



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle} Aouad Amel et M^{lle} Belayachi Khadidja

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie Fondamentale

THÈME

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. récolté à la région de Naama vis-à-vis de certains germes responsables de toxi-infections alimentaires.

Soutenu publiquement le : 11 /07 /2019

DEVANT LE JURY :

Président :	<i>M. BENBOUZIANE. B</i>	<i>MCB</i>	<i>U. Mostaganem</i>
Examineur :	<i>M^{me}. BENMAHDI. F</i>	<i>MCB</i>	<i>U. Mostaganem</i>
Encadreur :	<i>M^{me}. AIT CHABANE. O</i>	<i>MCB</i>	<i>U. Mostaganem</i>
Co-encadreur :	<i>M. AIT SAADA. D</i>	<i>MCA</i>	<i>U. Mostaganem</i>
Invité :	<i>M^{lle}.BABADJI. K</i>	<i>DOCTORANTE</i>	<i>U. Mostaganem</i>

Thème réalisé au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition et le laboratoire pédagogique de Microbiologie de l'Université de Mostaganem.

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier tout d'abord le bon dieu, pour nous avoir donné le courage et la patience afin d'achever et mener à bien ce modeste travail.

*Nos vifs remerciements s'adressent en particulier à notre promotrice **M^{me}. AIT CHABANE.O** pour les conseils, les orientations et le temps qu'elle nous a consacré. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.*

*Nous tenons aussi à exprimer notre considération à **M. AIT SAADA. D** pour avoir accepté d'être notre co-promoteur, pour nous avoir accueilli au sein de son laboratoire de recherche en Technologie Alimentaire et Nutrition, tout en nous laissant une grande liberté de mener à bien nos travaux de recherche, pour le soutien, la grande générosité, et les conseils avisés qui nous a donné en vue d'aboutir ce modeste travail.*

*Nous adressons dans la même ligne de conduite nos sincères remerciements à **M. BENBOUZIANE. B** d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Ses remarques et orientations fructueuses seront certainement très bénéfiques.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **M^{me}. BENMAHDI. F** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de juger le présent mémoire.*

*On tient également à remercier la technicienne de laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition **M^{me}. BENATI. F** pour son soutien et aides précieuses prodigués.*

*Nous adressons aussi nos remerciements au personnel de la bibliothèque et les techniciens de laboratoire exerçant au site I (Ex ITA) de Université de Mostaganem pour leur aides, ainsi que le responsable du magasin des stocks **M. SOUAN** pour m'avoir fourni tous les moyens nécessaires afin de mener à bien le présent travail.*

*Nous remercions également la doctorante **M^{lle}. BABADJI. K** qui nous a accompagné et guidé avec précaution et respect. Nous exprimons aussi nos remerciements à tous nos professeurs exerçant au département de biologie.*

Nos remerciements vont enfin droit à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicace

*Avant toute chose, je remercie **DIEU**, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et La patience.*

Je dédie ce mémoire à :

*Mes très chers **parents** qui m'ont toujours aidé tout au long de mon travail, que **DIEU** me les garde et protège.*

*Mes chers **grands parents** que **DIEU** leur donne une longue vie.*

*Mes chères sœurs : **Ikram** et **Marwa** qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*Ma tante **Soltana**, et ses enfants : **Kawtar**, **Abdelhadi** et **Nour** adorables toujours près de moi.*

*A Mes chères tantes, mes oncles et mes cousines surtout a mon petit cousin : **Snoussi**.*

*A mon binôme **Amel** pour tous les souvenirs pendant les années d'études ensemble, je la considère comme une soeur.*

*Et à ma chérie **Hayet** qui m'a suffisamment aidé.*

*Mes amis : **Samira**, **djihane**, **Fawzia**, **Assia** que dieu les garde.*

*A mes docteurs **M. Benchenouf**, **M. Houari** et **M^{me}. Warda** pour leur patience et générosité.*

*A toutes les familles qui portent le nom **Belayachi**.*

A tous la promo de Microbiologie fondamentale un par un.

Khadija

Dédicace

*Au debut je remercie **ALLAH** de ma donné le privilège de poursuivre mes études.*

Je dédie ce mémoire à :

*Aux êtres les plus chers : **Mes parents,***

*A **ma mère,***

Pour, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

*A **mon père,***

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

*A **mes grands parents.***

*A mes chères sœurs : **Faiza** et **Mona** pour sa générosités de cœur et son aides précieux.*

*A mon frère : **Ali Charef Eddine.***

*A **mes tante** Sincèrement **Sabah** et **Chirifa** et leur enfants, **mes cousine** surtout **Fatima** et ses enfant pour sa générosité.*

*A mon binôme **Khadidja** qui j'ai partagé les bons et les durs moments.*

*Je n'oublie jamais la générosité illimitée de mes amis, **khalida, Nadia, Djihen, Samira, Fawzia, Assia** et A tous ceux et toutes celles qui participer pour réaliser ce travail.*

A tous la promo de Microbiologie fondamentale un par un.

Amel

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATP : Adénosine triphosphate.

Aw : activity water.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DDASS : Direction départementale des Affaires sanitaires et sociales.

DGS : Direction générale de la Santé.

DO : Densité optique.

E.coli : *Escherichia coli*.

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

G : grossissement.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

INSP : Institut National de Santé Publique.

LT : Lymphocytes T

Mbp : Millions paires de bases.

MDC : Ministère du Commerce.

MH : Muller Hinton.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

pH : potentiel en hydrogène.

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*.

S.aureus : *Staphylococcus aureus*.

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective.

UFC : Unité formant colonie.

Liste des figures

Figure 01. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	11
Figure 02. Incidence des TIAC en Algérie durant la période de 1999 à 2011.....	27
Figure03. <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figure 04. <i>Salmonella thyphi</i>	35
Figure 05. <i>Escherichia coli</i>	38
Figure 06. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Figure 07. Région de récolte de l'espèce végétale <i>Rosmarinus officinalis</i>	46
Figure 08. Les feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> après séchage	47
Figure 09. Etape d'évaporation sous vide de récupération d'extraite de <i>Rosmarinus officinalis</i>	48
Figure 10. Méthodes d'extraction des principes actifs de <i>Rosmarinus officinalis</i>	49
Figure 11. Méthodes de contact direct.....	51
Figure 12. Méthode des disques par diffusion sur gélose	52
Figure 13. Détermination de la concentration minimale bactéricide	54
Figure 14. Méthode de contact direct de l'effet d'extrait de <i>R.officinalis</i> chez certains germes pathogènes.....	55
Figure 15. Méthode de diffusion sur disques d'évaluation de l'effet de l'extrait méthanolique de <i>R.officinalis</i> chez certains germes pathogènes	58
Figure 16. Détermination des CMB de l'extrait de <i>R.officinalis</i> vis-à-vis de certains germes pathogènes.....	62

Liste des tableaux

Tableau 1. Effet des extraits phénoliques au méthanol aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la croissance de certains germes pathogènes	56
Tableau 2. Effet des extraits phénoliques au méthanol de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les taux de croissance de certains germes pathogènes	57
Tableau 3. Effet des extraits phénoliques au méthanol de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur le diamètre d'inhibition de certains germes pathogènes.....	59
Tableau 4. Effet des extraits phénoliques au méthanol de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les taux d'ihibition de certains germes pathogènes.....	60
Tableau 5. Évaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de <i>Rosmarinusofficinalis</i> prélevé de la région de Naama sur la croissance de certains germes pathogènes	61
Tableau 6. Type d'inhibition exercé par l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la croissance de certains germes pathogènes	63

Table des matières

Remerciments

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction..... 1

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Importance des plantes médicinales en phytothérapie

1. Généralité.....	3
2. Médecine traditionnelle	3
3. Phytothérapie	3
3.1. Historique	3
3.2. Définition	4
3.3. Types	5
3.4. Avantages	6
3.5. Phytothérapie en Algérie	6
4. Plante aromatique.....	6
5. Plantes médicinales	7
5.1. Généralité	7
5.2. Définition	7
5.3. Conservation des plantes médicinales.....	8
5.4. Actions des plantes médicinales.....	8
5.5. Principes actifs	8
5.6. Efficacité des plantes entières	8

Chapitre II : *Rosmarinus officinalis L.*

1. Généralité.....	9
2. Historique.....	9

3. Etymologie.....	9
4. Dénominations botanique	10
4.1. Appellation internationale.....	10
4.2. Nom vernaculaire arabe	10
4.3. Nom targui ou berbère.....	10
4.4. Autres appellations.....	10
5. Définition	10
6. Description botanique	11
7. Classification.....	12
7.1. Classification classique	12
7.2. Classification phylogénétique	12
8. Répartition géographique.....	12
9. Culture.....	12
10. Récolte	13
11. Partie utilisées	13
12. Propriétés	13
13. Principes actifs	13
14. Composition chimique	14
15. Composés phénoliques.....	14
15.1. Généralités.....	14
15.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	15
15.3. Principales classes des composés phénoliques.....	15
15.3.1. Acide phénoliques simples	15
15.3.2. Flavonoides.....	16
15.4. Propriétés des flavonoïdes.....	17
15.4.1. Propriétés antibactériennes	17
15.4.2. Propriétés antivirales	18
15.4.3. Propriétés anticancéreuses	18
15.4.4. Propriétés anti inflammatoires	19
15.4.5. Autres propriétés des flavonoïdes.....	19
16. Huiles essentiels.....	20
17. Usages.....	20
17.1. Usages en thérapeutique.....	20
17.2. Usages agroalimentaires.....	20
17.3. Usages culinaires.....	21

17.4. Usages en cosmétique	21
18. Précautions.....	21
18. Toxicité	21

Chapitre III : Toxi-Infection Alimentaire

1. Généralité.....	23
2. Historique.....	23
3. Définition	24
4. Toxines bactériennes.....	24
5. Principaux aliments incriminés dans la contamination alimentaire	24
6. Facteurs favorisent la multiplication des germes impliqués	25
7. Maladies liées à la présence de germes pathogènes.....	25
8. Différents stades de l'infection	26
9. Statistique.....	26
10. Eléments du diagnostic d'une toxi infection alimentaire (TIAC).....	27
11. Prévention.....	28

Chapitre IV : Principaux germes responsables de Toxi-Infection Alimentaire

1. Généralité.....	29
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	29
2.1. Historique	29
2.2. Classification.....	30
2.3. Caractéristiques structurales et physiologiques.....	30
2.3.1. Morphologie et structure.....	30
2.3.2. Biochimique.....	31
2.3.3. Génomique.....	31
2.4. Habitat	32
2.5. Transmission	32
2.6. Épidémiologie	32
2.7. Facteurs de virulence.....	32
2.8. Pouvoir pathogène.....	32
2.8.1. Suppurations localisées	33
2.8.2. Sepsicémies et les endocardites.....	33
2.8.3. Ses manifestations digestives	33
2.9. Diagnostic.....	33

3. <i>Salmonella typhi</i>	34
3.1. Historique	34
3.2. Classification.....	34
3.3. Caractéristiques structurales et physiologiques.....	34
3.3.1. Morphologique et structure.....	34
3.3.2. Biochimique.....	35
3.3.3. Génomique.....	35
3.4. Habitat	35
3.5. Transmission	35
3.6. Epidémiologie	36
3.6.1. Fièvre typhoïde	36
3.6.2. Toxi-infections alimentaires	36
3.7. Facteurs de virulence.....	36
3.8. Pouvoir pathogène.....	37
3.8.1. Formes septicémiques	37
3.8.2. Formes purement digestives	37
3.8.3. Formes extra digestives.....	37
3.9. Diagnostic.....	37
4. <i>Escherichia coli</i>	37
4.1. Historique	37
4.2. Classification.....	38
4.3. Caractéristiques structurales et physiologiques.....	38
4.3.1. Morphologique et structure.....	38
4.3.2. Biochimique.....	39
4.3.3. Génomique.....	39
4.4. Habitat	39
4.5. Transmission	39
4.6. Épidémiologie	40
4.7. Facteurs de virulence.....	40
4.8. Pouvoir pathogènes	40
4.8.1. Infection urinaire	40
4.8.2. Infection intestinale	40
4.8.3. Infection néonatale	40
4.8.4. Infections diverses	41
4.9. Diagnostic.....	41

5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
5.1. Historique	41
5.2. Classification.....	41
5.3. Caractéristiques structurales et physiologiques.....	42
5.3.1. Morphologique et structure.....	42
5.3.2. Biochimique.....	42
5.3.3. Génomique.....	42
5.4. Habitat	43
5.5. Transmission	43
5.6. Épidémiologie	43
5.7. Facteurs de virulence.....	44
5.8. Pouvoir pathogène.....	44
5.9. Diagnostic.....	44

Partie 2 : Matériel et méthode

1. Objectif	46
2. Matériel	46
2.1. Matériel végétal.....	46
2.1.1. Prélèvement	46
2.1.2. Conservation.....	47
2.2. Matériel du laboratoire utilisé	47
3. Méthode	47
3.1. Souches microbiennes testées	47
3.2. Conservation des souches	47
3.3. Méthode d'extraction	48
3.4. Activation des inoculas microbiens.....	50
3.5. Méthode de contact direct	50
3.6. Méthode des disques de diffusion sur gélose.....	50
3.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	52
3.8. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	53
4. Traitement statistique.....	54

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats.....	55
1.1. Test de croissance des germes pathogènes.....	55

1.2. Taux de croissance des germes pathogènes	57
1. 3. Diamètre d'inhibition des germes pathogènes	58
1.4. Taux d'inhibition des germes pathogènes	60
1.5. Concentration minimale inhibitrice.....	61
1.6. Concentration minimale bactéricide.....	62
1.7. Type d'inhibition d'extrait	63
2. Discussion.....	64
Conclusion	67
Références bibliographiques.	
Annexe.	

Résumé :

L'étude vise à suivre l'activité antimicrobienne des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* L. (romarin) vis-à-vis de certains germes de référence (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) impliqués dans les toxi-infections alimentaires. Le romarin objet de l'étude a été récolté à Naama-Algérie. L'extraction des composés phénoliques de la plante a été effectuée par usage d'une solution hydro-méthanolique.

L'extrait au méthanol aqueux obtenu au terme d'extraction après évaporation du solvant a été dilué à l'eau distillé à des concentrations de 0, 20, 40, 60, 80 et 100, respectivement.

L'efficacité antimicrobienne de ces solutions vis-à-vis des germes testés a été évaluée en triple essais par l'application de la méthode de contact direct, la méthode de diffusion sur disques, la CMI et la CMB. Les résultats ont subi une analyse de variance monofactorielle en randomisation et une comparaison des moyennes.

L'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* a démontré un effet antimicrobien de type bactéricide à l'égard des germes (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*).

Aucune croissance de ces germes n'a été remarquée avec l'extrait de la plante concentré à 60, 80, 100 %.

L'extrait pur a présenté une meilleure efficacité antimicrobienne par rapport à la gentamicine ; avec des taux d'inhibitions variables de 53 à 67,12 %.

Mots clés : Romarin, extrait, hydrométhanolique, effet, antimicrobien, germes, toxi-infection alimentaire.

Abstract :

The aim of the study is to monitor the antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis L.* organisms (*Staphylococcus aureus*, (rosemary) phenolic compounds against certain reference *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*) involved in the food poisoning. The rosemary object of the study was collected in Naama-Algeria. Extraction of the phenolic compound from the plant was carried out using a hydro-methanolic solution.

The aqueous methanol extract obtained after extraction after evaporation of the solvent was diluted with distilled water at concentrations of 0, 20, 40, 60, 80 and 100, respectively.

