bioactifs aux solvants à différentes polarités.....	40
3.2. Etude des effets antimicrobiens des extraits de Rosmarinus officinalis.....	42
3.2.1. Activation des inocula microbiens.....	42
3.2.2. Méthode de contact direct.....	43
3.2.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	43
3.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	44
3.2.5. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF).....	45
4. Traitement statistique.....	45

Partie 3 : Résultats et Discussion

1.Résultats.....	46
1.1.Test de croissance.....	47
1.2.Taux de croissance.....	48
1.3. Test de diffusion sur disque.....	48
1.4. Taux d'inhibitions.....	53
1.5. Concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	56
1.6. Concentrations minimales fongicides (CMF).....	56
1.7.Type d'inhibition des extraits de romarin.....	56
2. Discussion.....	61
Conclusion générale.....	63
Références Bibliographiques.....	64
Annexes.....	70

Introduction générale :

L'utilisation des plantes et herbes médicinales a été récemment augmentée dans le monde entier pour le maintien et l'amélioration de la santé et pour le traitement de diverses maladies. D'ailleurs, la médecine actuelle remet de plus en plus en honneur les plantes médicinales, après avoir établi de façon scientifique les notions de jadis, purement empiriques et partant d'une observation plus ou moins rigoureuse, comme l'ont montré plusieurs découvertes (**Olabinri et al, 2009**).

Parmi, ces plantes, le romarin (*Rosmarinus officinalis* L), arbuste vivace à feuilles persistantes cultivé dans de nombreuses régions du monde est le végétal le plus utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses effets bénéfiques dans le traitement de différentes maladies, telles que les troubles respiratoires, les problèmes d'estomac et les maladies inflammatoires. Utilisé essentiellement en médecine populaire pour le traitement de l'hyperglycémie, il est aussi largement reconnu comme l'une des plantes médicinales à forte activité antimicrobienne .

D'après la bibliographie, cette espèce est douée de plusieurs propriétés médicinales et antimicrobiennes attribuées particulièrement à leur grande richesse en différents constituants bio actifs dont les composés phénoliques (Bakirel et al., 2008).

Les candidoses, sont les infections opportunistes très fréquentes chez les femmes et les nourrissons, dues aux levures du genre *Candida* (**Eggimann et al., 2003**). *Candida albicans* est un microorganisme de la famille des levures qui se trouvent normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée. Cette levure représente la cause de pathologies graves et dont la fréquence reste constante (**Pfaller et Diekema, 2007**) malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques, en particulier chez des patients immunodéprimés (**Anofel, 2007**).

Notre étude consiste donc à évaluer l'effet antimicrobienne des extraits de Romarin prélevé dans deux régions du pays (Naama et Mostaganem) chez *Candida albicans* responsable de candidose chez les nourrissons et impliquée dans les infections urogénitales chez les femmes.

1. Définition

Rosmarinus officinalis (romarin), est un arbuste aromatique qui appartient à la famille des lamiacées (labiées) qui est connue depuis l'oligocène. C'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres (**Jeun Brineton, 1999**).

Le *Romarin* est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens 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'examen (**BOULLARD, 2010**).



Figure 01 : Photo de *Rosmarinus officinalis* (**Boullard, 2010**).

2. Historique

Le romarin fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires. Les Anciens Grecs lui vouaient une grande vénération. On s'en servait généreusement dans toutes les fêtes, qu'il s'agisse de cérémonies nuptiales, funéraires ou de célébrations profanes. On mettait aussi des brins de romarin sous les oreillers pour chasser les mauvais esprits et les cauchemars. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes, qu'ils portaient durant les examens pour stimuler leur mémoire. L'histoire veut aussi que la reine de Hongrie,

quisouffrait de rhumatismes chroniques, ait été délivrée de ses problèmes grâce à un remède à base de romarin lorsqu'elle était âgée de 72 ans (Romano *et al.*, 2009).

3. Etymologie

Le nom latin *rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "*ros*" de la rosée et "*marinus*" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "*rhops*" arbuste et "*myron*" baume. (Heinrich *et al.*, 2006).

4. Origine du nom

Nom commun : Romarin.

Autre nom : herbes aux couronnes, herbes aux troubadours, encensier, arbre de marine, rosedemère, rose de marine, roumaniou, roumarine.

Nom scientifique : *Rosmarinus officinalis*, le mot romarin (*Rosmarinus*) dérive du latin «*Ros*» rosée ; «*Marinus*» : marin ou de marine et en anglophones: *rosmary* .

5. Classification

Tableau 01 : classement de *Rosmarinus officinalis* (Quezelet Santa, 1963)

Règne	Plantes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceas
Genre	Rosmarinus
Espèce	officinalis L. Rosmarinus

6. Description morphologique

Le romarin est un arbrisseau dont la tige pouvant atteindre deux mètres, est couverte d'une écorce grisâtre. Elle se divise en nombreux rameaux opposés, tortueux. Les fleurs sont hermaphrodites, visibles de janvier en mai. Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux, à la base des feuilles. Les feuilles opposées décussées insérées sur une tige à section carrée, étroites, lancéolées, linéaires, à bords roulés en dessous, sont vertes foncées et luisantes à la face supérieure. Le fruit, ovoïde, est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (entomogame). (Boudy, 1948 ; Grégory, 1988).

7. Description géographique et habitat

Le Romarin fait partie des espèces végétales qui se présentent à l'état sauvage dans les zones littorales pas trop loin de la mer, les lieux secs et arides même au Sahara. Donc l'aire géographique du Romarin est spécifiquement méditerranéenne, il est répandu dans les pays européens, en France, en Espagne, au Portugal. De l'autre côté de Gibraltar on le retrouve au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye, où il est abondant, mais il devient rare et ne se manifeste que dans quelques stations isolées en Égypte, en Israël, Liban, à Chypre, il réapparaît en Turquie, en Grèce et en Italie (Granger *et al.*, 1976).



Figure 02 : Photo des feuilles, et des fleurs du romarin (Granger *et al.*, 1976).

8.Composition chimique du *Rosmarinusofficinalis*

L'usage traditionnel de romarin comme épice, ainsi que les propriétés thérapeutiques, ont laissé plusieurs groupes de recherche à étudier la composition de la plante et les constituants responsables de ces activités qui sont citées ci-dessous :

8.1.Huiles essentielles

L'huile essentielle de romarin est un liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement camphrée, pénétrante de saveur très aromatique, les sommités fleuries fournissent plus de 10 à 25 ml/Kg (**Jean brineton, 1992**). La teneur en huile essentielle dans le romarin varie en fonction de l'origine géo-climatique de la plante, plus de 50 composantes monoterpéniques rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle de romarin dont les constituants principaux sont :

Camphre (15-25%), α - Pinène (19,6 %), Bornéol libre et estérifié (10,0%), 1,8 Cinéol (15-50%), Limonène (3,6%) (**Albert et al., 1996; Deanset al., 1998 ; boukhalfaet al., 1995**).

8.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, ils sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique.

8.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques présents dans les romarins et à des teneurs importantes sont (**clvieret al., 1998**): L'acide rosmarinique, L'acide caféique, L'acide Néo-chlorogénique, L'acide vanillique.

8.2.2. Flavonoïdes

Plus de dix flavonoïdes sont isolés et identifiés dans le Romarin, la plus part d'entre eux sont des dérivés de flavone parmi eux nous citons : l'apégénine, le gondwanien, le 6-méthoxygondwanine, ect (**clvieret al., 1996**).

8.2.3. Ditérpenes

Actuellement, plus de douze ditrepènes isolés et identifiés dans le Romarin, ils sont responsables à l'activité anti-oxydante de la plante, à titre d'exemple : l'acide Carnosique, lacarnosol, le 12- acide méthoxycarnosique, le rosmanol, l'epirosmanol, ect (**Paris et al., 1998; Karin et al., 1992; Inatani et al., 1983 ; Clvieret et al., 1996 ; Hiroygkiet al., 1995**).

L'acide carnosique est le constituant majoritaire dans cette fraction phénolique, il a une teneur plus de 0,35% (**Naktani et al., 1983**).

9. Propriétés du romarin

Le romarin est une herbe médicinale bien connue et considérablement évaluée, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle.

Elle est très appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes et anti-tumorales.

9.1. Activité antibactérienne

Plusieurs auteurs ont rapporté que certains composés présents dans les extraits du romarin possèdent des propriétés antibactériennes (**Georganteliset al., 2007**).

9.2. Activité antifongique

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

9.3. Activité antivirale

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

9.4. Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante du romarin est connue depuis environ 30 années (**Nassuet al.,2003**). En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'épice qui a l'activité anti-oxydante la plus élevée (**Wang et al.,2008**).

9.5. Activité anti-carcinogène

Grâce à certains composants (carnosol, rosmaridiphénol, rosmanol et l'aciderosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer (**Atikbekkara et al.,2007**).

L'étude élaborée par (**Singletary, 1996**) a démontré que l'extrait commercial du romarin et le carnosol sont des inhibiteurs des tumeurs mammaires.

9.6. Activité anti -hyperglycémiant

Les observations après l'administration orale de différentes doses de l'extrait éthanolique du romarin, à 3 groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normale, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration orale du glucose, lapins diabétiques d'alloxane) ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant remarquable à une dose de 200 mg /kg (**Bakirelet al.,2008**).

9.7. Activité anti -hypoglycémiant

L'observation après l'administration orale de différentes doses de l'extrait éthanolique du Romarin à 3 groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normale, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration orale du glucose, lapins diabétiques d'alloxane) ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant remarquable à une dose de 200 mg /kg (**Bakirelet al.,2008**).

9.8. Activité anti-acétylcholinestérase

Des extraits aqueux et méthanoliques de 11 plantes utilisés dans la médecine traditionnelle chinoise pour l'amélioration de la mémoire ont été examinés pour évaluer leurs activités inhibitrices d'acétylcholinestérase en utilisant la méthode colorimétrique d'Ellman.

L'extrait méthanolique du Romarin a montré une inhibition modérée (17%) de l'enzyme à une concentration de 0.1%. (Wang *et al.*, 2008).

9.9. Activité anti-hépatotoxique :

De nombreuses études ont été réalisées pour étudier l'effet anti hépatotoxique du Romarin, le travail a été concentré pour l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du Romarin pour normaliser certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone (CCL₄). Les résultats ont indiqué que cet extrait a empêché la peroxydation lipidique, (l'information, la nécrose, normalisé les taux de la bilirubine, la glycogène et l'activité de l'alanine aminotransférase) et enfin il a augmenté l'activité du glutathion-S-transférase (GST). (Wang *et al.*, 2008).

9.10. Activité ovicide

L'huile essentielle du Romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*

Ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre les moustiques. (Rasooli *et al.*, 2008).

9.11. Autres Activités :

- L'extrait éthanolique des pièces aériennes du romarin possède une activité antinociceptive et anti-inflammatoire très importante, ce qui renforce l'utilisation médicamenteuse traditionnelle de cette plante. (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007).
- L'extrait hydro-éthanolique du romarin a une activité diurétique et un effet considérable sur l'excrétion urinaire d'eau et des électrolytes (Na⁺, K⁺ et C⁻) (Haloui *et al.*, 2000).

10. Propriétés et emploi de l'espèce

Le romarin est utilisé comme arbuste ornementale et pour les haies bien exposées à la lumière. En usage traditionnel ses feuilles sont utilisées en tisanes ainsi que sur les blessures et les plaies (Dorvant, 1982).

Le romarin est employé dans le traitement de plusieurs maladies, son usage peut être interne ou externe.

10.1. Usage interne

Il est utilisé sous forme d'infusion, extrait fluide ou autre préparation galénique contre les douleurs d'estomac. Il est associé fréquemment à d'autres cholagogues et cholérétiques pour favoriser les fonctions d'élimination rénale et digestive et dans le traitement symptomatique de troubles digestifs. Le romarin était déjà cité en médecine arabe classique. Pour ces propriétés hépatotrope et emménagogue qui sont dues à la présence des flavonoïdes. Comme il lutte contre la diarrhée, la fermentation intestinale, les spasmes et les troubles hépatiques. Il stimule les grandes fonctions nutritives et hormonales, améliore la circulation sanguine et lutte contre l'asthme, l'épilepsie, la dyspepsie atonique ainsi que contre les céphalées et les migraines d'origine nerveuse, les vertiges et les troubles de mémoire.

En Turquie, la décoction de feuilles du romarin a été traditionnellement employée pour traiter les diabétiques (**Bakirel et al. 2008**).

10.2. Usage externe

Le romarin est un cicatrisant des plaies et des brûlures. C'est un antiseptique, et un excitant du cuir chevelu (arrête la chute des cheveux) (**Bakirel et al. 2008**). Il constitue un excellent parasiticide, un antirhumatismal, et il est également utilisé comme antiparasitaire.

10.2.1. En industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de romarin présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques. Ces propriétés sont dues aux acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique) (**JeunBrineton, 1999**).

Les deux, l'épice et l'huile sont largement utilisés en alimentation, l'épice est utilisée dans les boissons alcoolisées, les aliments cuits, viande et produits de viande, sauces, les aliments industriels et autres avec le niveau maximum est d'environ 0,4% dans les aliments cuits. L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non, les desserts glacés, confiseries, aliment cuits, viande avec le niveau maximum utilisé est d'environ 0,003% (**JeunBrineton, 1999**).

10.2.2. En industrie cosmétique et parfumerie

Au 19^{ème} siècle l'essence de romarin est utilisée dans la fabrication de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui, elle entre dans la composition de savonnerie, détergent, crème, l'eau de toilette, des poudres, du dentifrice et des bains de beauté ; le taux d'utilisation maximum rapporté à 1% (**JeunBrineton, 1999**).

1. Définition

Candida albicans est une levure commensale de la voie orale, vaginale, gastro-intestinale, cutanée et des surfaces muqueuses. Elle est considérée comme pathogène fongique opportuniste le plus commun chez l'humain.

Candida albicans, souvent associé à un champignon microscopique, est un microorganisme de la famille des levures qui se trouvent normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée. Cette levure représente la cause de pathologies graves et dont la fréquence reste constante (Pfaller et Diekema, 2007) malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques, en particulier chez des patients immunodéprimés (Anofel, 2007)

En réponse à des changements dans l'équilibre nutritif ; la température et le pH ; des transitions morphologiques entre la forme levure et la forme hyphes peuvent être subites.

Exceptionnellement et sous certaines conditions ; *Candida albicans* peut former des chlamydospores (Sudbery et al., 2004).

Cette levure possède des mécanismes d'adaptation complexes ; lui permettant de survivre dans diverses conditions environnementales et de causer une grande variété d'infection : superficielles (candidoses muco-cutanées) ou profondes (candidoses systémiques, souvent mortelles). La transition saprophyte-pathogène s'opère à la suite d'une baisse des défenses immunitaires de l'hôte (locales ou générales), permettant la multiplication des levures (Segal, 2005 ; Sarazin, 2010).

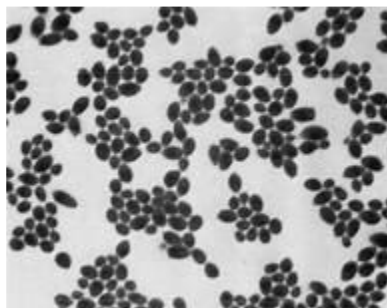


Figure 03 . *Candida albicans* (Sudbery et al., 2004).

2. Historique

Les vaginites mycosiques deviennent actuellement les principales causes de vaginite en général. Il est assez fréquent de mettre en évidence dans les sécrétions vaginales des filaments mycéliens divers.