The antimicrobial efficacy of these solutions against the tested microorganisms was evaluated in three trials by the application of the direct contact method, the disk diffusion method, the MIC and the CMB. The results were subjected to a single-factor analysis of variance in randomization and à comparison of means.

The hydro-methanolic extract of *Rosmarinus officinalis* has demonstrated a bactericidal antimicrobial effect against germs (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*).

No growth of these germs was noticed with the plant extract concentrated at 60, 80, 100%.

The pure extract showed better antimicrobial efficacy compared to gentamicin; with variable inhibition rates of 53 to 67.12%.

Key words: Rosemary, extract, hydromethanol, effect, antimicrobial, germs, food poisoning.

الملخص:

تهدف هاته الدراسة إلى معرفة نشاط المركبات الفينولية لنبتة *Rosmarinus officinalis L.* (إكليل الجبل) ضد الميكروبات المدروسة (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*) , *Pseudomonas aeruginosa* , المسببة للتسممات الغذائية.

جمعت النبتة من منطقة النعامة – الجزائر, و استخرجت مركباتها الفينولية باستخدام محلول الميثانول المائي.

تم تخفيف مستخلص الميثانول المائي الناتج بعد تبخر المذيب بالماء المقطر بتركيزات 0, 20 , 40 , 60 , 80 , 100 على التوالي.

قيمت فعالية هذه المحاليل ضد الميكروبات المختبرة في ثلاث محاولات من خلال تطبيق طريقة الاتصال المباشر, نشر القرص, التركيز الأدنى الميكروبي CMI, و النمو البكتيري CMB.

أظهر مستخلص الميثانول المائي لنبتة *Rosmarinus officinalis L.* فعالية معتبرة تجاه (*Salmonella typhi*) للميكروبات المختبرة مع المستخلصات النباتية ذات تركيز 60، 80، 100 %.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل ، المستخلص ، الميثانول المائي ، التأثير ، مضادات الميكروبات ، الجراثيم ، التسمم الغذائي.

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'Homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. La contamination des aliments par des agents microbiologiques constitue un problème de santé publique dans le monde entier.

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre recourent aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire meilleurs que les traitements conventionnels dont antibiotiques, corticoïdes...etc et bien d'autres substances ayant des effets secondaires souvent néfastes pour la santé.

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une source inépuisable de remèdes contre de nombreuses maladies grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïde, flavonoïde, hétérosides, saponoside, quinones, vitamines... et huiles essentielles **(Chenni, 2016)**.

Ces composés secondaires des plantes peuvent être utilisés dans différents domaines : en pharmacie pour le traitement de certaines maladies infectieuses, en parfumerie, en cosmétique, en industrie agroalimentaire en vue d'améliorer la conservation des aliments **(Chenni, 2016)**.

De par sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée.

Le romarin *Rosmarinus officinalis L.* largement répandue dans le pays est une herbe aromatique et médicinale de la famille des Lamiaceae **(Atikbekkara et al., 2007)**.

Cette plante est très riche en acides phénoliques, flavoïdes, alcaloïdes **(Bahorun, 1997)**. Elle présente plusieurs vertus thérapeutiques ; utilisée pour le traitement symptomatique des troubles digestifs, comme antistress et pour lutter contre la fatigue **(Marion, 2017)**.

C'est dans ce cadre que ce travail a consisté à poursuivre les recherches déjà initiées au sein de l'équipe de recherche affiliée au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition sise à l'université de Mostaganem en vue d'étudier l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-méthanolique, de *Rosmarinus officinalis L.* récolté à Naama-Algérie sur certains germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyphi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Le manuscrit est scindé en 3 parties

-Une étude bibliographique retraçant les principales connaissances sur la plante objet de l'étude (*Rosmarinus officinalis L.*) et les principaux germes responsables des toxi-infections alimentaires.

-La méthodologie comportant le matériel et les méthodes utilisées dans l'étude pratique expérimentale.

-Enfin, une discussion succincte des résultats expérimentaux obtenus, achevée par une conclusion et des perspectives à entreprendre dans le futur.

1. Généralité

Durant des milliers d'années, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. L'objectif c'est de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes.

En général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives (Iserin et al., 2001).

2. Médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle peut être considérée comme partie intégrante des soins de santé primaire, pour améliorer l'accès aux soins. Il faut toutefois évaluer l'efficacité clinique et assurer la sécurité de plantes médicinales (Zeggwagh et al., 2013).

La médecine traditionnelle peut être définie comme étant combinaison globale de connaissances et de pratiques. Explicables ou non, utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer une maladie physique, mentale ou sociale, et pouvant se baser exclusivement sur l'expérience et les observations anciennes transmises de génération en génération, oralement ou par écrit.

La médecine traditionnelle est très répandue dans le monde. Lors de sa huitième réunion de programme général de travail, couvrant la période de 1990-1995, l'OMS a redéfini la médecine traditionnelle comme comprenant des pratiques thérapeutiques existant souvent depuis des centaines d'années, avant le développement et la diffusion de la médecine scientifique, et étant toujours appliquées aujourd'hui. Ces pratiques varient largement, en accord avec l'héritage social et culturel des différents pays (Sofowora, 2010).

3. Phytothérapie

3.1. Historique

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales (Lopez et al., 2006).

La médecine par les plantes, autrement appelée phytothérapie, est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles. L'usage des simples plantes pour remédier à un mal remonte à l'aube de l'humanité. Il apparaît que l'homme a compris très tôt tout ce que le monde végétal pouvait lui apporter, non seulement pour se nourrir et se vêtir mais encore pour se soigner ou se concilier les forces de la nature (**Verbois, 2015**).

L'usage thérapeutique des plantes médicinales remonte en Afrique, aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était présente, depuis des millénaires (**Fadi, 2011**).

Le continent africain est doté de la plus riche biodiversité dans le monde, avec beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (**Khia et al., 2014**).

Encore aujourd'hui de nombreuses médecines traditionnelles reposent sur l'utilisation des plantes et l'OMS estime que 70 % de la population mondiale les utilise encore de façon prédominante pour leurs vertus thérapeutiques. En effet on remarque que tout au long de l'histoire de la médecine la phytothérapie s'est imposée comme un atout essentiel. Ainsi des plantes ont été retrouvées dans une sépulture préhistorique de plus de 60 000 ans (**Guilhem, 2017**).

3.2. Définition

La phytothérapie est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes...) (**Lakhdar, 2015**). Pour le traitement et la prévention des maladies ou pour la promotion de la santé (**Bouzouita, 2016**).

La phytothérapie fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces (**Strang, 2006**). On peut la distinguer en deux types de pratiques :

La Phytothérapie traditionnelle relève du concept philosophique voire de l'idéologie pour certains, ou trouve sa justification dans l'empirisme pour d'autres, c'est la forme de phytothérapie la plus controversée. Les plantes médicinales représentent depuis des siècles le

plus important réservoir thérapeutique. En l'absence d'outils scientifiques, un ensemble de connaissances s'est constitué par l'observation et par l'expérience.

La Phytothérapie moderne avec l'avènement de la chimie moderne, l'étude des plantes médicinales a permis de déterminer les mécanismes d'action régissant les propriétés thérapeutiques concédées par l'usage traditionnel, et a également ouvert la voie à l'utilisation de produits d'extraction ou de synthèse. Ces derniers révélant une activité à la fois plus importante et reproductible, là où les plantes médicinales avaient pu présenter de plus grandes variabilités d'efficacité qualitativement et quantitativement. Ainsi, les plantes médicinales en tant qu'outils thérapeutiques ont alors été peu à peu reléguées au statut de simples matières premières au profit de l'utilisation de principes actifs purifiés, hémi-synthétisés ou synthétisés (Jorite, 2015).

3.3. Types

La phytothérapie en globe :

- **Aromathérapie** est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques sécrétées par de nombreuses familles de plantes.
- **Gémothérapie** se fonde sur l'utilisation d'extraits alcooliques et glycéринés de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules appartenant à environ 60 plantes différentes.
- **Herboristerie** correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. Après être tombée en désuétude, elle est de nos jours reprise en considération. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fleur, fruit, racine). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations sont bues ou inhalées, appliquées sur la peau ou ajoutées à l'eau d'un bain. Elles existent aussi sous forme plus moderne de gélules de poudre de plantes sèches, que le sujet avale. Cette présentation a l'avantage de préserver les principes actifs.
- **Homéopathie** fait recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive : les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- **Phytothérapie pharmaceutique** utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés comme toute autre spécialité pharmaceutique sous forme de sirop, de gouttes, de suppositoires, de gélules, de lyophilisats.

- **Phytothérapie chinoise** fait partie d'un ensemble appelé « médecine traditionnelle chinoise » qui inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Cette phytothérapie vise à modifier les quantités de différentes énergies ou le circuit de ces énergies dans l'organisme (**Strang, 2006**).

3.4. Avantages

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins. Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y'a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé. En effet, sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (**Zeghad, 2012**).

Les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques (**Iserin et al., 2001**).

3.5. Phytothérapie en Algérie

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qu'elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé.

Durant ces dernières années, la phytothérapie est très répandue, et les herboristes sont partout sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie. Ils prescrivent des plantes et des mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables (**Mahmoudi, 1992**).

4. Plante aromatique

Il s'agit de plantes utilisées pour l'arôme qu'elles dégagent grâce à la présence d'arômes dans les tissus constitutifs.

Les aromates sont des substances d'origine végétale exhalant une odeur pénétrante et agréable. Cette définition assez vague permet certainement de classer parmi les plantes aromatiques les herbes odoriférantes de nos jardins (aneth, cerfeuil, romain, thym, sarriette, laurier, basilic, etc.) ainsi que les épices (poivre, cannelle, girofle, coriandre, muscade, etc.) (**Mazoyer et al., 2002**).

Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions (**Makhloufi, 2011**).

5. Plantes médicinales

5.1. Généralité

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Makhloufi, 2011**).

L'Algérie est un pays très riche en plantes médicinales qui poussent généralement à l'état spontané (**Boutabia et al., 2016**). Il présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (**Makhloufi, 2011**).

5.2. Définition

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

Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales (**Sofowora, 2010**).

Les plantes médicinales sont récoltées dans les champs et les forêts du monde entier. Leur action thérapeutique n'est qu'un aspect de la relation généreuse entre l'univers végétal et la vie animée de la planète.

L'emploi des plantes à des fins médicinales remonte à la préhistoire et s'est perpétué pour tous les peuples. De nombreuses médecines modernes utilisent des composants découverts dans les plantes et bon nombre de médicaments actuels sont issus de matériaux végétaux (**Chevalier, 2007**).

5.3. Conservation des plantes médicinales

Pour conserver les plantes, les débarrasser des parties mortes puis les faire sécher dans un lieu aéré (les racines séchées à l'air et conservées à l'abri de l'humidité), fleurs, feuilles et semences doivent être desséchées étendues sur des claies ou suspendues en petits paquets isolés (**Beloued, 2001**).

Une fois séchées, les plantes se conservent plusieurs mois (environ un an) dans un pot en verre teinté ou dans un sac en papier kraft (**Iserin et al., 2001**).

5.4. Actions des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Fadi, 2011**).

5.5. Principes actifs

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant un effet thérapeutique soient connus ou non (**Chabrier, 2010**).

5.6. Efficacité des plantes entières

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" (**Iserin et al., 2001**), qui désigne l'ensemble des constituants de la plante supposés actifs, agissant en synergie et par complémentarité pour moduler, modérer ou renforcer l'activité de la drogue. La plante dans son totum présente des potentialités d'action très variées, pour un résultat plus sûr, plus complet sur le terrain du malade plutôt que des extraits obtenus en laboratoire (**Chabrier, 2010**).

Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (**Iserin et al., 2001**).

1. Généralité

Rosmarinus officinalis L., fut partie des plantes médicinales qui sont en usage depuis l'antiquité et qui, au travers des siècles, a su garder une place dans l'inventaire des remèdes des tradipraticiens de tout le bassin méditerranéen (**Hoefler, 1994**).

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) est une plante médicinale, il est intéressant de connaître ses vertus thérapeutiques, afin de remplacer les produits synthétiques par des molécules bioactives qui sont à base de plante (**Mouas et al., 2016**).

Le romarin est en effet considéré comme une plante tonique, revigorante, stimulante autant de vertus que reflète sa saveur aromatique bien particulière (**Iserin et al., 2001**).

2. Historique

Le romarin est connu depuis longtemps pour ses vertus médicinales, notamment des Grecs et des Romains. Ces derniers en faisaient des couronnes d'où le nom arabe ikلیل al-jabal (couronnes de montagne) traduit du latin. Au moyen âge, il connut un grand prestige comme médicament des paralysies. L'eau de la reine de Hongrie, célèbre au XVII^e siècle parce que la reine Isabelle de Hongrie, gouteuse et paralytique, l'utilisait comme eau de jouvence, n'était rien d'autres que de l'alcoolat de romarin. C'est aussi un condiment des grillades (**Fadi, 2011**). Le romarin est plusieurs fois décrit comme étant "la panacée de l'Afrique du Nord".

il est cité au XVII^e siècle par Abderrazzaq Eddjézairi (1874) en Algérie (**Hoefler, 1994**).

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'exams (**Iserin et al., 2001**).

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. Dénominations botanique

4.1. Appellation internationale

A l'échelle internationale le romarin est connu sous plusieurs appellations :

Français : encensier, herbe aux couronnes, romarin, romarin officinal.

Anglais : rosemary.

Allemand : Rosmarin.

Espagnol : romaní, romero, romé, romero comun, rosmario.

Italien : osmarino, ramerino, rosmarino, usmarino (Goetz, 2012).

4.2. Nom vernaculaire arabe

Le romarin est aussi bien connu sous plusieurs noms vernaculaires arabe dont : Eklil, Klil, Hatssalouban, Hassalban.

4.3. Nom targui ou berbère

Chez les berbères de l'Afrique du Nord le romarin est connu sous plusieurs nominations : Iazir, Aziir, Ouzbir, Touzala (Beloued, 2001).

4.4. Autres appellations

Les autres appellations du romarin retrouvées par le monde sont : Herbes aux couronnes, encensier, herbes des troubadours (Kothe, 2007).

5. Définition

Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques (Gianmario et al., 2007) et une action sur le système nerveux (Gonzalez et al., 2007 ; Suzana et al., 2007). Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne (Jones, 1998;Thoresen, 2003). Le romarin, comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes. L'utilisation de ces molécules à base de plantes peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuels (Mouas et al., 2016).

C'est une Plante aromatique plantes très connue croît en abondance sur littoral méditerranéen, à feuilles persistantes et à fleurs bleues, utilisée pour ses propriétés médicinales et comme

plante ornementale de rocaille (espèce *Rosmarinus officinalis*, famille des labiées) (Mazoyer et al., 2002).

6. Description botanique

Le romarin est un arbustearomatique de la famille des labiées, touffu qui peut atteindre 1,25 m de hauteur, aux tiges dressées garnies de petites feuilles vert foncé étroites, pointues, persistantes mesurant 2cm de longueur sur 2mm de largeur aux bords légèrement enroulés, à fleurs axillaires de couleur bleue, et qui fleurit toute l'année principalement au printemps (Mazoyer et al., 2002).

La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril mai. Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base .Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tetrakène (de couleur brune) (Zeghad, 2009).



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

Figure 01. *Rosmarinus officinalis* L.

7. Classification

7.1. Classification classique

La classification botanique classique du romarin est comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L. (Goetz, 2012).