En 1840, Wilkinson établit une corrélation entre une vulvo-vaginite et la présence. En 1875, Haussmann prouve la pathogénicité de *Candida albicans* pour les voies génitales féminines en provoquant, par inoculation des pertes de malades porteuses de champignons, une vulvo-vaginite chez les témoins sains. En 1909, de nombreux auteurs décrivent des cas d'affections uro-génitales aigus ou chroniques en rapport avec la présence de *Candida albicans*. En 1938, Jones Martin et Durant identifièrent les espèces suivantes : *Candida albicans* 44 % *Candida stelloïde* 43,7 % *Candida tropicalis* 1,3 % *Candida parakruessei* 1% Depuis cette date, nombreuses publications sont faites dans ce domaine notamment par : Feo et Dellette (1953), Halde et Dragon (1956) Drouhet(1965) En 1939, le nom de candidose a été donné sur décision du congrès international de microbiologie à New York. 3.

3. Classification

Le genre candida compte 196 espèces, dont seulement une dizaine ont été reconnues pathogènes pour l'homme, en raison de leur faculté d'adaptation à la température de 37 0C (Benmansour, 2012).

Tableau 02 .classification botanique de *Candida albicans*(Browser, 2007)

Règne	Champignons
Division	Eumycota
Phylum	Deuteromycotina
Classe	(Blastomycete (levures asexuées))
Ordre	Moniliales
Famille	Moniliaceae
Genre	Candida
Espèce	Candida albicans

4 .Habitat

Candida albicans est une levure de forme variable ronde à allongé. Commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux. Il n'est normalement jamais retrouvé dans l'environnement à moins d'une contamination par l'homme ou l'animal. Cette levure est un opportuniste qui devient pathogène sous l'effet de facteurs favorisants généraux ou locaux (Segal, 2005).

5.Structure cellulaire

Candida albicans est un eucaryote avec un noyau, une double membrane nucléaire, des chromosomes, des mitochondries et des inclusions lipidiques. Il existe également dans ces cellules des enzymes de type phosphatase, oxydase et peroxydase (**Bourée, 2001**). La seule structure différenciant la levure d'une cellule eucaryote « classique » est la présence d'un système vaculo-vésiculaire, évoluant en relation avec le cycle cellulaire et la division et impliqué en majeure partie dans la synthèse de la paroi (**Barelle et al., 2006**). Cette dernière donne à la levure sa forme et sa stabilité mécanique. Elle est aussi une zone de contact entre la cellule et son environnement (**Ruiz-Herrera, 2006**).

5.1.Structure intracellulaire

Candida albicans possède tous les organites intracellulaires caractéristiques des eucaryotes : un noyau, délimité par une double membrane nucléaire, et renfermant huit chromosomes, un nucléole ; un réticulum endoplasmique (**Chu et al, 1993**), une membrane plasmique est recouverte d'une paroi qui donne à la levure sa forme et sa stabilité mécanique.

5.2. La paroi

Candida albicans possède une paroi qui exerce des fonctions essentielles telles que la protection contre les stress physiques extérieurs et contre la lyse de la cellule par turgescence. De plus, cette structure rigide est dotée d'une grande plasticité ce qui permet à la cellule de maintenir sous différentes morphologies.

La paroi de *C. albicans* (figure 3) est une structure en perpétuelle évolution d'environ un cinquième de micron d'épaisseur protégeant la cellule, lui conférant sa forme et par laquelle passe la majorité des régulations avec l'hôte. La couche interne de la paroi est constituée principalement de polysaccharides : β -glucanes (Ils comptent pour 50-60 % de la

massetotale de la paroi) (**Ruiz-Herre ra et al, 2006**) et chitine (composant mineur de paroi) qu'est un polysaccharide linéaire fait de plus de 2 000 unités de N-acétylglucosamine (**Reiss et al, 1992**).

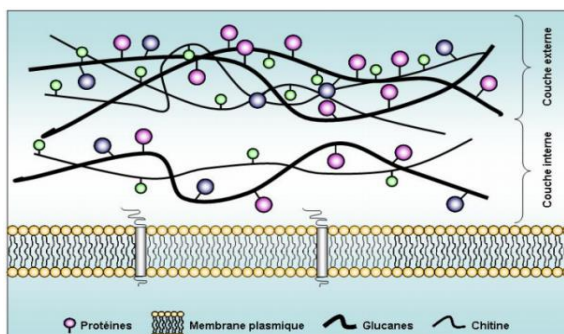


Figure 04: Organisation moléculaire de la paroi de *Candida albicans* (**Ruiz-Herre ra, FEMS Yeast Res, 2006**)

Mannoprotéines sont nombreuses à la surface de la paroi de *C. albicans*, ainsi qu'au niveau de la cicatrice de bourgeonnement (**Horisberger et al, 1988**), (**Ruiz-Herrera et al, 2006**).

La paroi contient également un certain nombre de protéines (6-25 %) ayant une activité enzymatique. En particulier la N-acétylglucosamidase, la phosphatase acide, la protéinase, la glucanase et la chitinase (**Poulain et al, 1995**).

La paroi contient aussi des lipides qui représentent que 5 à 17 % du poids total de la paroi, la présence de phospholipides, de triglycérides et de stérols libres ou estérifiés a ainsi été observée. Un lipide intéressant de la paroi de *C. albicans* est le phospholipomannane (**Mille et al, 2004**).

6. Forme de résistance :

Dans certaines conditions de cultures, chez *Candida albicans*, des grosses spores peuvent apparaître sur les filaments mycéliens, ces spores sont rondes ou ovales, à paroi épaisse, de 6 à 12 micromètres de diamètre, se sont des chlamydozoospores (Odds, 1979).

6.1. La formation de biofilm

6.1.1. Définition d'un biofilm

Le biofilm est un amas de microorganismes adhérant à un support, enrobés d'une matrice exo polysaccharidique (**Hawse et al., 1995**) à une surface ou une interface en milieu humide ou aqueux (Costerton et al., 1994)

Les biofilms se constituent sur toute interface solide/liquide et sur les tissus vivants. Ils constituent une barrière protectrice pour le tissu sous-jacent contre les agressions physiques, chimiques, thermiques et biologique.

Par contre lorsque l'organisme s'affaiblit et que ses défenses sont perturbées, les biofilms peuvent être des réservoirs microbiens à l'origine d'infections. La structure d'un biofilm est tout à la fois hétérogène, micellaire, filtrante, évolutive.

6.1.2. Les étapes d'évolution d'un biofilm

On distingue quatre étapes dans l'évolution d'un biofilm : (**Hawse et al., 1995**).

- **Une phase planctonique** : les microorganismes sont à l'état libre au sein de liquide dans lequel le support est immergé.
- **Une phase d'adhérence au support** : des microorganismes de la phase liquide se fixent sur le support et y forment des communautés pionnières.
- **Une phase de recouvrement (attachement)** : les communautés pionnières prolifèrent jusqu'à recouvrir toute la surface disponible du support avec formation d'une monocouche ; ceci facilite la fixation d'autres microorganismes sur de nouvelles couches.
- **Une phase de croissance ou phase sessile** : la prolifération des microorganismes.

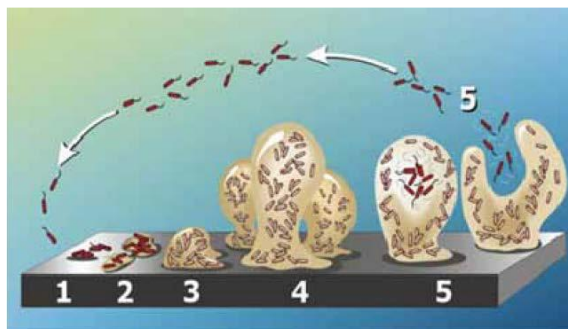


Figure 05: Formation de biofilm chez *Candida albicans* (Hawse et al., 1995).

7. Caractères morphologiques

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Chu et al., 1993), se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses. Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 μm , et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire. En effet, certains paramètres tels que le pH, la température ou encore la richesse du milieu de culture influencent l'aspect morphologique que peut prendre *C. albicans* (Graser et al., 1996) (figure 01)

La forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec un bourgeon de formation; - La forme pseudomycélium, mesurant de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien; - La forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *C. albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte (Gow, 2002).

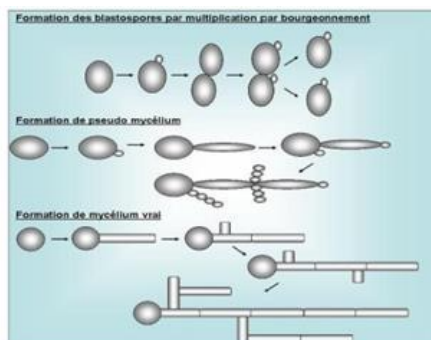


Figure 06: morphologie de *Candida albicans*(Lagane, 2007)

Sous certaines conditions environnementales extrêmes en terme de milieu et de température, *C. albicans* peut aussi former des chlamydozoospores, qui sont des structures terminales ou latérales arrondies. Elles sont formées par épaissement du thalle, mesurent deux fois la taille du blastospore et possèdent une paroi plus épaisse. Les chlamydozoospores sont la forme de résistance de *C. albicans* et participent à l'identification du champignon en laboratoire. Elles sont rarement mises en évidence *in vivo* (Cole et al., 1991). Toutes ces transitions morphologiques se mettent en place en réponse à des changements de conditions environnementales, et permettent ainsi au champignon de s'adapter à différentes niches biologiques (Molero et al., 1998) .

8. Caractères physiologiques

Les différentes espèces de candida se distinguent par leurs caractères nutritionnels et biochimiques. Nous nous intéresserons plus particulièrement à *Candida albicans*; qui est la levure pathogène la plus fréquemment rencontrée (Benmansour, 2012) :

- Cette espèce possède la propriété de fermenter le glucose et le maltose mais pas le lactose, ni le raffinose, ni le saccharose.
- Elle est incapable de réduire les sels de tétrazolium et de transformer en un composé coloré (la colonie restera blanche)
- *C. albicans* n'est pas inhibé par l'actidione.
- *C. albicans* réduit le sulfite de bismuth (milieu de Nickerson Cator).

- *C. albicans* n'élabore pas d'uréase.
- *C. albicans* produit une protéase keratolytique, capable de digérer la couche cornée de l'épiderme, d'où la pathogénicité du champignon lorsqu'il est présent à la surface de la peau.

9. Caractères biologiques de *Candida albicans*

9.1. Milieu de vie

Toutes les espèces du genre *Candida* sont aérobies. Il vit exclusivement sur les muqueuses, mais il peut cependant survivre dans le milieu extérieur. Mais il est détruit par le lavage du linge, la stérilisation du matériel médical et des cathéters.

9.2. PH :

In vivo, l'acidité gastrique ou vaginale n'altère pas sa vitalité. En effet, la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7. En revanche, en milieu alcalin, l'assimilation des nutriments par les *Candida* est inhibée.

9.3. Température

Croissance entre 20°C et 30° C pour la majorité des levures. Les espèces pathogènes sont capables de croître à 37 ° C. (Euzeby, 1994).

Malgré la dominance de *Candida albicans*, les espèces non albicans, notamment *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis*, sont souvent isolées en milieu hospitalier (Silva et al., 2009).

9.4. Nutrition

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, c'est à dire qu'ils sont incapables de synthétiser leurs molécules carbonées à partir du dioxyde de carbone atmosphérique. Ils vivent donc aux dépens de la matière organique préformée. Le passage des substances se fait par absorption (Koenig, 1995)

- **Besoin en carbone**

Il utilise le carbone du glucose, du maltose, du saccharose, du galactose, du xylose, du tréhalose, du 2-cétogluconate, du méthyl-glucoside, et de la N-acétylglucosamine. Les capacités d'assimilation diffèrent selon les espèces et servent ainsi pour leur détermination (KOENIG, 1995).

- **Besoin en azote**

Il a besoin d'une source d'azote. Pour apprécier les besoins du champignon en dérivés azotés (KOENIG, 1995).

- **Besoin en vitamines**

Les vitamines du groupe B (notamment la biotine = vit B8 = vit H) mais aussi la thiamine (vit B1), et la vitamine B5, sont indispensables à la croissance et sont souvent incorporées dans les milieux de croissance (KOENIG, 1995).

- **Besoin en fer**

C'est un élément indispensable à la croissance du *Candida*.

En effet, comme chez toute cellule vivante, le fer et d'autres métaux lourds, constituent chez les champignons un facteur de croissance essentiel.

Une surcharge en fer a été décrite au cours d'infections bactériennes mais aussi fongiques.

En effet, la plupart des champignons (*Candida*, *Aspergillus*, *Mucor* ...) secrètent des sidérophores, composés de faible masse moléculaire, possédant une très haute affinité pour l'ion ferrique (GRILLOT, 1996).

10. Critère d'identification :

Il existe plusieurs techniques qui permettent d'identifier *C.albicans* en laboratoire comme par exemple :

- Le test de germination positif, en effet *C.albicans* formera un hyphes sans constriction lorsqu'elle est placée dans du plasma de lapin à 37°C.

- Le test de chlamydospore sera positif sur milieu RAT du à la présence de tween 80.
- Test de l'uréase négatif sur milieu Christensen.
- Colonie blanche crème, luisant et crémeuse sur gélose sang ou Saboraud(**Bennett et Johnson, 2003**).

11.Pouvoir pathogène :

Candida albicans est saprophyte, elle devient pathogène s'il elle est retrouvée en grand quantité, elle provoque un érythème cuisant recouvert par fois de dépôts blanchâtre crémeux. Sur la peau *Candida* est pathogène, elle est source de placards érythémateux prurigineux émiétés (Bouvenot et al., 1996).

12.Mode d'action

La levure *Candida albicans* se trouve naturellement dans l'appareil respiratoire, labouche (chez la plus part des êtres humaines) ainsi que dans le vagin (chez la plus part des femmes) cette dernière ne cause aucun problème chez les individus en bonne santé car samultiplication est contrôlée par les microbes vivants aux alentour de la levure, si undéséquilibre survient *C.albicans*pourra se multiplier et produire ainsi une candidose(**Kunkel, 2008**).

13.Mode de contamination

Candida albicans et les autres espèces de cette famille peuvent être transmis d'homme à l'homme ou par des sources extrahumaines, l'air, matériel médical souillé (pose de cathéters), le Nouveau-né et le nourrisson se contaminent le plus souvent au contact de la mère, l'infection de candida albicans chez l'homme est une infection transmise d'une manière endogène à partir de la flore intestinales, et même peut se transmettre par voie sexuelle (**Del palacio et al ; 2008**).

14.Milieu de culture

Candida albicans croit sur des milieux tel que Sabouraud PCB, RAT (RICE AGAT TWEEN) (**Vaubour, 2007**), Avec la présence d'un antibiotique comme chloramphénicol quidoit être ajoutée au milieu pour éviter le développement des bactéries et aussi toutecontamination par ces dernières, la levure est incubée 24 à 48H a 37°C (**Raoult,**

1998), L'aspect des colonies sur milieux de culture est caractérisé par des colonies blanches, crémeuses, lisses et brillantes, certaines colonies sont plus rugueuses, après quelques jours de croissance on observe des filaments qui s'enfoncent dans la gélose (Datry et Sehrine, 2010).

15. Sérologie :

La détection des anticorps anti-*Candida* a un rôle limité. Bien que la production d'anticorps soit plutôt le reflet d'une colonisation, un élément dans la décision de prise en charge thérapeutique. Au laboratoire de parasitologie-mycologie de Grenoble, on utilise une technique d'immunofluorescence détectant des anticorps dirigés contre des antigènes (maison).

Si ce test est positif, il sera confirmé par une technique d'immunoélectrophorèse (IEP). D'après leurs caractères antigéniques et notamment la nature des peptidomannanes pariétaux, on considère deux syrotypes de *C. albicans* :

- **Le syrotype A.**
- **Le syrotype B (Rispaïl, 2005).**

16. Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence

De façon générale, le rôle infectieux de *Candida albicans*, pathogène opportuniste, semble favorisé par une combinaison de facteurs liés aux statuts immunologique et physiologique de l'hôte, ainsi qu'à des facteurs liés au microorganisme, plutôt qu'à un facteur de virulence unique. Les infections candidosiques sont ainsi probablement initiées par une diminution des défenses de l'hôte qui modifie l'équilibre de commensalisme au profit de la levure, et entraîne le basculement du stade de colonisation à celui de l'infection.

Les infections de la peau et des muqueuses telles que les candidoses vaginales par exemple, sont principalement dues à des modifications du pH et de l'environnement microbien, alors qu'une atteinte systémique est habituellement associée à une insuffisance des défenses de l'hôte, telle que celle présentée par les patients hospitalisés en cancérologie soumis à une chimiothérapie ou à une antibiothérapie à large spectre. La séquence des événements qui contribuent à l'installation de *Candida albicans* chez son hôte peut se résumer en trois étapes clés :

- Adhérence et colonisation.
- Invasion au niveau des tissus.
- Multiplication et survie chez l'hôte.

Plusieurs facteurs de virulence ont été proposés :

- **L'adhérence aux surfaces** : elle peut se faire au niveau des muqueuses, mettant en jeu des interactions spécifiques de type ligand / récepteur avec les mannoprotéines de la paroi de la levure. On parle d'adhésines, telles que celles de la famille d'Als1 (**Hoyer et al, 1998**).

- L'adhérence peut se faire aussi à partir de la formation de biofilms (**Douglas, 2003**) à l'occasion d'un traumatisme de façon iatrogène ou chirurgicale par l'introduction de matières plastiques telles que les cathéters, les sondes urinaires... De plus, l'hydrophobicité de la paroi du champignon favorise une interaction non spécifique avec les épithéliums. Il a été montré que la nature et le degré de glycosylation des protéines de la paroi altèrent cette hydrophobicité. Ceci pourrait expliquer en partie le fait que certaines souches ou sérotypes de *Candida albicans* soient plus adhérents que d'autres à un type cellulaire donné de l'hôte.

- **La formation de mycéliums vrais et de pseudomycéliums** : en général, le passage de la forme levure à la forme plus ou moins filamenteuse est associé à la virulence. Les tubes germinatifs, structures intermédiaires entre le blastospore et le mycélium augmentent l'adhérence aux cellules épithéliales et favorisent la colonisation (**Rotrosen, 1985**), en induisant la propre endocytose du pathogène. Par la suite, la production d'hyphes augmente l'invasion et la destruction tissulaire, (**Filler, 1995**).

- **L'interférence avec la phagocytose** : *Candida albicans* est capable de produire des peptides acides pouvant inhiber la liaison aux phagocytes et le métabolisme oxydatif. De plus, la levure peut induire l'apoptose des macrophages et des neutrophiles échappant ainsi aux cellules du système immunitaire (**Rotstein, 2000**).

- **L'interférence avec le complément** : les adhésines fongiques (mannoprotéines), apparentées au récepteur CR3 des lymphocytes, peuvent être affines pour certains composants matriciels plasmatiques tels que la fibronectine, mais aussi la fraction C3bi du complément, perturbant ainsi la phagocytose de la levure, (**Ibata-Ombetta, 2003**)

- **Les enzymes** : la sécrétion d'enzyme hydrolytique au cours de l'infection favorise la virulence en dégradant les surfaces des muqueuses de l'hôte ainsi que ses défenses immunitaires. (**Schaller, 2005**).

Enzymes sont des aspartyl protéinases (Saps) (**Monod, 2002**), des phospholipases (**Ghannoum, Ghannoum**) et des lipases (**Fu. Y, 1997**).

1. Les Candidoses :

1.1. Définition de candidoses :

Les candidoses sont les infections à champignons levuriformes les plus fréquentes et qui se développent en faveur de la chaleur et de l'humidité. Elles se manifestent aux mêmes endroits que les dermatophytoses, mais il existe aussi des formes buccales, génitales et systémiques (**Calderone et Fonzi, 2001**).

Il y a même eu rapport d'endocardites à *Candida albicans* (**Maertens et al., 2001; Kaloterakis et al., 2003**).

1.2. Facteurs de risques d'infection candidosique :

Le champignon pathogène opportuniste *C. albicans* exprime de nombreux facteurs qui contribuent à sa virulence. Sa capacité d'adaptation qui est liée à sa variabilité structurale et antigénique ne considère que la capacité d'adhérer aux composés de l'hôte, le dimorphisme et la sécrétion de protéases et de phospholipases soit les trois facteurs de pathogénicité principaux chez *C. albicans* (**Calderone et al., 1994**).

Il existe de nombreux facteurs pour le développement des candidoses et des candidémies. Ils sont regroupés en deux catégories :

1.2.1. Intrinsèques :

Les facteurs intrinsèques sont : la colonisation : c'est le facteur de risque principal ; l'antibiothérapie, la neutropénie/immunodépression (sida) ; la hémopathie maligne/cancer ; les traumatismes ; l'influence rénale ; l'âge extrême ; le faible poids à la naissance ; et le nouveau-né prématuré (**Charles et al., 2005**).

1.2.2. Extrinsèques :

Les facteurs extrinsèques sont : la chirurgie (digestive principalement), l'iatrogène (antibiotique, prophylaxie par antifongiques, corticostéroïdes), l'chimiothérapie, l'épuration extra-rénale, le dispositif implantables ou matériels, la ventilation mécanique, la nutrition parentérale, et la durée d'hospitalisation (**Kourkoumpetis et al, 2011**).

1.3. Types de candidoses :

Au niveau clinique, les candidoses peuvent être classées en deux groupes :

- Les candidoses superficielles.
- Les candidoses profondes.

1.3.1. Candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées. Elles peuvent atteindre les surfaces épidermiques et les muqueuses telles que la cavité buccale, le pharynx, l'oesophage, les intestins, le système urinaire, et la muqueuse vaginale, (Barelle, 2006).

1.3.1.1. Candidoses digestives :

Ce sont les affections les plus représentées. C'est au niveau de l'intestin et de l'estomac, les plus importants réservoirs de *Candida albicans*, que se multiplient les levures. Ceci entraîne des troubles digestifs qui peuvent devenir chroniques : aigreurs, douleurs oesophagiennes, douleurs stomacales, diarrhées, constipation, colite intestinale, (Poulain, 1989). Parmi les affections digestives on distingue :

- **Candidose orale** : manifestation la plus fréquente des candidoses, concerne à la fois les sujets non immunodéprimés et les sujets immunodéprimés, avec un caractère de gravité systématique chez ces derniers. L'intérêt porté à cette infection s'est accru ces dernières années, car elle constitue l'une des manifestations orales de l'infection par le VIH, mais elle peut aussi survenir chez des patients leucémiques ou cancéreux ;

- **Candidose au niveau de la muqueuse oesophagienne** : cliniquement, elle se traduit par une dysphagie douloureuse, un pyrosis et une sensation de brûlure au passage des aliments.

L'examen révèle des membranes blanchâtres reposant sur une muqueuse très inflammatoire ;

- **Candidose au niveau de la muqueuse gastro-intestinale** : elle intéresse tout l'intestin, de l'estomac au colon. Les lésions se présentent comme un muguet intestinal avec des ulcérations. Elle se manifeste par des douleurs abdominales atypiques, des nausées et des vomissements.

1.3.1.2. Candidose orale et VIH :

Parmi les infections opportunistes du malade VIH+, les candidoses oropharyngées sont les plus fréquentes : plus de 80% des patients VIH+ développent une candidose orale à un stade quelconque de la maladie (**Paya,2001**). Elle peut être un signe révélateur de la maladie, être récurrente et s'aggraver par extension à l'oesophage.

En effet, l'intensité de l'effondrement des lymphocytes T CD4+ est en relation presque directe avec la forme clinique de la maladie : entre 300 et 700 CD4+/mm³ les candidoses uniquement oropharyngées sont les plus fréquentes. En dessous de 100 CD4+/mm³, l'oesophagite candidosique apparaît.

Toutefois, la prévalence de ce type de lésions orales a diminué avec l'introduction dans les années 90 de la trithérapie. Ce traitement antirétroviral diminue la réplication virale et augmente le taux de lymphocytes TCD4+, entraînant une amélioration de l'immunité et une réduction de l'incidence des infections opportunistes, (**Paya, 2001**)

1.3.1.4. Candidoses uro-génitales :

La vulvo-vaginite est une affection extrêmement fréquente chez la femme. En effet, on estime qu'environ 75% des femmes en activité génitale feront un épisode de candidose vulvo-vaginale. Les symptômes les plus évocateurs sont l'existence de leucorrhées abondantes blanchâtres, d'aspect granuleux, et d'un prurit vulvaire souvent intense. Le point de départ d'une telle infection reposerait sur un dysfonctionnement hormonal ou immunitaire local. La récurrence de la candidose vulvo-vaginale est un phénomène assez fréquent. Le caractère récidivant des infections candidosiques chez la femme est susceptible d'induire, lors de traitements répétés, des phénomènes de résistance aux traitements passant par l'émergence de souches moins sensibles (**Samaranayake, 2002**).

Chez l'homme, l'atteinte génitale par *Candida albicans* est plus rare et correspond à une balanite mycosique ou balanoposthite, qui débute au niveau du sillon balano-prépuce, puis s'étend au gland et au prépuce. L'homme n'est pas porteur sain de la levure au niveau génital. Le développement de ces symptômes cliniques est plutôt secondaire à un rapport sexuel.

Une cystite candidosique peut s'observer essentiellement chez le patient diabétique ainsi que sur des malades porteurs d'une sonde vésicale à demeure. La lésion est localisée au niveau du bassinot avec la formation d'une boule fongique. Elle s'accompagne d'une inflammation du méat urinaire et d'une urétrite, (**Lopez-Ribot, 2004**).

1.3.1.5. Candidoses cutanées et unguéales :

Ces candidoses des plis se manifestent par un érythème, associé à un enduit crémeux blanchâtre, et sont souvent prurigineuses. Elles sont favorisées par l'obésité, l'humidité et la macération, ainsi que le manque d'hygiène. On distingue classiquement deux grands types :

- **l'intertrigo des grands plis** : concerne les plis inguinaux, axillaires, abdominaux, sous mammaires, interfessiers...
- **l'intertrigo des petits plis** : concerne les plis interdigitaux palmaires, plus rarement les plis interdigitaux plantaires.

Les onyxis et périonyxis candidosiques siègent préférentiellement aux mains. *Candida albicans* pénètre d'abord le bourrelet péri-unguéal et provoque un périonyxis. L'onyxis fait habituellement suite au périonyxis. La contamination se fait le plus souvent à partir d'un réservoir chez l'individu même (**Andrutis, 2000**).

1.3.1.6. Candidoses cutané-muqueuses chroniques :

Ces candidoses sont relativement rares et peuvent toucher des enfants dans les premières années de leur vie. La première infection à *Candida albicans* est généralement bien contrôlée par le système immunitaire de l'hôte. Cependant chez certains patients, dont le système immunitaire est fragilisé, ces infections deviennent récidivantes. Peu à peu, les symptômes deviennent chroniques et les défenses immunitaires trop sollicitées tolèrent désormais un pathogène qu'elles sont incapables d'éliminer. Ces affections chroniques touchent principalement les muqueuses buccales, les ongles et la peau (**Douglas, 2003**).

Le facteur colonisation

La colonisation préalable du tube digestif à *Candida* est vraisemblablement un des premiers facteurs du développement éventuel d'une infection. Ainsi, le risque de développer

une candidose invasive augmente de façon significative dès que plus de deux sites sont colonisés.

L'origine de la colonisation est essentiellement endogène, cependant dans des observations de rechute après traitement antifongique, il a été montré que les souches étaient différentes entre les infections successives, suggérant une infection d'origine exogène. En clinique, la survenue d'épidémies dans des unités à haut risque a suggéré que les levures du genre *Candida* puissent se propager par transmission exogène entre les patients via les professionnels de la santé. On parle alors de contamination croisée. Toutefois, cette contamination croisée semble rare et la responsabilité de cette voie de contamination nosocomiale n'est pas forcément établie (**Ruiz-Herrera, 2006**).

1.3.2. Candidoses profondes

Les candidoses profondes, encore appelées systémiques, recouvrent les septicémies à *Candida* et les affections viscérales profondes dont le point de départ est le plus souvent une dissémination hématogène. Rares il y a quelques années, elles surviennent surtout chez des patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs, dans les services de réanimation médicale ainsi que dans les unités d'onco-hématologie. A ce titre, elles occupent désormais le 4ème rang des infections nosocomiales en Europe et aux Etats-Unis. (**Paya, 2001**).

Les septicémies à *Candida albicans* peuvent avoir deux origines :

- une origine endogène à partir d'une infection préexistante au niveau digestif. La dissémination se fait alors par le système porte, (**Andrutis, 2000**). Pour atteindre des organes plus profonds, et notamment le foie, la rate, et plus rarement les poumons.
- Une origine exogène, à partir d'un acte thérapeutique impliquant un traumatisme vasculaire (cathéters, prothèses). Dans ce cas, l'origine de la levure est exogène. Elle va adhérer au cathéter, le coloniser pour former un biofilm, puis franchir la voie veineuse pour atteindre des organes tels que la rétine de l'oeil, le coeur, le foie et les reins (**Castaldo, 1991**)

La symptomatologie est aspécifique. Elle se présente habituellement comme une fièvre persistante ne répondant pas à une antibiothérapie antibactérienne à large spectre. L'état est en général dégradé et associé à des douleurs diffuses. Cet état peut entraîner un choc septique conduisant à la mort du patient.

2. Infections urogénitales :

Avant-propos De nombreuses maladies humaines sont dues à l'action d'agents pathogènes microscopiques qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. Ces germes sont d'origine bactérienne, virale ou mycosique, qui cause des maladies infectieuses. Parmi ces infections on distingue l'infection urogénitale qui représente la deuxième pathologie infectieuse après celle des voies respiratoires (**Perry et al., 2004**).

Le système urogénital est composé de deux appareils qui ont chacun une fonction bien Précise :

- **L'appareil urinaire** est chargé de purifier sang et de maintenir constante sa composition grâce à un triple mécanisme de filtration, de sécrétion et de réabsorption.
- **L'appareil génital** est chargé de la reproduction de l'espèce (**Eline, 2008**).

2.1. Appareil urinaire :

L'appareil urinaire se compose de deux volumineux organes, les reins .Grâce à leurs fonctions de filtration, de sécrétion et de réabsorption, ils forment l'urine qui est acheminée vers la vessie grâce aux deux uretères. Une fois dans la vessie, l'urine est évacuée hors de l'organisme par l'urètre (**Eline, 2008.Figure06**).

2.2. éléments constituant l'appareil urinaire :

2.2.1. Haut appareil urinaire :

- **Les reins** : Ce sont deux organes en forme de haricot qui mesurent environ 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur Chaque rein pèse en moyenne 150gr , Ils sont situés en arrière du péritoine, de part et d'autre de la colonne vertébrale entre la 11ème vertèbre dorsale et la 3ème vertèbre lombaire A cause de la présence du foie, le rein droit est un peu plus basse que le gauche (**Eline, 2008**).
- **L'uretère** : Un conduit musculo-membraneux d'environ 4à5 mm de diamètre et de 25mm de long qui véhicule les urines du bassin et à la vessie (**Eline, 2008**).

2.2.2. Bas appareils urinaires :

- **La vessie** : Est un réservoir musculo-membraneux, qui reçoit et emmagasine l'urine dont l'évacuation est assurée par l'urètre (**Eline, 2008**).
- **L'urètre** : Possède une tunique musculaire et des sphincters lisses et striée.