7.2. Classification phylogénétique

La classification phylogénétique du romarin est la suivante :

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (Zeghad, 2012).

8. Répartition géographique

Le romarin est spontané dans les régions méditerranéennes, mer Noire, Californie (Goetz, 2012), Commun dans toute l'Algérie (Beloued, 2001). Où il croît dans les terrains calcaires, les lieux secs et arides du Midi, surtout au voisinage du littoral, en Corse il fleurit toute l'année. Il est souvent cultivé et subspontané (Goetz et Ghédira, 2012).

9. Culture

On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. C'est une espèce thermophile, Il apprécie les climats chauds, modérément secs. *R. officinalis* est cultivé dans les pays suivants qui l'utilisent pour la production d'huile essentielle : Algérie, France, Grèce, Italie, Maroc, Portugal, Russie, Espagne, Tunisie et Ex-Yougoslavie.

Il est fréquemment cultivé dans les jardins comme planté d'ornement; les feuilles sont utilisées comme condiment (**Hoefler, 1994**).

10. Récolte

De manière générale, la récolte d'une plante est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum, afin de pouvoir compter sur des effets utiles et constants (**Marion, 2017**).

La barre de coupe est placée à 30 cm du sol on ne récolte que de 12 à 18 mois après plantation, en pleine floraison, au printemps pour l'huile essentielle et en septembre – novembre pour l'herboristerie l'herbe est séchée rapidement puis on passe au crible pour n'obtenir que des feuilles et des fleurs (**Gilly, 2005**).

11. Partie utilisées

Les sommités fleuries et les feuilles. Les premières sont récoltées à la floraison puis séchées. Les feuilles persistantes, peuvent se récolter en toute saison ; une fois mondées, elles sont simplement mises à sécher (**Fadi, 2011**). On utilise le romarin en infusion ou sous forme d'huile essentielle, Teinture (**Chevalier, 2007**).

12. Propriétés

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

- Anti spasmodiques, diurétiques, hépatoprotectrices, soulagement des désordres respiratoires
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chimopréventives
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires et la prolifération des tumeurs cutanées
- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse
- Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (**Zeghad, 2009**).

13. Principes actifs

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont :

- ✓ **Les acides phénoliques** : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique.

- ✓ **Les flavonoïdes** : genkwanine, cirsimaritrine, ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline, apigénine (Zeghad, 2012).

14. Composition chimique :

La feuille contient des dérivés polyphénoliques, des flavones comme l'apigénine et la lutéoline, un alcaloïde la rosmaricina, et 2 à 4% d'acide urolique et d'autres dérivés triterpéniques, des tanins. L'huile contient des dérivés triterpéniques : 1,8- cinéol 32%, bornéol 18%, acétate de bornyle et camphre 12% (Gilly, 2005).

15. Composés phénoliques

15.1. Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Urquiaga et Leighton, 2000).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al., 2005), avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Urquiaga et Leighton, 2000).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et al., 2005).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle

des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (Macheix et al., 2005).

15.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont synthétisés selon les voies métaboliques suivantes :

A / La voie de shikimate

B / La voie de phénylpropanoïde

C / Et la voie de biosynthèse des flavonoïdes (Zeghad, 2012)

15.3. Principales classes des composés phénoliques

15.3.1. Acides phénoliques simples

A / Les Alcools hydroxybenzoïques

-sont dérivés de l'acide benzoïque

- ont une structure générale de base de type (C6-C1)

- et existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

B / Les acides hydroxycinnamiques

- dérivent de l'acide cinnamique

- ont une structure générale de base de type (C6-C3)

- existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques

-et les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

C / Coumarines

- Ils dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale.

- Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (Macheix et al, 2005).

15.3.2. Flavonoïdes

- Généralités

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

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (**Nijveldt et al., 2001**).

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (**Ghedira, 2005; Malešev et Kuntić, 2007**). Prés de 4000 flavonoïdes ont été décrits (**Medić-Šarić et al., 2004**).

- Structure

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Erdman et al., 2007**).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3- C6 (**Emerenciano et al., 2007**), en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (**Narayana, 2001; Malešev et Kuntić, 2007**).

- Classification

Les principales classes des flavonoïdes sont :

- . Flavones ;
- . Flavonols ;
- . Flavanols ;

- . Flavanones ;
- . Anthocyanidines ;
- . Isoflavones. (Narayana et al., 2001; Erdman et al., 2007).

- Localisation

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

- Distribution

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

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

15.3. Propriétés des flavonoïdes

15.3.1. Propriétés antibactériennes

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux

médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

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

15.3.2. Propriétés antivirales

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture, une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte
- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte
- au niveau la de réplication du virus et la synthèse des protéines virales
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte

L'activité antivirale des flavonoïdes contre HIV peut être liée directement par leurs effets sur les enzymes responsables de son réplication (HIV-1 reverse transcriptase ou HIV-1 integrase) par ailleurs d'autres flavonoïdes montraient une activité antivirale contre le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2 (Bylka et al., 2004).

Quercétine, apigénine, catéchine et hespéridine sont parmi les flavonoïdes caractérisés par leurs propriétés antivirales contre onze types de virus. Les flavonoïdes aglycones pourvus d'un groupement hydroxyle libre en C3 ont montré une bonne activité antivirale, les flavanes sont généralement plus efficaces que les flavones et les flavanones contre HIV-1 et HIV-2 (Tapas et al., 2008).

15.3.3. Propriétés anticancéreuses

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant

d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains (**Decloitre, 1993 ; Hertog, 1996**)

Des études montrent que certains flavonoïdes particulièrement ; lutéoline, quercétine, kaempférol, apigénine, taxifoline inhibent d'une façon marquée la lipogenèse des cellules cancéreuses, d'autres flavonoïdes sont plutôt capables d'induire l'apoptose. Certains flavanols (épigallocatechine-3-gallate) représentent des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses de prostate, ces effets sont corrélés avec leur capacité à inhiber les enzymes clés lipogéniques i.e. FAS (Fatty Acid Synthase) (**Brusselmans et al., 2005**).

Les travaux réalisés par Mahmoud *et al* (2000) in (**Depeint et al., 2002**) montraient que la curcumine permet de prévenir la formation des tumeurs spontanées induites génétiquement, ce même flavonoïde réduit l'apparition des tumeurs de la peau induites chimiquement. La quercétine et la rutine sont les deux flavonoïdes les plus conseillés pour prévenir l'apparition du cancer de l'appareil gastro-intestinal tandis que l'apigénine avec la quercétine ont la capacité à inhiber la phase de métastase. Toute fois Caltagirone et al (2000) in (**Depeint et al., 2002**) signalaient que l'inhibition des différents stades de développement de cancer est plutôt assurée par tous les flavonoïdes.

15.3.4. Propriétés anti inflammatoires

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (**González-Gallego et al., 2007**) d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (**Kim et al., 2004**).

15.3.5. Autres propriétés des flavonoïdes

Parmi les principales autres propriétés on cite souvent :

- Protection des plantes contre les radiations UV
- Ils sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales
- Agissent comme des pigments ou des Co-pigments
- Modulation de la distribution d'auxine

- Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire
- Régulation de l'élongation des tiges
- Interviennent dans la maturité des fruits
- Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Park et Cha, 2003 ; Subsamanian et al., 2007 ; Yang et al., 2008).

16. Huile essentiel

1 à 3 sa composition dépend fortement des chimiotypes ainsi que du degré de développement de la plante. ses principaux constituants peuvent être du 1,8- cinéole , de l' α -pinène du camphre , de l'acétate de bornyle, de la verbénone , du p-cymène , du myrcène ; ils peuvent être accompagnés de β -caryophyllène, de limonène, de linalol, de β -pinène, de sabinène, de l'alpha-terpinène, d' α -terpinéol et de terpinéol- 4 ; la présence d'octan-3-one est contestée (Blot et al., 2012).

17. Usages

Les indications thérapeutiques actuelles du romarin rassemblées ci-après font, pour la plupart, référence à son usage pratiqué en Afrique du Nord (Tunisie, Algérie, Maroc, Sahara Algérois). On tire plusieurs drogues de cette plante : huile essentielle, feuilles, sommités fleuries (Hoefer, 1994).

17.1. Usages en thérapeutique

L'Agence du médicament (ancien nom de l'actuelle Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé : ANSM) revendique en 1998, pour les sommités fleuries et les feuilles de Romarin, les indications thérapeutiques suivantes : traditionnellement utilisés par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulence ; pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive ; comme cholérétique ou cholagogue. Le Romarin, en usage local, a deux indications : il est traditionnellement utilisé en cas de rhume et de nez bouché et en bain de bouche pour l'hygiène buccale (Marion, 2017).

17.2. Usages agroalimentaires

Les feuilles et extraits de Romarin (y compris ceux dépourvus d'HE) ainsi que l'acide rosmarinique, l'acide carnosolique, le rosmanol et le carnosol sont utilisés dans l'industrie

agroalimentaire. En effet, ils servent d'antioxydant et de conservateur dans les charcuteries, les viandes, les produits alimentaires riches en graisses (**Marion, 2017**).

17.3. Usages culinaires

Le Romarin, grâce à ses propriétés apéritives et digestives, est aussi utilisé en tant qu'épice. En effet, son parfum résineux rappelant le Pin, sa saveur un peu amère mais très aromatique sont très appréciés. S'il est utilisé en grande quantité, son goût puissant peut dissimuler celui des autres ingrédients (**Marion, 2017**).

Le romarin est très utilisé en tant que condiment dans le bassin méditerranéen et en Angleterre pour aromatiser les viandes (poulet, canard, lapin, veau, agneau), les poissons, les ragouts, les soupes et les légumes (pommes de terre, aubergines,...). Il existe du miel spécialement produit à partir du nectar des fleurs de romarin. Ce miel très parfumé est appelé "Miel de Narbonne" ou miel de romarin (**Hoeffler, 1994**).

17.4. Usages en cosmétique

L'huile essentielle de romarin entre dans la composition de nombreux parfums (**Hoeffler, 1994**).

Les extraits de romarin entrent dans la composition de lotions capillaires et de bains aromatiques.

L'huile essentielle sert également à aromatiser certains savons, eaux de Cologne, déodorants d'ambiance, pâtes dentifrices et huiles pour le corps (**Gilly, 2005**).

18. Précautions

Si les plantes sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste : mal dosée, l'éphédra est très toxique et la consoude, une plante qui a connu, jadis, son heure de gloire, peut avoir des effets fatals dans certaines circonstances.

Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités (**Iserin et al., 2001**).

Il est préférable d'éviter l'usage du Romarin de la fin de la journée au coucher (**Marion, 2017**).

19. Toxicité

D'après nos connaissances, aucune toxicité aigue ou chronique n'a été signalée pour l'emploi culinaire, aux doses usuelles, de feuilles de romarin ou de son huile essentielle

(Blot et al., 2012).

L'extrait alcoolique de Romarin et la poudre de la plante ne présente à priori aucune toxicité aiguë ou chronique **(Bruneton, 2009).**

L'utilisation traditionnelle du Romarin montre des effets possibles sur le développement de l'embryon ainsi que des épisodes abortifs. C'est pourquoi pendant la grossesse et l'allaitement, il est recommandé par l'Agence européenne du médicament d'éviter de prendre des produits à base de Romarin (hors usage alimentaire). L'emploi des feuilles et sommités fleuries de Romarin est à éviter chez les personnes ayant des antécédents d'allergie ou d'hypersensibilité aux composés de la famille des Lamiacées **(Marion, 2017).**

1. Généralité

Les aliments, les micro-organismes et les hommes ont vécu une longue et intéressante association, qui s'est développée bien avant l'Histoire écrite. Les aliments ne sont pas seulement une valeur nutritive pour ceux qui les consomment, ils constituent souvent des milieux de culture idéaux pour la croissance microbienne (**Prescott, 2010**).

Les aliments frais et périssables, sont rarement stériles, les micro-organismes contaminants sont potentiellement très variés et peuvent être classés en deux catégories selon leur origine « endogène ou exogène » (**Joffin et Joffin, 2010**).

La contamination se fait par l'environnement, par le manipulateur (très fréquent), parfois par un vecteur (insecte) (**Guiraud, 2012**). Elle étant presque toujours paucimicrobienne, elle ne représente qu'un risque potentiel qui ne devient risque réel qu'aux près la multiplication microbienne dans l'aliment.

Le rôle de l'aliment dans la transmission d'agent microbiens infectieux peut être :

Uniquement passif, l'aliment alors qu'un simple véhicule de micro-organismes.

Actif, c'est le cas général. L'aliment est le siège d'une multiplication des agents pathogènes avec ou sans production de toxines (**Joffin et Joffin, 2010**).

Les bactéries contaminent de nombreux produits alimentaires et peuvent constituer un grave danger pour leurs qualités et leur conservation (**Guiraud, 2012**). Ils étaient aussi de redoutables parasites, causant autrefois des épidémies gravissimes de maladies mortelles, rendant dangereuses toute blessure, toute intervention chirurgicale (**Dedet, 2007**).

Ces germes peuvent aussi dans certaines conditions se révéler dangereux pour la santé en étant responsables d'intoxications dues à la formation de substances toxiques (amines), ou même d'infection ou toxi infection intestinales bénignes (**Guiraud, 2012**).

2. Historique

Les micro-organismes existaient dès les premiers temps de l'histoire de notre planète au cours desquels ils ont contribué à la formation de divers milieux. Ils sont des acteurs essentiels de notre environnement et des éléments indispensables à la vie, il se trouve à l'origine de toutes les chaînes alimentaires, les micro-organismes furent aussi, et sont encore responsable de nombreuses maladies humaines, animales, ou végétales (**Dedet, 2007**).

Les maladies microbiennes jouèrent certainement un rôle majeur dans les événements historiques tels que la chute de l'empire romain et la conquête du nouveau monde.

En l'an 1347 une maladie de la peste frappa l'Europe avec une fureur brutale en tuant un tiers de la population, la maladie sévit encore, pendant les 80 années qui suivirent, tuant 75% de la population européenne, Même avant la découverte des micro-organismes, plusieurs chercheurs suspectaient l'existence et le rôle de ceux-ci dans les maladies (Prescott, 2010).

3. Définition

Un foyer de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) est défini par l'apparition d'au moins deux cas groupés d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter selon Haeghebaer et coll (1997) la cause à une même origine alimentaire.

Le diagnostic est d'abord clinique et la symptomatologie est fonction de l'agent responsable (Le Querrec, 2003).

Elles ont fait l'objet de nombreuses études, des suivis épidémiologiques et de recherche des sources (aliments incriminés) et des agents responsables (microorganismes et/ou leurs toxines). Ces suivis consistent à collecter lors de ces toxi-infections toutes les informations aussi exhaustives que possibles (INSP, 2010).

4. Toxines bactériennes

Les exotoxines, de nature protéique, très actives mais thermolabiles, excrétées généralement pendant la croissance et rencontrées essentiellement chez les Gram +. Au niveau alimentaire, les principales sont les entérotoxines Staphylococciques (*Staphylococcus aureus*), les toxines botuliniques (*Clostridium botulinum*) et les toxines de *Clostridium perfringens*. Ce sont des toxines typiques d'intoxications.

Les endotoxines, de nature plus complexe, glucidolipidoprotéiques, moins actives et thermostables, libérées par lyse des cellules et rencontrées surtout chez les Gram-.

Les principales sont l'entérotoxine cholérique (*Vibrio cholerae*) et l'endotoxine typhoïdienne (*Salmonella*). La toxinogénèse se fait pendant l'infection (Guiraud, 2012).