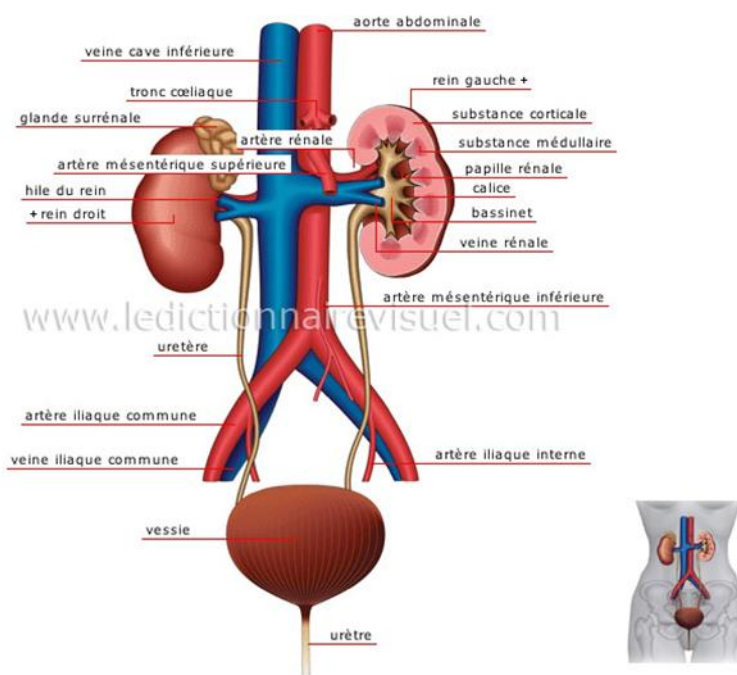


Figure 07: L'appareil urinaire (**Eline, 2008**)

2.2.3. L'urine

a. 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, elle fonce lorsqu'elle est concentrée par insuffisance d'apport d'eau ou en cas de perte hydrique par transpiration, par exemple. Sa coloration est due à des pigments produits par le métabolisme de l'hémoglobine.

Sa production est le résultat de la fonction excrétrice du rein. Sa composition est liée à celle du plasma, dont elle est un filtrat. L'urine est acide (**Flèche, 2012**).

b. Caractères physicochimiques de l'urine

L'urine d'un sujet sain présente plusieurs paramètres :

- **Volume** : 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grandes 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 (Lavigne.2007).

c. Constitution physiologique de l'urine

L'urine d'une personne saine est composée de 95% d'eau dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissous. Les principaux constituants sont mentionnés dans le tableau 1. Tableau 1. Les principaux constituants de l'urine (**Chouba et al., 2006**).

Tableau 03: Les principaux constituants de l'urine (Chouba et al., 2006).

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

2.3. Infections urinaires

L'infection urinaire est une maladie infectieuse très répandue définie comme une colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et symptomatique avec inflammation des structures de l'arbre urinaire (Kouta, 2009).

2.2.1. Types des infections urinaires

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

2.2.1.1. Infections du bas appareil :

- **Cystite :**

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

- **La Prostatite :**

Une prostatite est une inflammation de la prostate, affection fréquente chez l'homme âgé (hypertrophie ou hyperplasie bénigne de la prostate). Si la prostate se développe trop, elle peut resserrer l'urètre et ainsi perturber l'écoulement de l'urine, ce qui rend la miction difficile et douloureuse, voire complètement impossible dans des cas extrêmes (**Pilly, 2008**).

2.2.1.2. Infections du haut appareil :

- **La pyélonéphrite :**

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

- **Urétrite :**

Il est classique de distinguer les urétrites gonococciques, due à *Neisseria gonorrhoeae* et les urétrites non gonococciques due à *Chlamydia trachomatis*, à certains mycoplasmes génitaux (*Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*) et à *Trichomonas vaginalis* (**Minor., et Veron., 1989**).

2.2.2. Facteurs favorisant l'infection urinaire :

a. Sexe féminin :

- Grossesse.
- Activité sexuelle.
- Utilisation de spermicides.
- Troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retenues, incomplètes).
- Diabète déséquilibré et /ou compliqué (neuropathie vésicale).
- Anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire (**Brochard et al., 2008**).

- Modifications de la flore vaginale (antibiothérapie, spermicides, diaphragmes, ménopause) (Tattwin, 2003).

2.2.3. Causes de l'infection urinaire :

Pour que l'appareil urinaire soit infecté par un germe, il faut une interaction entre ce germe et son hôte. Pour cela, on a :

Facteurs liés à l'hôte :

Les voies de contamination, l'immaturation vésicale, facteurs urétéraux.

Facteurs liés à la bactérie:

Certaines bactéries, comme les colibacilles (ex: *Escherichia coli*), possèdent la capacité d'adhérence, par les organelles filamenteux, à l'épithélium urinaire.

Certains enfants – surtout les fillettes- sont plus susceptibles de développer des infections urinaires et cela est probablement lié à la densité et la disponibilité des récepteurs aux fimbriae (Tattwin, 2003).

2.2.4. Symptômes généraux des infections urinaires:

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

- Des pleurs au moment d'uriner chez les enfants (**Tattevin, 2003**).

Diagnostic bactériologique :

a. Examen cytot bactériologique des urines (ECBU) :

En théorie, la ponction sus pubienne de l'urine intra vésicale fournit les prélèvements les plus représentatifs.

En pratique, un prélèvement dit à la volée en milieu de jet a un niveau de fiabilité acceptable après toilette du méat urétral et des organes génitaux externes (écartement des lèvres chez la femme, eau et savon associé éventuellement à un antiseptique).

D'autres méthodes de prélèvement (recueil par sondage urinaire chez les femmes incontinentes ou les porteurs de stomies urinaires, chez les hommes par étuis péniers), doivent être adaptées aux différentes situations cliniques. La méthode de recueil, influant sur le niveau de contamination du prélèvement, doit être précisée, pour une meilleure interprétation des résultats (**Bruyère, 2008**).

2.4. Appareil génital féminin :

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

- Les organes génitaux internes représentés par deux ovaires.
- Les voies génitales formées par la trompe utérine, l'utérus et le vagin.
- Les organes génitaux externes comprenant la vulve (**Figure 7**).

2.4.1. Organes génitaux féminin

2.4.1.1. Organes génitaux internes

Ovaires :

Les ovaires sont les gonades de la femme .ces glandes paires dont la forme et la taille ressemblent à celles des amandes non écalées sont homologues aux testicules. Les ovaires produisent : Les gamètes, Des hormones telles que progésterones et les oestrogènes.

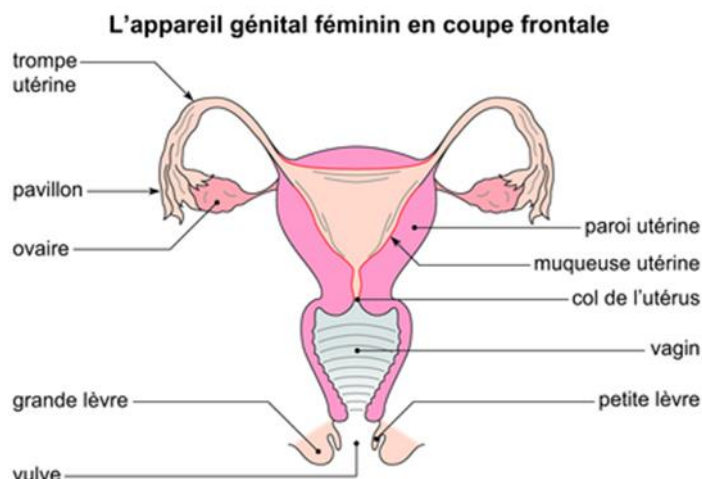


Figure 08 : L'appareil génital féminin (Bruyère, 2008)

2.4.1.2. Organes génitaux externes

- **Trompes utérines**

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

- **Utérus :**

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

- **Vagin :**

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

- **Vulve :**

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

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

- **Périnée :**

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

- **Glandes mammaires :**

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

2.5. Infection génital :

2.5.1. Flore normale :

Le tractus génital féminin comprend une partie haut stérile (utérus, trompes, ovaire) et une partie basse très riche en bactéries commensales (vulve et vagin et partie externe de col de l'utérus) (**Gaillard et Simonet, 1988**).

La flore vaginale normale compte des bactéries tant aérobiques qu'anaérobiques, les microorganismes de l'espèce *Lactobacillus* occupant une place prédominante et constituant plus de 95 % de toutes les bactéries présentes. On estime que les lactobacilles offrent une défense contre l'infection, ce qui s'explique en partie par le fait qu'ils maintiennent un pH acide dans le vagin et qu'ils assurent la présence de peroxyde d'hydrogène au sein du milieu génital (**Spigel et al., 1980**).

La flore vaginale résidente varie selon l'âge, le stade du cycle ovarien, la grossesse et l'état immunitaire (Gaillard et Simonet, 1988)

2.6. Types des infections génitales :

2.6.1.. Infections basses:

Sont dues, soit à des pathogènes spécifique exogènes contracte notamment lors des rapports sexuelle soit à la prolifération anormal d'une partie a la flore commensale du vagin (Cérusites, vulvites, vaginites) (Gaillard et Simonet, 1988).

2.6.2. Infections hautes :

Sont dues à l'extension d'une infection basse ou surviennent à la suite d'une manoeuvre chirurgicale ou lors de l'accouchement. (Salpingites, Annescites, Pelvipéritonites) (Gaillard et Simonet, 1988).

2.7. Microorganismes responsables des infections génitales féminines :

Peuvent être :

- Des bactéries pathogènes spécifiques exogènes (*Neisseira gonorrhoeae*, *.Haemophilus ducreyi* , *Mycoplasmes* , *Chlamydiae*) .
- Des champignons et des parasites ou des virus (Herpès virus)

1.Objectifs

Notre étude a porté sur l'activité antifongique d'extraits de *Rosmarinus officinalis* L sur la connaissance sur la croissance de *Candida albicans* responsable de candidose (superficielle et profonde).

2.Matériel

2.1. Matériel végétal

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

Zone de prélèvement :

Le matériel végétal (Objet de l'étude) a été prélevé le mois de mars 2018 dans la wilaya de Mostaganem située au Nord – Ouest de pays de coordonnées 35° 15'44'' Nord , 0° 05'00' et à Naama située à l'ouest de Algérie , de coordonnées 33°15'44''Nord , 0°18'45'24''ouest .

2.2. Matériel du laboratoire utilisé

- **Verrerie** : béchers, tubes à essais, pipette pasteur, fioles, erlenmeyers, flacons, entonnoir, verre de montrés.
- **Autres matériels** : papier filtre stérile, écouvillons, ans à platine, disques en papiers stériles (6mm), bec benzène, boîtes Petri.
- **Milieux de culture utilisée** : milieu Chapman, gélose Muller Hinton, bouillon nutritif, bouillon Muler Hinton.

- **Appareils utilisées** : balance, rota vapeur, autoclave, étuve, plaque chauffante, bain marie, spectrophotomètre.

3.Méthodes

Un échantillonnage de 2 à 3 kg pris uniquement sur la petite aérienne de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L a été prélevé puis :

- Etalé sur du papier aluminium.
- Séché à l'air ambiant.
- Broyé de 1 »'échantillon dans un broyeur à lame.
- Mis dans des bocaux hermétiques.
- Conservé à sec et à l'abri de l'humidité.

3.1.Méthode d'extraction des composés bioactifs aux solvants à différentes polarités

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 qui consiste à laisser tremper le solide à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

- L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage de plusieurs solvants à polarité croissante dont l'hexane, méthanol, éthanol et eau.
- Une prise de 50 g d'échantillon a été mélangée avec 500 ml de solvant aqueux (400ml/100ml, solvant /eau).

- Tout le mélange est laissé 6h à une température ambiante sous agitation.



Figure 09 . Mélange de l'échantillon avec les solvants

- Les extraits ont été filtrés en utilisant un papier filtre whatman.



Figure 10 .Filtration avec du papier filtre

- Finalement des solvants ont été débarrassées par évaporation sous vide à l'aide d'un rota vapeur à 45 ° C.



Figure11.Evaporation dans un rota vapeur sous vide

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

3.2.1. Activation des inocula microbiens

Une prise de 0.25 g de la souche de référence conservée au froid à 4 °C est ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37 ° C durant 3h.



Figure 12 : Activation de la souche

Un prélèvement de 0.1ml de l'inoculum a été pris et ensemencé en surface d'une boîte de Pétri contenant le milieu gélosé de Sabouraud, puis incubée enfin à 37° C pendant 24 h.

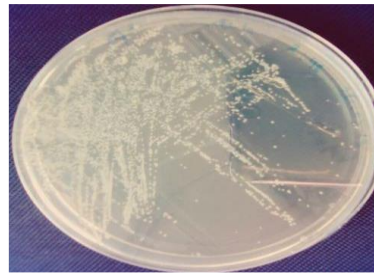


Figure 13 : Ensemencement sur milieu Sabouraud

3.2.2. Méthode de contact direct

Après activation de la souche de référence, 1 ml de cette solution est ajouté à 9 ml d'eau physiologie, suivie d'une série de dilution allant jusqu'à 10^{-4} .

1 ml à plusieurs fois sont pris de cette dernière dilution et sont ensuite ensemencées à plusieurs fois (3 fois) en surface des boîtes de pétri contenant le milieu Sabouraud. Les boîtes sont enfin incubées à 37 ° C durant 24,48 et 72 heures (Bourgois et Leveau, 1980).

3.2.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose

- **Préparation des disques :** Des disques de papier Wattman n°5 de 6 mm de diamètre, stériles (Stérilisation à 120 °C pendant 15 min par autoclavage) sont imbibés pendant 5 min dans chaque concentration d'extraits obtenus.
- **Préparation des milieux de culture :** La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre à raison de 12 ml.

L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur l'emploi.

Ensemencement: Des boîtes de pétri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râtaustérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, 3 disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

D'un autre côté, un test de sensibilité aux antifongiques a été réalisé pour étudier.

On a utilisé un antifongique puissant contre *Candida albicans* à savoir le (5-fluorocytosine). Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

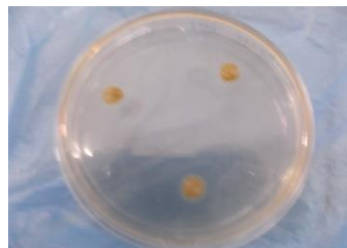


Figure 14 : Test de la sensibilité au 5- fluorocytosine

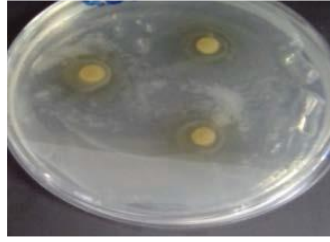


Figure 15 : Activité antifongique

3.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice représente la plus faible concentration en antibiotique, antifongique ou principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Denis et al ; 2011**) après un temps d'incubation de 18 à 24 heures.

Dans Cette étude sa détermination est effectuée par la mesure de la turbidité induite par la croissance des germes étudiés.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité.

A l'aide d'une pipette pasteur des prises à raison de 0.2 ml de l'inoculum sont mis respectivement dans les tubes contenant dans les tubes contenant 2ml de chaque concentration d'extrait de *Rosmarinus officinalis* préparé à (0, 20, 40, 60, 80 et 100 %) dans une solution de bouillon Muller Hinton .

La densité optique de chaque tube est mesurée à 625 nm et ceci avant et après incubation des tubes à 37° C durant 18 à 24 heures.

Le taux de survie de *Candida albicans* est déterminé comme suite :

S: Taux de survie.

Df-di: Différence de la densité optique des solutions expérimentales ensemencées avant et après incubation à 37 ° pendant 18 à 24 heures.

Df-di: Différence de la densité optique de la solution témoin sans extrait de *Romarinus officinalis* avant et après incubation à 37 ° pendant 18 à 24 heures (**Kra et al,2001; Zirihi et al, 2007**)

3.2.5. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) :

La concentration minimale fongicide (CMF) est définie comme étant la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0.01% au moins de survivants de l'inoculum initial après incubation initial après incubation (**Moroh et al,2008**).

Pour sa détermination le tube témoin a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette sur un milieu solide MH à 37 ° C durant 24 heures.

Le nombre de colonies obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimentale ayant servi à la détermination de CMI après 24 heures d'incubation.

Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de germes présent sur sa strie est inférieur ou égale à celui de la dilution 10^{-4} correspond à la CMF (**Moroh et al , 2008**).

4. 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 :

1-1-Test de croissance :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Rosmarinus officinalis L* prélevé des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur la croissance de *Candida albicans* sont illustrés dans les (Figures 16 et 17).

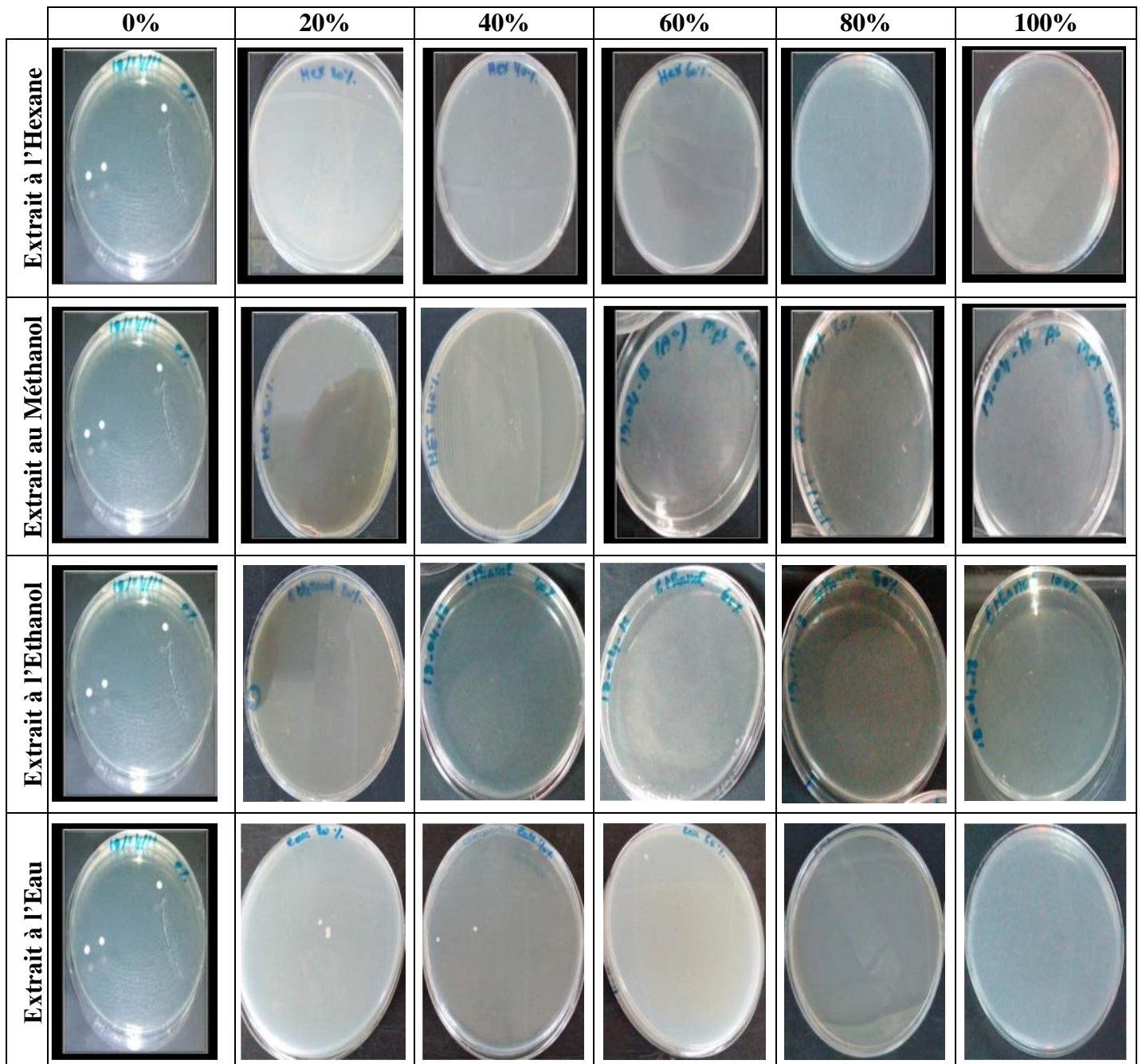


Figure 16. Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis L* prélevé de la région de Mostaganem chez *Candida albicans*.

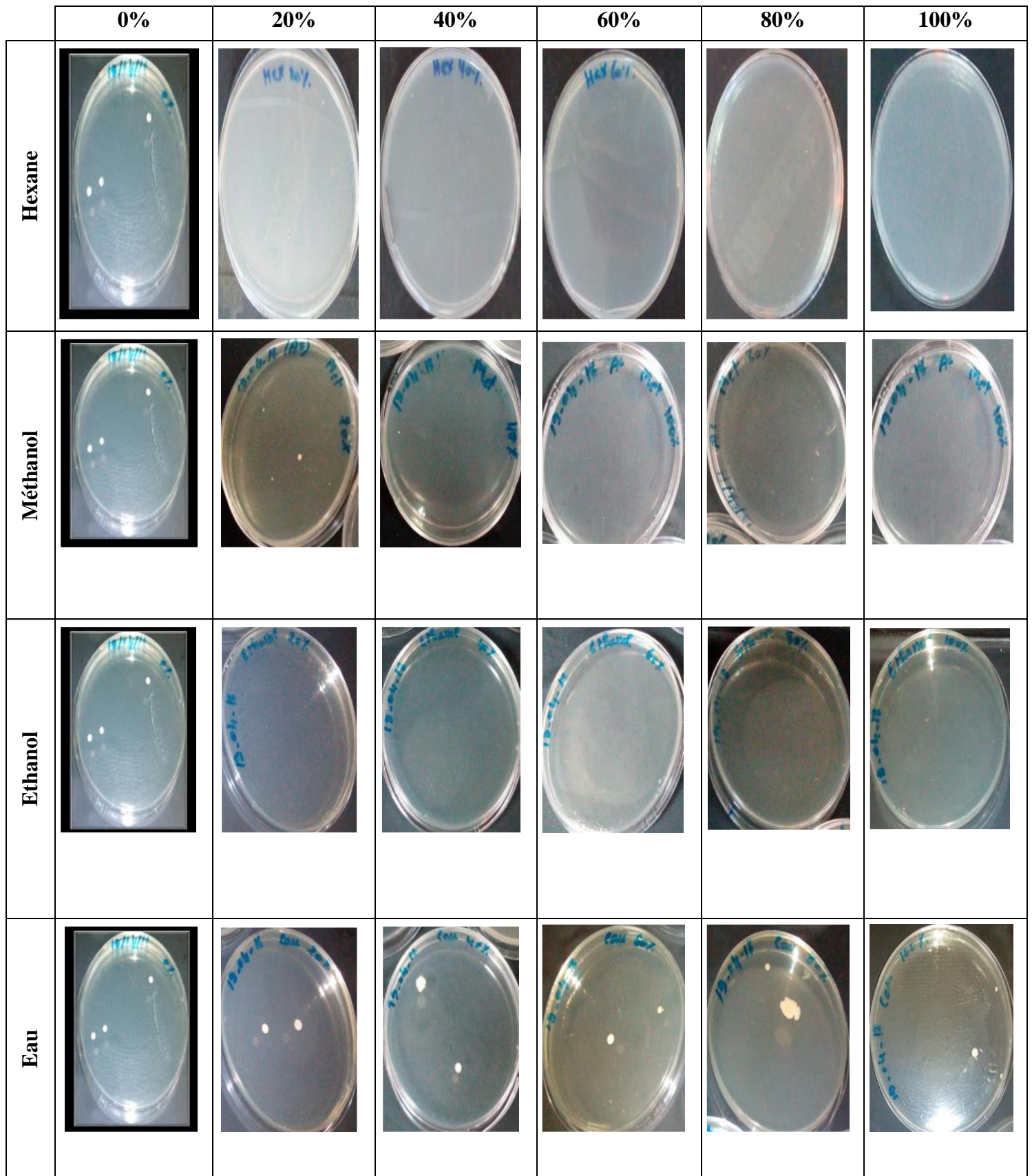


Figure 17 : Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis* L de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition chez *Candida albicans*

L'extrait à l'eau de *Rosmarinus officinalis L* récolté à Mostaganem a exercé un effet inhibiteur remarquable ($p < 0,05$) sur la croissance de *Candida albicans* comparativement aux autres extraits de la plante (hexane, éthanol et méthanol) qui ont présenté à leur tour un même effet ($P > 0,05$) vis-à-vis du germe étudié ; $11 \cdot 10^5$ vs, $22 \cdot 10^5$ vs, $27 \cdot 10^5$ vs et $19 \cdot 10^5$ UFC/ml , respectivement.

Concernant les extraits de Naama, les meilleurs résultats ($p < 0,01$) ont été obtenus avec les extraits à l'eau ($18 \cdot 10^5$ UFC/ml) et à l'éthanol ($25 \cdot 10^5$ UFC/ml) ; alors que les médiocres valeurs ont été enregistrées avec les extraits à l'hexane ($31 \cdot 10^5$ UFC/ml) et au méthanol ($38 \cdot 10^5$ UFC/ml).

En fonction des concentrations d'extraits de la plante collectée des deux régions de l'étude (à Mostaganem et à Naama-Algérie) et variables de (0, à 20, 40, 60, 80 et 100%) la croissance de l'espèce microbienne étudiée a tendance à diminuer notablement ($p < 0,01$) ; de ($51 \cdot 10^5$, à $32 \cdot 10^5$, à $20 \cdot 10^5$, à $16 \cdot 10^5$, à 0 et à 0 UFC/ml) et de ($76 \cdot 10^5$, à $48 \cdot 10^5$, à $28 \cdot 10^5$, à $16 \cdot 10^5$, à 0 et à 0 UFC/ml), successivement (**Tableau 4**).

1-2-Taux de croissance :

Les extraits de Mostaganem ont montré un même taux de croissance chez *Candida albicans* ; 34,91 à 41,33%, en moyenne.

En revanche, le taux de croissance le plus faible a été démontré chez la plante récoltée à Naama avec l'extrait à l'eau (29,23 %) par comparaison aux autres extraits testés ayant dévoilé des niveaux de croissance presque identiques.

Par ailleurs, les extraits de la plante soit de Naama ou de Mostaganem ont marqué à une concentration de 80 et 100% , une totale inhibition du germe (**Tableau 5**).

1-3-Test de diffusion sur disque:

Les résultats de l'effet des extraits de *Rosmarinus officinalis L* sur le développement des diamètres d'inhibition du germe *Candida albicans* est signalé dans les (**Figures 18 et 19**).

Tableau 4. Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis L* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de *Candida albicans* (UFC/ml)

		Int. F ₁ ×F ₂ (n=03)				Type des solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)						Effets des facteurs étudiés			
		Solvants	Hexane	Ethanol	Méthanol	Eau	Hexane	Ethanol	Méthanol	Eau	00	20	40	60	80	100	F ₁	F ₂	Int. F ₁ × F ₂
Région de Mostaganem	Concentrations des extraits	00%	54 10 ⁵	66 10 ⁵	52 10 ⁵	31 10 ⁵	22 10 ^{5a}	27 10 ^{5a}	19 10 ^{5a}	11 10 ^{5b}	51 10 ^{5a}	32 10 ^{5b}	20 10 ^{5c}	16 10 ^{5c}	0 ^d	0 ^d	P<0.05	P<0.01	P>0.05
		20%	38 10 ⁵	44 10 ⁵	28 10 ⁵	18 10 ⁵													
		40%	28 10 ⁵	27 10 ⁵	21 10 ⁵	73 10 ⁴													
		60%	130 10 ⁴	27 10 ⁵	16 10 ⁵	90 10 ⁴													
		80%	0	0	0	0													
		100%	0	0	0	0													
Région de Naama	Concentrations des extraits	00%	81 10 ^{5b}	57 10 ^{5bc}	103 10 ^{5a}	62 10 ^{5bc}	31 10 ^{5ab}	25 10 ^{5bc}	38 10 ^{5a}	18 10 ^{5c}	76 10 ^{5a}	48 10 ^{5b}	28 10 ^{5c}	16 10 ^{5d}	0 ^e	0 ^e	P<0.01	P<0.01	P<0.01
		20%	49 10 ^{5cd}	45 10 ^{5cd}	71 10 ^{5bc}	29 10 ^{5de}													
		40%	30 10 ^{5de}	26 10 ^{5de}	46 10 ^{5cd}	11 10 ^{5e}													
		60%	25 10 ^{5de}	25 10 ^{5de}	97 10 ^{4e}	60 10 ^{4e}													
		80%	0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e													
		100%	0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; n : nombre de répétitions ; F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extraction, F₂ : facteur étudié concentrations en extrait ; P>0.05 : effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b, c .etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Tableau 5: Effets des extraits de la *Rosmarinus officinalis L* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur le taux de croissance *Candida albicans* (%)

		Int. F ₁ ×F ₂ (n=03)				Type des solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)						Effets des facteurs étudiés			
		Solvants		Concentrations		Hexane	Ethanol	Méthanol	Eau	00	20	40	60	80	100	F ₁	F ₂	Int. F ₁ × F ₂	
		Hexane	Ethanol	Méthanol	Eau														
Région de Mostaganem	Extrait	00%	100	100	100	40.955	41.333	37.82	34.912	100 ^a	62.243 ^b	38.976 ^c	31.313 ^c	0 ^d	0 ^d	P>0.05	P<0.01	P>0.05	
		20%	70.732	66.5	53.846														57.895
		40%	51.219	40.5	41.026														23.158
		60%	23.78	41	32.051														28.421
		80%	0	0	0														0
		100%	0	0	0														0
Région de Naama	Extrait	00%	100	100	100	38.409 ^{ab}	45.058 ^a	37.161 ^{ab}	29.233 ^b	100 ^a	64.119 ^b	36.901 ^c	23.772 ^d	0 ^e	0 ^e	P<0.01	P<0.01	P>0.05	
		20%	61.317	79.07	69.032														47.059
		40%	37.86	46.512	44.516														18.717
		60%	31.276	44.767	9.419														9.626
		80%	0	0	0														0
		100%	0	0	0														0

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; n : nombre de répétition ; F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extraction, f₂ : facteur étudié concentration en extrait. P>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