5. Principaux aliments incriminés dans la contamination alimentaire

Sont les viandes hachées, les charcuteries (y compris celles modérément salées : saucisses, pâtés), les œufs et leurs dérivés (crème pâtissière, crèmes glacées, mayonnaise), la volaille (contamination lors de l'éviscération).

Les oeufs sont contaminés lors du passage dans la partie finale de l'oviducte, commune avec les voies digestives et urinaire (cloaque). La contamination est normalement confinée à la coquille et la contamination des aliments se fait au moment du cassage de celle-ci. Néanmoins, les œufs sont généralement stérilisés lors de la préparation ou de la cuisson, sauf pour les œufs « mollets » ou « au plat ».

Les produits laitiers sont plus rarement impliqués, entre autres du fait de leur acidité, qui freine le développement des bactéries.

Les poissons sont rarement infectés, mais les préparations à base de poisson sont souvent incriminées dans les épidémies à cause de leur sauce. Les coquillages peuvent être contaminés par les déjections animales dans l'eau (Carip, 2008).

6. Facteurs favorisent la multiplication des germes impliqués

Il faut savoir que les germes sont présents partout, dans l'air, l'eau et le sol, même l'être humain est porteur de germes. Dans les aliments, les germes trouvent tous les éléments nécessaires pour leur développement.

De plus, d'autres facteurs favorisent leur multiplication, il s'agit de :

La température : (entre 20 et 40°C) constitue un facteur de risque élevé. C'est dans cette tranche de température que les micro-organismes pathogènes se développent, d'où l'importance du respect de la chaîne du froid (MDC).

Le temps : la multiplication des micro-organismes est d'autant plus importante que le délai entre la cuisson et la consommation de l'aliment est long que les matières premières stabilisées sont conservées plus longtemps (Joffin et Joffin, 2010).

L'atmosphère : l'absence d'oxygène favorise le développement des bactéries les plus dangereuses, si elles n'ont pas été détruites par la chaleur (MDC).

7. Maladies liées à la présence de germe pathogènes

Divers micro-organismes responsables de maladies graves peuvent être transmis par les aliments : il s'agit d'infections locales (tube digestif) ou générales, maladies essentiellement caractérisées par la prolifération du germe ou de toxi-infections avec une prolifération plus ou moins importante liée à libération de substances toxiques. L'apparition de la maladie infectieuse peut résulter de l'absorption d'un nombre très faible de micro-organismes ne peut être acceptée dans les aliments. Les micro-organismes le plus souvent incriminés sont *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Clostridium perfringens*. Parmi les autres micro-

organismes rencontrés, on trouve *Escherichia coli*, *Shigella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, etc (**Guiraud, 2012**).

Les signes cliniques de la maladie causée par ces bactéries sont alors liés à la production de toxines qui agissent localement sur l'épithélium ou à distance par diffusion sanguine et fixation sur des tissus ou organes cibles ou exfoliatine (**Babbott et Gordon, 1954**).

8. Les différents stades de l'infection :

Les différents stades de l'infection microbienne est comme suit :

- Contamination par ingestion ;
- Fixation au niveau de la muqueuse digestive (adhérence spécifique par glycocalyx) ;
- Pénétration au niveau d'une plaie (exceptionnel), par translocation naturelle (fréquence faible) ou par action spécifique ne pénètrent pas dans les tissus et agissent par action d'enzymes et de toxines : on les appelle germes entérotoxiques
- Prolifération localisée avec destruction des tissus : germes entéro-invasifs ou entéro-hémorragiques ;
- Et prolifération généralisée ou septicémie.

Au cours de la prolifération interviennent différents facteurs : envahissement simple (rare), activités enzymatiques néfastes, libération de toxines (souvent d'endotoxines), etc. Lorsque la composante toxique est importante, On parle de «toxi-infection».

Après la contamination, une période de latence plus ou moins grande se manifeste (quelques heures à quelques jours) avant l'apparition des premiers symptômes (**Guiraud, 2012**).

9. Statistique

La charge des maladies d'origine alimentaire est importante: chaque année, 1 personne sur 10 tombe malade et l'on comptabilise une perte de 33 millions d'années de vie en bonne santé. Les maladies d'origine alimentaire peuvent être graves, notamment pour les jeunes enfants.

Les maladies diarrhéiques sont les affections les plus courantes dues à des denrées alimentaires insalubres: 550 millions de personnes tombent malades chaque année, dont 220 millions d'enfants de moins de 5 ans (**OMS, 2018**).

En Algérie, le nombre total de foyers déclarés est plus de 82 foyers avec 2807

personnes touchées dont 5 décédées durant l'année 2011 (**Mouffok, 2011**). Cette année 2011 était caractérisée par une augmentation des TIAC par rapport à l'année précédente 2010.

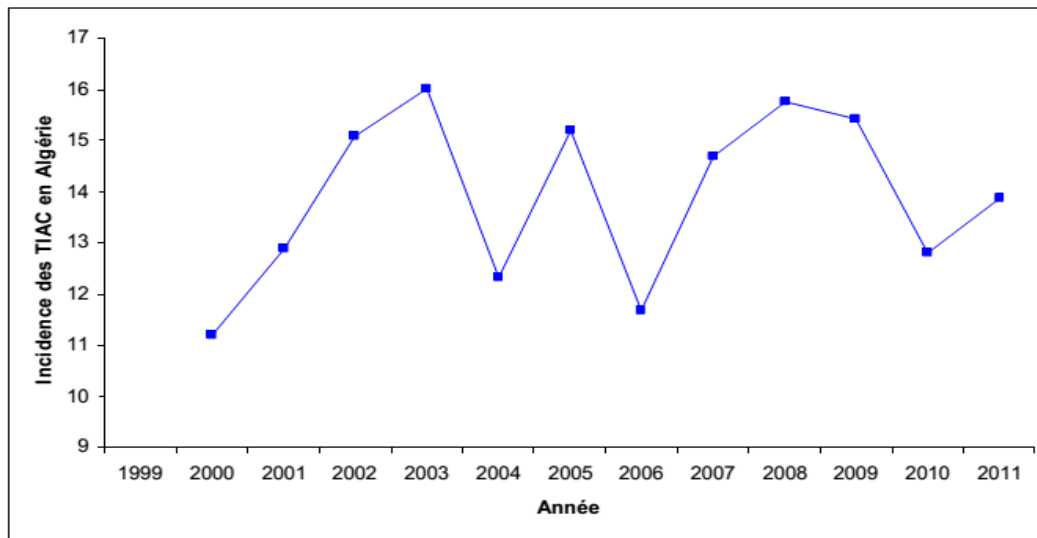


Figure 02. Incidence des TIAC en Algérie durant la période de 1999 à 2011.

(Source INSP).

En Tunisie, les 121 foyers de TIAC déclarés de Janvier 2010 à Novembre 2011, ont fait état de 1244 victimes (**Ziane, 2003**).

Au Maroc, en total 1070 cas de TIAC ont été enregistrés en 2011 (**Hammou et al., 2012**). Le nombre de cas réel est certainement en dessus de celui enregistré malgré l'existence d'un système de surveillance des maladies d'origine alimentaire adéquat (**FAO, 2005 ; FAO, 2005a**). Cela peut être dû aux contraintes techniques liées aux moyens de transport et de communication.

En France, 1153 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été déclarés en 2011, affectant 9674 personnes, dont 7 sont décédées. Le nombre de foyers déclarés en 2011 a augmenté de 12% par rapport à 2010. L'agent responsable le plus fréquemment incriminé ou suspecté était l'entérotoxine staphylococcique (33% des foyers), les salmonelles (17% des foyers) (**INSV, 2011**).

10. Eléments du diagnostic d'une toxi infection alimentaire (TIAC)

Le diagnostic d'une TIAC passe par cinq étapes successives :

- 1- Déterminer l'origine alimentaire d'une pathologie
- 2- Apprécier la date du repas suspect

- 3- Identifier d'aliment responsable
- 4- Orienter l'étiologie
- 5- Identifier l'agent pathogène par l'analyse microbiologique (**Joffin et Joffin, 2010**).

11. Prévention

La surveillance, le contrôle et la prévention des TIAC nécessitent une collaboration étroite entre les médecins, les vétérinaires, les épidémiologistes et les professionnels de la restauration collective et du secteur agro-alimentaire.

La déclaration se fait par l'intermédiaire d'un questionnaire anonyme qui adressée au médecin de la DDASS du département. L'ensemble des informations recueillies est analysé aux niveaux départementale national, une synthèse annuelle est diffusée dans le bulletin épidémiologique hebdomadaire (**Joffin et Joffin, 2010**).

La gestion d'une TIAC s'articule autour de trois actions :

- 1-la prise en charge des malades
- 2-des mesures d'urgence
- 3-une investigation épidémiologique au sein de l'unité (**Bacha, 2015**).

1. Généralité

La contamination des aliments par des agents microbiologiques constitue un problème de santé publique dans le monde entier. La majeure partie des pays ont mis en évidence un accroissement sensible, au cours des dernières décennies, de l'incidence des maladies dues à la présence de micro-organismes dans les aliments (**Birembaux, 2017**), dans l'environnement ou bien dans les matières fécales sont généralement présents en petit nombre et peuvent entrer en concurrence avec une flore saprophyte, abondante dans certaines matrices alimentaires (**korsak et al.,2004**).

Certaines micro-organismes sont très dangereux du point de vue sanitaire et peuvent causer des troubles graves chez le consommateur : ces germes strictement pathogènes sont dangereux même en faible quantité et en l'absence de développement ou de dégradation induite dans l'aliment (**Guiraud, 2012**).

Les infections d'origines alimentaires sont caractérisées par une multiplication des micro-organismes chez le malade parfois accompagnée de production de toxine (**Leyral et Vierling, 2007**).

Les risques encourus varient en fonction de nombreux paramètres : nature du micro-organisme, niveau de contamination (dose infectante), nature de l'aliment, état physiologique du consommateur (**Guiraud, 2012**).

Dans les aliments, le pourcentage de cas de TIAC imputables aux bactéries a été estimé à
Decouvert par pasteur en 30,2% (**korsak et al., 2004**).

2. *Staphylococcus aureus*

2.1. Historique

1880 dans le pus d'un furoncle, bien étudié par Ogston et Rosenbach, le staphylocoque doré est l'espèce type du genre. Il est souvent dénommé staphylococcus pyogènes par les auteurs anglosaxons (**Moustardier, 1972**).

2.2. Classification

Staphylococcus aureus est classé dans le regne microbien comme suit:

Domaine : Eubactéria

Phylum : firmicutes

Classe : bacilli

Ordre : bacillales

Famille : staphylococcaceae

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Delarras, 2007).

2.3. Caractéristiques structurales et physiologiques

2.3.1. Morphologie et structure

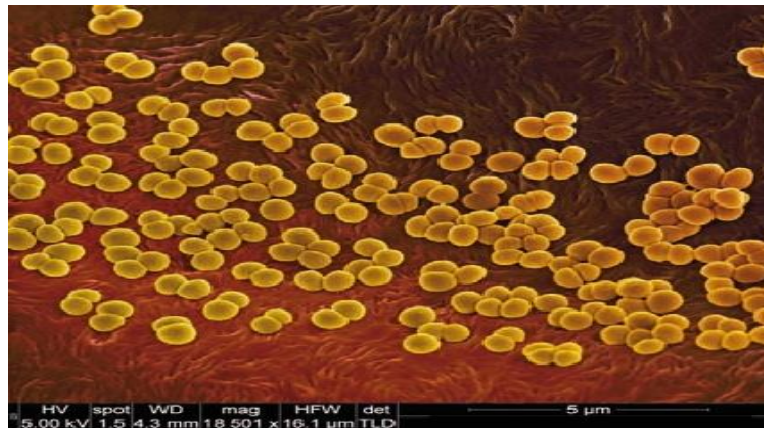
Les staphylocoques apparaissent à l'examen microscopique comme des cocci à Gram positif, bactéries sphériques de 0,8 à 1µm de diamètre (**Figure 3**), regroupés en diplocoques ou en petits amas (**Berche et al., 1988**). D'un point de vue macroscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de «staphylocoque doré » (**Accarias, 2014**).

Ils sont immobiles sporulés, habituellement sans capsule ces bactéries sont aero-anaerobies, à métabolisme respiratoire et fermentaire cultivent facilement en 24 heures sur milieux ordinaires. *S.aureus* peut être aussi isolé sur milieux sélectifs (milieu hypersalé de Chapman), utilisées pour les prélèvements plurimicrobiens.

Les colonies sont convexes, lisses (smooth) de 1 à 4 mm de diamètre. De nombreuses souches de *S.aureus* produisent un pigment jaune doré ou citrin, non diffusible (caroténoïde), sont hémolytiques sur gélose au sang. Toutes les espèces du genre *Staphylococcus* sont catalase positive.

L'espèce *S.aureus* est capable de fermenter le mannitol, et de produire des enzymes extracellulaires (staphylocoagulase, DNase).

Cette espèce est séparée en quatre biotypes (A, B, C, D) d'après des caractères enzymatiques métaboliques et lysotypiques (**Berche et al., 1988**).



(<http://cellimagelibrary.org/images/40593>).

Figure 03. *Staphylococcus aureus* (G x 18,501).

2.3.2. Biochimique

S. aureus est aérobic prédominant potentiellement anarérobie, halophile, mésophile (température optimale de croissance : 37°C). La température minimale de croissance est comprise entre 6 et 12° C (psychrophile). La production de toxines a lieu entre 10 et 48°C.

Le germe est neutrophile (pH optimal de croissance 7 et pH minimum de croissance 4). Il tolère une A_w basse, jusqu'à 0,83, ce qui est exceptionnel pour une bactérie (Carip, 2008).

Ces bactéries possèdent une activité catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase. Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol (Accarias, 2014).

2.3.3. Génomique

Le génome de *S. aureus* est constitué d'un chromosome circulaire unique d'environ 2,8 Mb à faible teneur en guanidine et cytosine (30 à 39 %) (Walev et al., 1995 ; Walev et al., 1996), classant *S. aureus* parmi les bactéries gram positives à faible GC%. En plus du chromosome, le génome de *S. aureus* peut présenter divers éléments génétiques mobiles comme des plasmides, des prophages issus de phages tempérés ou encore des éléments transposables tels que transposons, intégrons, séquences d'insertion, îlots de pathogénicité ou cassettes chromosomiques (Jonas et al., 1994).

2.4. Habitat

S. aureus est un germe ubiquitaire présent dans l'environnement et chez les animaux mais son habitat préférentiel est l'homme. Dans les heures qui suivent la naissance, *S. aureus* colonise la peau, l'ombilic, le tube digestif et le périnée du nouveau-né. Chez l'adulte, *S. aureus* est présent dans les zones cutanées humides et colonise surtout les muqueuses des fosses nasales et de l'oropharynx mais aussi le périnée. La peau, particulièrement celle des mains, est régulièrement colonisée (**Wertheim et al., 2005**).

2.5. Transmission

La transmission peut survenir d'homme à homme, d'animal à homme mais aussi par des objets contaminés, les aliments, la poussière, les vêtements, les squames (**Carip, 2008**).

Des épidémies de caractère nosocomial peuvent survenir même des toxi-infections alimentaires collectives (**Nauciel et al., 2006**).

2.6. Épidémiologie

Dans la population, *S. aureus* est présent dans plus de 40% des foyers et on dénombre environ 30% d'individus porteurs de manière asymptomatique. Cependant, la prévalence du portage nasal de *S. aureus* est très différente selon les pays et selon les individus (**Accarias, 2014**).