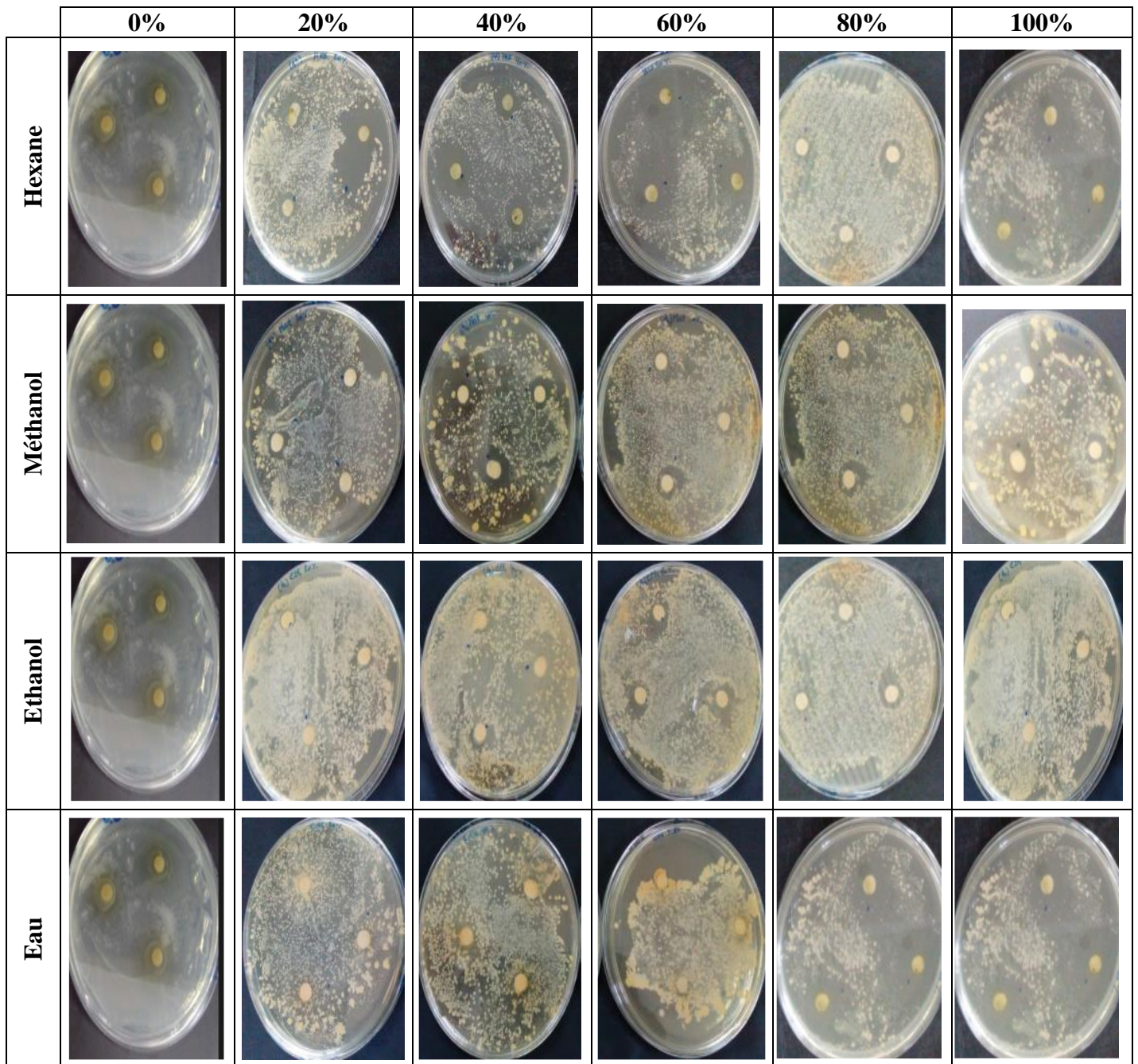


Figure18. Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis L* de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition chez *Candida albicans*

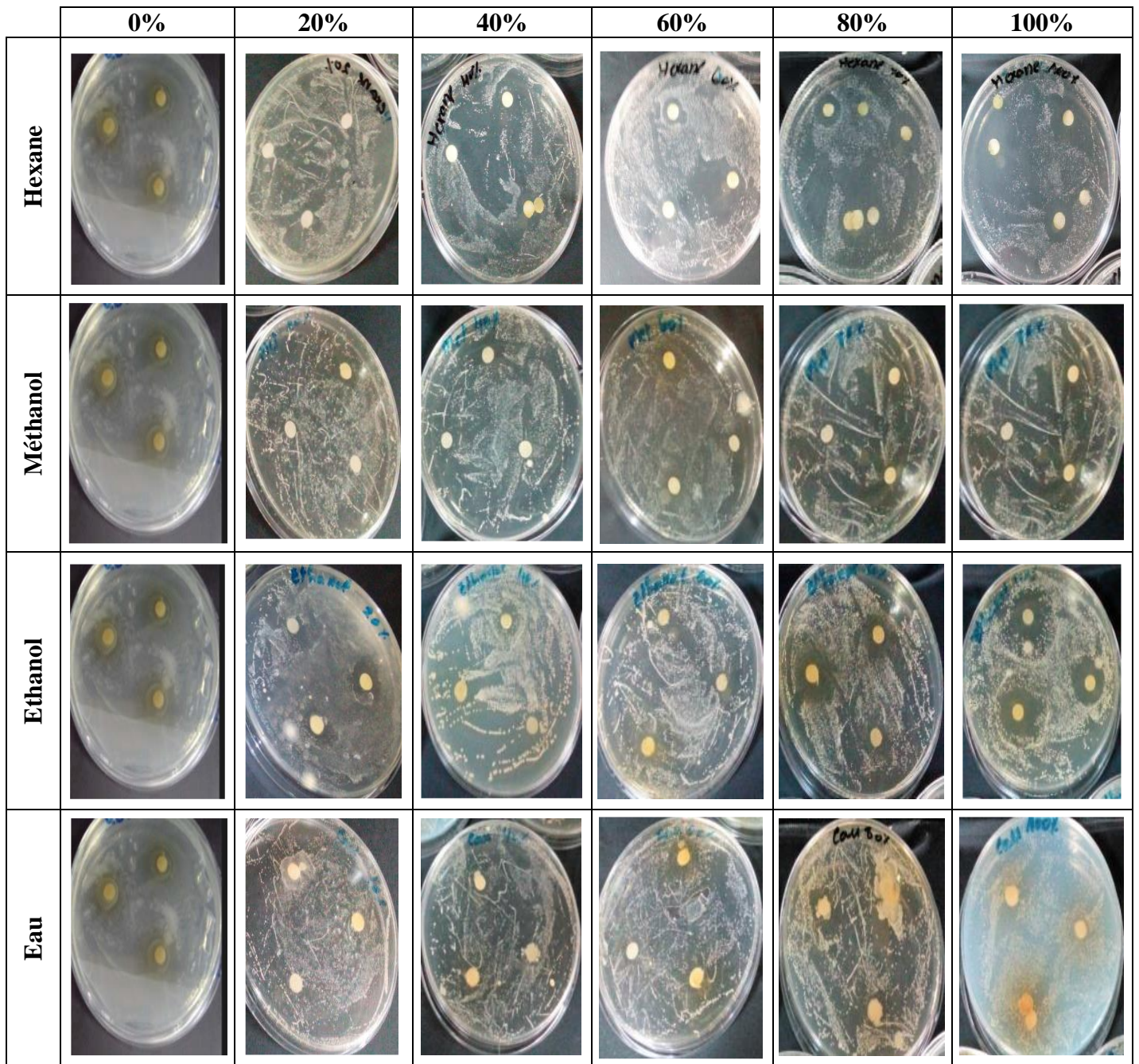


Figure19 : Effets des extraits de *Rosmarinus officinalis L* collecté à Naaama sur les diamètres d'inhibition de *Candida albicans*

L'extrait hydrométhanolique du Romarin de Mostaganem a montré des diamètres d'inhibitions plus élevés que ceux à l'hexane, à l'éthanol et à l'eau ($p < 0,05$); 10.44 vs 9.83 vs 9.56 vs 9.11 mm, en moyenne.

Concernant *Rosmarinus officinalis L* récolté à Naama, les plus forts ($p < 0,05$) diamètres d'inhibition ont été remarqués avec les extraits aqueux à l'hexane (11.33 mm) et à l'éthanol (11.11 mm) que ceux au méthanol (10.06mm) et à l'eau (10 mm).

La gentamicine a présenté les meilleurs diamètres d'inhibitions chez *Candida albicans* ; 11.42 à 12.33 mm .

Les extraits de Mostaganem et de Naama concentrés à 80 et 100% ont accusé des diamètres d'inhibitions relativement proches de l'antibiotique ; (9.42 et 9.75 mm) vs (10.92 et 11.33mm), en moyenne (**Tableau 6**).

1. 4 Taux d'inhibitions

Les extraits aqueux à l'eau, à l'éthanol et au méthanol de Romarin issu de la région de Mostaganem ont dévoilé des taux d'inhibition sensiblement ($p < 0,01$) supérieurs à ceux de l'hexane; 88.17 à 89.58 % vs 77.63 %, en moyenne.

Quant aux extraits de Romarin récolté à Naama, quel que soit le solvant d'extraction, les diamètres d'inhibitions enregistrés chez l'espèce microbienne semblent similaires ; 85 à 87.72 %, en moyenne.

Selon les concentrations étudiées, comparativement à la gentamicine, les extraits de Romarin prélevé de la région de Mostaganem ont accusé des taux d'inhibitions de *Candida albicans* comparables et variables de 78.69 à 85.53 % .

En revanche, pour le romarin collecté à Naama, les plus forts taux d'inhibitions qui s'avèrent très proche de l'antibiotique testé (gentamicine) ont été réalisés chez *Candida albicans* avec les extraits concentrés à 80 100% ; 88.52 et 91.86 %, en moyenne, respectivement (**Tableau 7**).

Tableau 6: Effets des extraits de la *Rosmarinus officinalis L* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur le diamètre d' inhibition de *Candida albicans*

		Interaction (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effet types de solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)					Effets des facteurs étudiés				
		Solvants		Concentrations		Hexane	Ethanol	Méthanol	Eau	Gentamicine	20	40	60	80	100	F ₁	F ₂	Int. F ₁ × F ₂	
Région de Mostaganem	Extrait	Gentamicine	12.67	10.67	12	10.33	9.83 ^{ab}	9.56 ^{ab}	10.44 ^a	91.1 ^b	11.42 ^a	8.92 ^b	9.17 ^b	9.75 ^b	9.42 ^b	9.75 ^b	P<0.01	P<0.01	P>0.05
		20%	8.67	9.33	9	8.67													
40%		9	9.33	9.67	8.67														
60%		9.67	9.67	10.33	9.33														
80%		9.33	9	10.33	9														
100%		9.67	9.33	11.33	8.67														
Région de Naama	Extrait	00%	13.33	12.67	11.67	11.67	11.33 ^a	11.11 ^a	10.06 ^b	1 ^b	12.33 ^a	8.83 ^d	9.83 ^c	10.5 ^{bc}	10.92 ^b	11.33 ^b	P<0.01	P<0.01	P>0.05
		20%	9	9.67	8.67	8													
		40%	10	10.33	9.33	9.67													
		60%	11.67	11	9.67	9.67													
		80%	11.67	11.33	10.33	10.33													
		100%	12.33	11.67	10.67	10.67													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; n : nombre de répétition ; F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extraction, f₂ : facteur étudié concentration en extrait. P>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Tableau 7: Effets des extraits de la *Rosmarinus officinalis L* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur le taux d'inhibition de *Candida albicans*(UFC/ml)

		Interaction (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effet types de solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)					Effet type solvant (F ₁)	Effet concentration des extraits (F ₂)	InteraCtion (solvants ×extraits) (F ₁ ×F)		
		Solvants		Concentrations		Hexane	Ethanol	Méthanol	Eau	00	20	40	60	80	100				
Région de Mostaganem	Extrait	00%	100	100	100	100													
		20%	68.421	87.5	75	83.871	77.632 ^b	89.583 ^a	87.037 ^a	88.172 ^a	100 ^a	78.698 ^b	80.745 ^b	85.844 ^b	82.817 ^b	85.533 ^b	P<0.01	P<0.01	P>0.05
		40%	71.053	87.5	80.556	83.871													
		60%	76.316	90.625	86.111	90.323													
		80%	73.684	84.375	86.111	87.097													
		100%	76.316	87.5	94.444	83.871													
00%	100	100	100	100	85	87.719													
20%	67.5	76.316	74.286	68.571															
40%	75	81.579	80	82.857															
60%	87.5	86.842	82.857	82.857															
80%	87.5	89.474	88.571	88.571															
100%	92.5	92.105	91.429	91.429															

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; n : nombre de répétition ; F₁ : facteur étudié type de solvant d'extraction, f₂ : facteur étudié concentration en extrait. P>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.5. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

Les extraits de Romarin de Mostaganem aux solvants à différentes polarités (hexane, méthanol, éthanol et à l'eau) ont induit des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) chez *Candida albicans* à des concentrations de 80, 60, 60 et 100%, respectivement.

Néanmoins, pour le Romarin de Naama les CMI du germe étudié ont été enregistrées à une concentration de 40% avec l'extrait à l'hexane, ainsi qu' à l'éthanol aqueux et de 60% pour les autres extraits étudiés (**Tableau 8**).

1.6. Concentrations Minimales Fongicides (CMF) :

Les (**Figures 20 et 21**) représentent d'un coté les repiquages en strie sur gélose Muller Hinton des différentes dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum bactérienne de *Candida albicans* après incubation à 37° C pendant 24 heures , et d'un autre coté les repiquages en stries sur gélose Muller Hinton des différentes concentrations d'extraits aux différents solvants effectués chez *Rosmarinus officinalis L* provenant des régions de Mostaganem, ainsi que de Naama après ensemencement avec *Candida albicans* et incubation durant 18 à 24 heures à 37° C.

A travers ces deux figures il apparait que les CMF des extraits de romarin issu de Mostaganem ont été obtenu : à 20% d'extrait hydrométhanolique, à 40% d'extrait hydroéthanolique, à 80% pour l'extrait à l'hexane aqueux et avec l'extrait pur à l'eau non diluée.

Concernant la plante récoltée à naama les CMF ont été remarquées avec les extraits aqueux à l'hexane, à l'éthanol et au méthanol concentrés à 20%. Toutefois, la CMF de l'extrait à l'eau a été enregistrée avec l'extrait de la plante dilué à 60%.

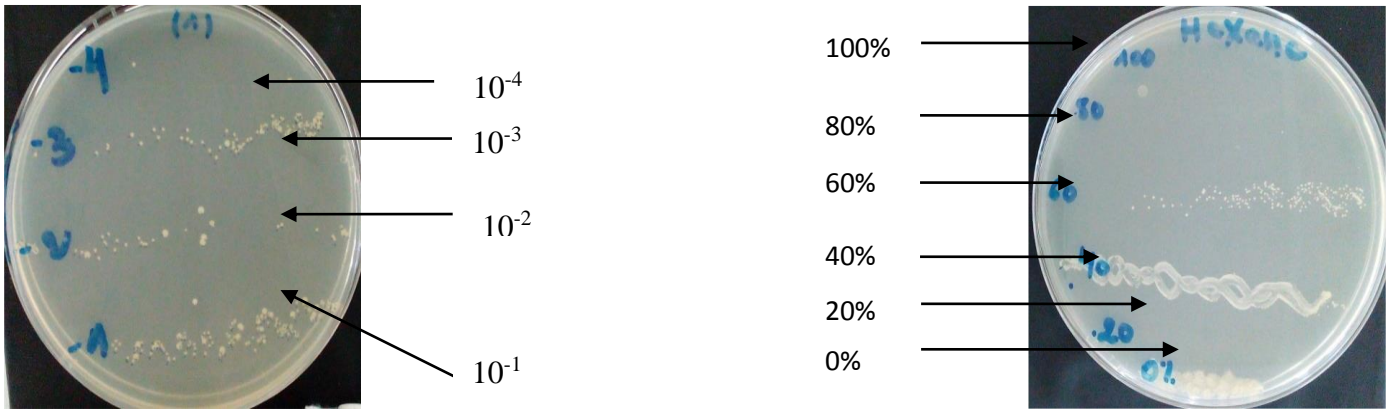
1.7 Type d'inhibition des extraits de romarin :

D'après les rapports CMF/CMI, il apparait que les extraits de la plante à différentes solvants d'extractions et récolté des region de Mostaganem et de Naama ont exercé un effet antimicrobien de type fongicide vis à vis du germe *Candida albicans* (**Tableau 9**).