2.7. Facteurs de virulence

La plupart des constituants de la paroi sont impliqués dans la virulence de *S. aureus*. En plus des protéines de surface, la bactérie sécrète un panel de toxines et d'enzymes possédant chacune des caractéristiques bien définies, sans que leur rôle ne soit encore bien compris individuellement.

L'ensemble de ces protéines liées ou diffusibles contribue à la capacité de la bactérie à surmonter les défenses de l'hôte et à envahir, coloniser et survivre dans les tissus. Leur expression est donc étroitement régulée dans le temps (**Accarias, 2014**).

2.8. Pouvoir pathogène

Les manifestations pathologiques dues à *S. aureus* sont très nombreuses. Elles sont suppuratives, nécrotique ou entériques.

2.8.1. Suppurations localisées

On peut distinguer :

- Les infections cutanées : furoncle, abcès, panaris, anthrax, impétigo, staphylococcie maligne de la face, syndrome de la peau ébouillantée
- Les infections ORL diverses : sinusites, otites, mastoïdites
- Les infections des séreuses : arthrit, pleurésie, péritonite
- Les infections osseuses : ostéomyélite, spondylodiscite, infection sur prothèse
- Les infections viscérales : abcès de poumon, abcès du cerveau, phlegmon périnéphrétique.

2.8.2. Les septicémies et les endocardites

Elles peuvent être secondaires à n'importe quel foyer infecté, mais la fréquence des infections sur cathéter est à souligner. L'incidence des endocardites à *S. aureus* s'est accrue avec les prothèses valvulaires intracardaiques. Soulignons la gravité des endocardites du cœur droit chez les héroïnomanes. Les septicémies sont caractérisées par la fréquence des métastases par embolies septique. Malgré l'antibiothérapie, la mortalité reste élevée.

2.8.3. Les manifestations digestives

Les toxi-infections alimentaires surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment contenant l'entérotoxine staphylococcique thermostable. Elles sont caractérisées par des vomissements incoercibles chez un malade sans fièvre (**Fauchère et Avril, 2002**).

2.9. Diagnostic

L'isolement d'une souche de *S. aureus* dans produit pathologique (pus, sérosité, sang, LCR ou autre), prélevé avec une aseptie, est la base du diagnostic bactériologique d'une staphylococcie. Lorsque l'examen microscopique direct est réalisable, la mise en évidence de cocci à Gram positif disposés en amas témoigne d'une grande quantité de corps bactériens dans le prélèvement. L'isolement de la souche sur milieu de culture permet son identification précise et de réalisation d'un antibiogramme (**Fauchère et Avril, 2002**).

3. *Salmonella typhi*

3.1. Historique

C'est en 1885 que Theobald Smith sous la direction du Dr. Daniel Elmer Salmon pense découvrir l'agent causal du choléra en travaillant sur l'efficacité d'un vaccin bactérien chez le porc. Il s'agissait en fait d'une nouvelle es après *Salmonella* (**Henry, 2011**).

3.2. Classification

La classification bactérienne de salmonella est la suivante :

Domaine : Eubactéria

Phylum : Proteobactéria

Classe : Gammaproteobactéria

Ordre : Enterobacterales

Famille : Entérobactériaceae

Genre : *Salmonella*

Espèce : *Salmonella enterica*

Sous espèce : *enterica*

Sérotype : *typhi* (**Delarras, 2007**).

3.3. Caractéristiques structurales et physiologiques

3.3.1. Morphologique et structure

Les *Salmonella* sont des bactéries à Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae (**Grimond et Grimond, 1986**). Pourvues de flagelles péritriches, elles sont généralement mobiles mais certains sérovars sont immobiles, de 2 à 5 µm de longueur et de 0,7 à 1.5 µm de largeur (**Figure 4**). Ils sont non sporulés (**korsak et al., 2004**).

Ces bactéries se cultivent sur des milieux ordinaires à base d'extraits de viande. La plupart des salmonelles peuvent être cultivées sur milieu minimum, sans facteur de croissance. Cependant, quelques sérotypes sont auxotrophes pour certains facteurs de croissance (**Boukoucha, 2014**).



(<http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Student%20presentations/Salmonellatyphi/Salmonellatyphi.html>).

Figure 04. *Salmonella typhi*.

3.3.2. Biochimique

Les *Salmonella* sont des bactéries mésophiles peuvent se multiplier à des températures comprises entre 5 °C et 45 °C avec un optimum à 35 °C-37 °C et à des pH de 4,5 à 9 avec un optimum compris entre 6,4 et 7,5. La plupart des salmonelles peuvent se développer dans les aliments présentant une activité de l'eau (A_w comprise entre 0,945 et 0,999. Le potentiel d'oxydo-réduction peut aussi être un facteur déterminant dans la croissance de ce micro-organisme (D'Aoust, 1989). Les salmonelles possèdent un nitrate réductase. Elles sont capables de fermenter le glucose avec ou sans production de gaz (Le Minor et Genus, 1984).

Au sein de la famille des entérobactéries, il y'a des caractères Biochimiques qui permettent de différencier entre les espèces et les sous-espèces (Korsak et al., 2004).

3.3.3. Génomique

La taille du chromosome de *Salmonella* varie d'un sérotype à l'autre, elle est comprise entre 4,5 et 4,9 Mbp. Les séquences ADN des différents sérotypes sont relativement proches. En effet, la différence en nucléotides des gènes orthologues est comprise entre 3,8 et 4,6%. (Holt et al., 2009; Thomson et al., 2008).

3.4. Habitat

L'habitat des salmonelles est le tractus intestinal des humains et de la plupart des espèces animales à sang chaud et froid (Le Minor et, Popoff 1987). Comme mammifères domestiques ou sauvages, reptiles, batraciens, oiseaux. Certains sont classiquement sujets à un simple portage intestinal asymptotique : porcs, volailles. D'autres, comme les bovins (Joffin et Joffin, 2010).

3.5. Transmission

La contamination humaine survient à partir de trois sources majeures :

- L'eau
- Les aliments et notamment les viandes et dérivés et les œufs
- Les porteurs sains, qui contaminent par manque d'hygiène les surfaces ou les aliments (contamination interhumaine) (**Carip, 2008**).

3.6. Epidémiologie

3.6.1. Fièvre typhoïde

Les germes à l'origine des fièvres typhoïdes sont strictement humaines, et n'ont aucun pouvoir pathogène naturel pour les animaux. Près de 3 à 5 % des convalescents éliminent des salmonelles dans leurs selles sur des périodes de plusieurs mois.

Environ 50 % des porteurs finissent par se débarrasser des bactéries en un an. Les autres peuvent excréter des salmonelles pendant des périodes très prolongées. Dans les pays développés, on dénombre tout au plus quelques centaines de nouveaux malades par an avec une faible mortalité.

3.6.2. Toxi-infections alimentaires à salmonelles

Les salmonelles des gastro-entérites aiguës sont en fait très répandues chez de nombreux animaux. Le pourcentage des porteurs sains humains est très faible (inférieur à 0,1 p. 100).

Dans les pays développés, les salmonelles sont la cause de plusieurs dizaines de milliers de cas par an. Dans les pays en voie de développement, les salmonelles sont l'une des principales causes de mortalité infantile par déshydratation aiguë (**Berche et al., 1988**).

3.7. Facteurs de virulence

Les bactéries pénètrent dans la muqueuse intestinale, l'adhésion des bactéries à des récepteurs cellulaires spécifiques, la fixation des *salmonella* sur ce récepteur active une protéine-kinase, la phosphorylase A 2, et déclenche ainsi une série de réactions. Une vacuole d'endocytose se forme, les *salmonella* s'y multiplient, les bactéries sont prises en charge par les macrophages des follicules lymphoïdes et des ganglions mésentériques. Si elles sont éliminées, l'infection reste localisée et n'atteint pas le stade de septicémie. Dans le cas inverse les salmonella sont déversées dans le sang et sont responsables d'un épisode septicémique (**Joffin et Joffin, 2010**).

3.8. Pouvoir pathogène

Les salmonelloses peuvent revêtir trois aspects :

3.8.1. Formes septicémiques

Ce sont d'abord les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux sérotypes *S.typhi*, *S. Paratyphi A*, *B*, ou *C*. Elles sont caractérisées par une bactériémie avec fièvre, tufos et des signes digestifs.

3.8.2. Formes purement digestives

Les toxi-infections alimentaire à *Salmonella* se manifestent par des diarrhées, des vomissements et de la fivre. Les premiers signes surviennent 8 à 10 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. L'évolution de ces gastro-entérites est en règle générale spontanément favorable en deux ou trois jours. La mortalité est pratiquement nulle. Certains sujets guéris restent porteurs sains et éliminent des *Salmonella* dans leur selles.

3.8.3. Formes extra digestives

Elles sont plus rares : cholécystite, méningite, ostéomyélite, spondylodiscite, glomérulonéphrite, atteinte pulmonaire. Ces formes surviennent plus volontiers chez des maladies immunodéprimées (**Fauchère et Avril, 2002**).

3.9. Diagnostic

Le diagnostic de salmonellose nécessite l'isolement bactériologique des organismes à partir d'échantillons cliniques appropriés. L'identification en laboratoire du genre *Salmonella* se fait par des tests biochimiques, et des tests sérologiques. L'identification biochimique des salmonelles a été simplifiée par des systèmes permettant de tester rapidement 10 à 20 paramètres biochimiques différents simultanément. L'identification biochimique présumée de *Salmonella* peut ensuite être confirmée par analyse antigénique des antigènes O et H à l'aide d'antisérums polyvalents et spécifiques (**Giannella, 1996**)

4. *Escherichia coli*

4.1. Historique

En 1885, l'allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*, bactérie isolée à partir de selles de nourrissons, qu'il nomma tout d'abord *Bacterium coli* commune. Ce n'est que 70 ans plus tard que le nom d'*Escherichia coli* est réellement retenu en hommage aux travaux de T. Escherich (**Cowan, 1954**).

4.2. Classification

La classification microbienne d'*E. coli* est la suivante :

Domaine : Eubacteria

Phylum : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobactéria

Ordre : Enterobactériales

Famille : Entérobactériaceae

Genre : *Escherichia*

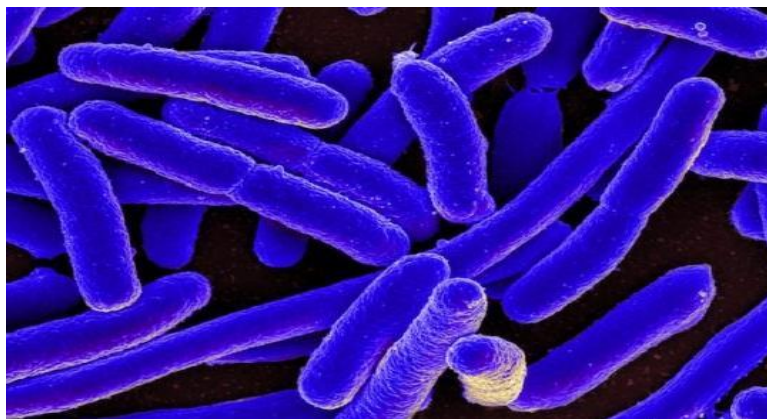
Espèce : *Escherichia coli* (Delarras, 2007).

4.3. Caractéristiques structurales et physiologiques

4.3.1. Morphologique et structure

Escherichia coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à Gram négative, non sporulés, Le genre *Escherichia* compte 5 espèces. L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (Diallo, 2013).

Le plus souvent mobile (péritriche) (Figure 5), Certains *E.coli*, immobiles de 2 à 3 µm de diamètre (Berche et al., 1988).



(<https://www.pourquoidocteur.fr/Articles/Question-d-actu/21642-Escherichia-Coli-bacterie-dangereuse>).

Figure 05. *Escherichia coli* (G x 9346).

4.3.2. Biochimique

Bactéries sont identifiées en pratique par les tests suivants : fermentation de lactose, du mannitol et du sorbitol ; production d'indole, présence d'une beta-galactosidase. Les caractères négatifs importants sont : l'absence d'uréase et de désaminases, l'incapacité de cultiver sur milieu synthétique au citrate, de produire du H₂S ou de fermenter le glucose en formant de l'acétoïne (**Berche et al., 1988**).

La température optimale de croissance est 37 °C mais la culture est possible entre 20 et 40 °C. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5.5-8) et ils sont assez tolérants à la variation de la pression osmotique (**Bossert et Young, 1986; Drame, 2001**).

4.3.3. Génomique

Le chromosome d'*E. coli* est constitué de 4,6 millions de paires de bases. Il comporte 4 300 gènes codant pour des protéines (**Blattner et al., 1997**). Le pourcentage en GC (48-52%) (**Prescott et al., 2010**).

Les différents gènes virulence acquis pendant l'évolution entraînent une grande diversité des pathologies induites. La bonne connaissance de son génome et sa grande souplesse ont fait d'*E. coli* l'outil le plus utilisé en génie génétique (**Carip, 2008**).

4.4. Habitat

E.coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme, il est présent à raison de 10⁷ à 10⁹ bactérie par gramme de selles (**Fauchère et Avril, 2002**).

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que leur présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation (**Carip, 2008**).

4.5. Transmission

La transmission directe est possible par contact avec des animaux infectés ou avec leurs déjections, mais aussi de personne à personne (transmission interhumaine féco-orale).

La principale voie de transmission est indirecte par consommation d'aliments d'origine animale ou végétale et d'eau de boisson contaminés par un environnement souillé le plus souvent par les matières fécales d'animaux infectés (**Birembaux, 2017**).

4.6. Épidémiologie

Les souches bactériennes responsables d'entérites sont transmises par ingestion. Les *E. coli* EPEC, responsables d'épidémies meurtrières de gastroentérites infantiles qu'il existe actuellement dans le tiers-monde (Brésil).

Les souches ETEC sont répandues dans tiers-monde. C'est l'un des agents le plus souvent responsable de toxi-infections alimentaires dans les pays occidentaux. Ces souches sont responsables de syndromes cholériques très graves aux Indes notamment. Elles sont rarement rencontrées en France. Les souches EHEC sont à l'origine d'épidémies de diarrhées hémorragiques en Angleterre et aux États-Unis. Enfin les souches EIEC sont rares en Occident, et surtout rencontrées en Amérique du sud et au Sud-Est asiatique.

On estime que 10 à 20 % des femmes sont susceptibles de développer une infection urinaire pendant leur vie (**Berche et al., 1988**).

4.7. Facteurs de virulence

Si l'univers des souches pathogènes d'*E. coli* apparaît aussi complexe aujourd'hui, c'est la conséquence de l'évolution très rapide, à notre échelle de temps, du monde bactérien, à la plasticité du génome des bactéries, en particulier *E. coli*, permettant des échanges permanents de matériel génétique, et aussi à la présence de nombreux gènes qui codent pour ces propriétés de virulence sur des structures génétiques mobiles, comme des plasmides, des transposons, des phages ou des îlots de pathogénicité (**Mainil, 2003**).

4.8. Pouvoir pathogènes

4.8.1. Infection urinaire

E. coli est la bactérie le plus souvent en cause dans les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses ou hautes. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. *E. coli* est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales.

4.8.2. Infection intestinale

E. coli peut être responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation.

4.8.3. Infection néonatale

Elle peut se traduire par une méningite ou une septicémie.

4.8.4. Infections diverses

E. coli est impliqué dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire : suppurations localisées ou septicémies. Il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales (Nauciel et al., 2005).

4.9. Diagnostic

Le test de virulence des isolats et le sérotypage sont irréalisables, sauf en cas d'épidémie. La confirmation est obtenue par sérotypage, identification sérologique d'un CFA spécifique sur des isolats, démonstration de la production de LT et identification de gènes codant pour ces facteurs de virulence (Doyle et al., 1996).

5. *Pseudomonas aeruginosa*

5.1. Historique

En 1862 Luke a observé pour la première fois des particules de forme circulaire dans un pus de coloration bleu-vert. Les mêmes observations ont été réalisées par Sedillot et quelques années plus tard en 1882, Gessard a isolé *Pseudomonas aeruginosa*. Il l'a appelé *Bacillus pyocyaneus*, du nom du pigment pyocyanique (la pyocyanine), diffusible dans le milieu extracellulaire et à l'origine de la coloration des cultures (Barakat, 2012).

5.2. Classification

Pseudomonas aeruginosa à été classée comme suit :

Domaine : Bactéria

Phylum : Proteobactéria

Classe : Gammaproteobactéries

Ordre : pseudomonadales

Famille : pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa* (Delarras, 2007).

5.3. Caractéristiques structurales et physiologiques

5.3.1. Morphologique et structure

P. aeruginosa est bacilles droits ou incurvés ; de taille 0,5 à 1 µm par 1,5 à 4 µm (**Figure 6**); non sporulés ; Gram négatif ; à flagelles polaires (mobile), ce genre est capable de synthétiser le film bactérien (**Assous et al., 1999**).

Il croit très facilement sur des milieux ordinaires, car il a très peu d'exigences nutritives. Les colonies de *P. aeruginosa* sont pigmentées en vert du fait de la production de deux pigments bleu hydrosoluble, et la pyoverdine insoluble dans le chloroforme, qui est un sidérophore. Certaines souches peuvent ne produire qu'un seul pigment et moins de 1% des souches ne produisent aucun pigment (**Berche et al., 1988**).

5.3.2. Biochimique

P. aeruginosa est aérobie strict, oxydase positive, catalase positive, indole négatif, Voges-Proskauer négatif (**Assous et al., 1999**). C'est une bactérie mésophile qui se développe de température allant de 4 °C à 45 °C. La température optimale de croissance se situe entre 30 °C et 37 °C. Elle tolère également des variations du pH dans son environnement. Elle dégrade un grand nombre de substrats carbonés, mais sa capacité d'adaptation lui permet de se développer en condition anaérobie en utilisant comme accepteur final d'électron le nitrate. Elle peut également convertir l'arginine en ornithine, générant de l'ATP (**Vasil, 1986**).

5.3.3. Génomique

Le premier génome de *P. aeruginosa* à avoir été séquencé est celui de la souche PAO1 en 2000. Il est constitué de 6,3 millions de paires de bases et renferme 5570 gènes prédits (**Stover et al., 2000**). Leur génome varie de 5,5 à 7 Mpb, le pourcentage en GC est 58 – 70 % (**Prescott et al., 2010**).

Le génome de *P. aeruginosa* se divise en deux parties (**Kung et al., 2010**).

- Un « génome coeur », conservé par toutes les souches de *P. aeruginosa*, il représente 90% du génome.
- Un génome accessoire, spécifique à chaque souche de *P. aeruginosa*, qui détermine souvent la virulence de la bactérie. Il est réparti en différentes régions insérées dans le « génome coeur », appelées « îlots de pathogénicité ».

Ces îlots proviennent principalement d'éléments d'ADN mobiles qui sont insérés dans le génome par transfert horizontal (**Moradali et al., 2017**).

5.4. Habitat

L'espèce *P. aeruginosa* est ubiquitaire dans l'environnement et peut être commensale du tube digestif. Dans l'environnement, elle est trouvée dans le sol, dans l'eau, à la surface des plantes et des animaux. En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est parfois retrouvée dans les solutions aseptiques et sur les instruments (**Wolfgang et al., 2003**).

5.5. Transmission

La transmission peut être réalisée suite à une :

A. Infection endogène

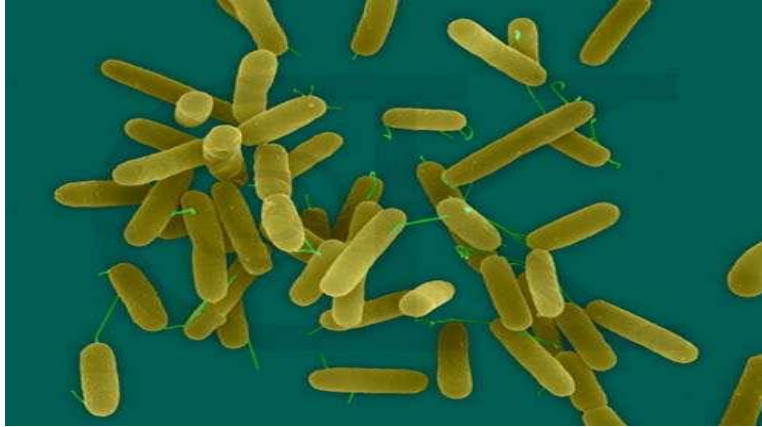
Elle se développe à partir d'un micro-organisme appartenant à la flore du patient. Elle fait essentiellement suite à des actes invasifs : ponction, accès vasculaire, accès urinaire ... etc.

B. Infection exogène

Se fait par contact direct : met en jeu deux surfaces corporelles entre le sujet contact et le sujet source, ou indirect : fait intervenir un intermédiaire inanimé ou animé. Soit par les vecteurs communs (cette contamination concerne l'eau, l'alimentation, les médicaments). Ou par l'air (**DGS, 2006**).

5.6. Épidémiologie

En raison de sa résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques *P. aeruginosa* est souvent responsable d'infection nasacomiales. Ces infections peuvent, par leur nombre, revêtir une allure épidémique. C'est pourquoi il est nécessaire, dans ces situations, de typer les souches isolées pour déterminer si elles diffèrent entre elles (c'est alors une pseudo-épidémie), ou s'il s'agit de la diffusion épidémique d'une même souche (**Fauchère et Avril, 2002**).



(www.pseudomonas.com).

Figure 06. *Pseudomonas aeruginosa* (G x 2,400).

5.7. Facteurs de virulence

La pathogénie de *P. aeruginosa* est attribuée à la production d'un vaste arsenal de facteurs de virulence (membranaires et extracellulaires) agissant à différents niveaux au cours de l'infection, lui permettant de survivre aussi bien dans différents hôtes que dans l'environnement. Ces facteurs de virulence sont impliqués dans les différentes étapes du processus d'infection et permettent ainsi à *P. aeruginosa* de coloniser son hôte (**Ben Haj Khalifa et Moissenet 2003**).

5.8. Pouvoir pathogène

Les bactéries n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries.

Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez les malades ventilés), oculaires (kératite ou endophtalmie) ostéo-articulaires. Elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou postopératoires, provoquer des otites externes, des septicémies (en particulier chez les neutropéniques), des endocardites (chez les toxicomanes) (**Nauciel et al., 2006**).

5.9. Diagnostic

Le diagnostic de *P. aeruginosa* dépend de son isolement et de son identification en laboratoire. Il pousse bien sur la plupart des milieux de laboratoire et est généralement isolé sur des plaques de gélose au sang ou sur de la gélose à l'éosine-méthylthionine bleue. Il est identifié sur la base de sa morphologie Gram, de son incapacité à fermenter le lactose, d'une

réaction positive de l'oxydase, de son odeur fruitée et de son aptitude à croître à 4 ° C. La fluorescence sous rayonnement ultraviolet aide à l'identification précoce des colonies de *P. aeruginosa* et est également utile pour suggérer sa présence dans les plaies (**Lglewski, 1996**).

1. Objectif

L'étude a porté sur l'effet antimicrobien des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* extrait au méthanol aqueux vis-à-vis des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) responsable de toxi infections alimentaires.

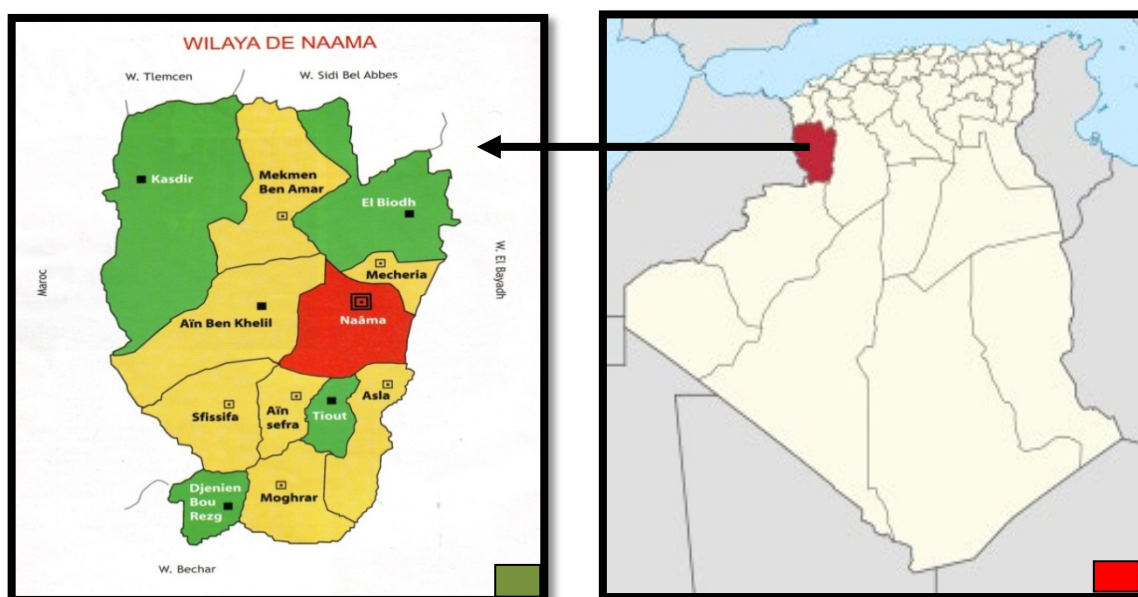
2. Matériel


2.1. Matériel végétal

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

2.1.1. Prélèvement

Les parties aériennes de la plante ont été récoltées aléatoirement de la région de Naama-Algérie (**Figure 07**). Elles ont été prélevées le mois de Février 2019 sur site situé à Ain sefra Morghad à 24 Km de longitude et à 2135 m de latitude.



 (https://fr.wikipedia.org/wiki/Wilaya_de_Na%C3%A2ma).


 (<http://www.dcwnaama.dz/index.php/wilaya-de-naama-2/presentation>).

Figure 07. Région de récolte de l'espèce végétale *Rosmarinus officinalis*.

2.1.2. Conservation

La partie aeriene de la plante constituée de feuilles fleurs et de petits rameaux a été triée, séparée et séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant une dizaine de jours à la température dchambre (**Figure 08**).



Figure 08. Parties aeriennes de *Rosmarinus officinalis* (Romarin).

Après séchage, le matériel végétal (feuilles) a été broyé séparément en poudre fine à l'aide d'un broyeur à lames de cuisine.

La poudre ainsi préparée a été emballée et conservée, jusqu'à son utilisation ultérieures dans des bocaux hermétiques à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité ainsi que de la lumière afin d'éviter toute réaction chimique pouvant entraîner des modifications au niveau des principes actifs présents dans la poudre de la plante étudiée.

2.2. Matériel du laboratoire utilisé

- **Verreries et consommables :** Béchers, tubes à essais, pipette pasteur, fioles, erlenmeyers, flacons, entonnoir, verre de montre, papier filtre stérile, écouvillons, anse à platine, disques en papier Whatman stérile (6mm), bec bunsen et boîtes de Petri.
- **Solvants et Réactifs :** Méthanol, eau distillée, eau physiologie et Gentamicine.
- **Milieux de culture utilisés :** Gélose Muller Hinton, et bouillon Muller Hinton.
- **Appareils utilisés :** pH mètre, balance, rota vapeur, autoclave, étuve, Agitateur-plaque chauffante, bain marie, spectrophotomètre et pompe à vide.

3. Méthode

3.1. Souches microbiennes utilisées

Les bactéries de référence qui ont été testées pour déceler l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-méthanolique magnétique de *Rosmarinus officinalis* sont *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella typhi* (ATCC), *Escherichia coli* (ATCC 25922), et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), prévenant de l'institut pasteur d'Alger-Algérie.

3.2. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (bouillon Muller Hinton).

3.3. Méthode d'extraction

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

L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage d'un solvant polaire à savoir le (méthanol).

Chaque échantillon de broyat de matière végétale de 10 g a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v).

L'extraction a été effectuée sous agitation continue et à température ambiante durant 06 heures. La durée de l'extraction a favorisé ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et a permis une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

L'extrait a été filtré en utilisant un papier filtre (Whatman n°= 3) ayant une porosité de 0,3µm. Après filtration, la solution a été ensuite concentrée par évaporation sous vide à 40 °C dans un rota vapeur (Figure 09), en vue d'éliminer totalement le solvant d'extraction.

L'extrait pur riche en composés bioactifs récupéré, a été enfin dilué à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement (Figure 10).



Figure 09. Étape d'évaporation sous vide du solvant et de récupération de l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis*.

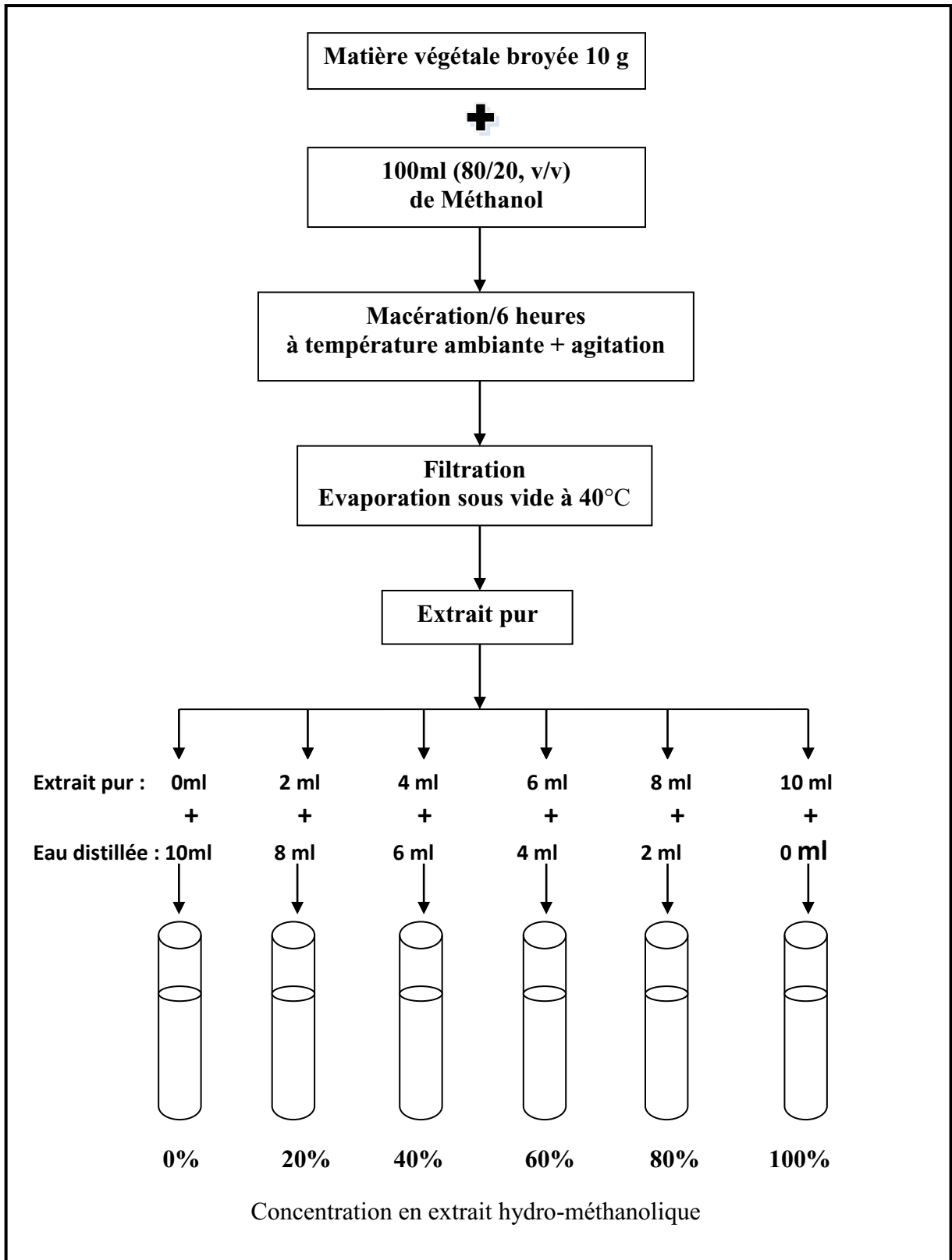


Figure 10. Méthode d'extraction des principaux composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis*. (Sultana et al., 2009).