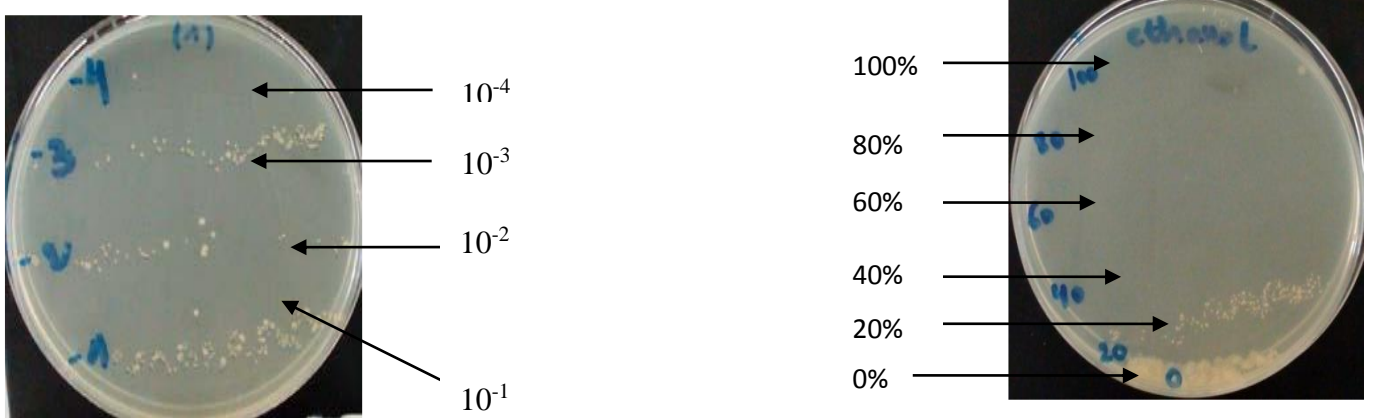
Tableau 9. Evaluation des concentrations minimales inhibitrices des extraits bioactifs de *Rosmarinus officinalis L* récolté des régions de Mostaganem et à Naama sur la croissance de *Candida albicans*.

Région	Solvants	Concentration d'extraits bioactifs de <i>Thymus vulgaris</i>						
		Paramètres	Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
Mostaganem	Hexane	Df	0.339	1.477	1.981	1.644	1.570	0.248
		Di	0.218	1.440	1.976	1.622	1.660	0.303
		df-di	0.121	0.037	0.095	0.022	-0.09	-0.055
		S%	100	30.57	4.13	18.18	0	0
		CMI	80%					
		Méthanol	Df	0.179	2.526	1.448	1.612	1.135
	Di		0.663	2.427	1.356	1.860	1.902	0.530
	df-di		0.116	0.099	0.092	-0.248	-0.767	-0.132
	S%		100	85.34	17.82	0	0	0
	CMI		60%					
	Ethanol		df	0.769	1.362	2.212	1.909	2.093
		di	0.158	1.184	2.166	2.086	2.230	2.351
		df-di	0.611	0.178	0.046	-0.177	-0.137	-0.199
		S%	100	29.13	7.52	0	0	0
		CMI	60%					
		Eau	df	0.315	1.885	2.380	2.378	2.469
	di		0.149	1.368	2.339	2.281	2.381	2.211
	df-di		0.166	0.517	0.041	0.097	0.088	-0.129
	S%		100	29.13	7.93	58.49	53.01	0
	CMI		100%					
Naama	Hexane		df	0.415	1.836	1.708	1.849	1.800
		di	0.256	1.815	1.737	1.927	2.008	2.580
		df-di	0.059	0.021	-0.029	-0.078	-0.208	-0.742
		S%	100	35.59	0	0	0	0
		CMI	40%					
		Méthanol	df	0.147	0.908	1.486	1.626	1.745
	di		0.015	0.818	1.406	1.747	1.876	2.464
	df-di		0.132	0.09	0.08	-0.121	-0.131	-0.634
	S%		100	68.18	60.60	0	0	0
	CMI		60%					
	Ethanol		df	0.512	1.784	1.793	1.957	1.897
		di	0.358	1.742	2.043	2.034	2.290	2.581
		df-di	0.154	0.042	-0.25	-0.077	-0.693	-0.693
		S%	100	27.27	0	0	0	0
		CMI	40%					
		Eau	df	0.148	1.261	1.620	1.710	1.902
	di		0.016	1.202	1.602	1.720	1.919	1.958
	df-di		0.132	0.059	0.018	-0.01	-0.017	-0.008
	S%		100	44.69	13.63	0	0	0
	CMI		60%					

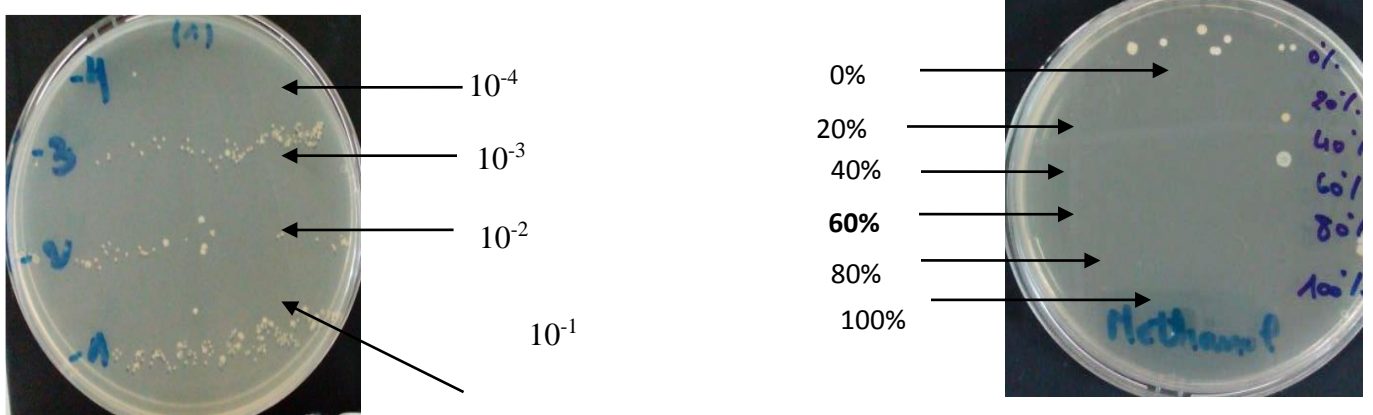
di: densité optique initiale avant l'incubation ; **df**: densité optique finale après incubation ; **S** : Taux de survie ; **CMI** : concentration minimale inhibitrice.



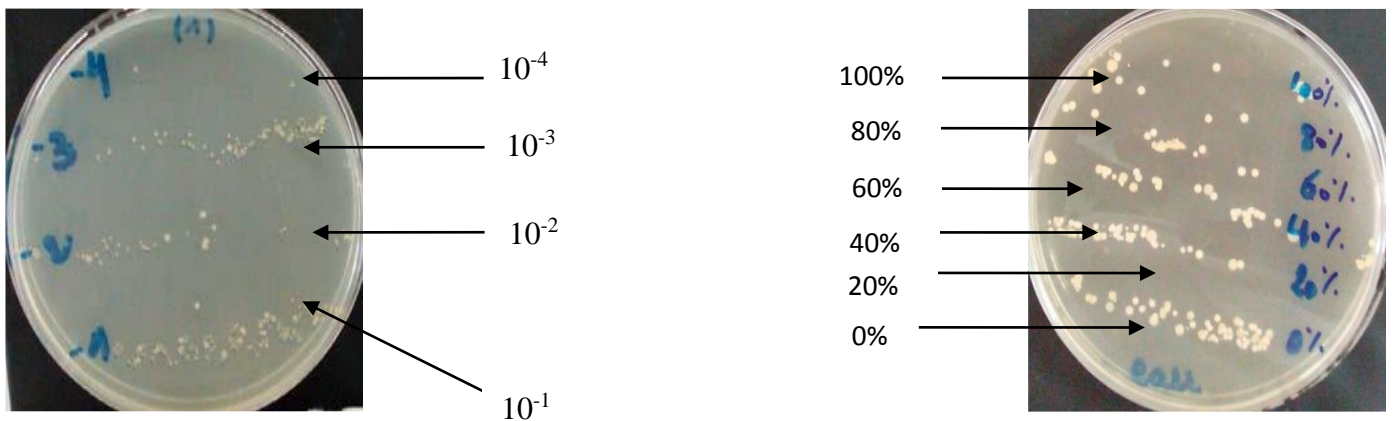
Hexane CMB : 80%



Ethanol CMB : 40%



Méthanol CMB : 20%



Eau CMB : 100%

Figure 20. Détermination des CMB des extraits de *Rosmarinus officinalis L* récoltés à Mostaganem chez *Candida albicans*

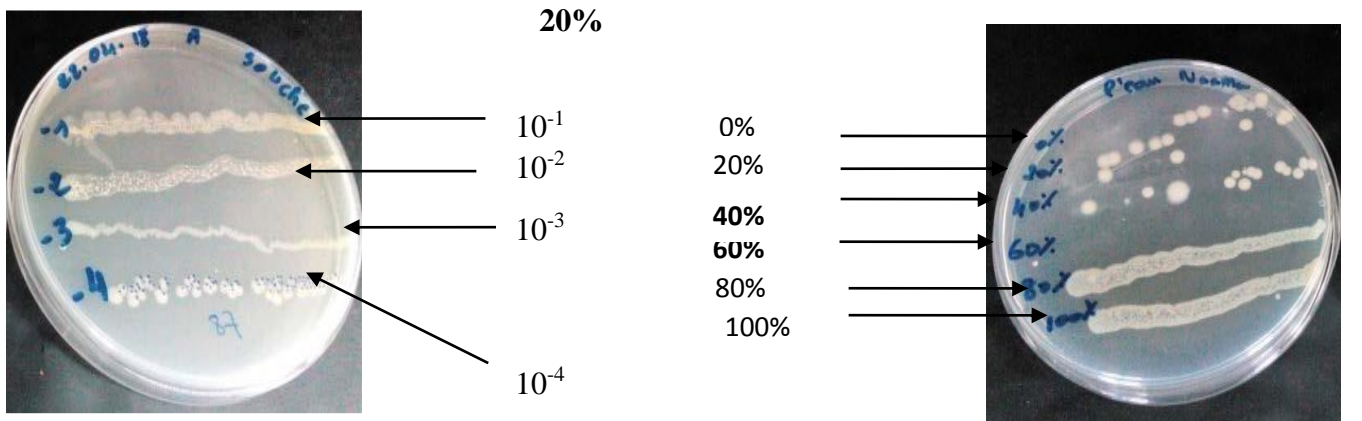
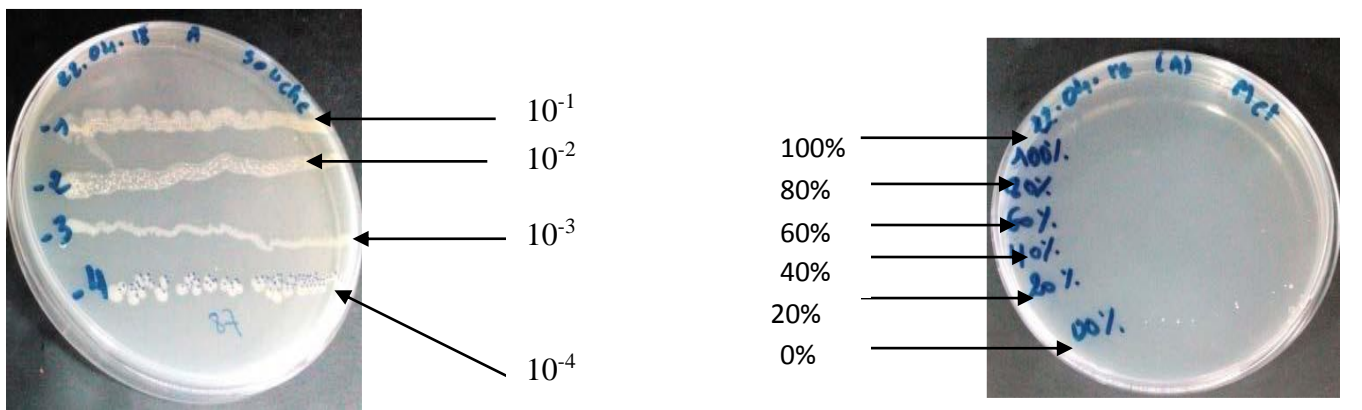
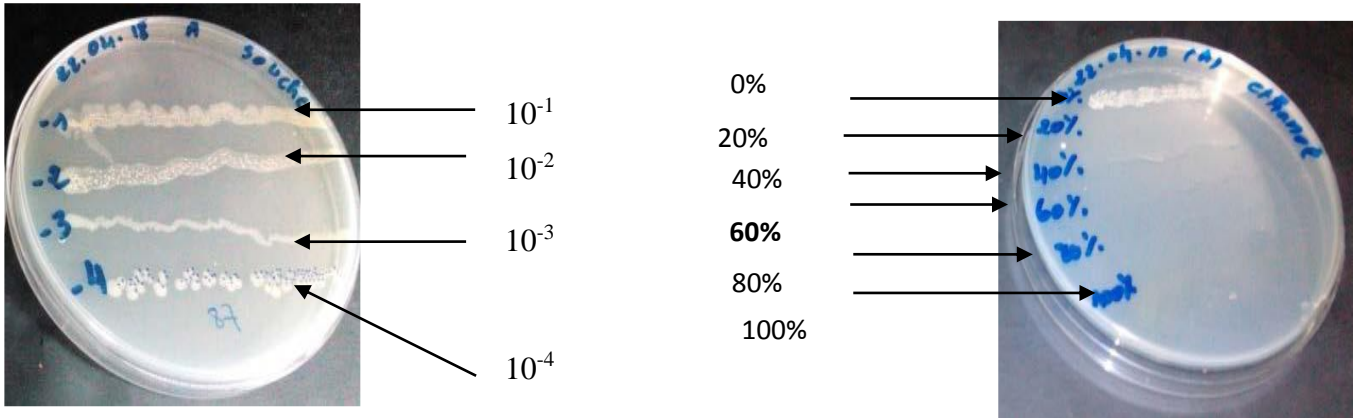
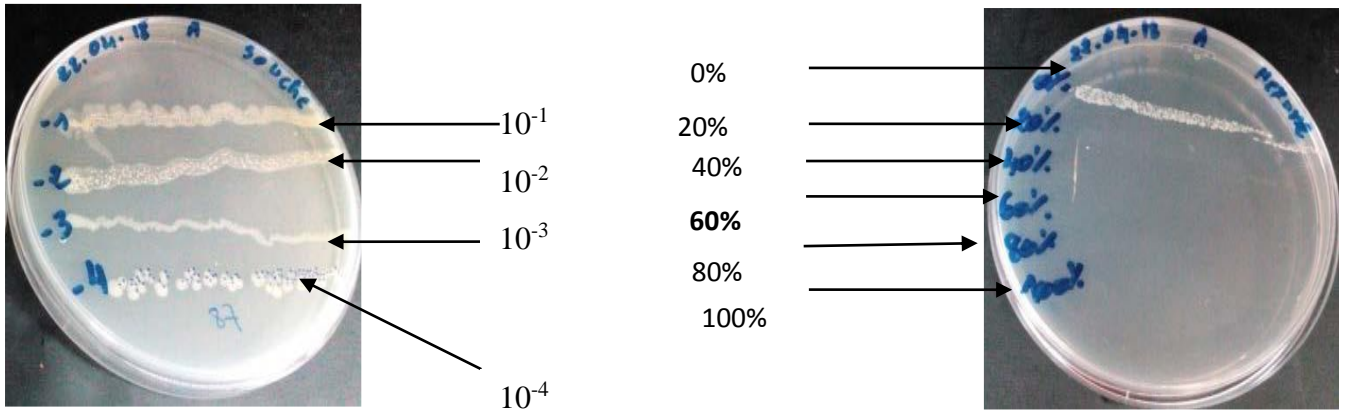


Figure 21. Détermination des CMB des extraits de *Rosmarinus officinalis L* récoltés à Naama chez *Candida albicans*

Tableau10 : Type d'inhibition des extraits de *Rosmarinus officinalis L* chez *Candida albicans*

	Solvants	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
Mostaganem	Hexane	80%	80%	1	Fongicide
	Ethanol	60%	40%	0.66	Fongicide
	Méthanol	60%	20%	0.33	Fongicide
	Eaux	100%	100%	1	Fongicide
Naama	Hexane	40%	20%	0.5	Fongicide
	Ethanol	60%	20%	0.33	Fongicide
	Méthanol	40%	20%	0.5	Fongicide
	Eaux	60%	60%	1	Fongicide
Normes	<p>*D'après (Olivier 2007) :</p> <p>CMB/ CMI \leq 2(Effet bactéricide). CMB/ CMI $>$2 (Effet bactériostatique).</p> <p>* D'après (Marmonier 1990) :</p> <p>CMB/ CMI \leq 4 (Effet bactéricide). CMB/ CMI $>$ 4 (Effet bactéristatique).</p>				

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMF :Concentration Minimale Fongicide.