3.4. Activation des inoculas microbiens

Chaque espèce microbienne a été tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une prise d'une colonie est tout d'abordensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif MH liquide, puis incubée à 37°C durant 03 heures.

3.5. Méthode de contact direct

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

A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue la solution mère d'une espèce de bactérie donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées, allant à 10^{-5} pour chaque espèce.

Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (**Figure 11**).

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

3.6. Méthode des disques de diffusion sur gélose

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n°= 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave. Une colonie de chaque espèce microbienne étudiée prélevée du milieu gélosé MH de culture après activation a étéensemencée dans 10 ml de bouillon MH, ce mélange constituera la solution mère. Des prises de volume de 0,2 ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Petri contenant le milieu gélosé MH solide. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque extrait des plantes obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Petri contenant le milieu gélosé MHensemencé à un germe test donné (**Prescott et al., 2003**).

La lecture des diamètres d'inhibition a été après incubation des boîtes de Petri à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'un pied à coulisse (**Guignar, 2000**) (**Figure 12**).

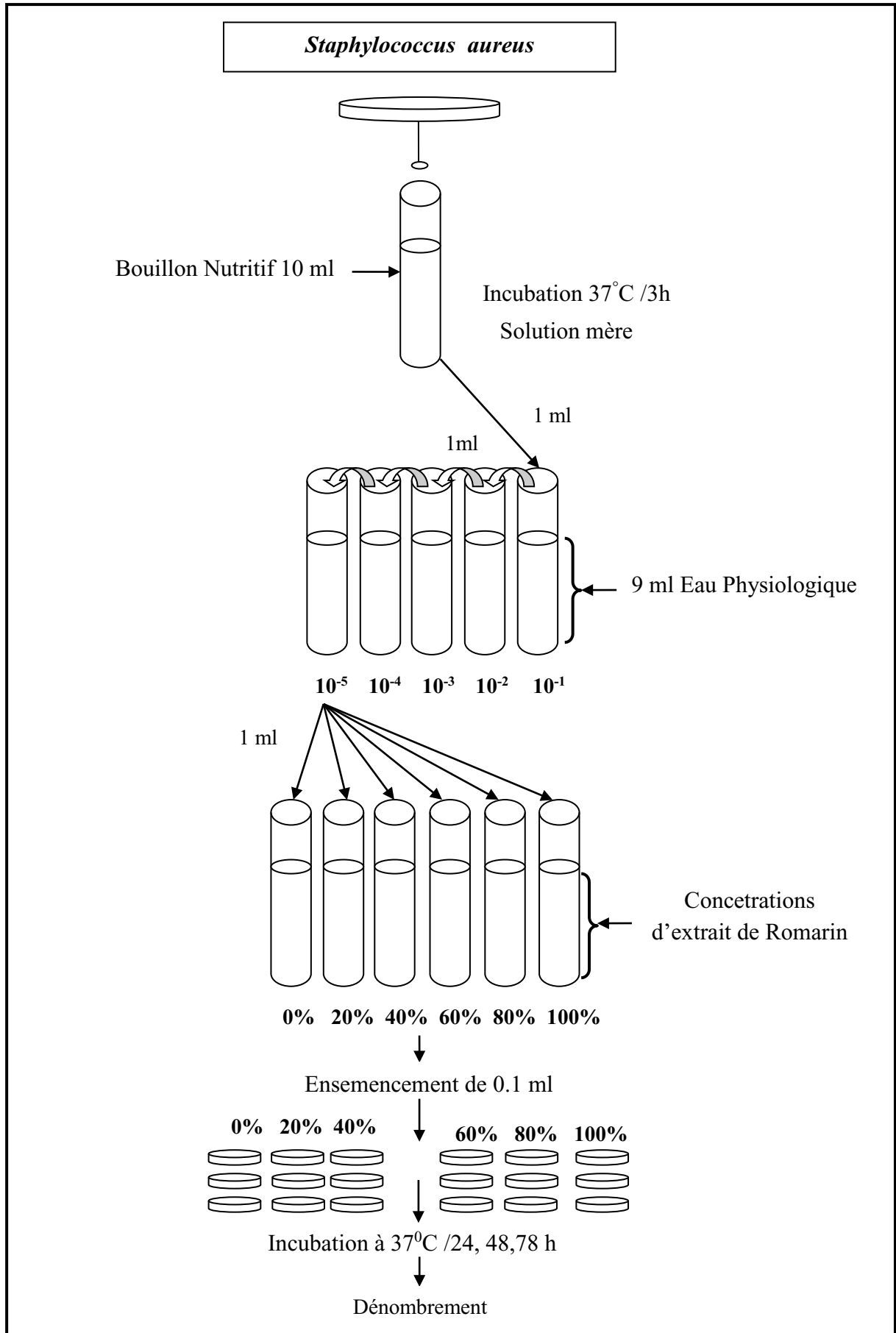


Figure 11. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)

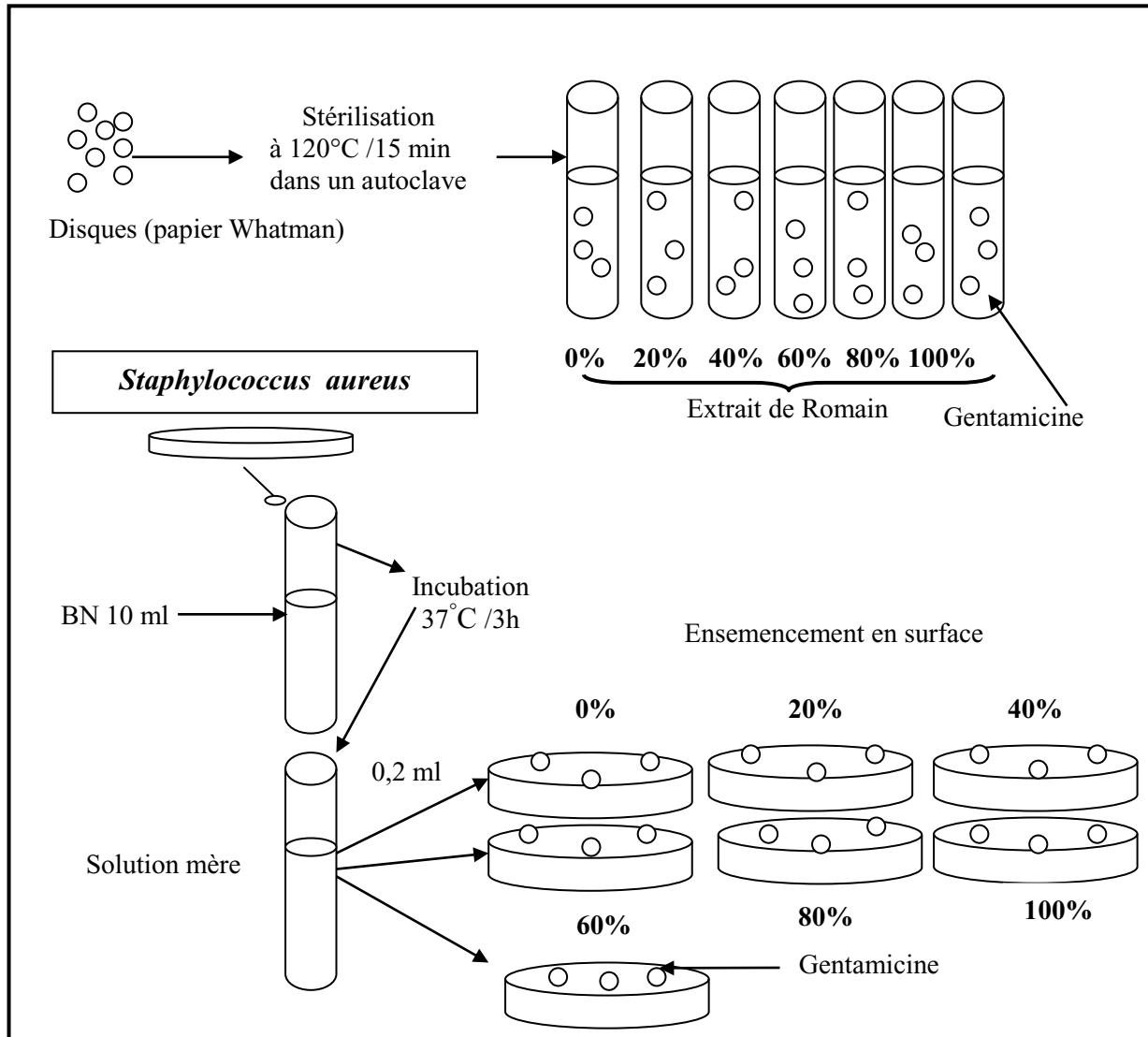


Figure 12. Méthode des disques de diffusion sur gélose (Prescott et al., 2003)

3.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

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

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs de l'extrait de la matière végétale de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) obtenu par extraction qui est utilisé pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germes étudiés responsables de toxi-infections alimentaires.

Ainsi, des prises à raison d'une colonie jeune de chaque germe étudié prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon MH ont été incubées pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inoculas. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum ont été introduites

respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum d'une bactérie pathogène ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures (**Moroh et al., 2008**).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI a été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspond donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur d_i est égale à d_f ($d_i = d_f$).

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

$$s = \frac{d_f - d_i}{D_f - D_i}$$

-S : Taux de survie du microorganisme en %.

- $d_f - d_i$: Différence de densité optique dans une solution d'extrait phénolique de romarin ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

- $D_f - D_i$: Différence de densité optique dans la solution d'eau distillé sans extrait de la plante avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (**Kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007**).

3.8. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

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

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} , cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme test. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum bactérien, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspond à la CMB (**Figure 13**).

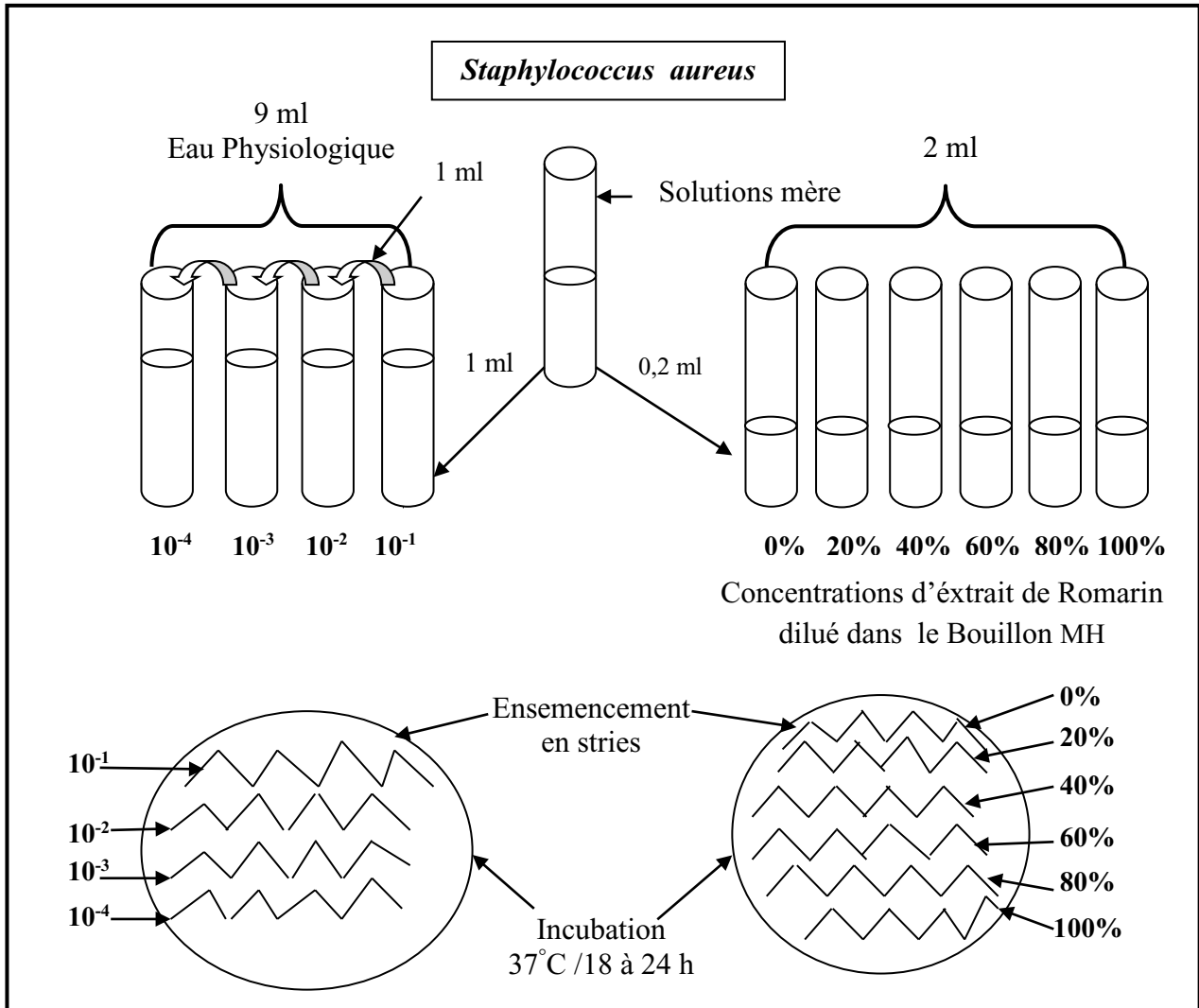


Figure 13. Détermination de la concentration minimale bactéricide

4. Traitement statistique

Les résultats ont subi une analyse de la variance monofactorielle en randomisation, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Les données ont été traitées par usage d'un logiciel statistique disponible au laboratoire de technologies Agroalimentaires et Nutrition à savoir le STAT BOX 6.4.

Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes suivies de leurs écarts types correspondants, avec un nombre de répétition n égale à 3.

L'effet du traitement étudié sur les variables mesurées a été déterminé aux deux seuils de probabilités, $P < 0,05$.

1. Résultats :

1.1. Test de croissance des germes pathogènes

Les effets de l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* préparé à différentes concentrations sur la croissance des germes étudiés (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) sont illustrés dans la (Figure 14 et le Tableau1).