2. Discussion :

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. C'est dans ce contexte que notre étude a été orientée en vue de suivre l'effet des principaux composés phénoliques d'une plante médicinale très largement répandue en Algérie dans certaines régions du pays telles Naama et Mostaganem sur l'un des germes responsables de mucoses et des maladies urogénitales chez particulièrement les enfants et les femmes atteintes d'immunodépression à savoir *Candida albicans*

En effet, *Rosmarinus officinalis L* représente 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 dont antioxydants, antimicrobiennes, antivirales...etc. L'évaluation de ces activités demeure une tâche difficile, mais qui peut être intéressante pour l'homme (Eggimann et al., 2003) dont l'usage peut constituer une alternative aux traitements conventionnels surtout aux antibiotiques et d'autres produits chimiques de soin dont la résistance développée par certains microorganismes rend de plus en plus la thérapie de certaines maladies usage caduc et inefficace et difficile de nos jours.

D'une façon générale, les extraits aux solvants aqueux à différentes polarités de Romarin collecté de la région de Naama ont dévoilé des effets antimicrobiens drastiques à l'égard de l'espèce microbienne *Candida albicans* par comparaison aux autres extraits de la plante provenant de Mostaganem dont l'effet a été moindre. Par ailleurs, l'efficacité de ces extraits vis-à-vis de ce microorganisme étudié a été observée à de fortes concentrations de 80 et 100%.

Ces réponses sont certainement en relation avec la différence de richesse et d'accumulation en principaux composés phénoliques du végétal (*Rosmarinus officinalis L*) collecté dans les deux régions à caractères pédoclimatiques très contrastés : l'une à NAAMA au sud d'Algérie à sol sableux argileux et à climat sec et l'autre à Mostaganem à sol argileux sableux limoneux et à climat plus ou moins humide.

Ces composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux participant 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 (**Deans et Ritchie, 1987**). D'un point de vue chimique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales dont les effets antimicrobiens contre de nombreux germes pathogènes et banaux (*Staphylococcus aureus*, Salmonelles, *Chlostridium botulinum*...etc.) à Gram⁻ et à Gram⁺ ont été bien démontrés (**Dorman et Deans, 2000**).

Ainsi il apparaît nettement que l'extrait de la plante objet de l'étude a exercé un effet inhibiteur de type fongicide vis-à-vis de *Candida albicans* considéré comme étant une levure opportuniste la plus pathogène chez l'humain et responsable des infections urogénitales chez particulièrement les femmes (**Sudbery et al., 2004**).

D'une façon générale, plusieurs auteurs (**Bouterfas et al., 2016**) ont suggéré que l'activité antifongique de certaines plantes telles le *Marrubium vulgare* chez *Candida albicans* varie significativement de l'extrait flavonoïque testé ainsi que de sa concentration et du type de la souche fongique étudiée.

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

Conclusion générale:

Conclusion générale:

Les plantes médicinales restent de nos jours une source fiable des principes composés bioactifs connus pour leurs aptitudes thérapeutiques avères contre plusieurs maladies infectieuses.

Les extraits aqueux aux solvants à différentes polarité de *Rosmarinusofficinalis* L récolté à Naama et à Mostaganem ont montré notamment à l'état pur et à une concentration de 80% une totale destruction de la croissance de l'espèce microbienne *Candida albicans*.

Par ailleurs, l'extrait à l'eau de Mostaganem, ainsi que les extraits aqueux à l'hexane et à l'éthanol de Naama ont présenté particulièrement à de fortes concentrations de 80 et 100% des diamètres d'inhibitions très proches de la gentamicine ; 9.42 à 11.33 mm.

D'après les rapports CMF/CMI, les extraits de la plante riches en composés phénoliques semblent exercer un effet de type fongicide à l'égard *Candida albicans*.

Pour compléter cette étude, il serait intéressant:

- D'élargir l'étude à d'autres levures à l'origine d'autres maladies infectieuses (buccodentaire, dermiques, urogénitale...etc.).
- D'essayer d'évaluer les effets des extraits de la plante sur le pouvoir de formation de biofilm de *Candidaalbicans* sur de multiples supports et selon différentes conditions physicochimiques.
- D'essayer de tester la sensibilité de *Candidaalbicans* vis-à-vis d'autres extraits de plantes médicinales autochtones (*Menthe poivrée*, *Thymus vulgaris*...etc.).

References Bibliographies

Abu-Elteen, K.H.; Abu-Elteen, R.M. (1998). The prevalence of *Candida albicans* population in the mouths of complete denture wearer's. *New Microbiol.*

Andrutis, K. A., Riggle, P. J., Kumamoto, C. A. and Tzipori, S., Intestinal lesions Anofel. (2007). *Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales*, Elsevier- Masson, Paris.

Andrutis, K. A., Riggle, P. J., Kumamoto, C. A. and Tzipori, S., Intestinal lesions associated with disseminated candidiasis in an experimental animal model. *J Clin Microbiol*

Bakirel, T., Bakirel, U., Ustuner Keles, O., Gunes Ulgen, S., Yardibi, H. 2008. *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol.*

Barelle C.J., Richard M.L., Gaillardin C., Gow N.A and Brown A.J. (2006). *Candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching. *Eukaryot. Cell.* 5.

BENMANSOUR.M, Les Candidoses vulvo-vaginales à *Candida albicans*: Facteurs de risques, diagnostic mycologique et prévalence spécifique, pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID FAULTE DE MEDECINE, Tlemcen 2012.

Boudy P. 1948. Economie forestière Nord-africain, Tome I : Milieu physique et milieu humain. Paris Ve, Edition Larose.

Bourgeois, C. M. and J.Y Leveau, 1980. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc.

- **Bouterfas Z.Mehdadia L.Aouad M.M.Elaoufi M.B.Khaled A.Latreche W.Benchihaad ;2016 ;** La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans* ? *J.Mycologie Médicale* vol 26 , 201-211.

Références Bibliographiques

- **Caillet S. & Lacroix M., 2007-** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, 1-8.
- **Calderone, R.D.; Fonzi, W.A (2001).** Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*, 9(7).
- **Cassone, A.,** Cell wall of *Candida albicans*: its functions and its impact on the host. *Curr Top*
- **Chouba M et Djaballah C et Louadfel A. (2006).** Rapport de stage, Les infections urinaires. Université Constantine1, Constantine.
- **Chu W.S., Magee B.B and Magee P.T.,** Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *J. Bacteriol.* 1993.
- **Denis, F; E. Bingen, C.Martin, M.C. Ploy and R.Quentin, 2011.** Bactériologie Medicale. 2nd Edn ; Elsevier Masson, Paris, ISBN : 9782294725944.
- **Douglas, L. J.,** Candida biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol* 2003. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science.* 76.
- **Eggimann P., Garbino J and Pittet D. (2003).** Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet. Infect. Dis.* 3: 685-702
- **Farah, C.S.; Ashman, R.B.; Challacombe, S.J. (2000).** Oral Candidosis. *Clinicsin Dermatology*, 18 (5).
- **Fu, Y., Ibrahim, A. S., Fonzi, W., Zhou, X., Ramos, C. F. and Ghannoum, M. A.,** Cloning and characterization of a gene (LIP1) which encodes a lipase from the pathogenic yeast *Candida albicans*. *Microbiology* 1997.
- **Garber. (2001).** an overview of fungal infection *.Drugs*, 61(1).

Références Bibliographiques

- **GENIAUX M.** Infections cutané-muqueuses à *Candida albicans*: épidémiologie, diagnostic, traitement. *La revue du praticien*. 1996.
- **Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A.** 2007.
- **Ghannoum, M. A.,** Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2000.
- **Granger R, J.Passet, G. Arbousset .**1976. Activité optique de l'essence de Romarin *Rosmarinus officinalis* – L. La France et ces parfums N°67.
- **Graser Y., Volovsek M., Arrington J., Schonian G., Presber W., Mitchell T.G and Vilgalys R. (1996).** Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 93.
- **Grillot R. (1995).** *Les mycoses humaines : démarche diagnostique*. Paris: Elsevier Science.
- **Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de- Santayana, M.** 2006. Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol*.
- **Hoyer, L. L., Payne, T. L., Bell, M., Myers, A. M. and Scherer, S.,** *Candida albicans* ALS3.
- **Ibata-Ombetta, S., Idziorek, T., Trinel, P. A., Poulain, D. and Jouault, T.,** *Candida albicans* induces apoptosis of human neutrophils. *Shock* 2000.
- **Kouta K. (2009).** Mémoire de fin d'étude. Infection urinaire chez les diabétiques adultes. Université Kasdi-merbah Ouargla, Ouargla.
- **Kra, A.K.M. ,2001.** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCAs contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences. Univ. Abidjan.

Références Bibliographiques

- **Langnas, A. N., Reed, E. C., Li, S. J., Pillen, T. J. and et al.**, Clinical spectrum of fungal
- **Lavigne. J. P. (2007)**. Thèse de doctorat, Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, France.
- **Lopez-Ribot, J. L., Casanova, M., Murgui, A. and Martinez, J. P.**, Antibody response to *Candida albicans* cell wall antigens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004.
- **M., Blignaut, E. and Wanzala, P.**, Fungal infections associated with HIV infection. *Oral Dis*
- **M.B. 2008** Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L.essential oil. *International J of Food Microbiology*.122:135-139.s **et al.** 1993. effect of carnosolic Acid Products. Vol56.N°8.
- **Maertens, J.; Vrebos, M.; Boogaerts, M. (2001)**. Assessing risk factors for systemic fungal infection .*Eur.J. Cancer Care*.
- **Molero G., Díez-Orejas R.,** Navarro-García F., Monteoliva L., Pla J., Gil C., Sánchez.
- **Monod, M. and Borg-von Zepelin, M.**, Secreted proteinases and other virulence mechanisms of *Candida albicans*. *Chem Immunol* 2002.
- **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.
- **Odds J.C. (1988)**. *Candida and candidosis*. Elsevier Science Health Science Division.
- **Olabinri, J. A., Adebisi, O. F., Odesomi, P. F., Olabinri and G. E, Adeleke.** 1999. Experimental classification of the antioxidant capacity of the leaf, stem and root barks of *Magnifera indica* and *Azadirachta indica*. *Department of Biochemistry, College of*

Health Sciences, Ladoko Akintola University of Technology, Ogboso, Oyo State, Nigeria.

- **P. faller M.A. and Diekema D.J. (2007).** Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin. Microbiol. Rev.* 20.
- **PariRasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, Paya, C. V.,** Prevention of fungal and hepatitis virus infections in liver transplantation. *Clin. Pérez M and Nombela C. (1998). Candida albicans: genetics, dimorphism and pathogenicity. Internatl. Microbiol.*1.
- **Poulain, D. and Feuilhade-de-Chauvin, M.,** *Candidoses et levures diverses: 1995*
- **Quezel, P., Santa, S.** 1963.Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris.
- **Romano, C.S., AbadiB K., Repettov., Vojno, A.A. et Moreno, S.** 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chem., Vol.*
- **Rotstein, D., Parodo, J., Taneja, R. and Marshall, J. C.,** Phagocytosis of *Candida albicans*
- **Ruiz-Herrera, J., Elorza, M. V., Valentin, E. and Sentandreu, R.,** Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res* 2006.
- **Samaranayake, L. P., Fidel, P. L., Naglik, J. R., Sweet, S. P., Teanpaisan, R., Coogan, M.**
- **Schaller, M., Borelli, C., Korting, H. C. and Hube, B.,** Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses* 2005.
- **Segal,E. (2005)**-Candida,sill number one-what do we know and where are we going from there? *Mycoses* 48 Suppl1.
- **Sudbery P. E. (2001).** The germ tubes of *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae show different patterns of septin ring localization. *Mol. Microbiol.* 41.

Références Bibliographies

- **Sudbery P., Gow N. and Berman J. (2004).** The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends. Microbiol.* 12.
- **Sudbery, P., Gow, N. et Berman, J. (2004)** – The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in microbiology*, Vol. 12, N0. 7, pp : 317-324.
- **Sultana, B. ; F Anwar and M. Ashraf, 2009.** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*. the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res* 2006.
- VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching. *Eukaryot Cell* 2006.
- **Y., Kontoyiannis, D. P. and Raad, II,** The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida*.

Annexes

Bouillon nutritif :

Composition :

- Eau distillée.....400ml
- Peptone.....2.4g
- Extrait de viande.....0.4g
- Extrait de levure.....0.8g
- NaCl.....2g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

• **Sabouraud :**

Composition :

- Eau distillée1l
- Peptone10g
- Glucose.....40g
- Agar agar.....12g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

• **Gélose nutritive :**

Composition :

- Eau distillée.....500ml
- Peptone.....2.5g
- Extrait de viande.....0.5g
- Extrait de levure.....1.25g
- NaCl.....2.5g
- KOH.....0.5N
- Agar-agar.....9g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

• **Gélose Muller Hinton :**

Composition :

- Eau distillée.....500ml
- Extrait de viande.....1.5g
- Hydrolysate de caséine.....8.75g
- Amidon.....0.75g
- Agar-agar.....9g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

• **Bouillon Muller Hinton :**

Composition :

- Eau distillée.....500ml
- Extrait de viande.....1.5g
- Hydrolysate de caséine.....8.75g
- Amidon.....0.75g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

- **Eau physiologique:**

Composition :

- Eau distillée.....500ml
- NaCl.....4,5g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7\pm 0,2$. Autoclave à 120°C/20 minute.

- **L'évaporateur rotatif (ou rotavap, ou rotavapor) :**

est un appareil utilisé en chimie afin de distiller rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement une solution ou pour concentrer à sec (on enlève tout le solvant) une solution ou une suspension.

- **Un agitateur:**

est un élément d'une unité de procédé ayant pour but d'assurer l'homogénéisation d'un milieu (homogénéisation du point de vue des composants du milieu et/ou de la température).

- **Un incubateur:**

est une enceinte thermo-staée faite en acier inoxydable et équipée d'une double porte . Ils sont généralement réglés à une température optimale pour les microorganismes cultivés et équipés d'une arrivée de CO₂ et d'un bac d'eau pour obtenir une atmosphère à 5 % de CO₂ et environ 80 à 85 % d'humidité.