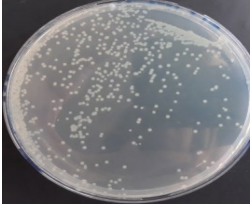

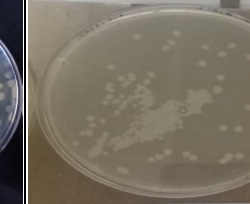
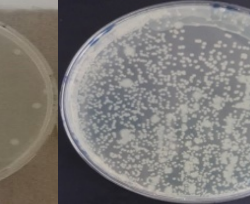


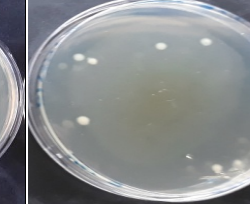
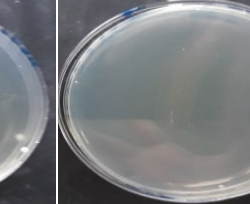
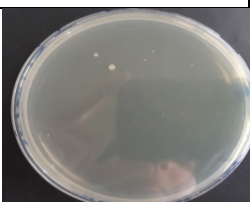
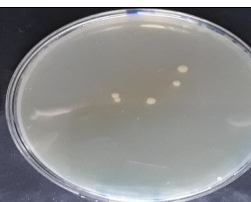
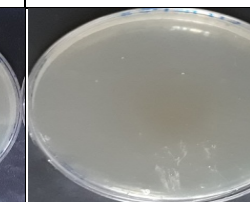
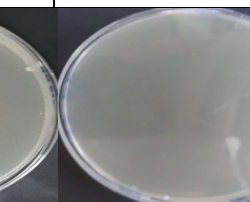



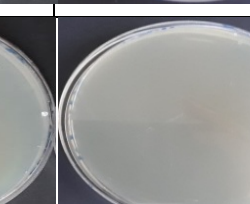
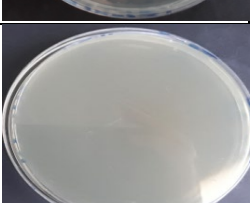
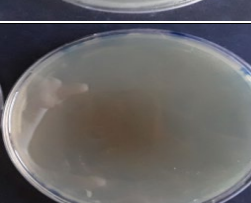
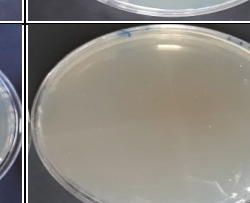
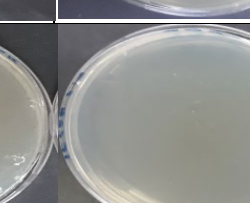
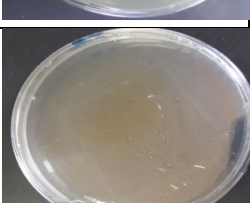
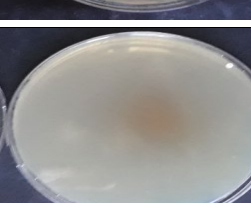
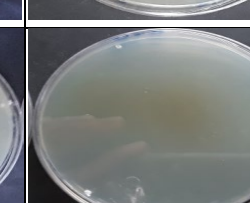
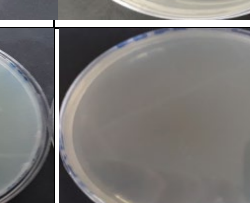
Concentrations en extrait de romarin	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
0%				
20%				
40%				
60%				
80%				
100%				

Figure 14. Méthode de contact direct d'évaluation d'extrait de *Rosmarinus officinalis* chez certains germes pathogènes.

Apparemment, plus la concentration en extrait hydro-méthanolique de la plante est élevée plus la croissance des germes testés est abaissée d'une manière significative ($P < 0,01$).

Ainsi, l'extrait préparé à 60% a engendré une totale inhibitrice des germes *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*.

En revanche, la prolifération de *Pseudomonas aeruginosa* a été totalement freinée avec l'extrait méthanolique de romarin préparé à une concentration faible de 20%.

Tableau 1. Effet des concentrations d'extrait phénolique hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de Romarin
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml)	200×10^{5a}	210×10^{4b}	43×10^{4b}	0^b	0^b	0^b	$P < 0,01$
<i>Salmonella typhi</i> (UFC/ml)	143×10^{5a}	95×10^{5b}	133×10^{3c}	0^c	0^c	0^c	$P < 0,01$
<i>Escherichia coli</i> (UFC/ml)	236×10^{5a}	110×10^{4b}	33×10^{3b}	0^b	0^b	0^b	$P < 0,01$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/ml)	238×10^{5a}	0^b	0^b	0^b	0^b	0^b	$P < 0,01$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions $n = 3$; $P < 0,01$: effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis*) ; $P < 0,05$: effet significatif du facteur étudié ; $p > 0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. ; groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.2. Taux de croissance des germes pathogènes

A 40% d'extrait au méthanol aqueux de romarin, la prolifération des germes est nettement faible par comparaison au témoin ($P < 0,01$) ; soit des taux de croissance de l'ordre de 2,17 vs 0,93 vs 0,14 vs 0%, pour respectivement, les germes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'extrait de romarin objet de l'étude concentré à 60% a pu détruire totalement la multiplication des germes.

Par ailleurs, l'extrait préparé à 20% a été plus efficace sur le germe *Pseudomonas aeruginosa* ou sa croissance a été entièrement arrêtée (**Tableau 2**).

Tableau 2. Effet des concentrations d'extrait phénolique au méthanol aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur les taux de croissance de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de Romarin
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Staphylococcus aureus</i> %	100 ^a	10,5 ^b	2,17 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	$P < 0,01$
<i>Salmonella typhi</i> %	100 ^a	66,28 ^b	0,93 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	$P < 0,01$
<i>Escherichia coli</i> %	100 ^a	4,65 ^b	0,14 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	$P < 0,01$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> %	100 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	$P < 0,01$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions $n = 3$; $P < 0,01$: effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis*) ; $P < 0,05$: effet significatif du facteur étudié ; $p > 0,05$: effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. ; groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.3. Diamètre d'inhibition des germes pathogènes

En général, plus la concentration en extrait phénolique de romarin est augmentée de 20 à 100% plus le diamètre d'inhibition des germes est augmenté rehaussé significativement ($P < 0,01$) ; de 7,7 à 17 mm chez *Staphylococcus aureus*, de 9,7 à 15,7 mm chez *Salmonella typhi*, de 13,3 à 19,7 mm chez *Escherichia coli*, et de 10,3 à 16 mm chez *Pseudomonas aeruginosa* ; successivement.

Toutefois, la gentamicine semble accusée de meilleurs résultats d'inhibitions vis-à-vis de ces germes ($P < 0,01$) ; 31,7 ; 28 ; 29,3 et 30,7 mm, respectivement (**Figure 15 et Tableau 3**).

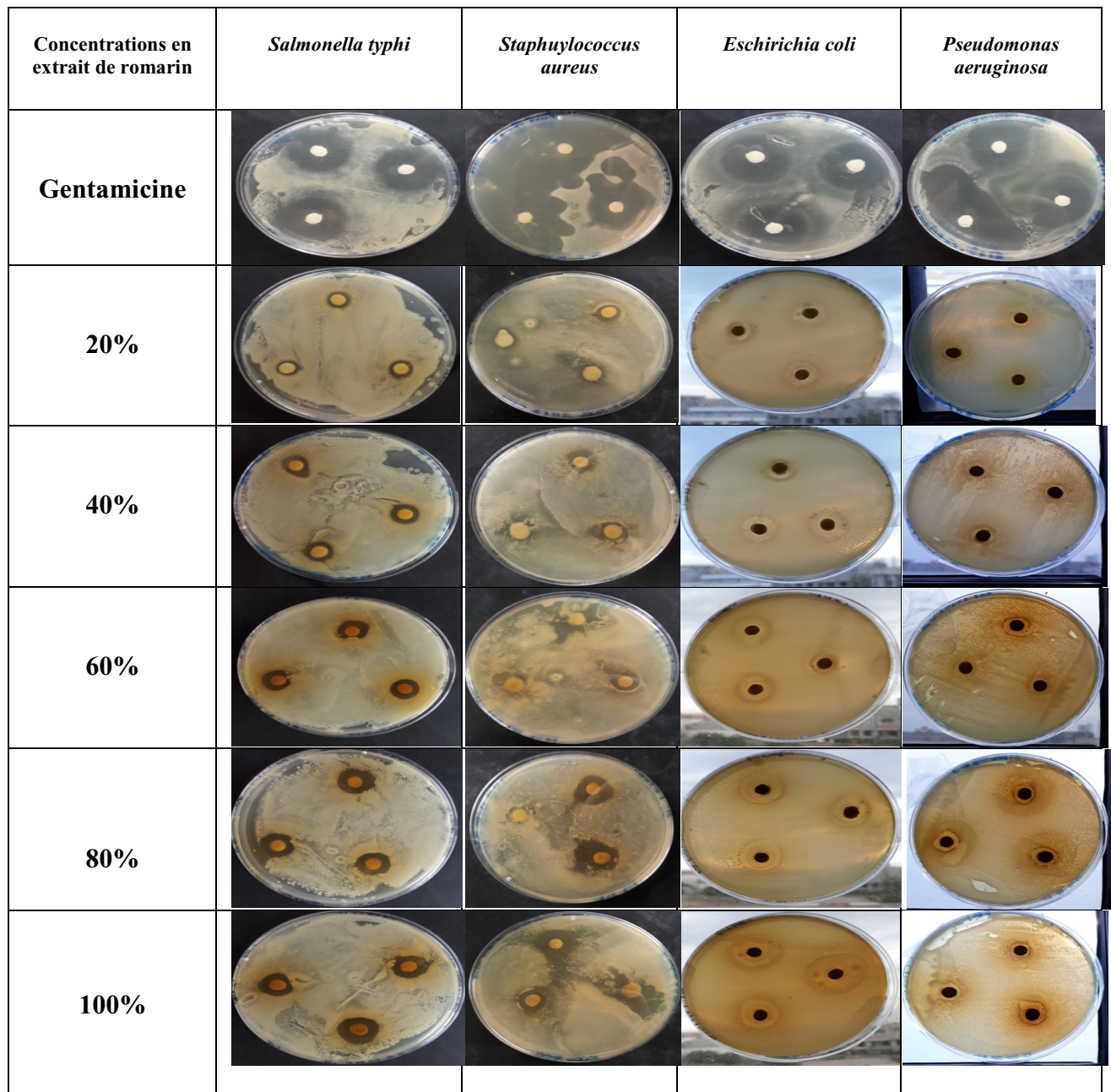


Figure 15. Méthode de diffusion sur disques d'évaluation de l'effet de l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* chez certains germes pathogènes.

Tableau 3. Effet des concentrations d'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur le diamètre d'inhibition de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de Romarin
	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	31,7 ^a ± 0,289	7,7 ^b ± 0,208	9,3 ^b ± 0,306	14,3 ^b ± 0,551	14,7 ^b ± 0,404	17 ^b ± 0,6	P<0,01
<i>Salmonella typhi</i> (mm)	28 ^a ± 0,2	9,7 ^d ± 0,058	12,3 ^c ± 0,153	14,3 ^{bc} ± 0,153	15 ^{bc} ± 0,1	15,7 ^b ± 0,115	P<0,01
<i>Escherichia coli</i> (mm)	29,3 ^a ± 0,115	13,3 ^c ± 0,289	14,3 ^c ± 0,252	15,7 ^{bc} ± 0,153	16,7 ^{bc} ± 0,289	19,7 ^b ± 0,153	P<0,01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (mm)	30,7 ^a ± 0,115	10,3 ^c ± 0,058	11 ^c ± 0	12 ^c ± 0,1	12,3 ^c ± 0,115	16 ^b ± 0,1	P<0,01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n = 3 ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis*) ; P<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; p>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. ; groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

1.4. Taux d'inhibition des germes pathogènes

L'extrait phénolique de *Rosmarinus officinalis*, préparé à 100% à engendré une baisse de plus de 50% de la croissance des germes testés (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) par rapport à la gentamicine considéré comme étant un antibiotique puissant à large spectre (**Tableau 4**).

Tableau 4. Effet des concentrations d'extrait hydro-méthanolique *Rosmarinus officinalis* sur les taux d'ihibitions de certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations en extrait phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (%)						Effet des concentrations d'extrait de Romarin
	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>Staphylococcus aureus</i> %	100 ^a	24,26 ^b	29,54 ^b	45,36 ^b	46,41 ^b	53,80 ^b	P<0,01
<i>Salmonella typhi</i> %	100 ^a	34,52 ^d	44,05 ^c	51,19 ^b	53,57 ^b	55,95 ^b	P<0,01
<i>Escherichia coli</i> %	100 ^a	45,51 ^c	48,92 ^c	53,47 ^{bc}	56,88 ^{bc}	67,12 ^b	P<0,01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> %	100 ^a	33,77 ^d	35,95 ^{cd}	39,22 ^{cd}	40,31 ^c	52,29 ^b	P<0,01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n = 3 ; P<0,01 : effet hautement significatif du facteur étudié F1 (concentrations en extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis*) ; P<0,05 : effet significatif du facteur étudié ; p>0,05 : effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. ; groupes homogènes de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.5. Concentrations minimales inhibitrices

La concentration minimale inhibitrice des germes *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* à été déterminée à une concentration d'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* de 60%.

En revanche, la concentration minimale inhibitrice chez *Pseudomonas aeruginosa* à été observée à une concentration de 80% d'extrait de la plante (**Tableau 5**).

Tableau 5. Évaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* chez certains germes pathogènes.

Germes	Concentrations d'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i>						
	Paramètres	Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	Di	0,2	0,42	0,66	0,91	1	1
	Df	0,33	0,54	0,71	0,8	0,9	0,7
	df-di	0,13	0,12	0,05	-0,11	-0,1	-0,3
	S%	100	92,30	38,45	00	00	00
	CMI = 60%						
<i>Salmonella typhi</i>	Di	0,08	0,17	0,77	1	1	0,77
	Df	0,66	0,9	1	0,94	0,8	0,15
	df-di	0,58	0,73	0,23	-0,16	-0,2	-0,62
	S%	100	125,86	39,6	00	00	00
	CMI = 60%						
<i>Escherichia coli</i>	Di	0,04	0,21	0,42	0,4	0,5	1,6
	Df	0,44	0,3	0,47	0,33	0,3	0,21
	df-di	0,4	0,09	0,05	-0,07	-0,2	-0,79
	S%	100	22,5	12,5	00	00	00
	CMI = 60%						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Di	0,01	0,27	0,48	0,90	1	1
	Df	0,48	0,39	0,78	1,02	0,89	0,92
	df-di	0,46	0,12	0,3	0,12	-0,13	-0,08
	S%	100	26,08	65,02	26,08	00	00
	CMI = 80%						

Di : Densité optique sans extrait de *Rosmarinus officinalis* avant incubation ; **Df** : Densité optique sans extrait de *Rosmarinus officinalis* après incubation ; **di** : Densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant incubation, **df** : Densité optique dans la solution phénolique ensemencée après incubation ; **S** : Taux de survie du microorganisme en %.

1.6. Concentrations minimales bactéricides

La concentration minimale bactéricide a été enregistrée chez les deux germes (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) avec l'extrait préparé à 60%.

Par ailleurs, la CMB chez *Staphylococcus aureus* a été remarquée avec l'extrait plus concentré de 80%.

En fin, pour *Salmonella typhi*, la CMB a été décelée avec l'extrait pur de la plante concentré à 100% (Figure 16).

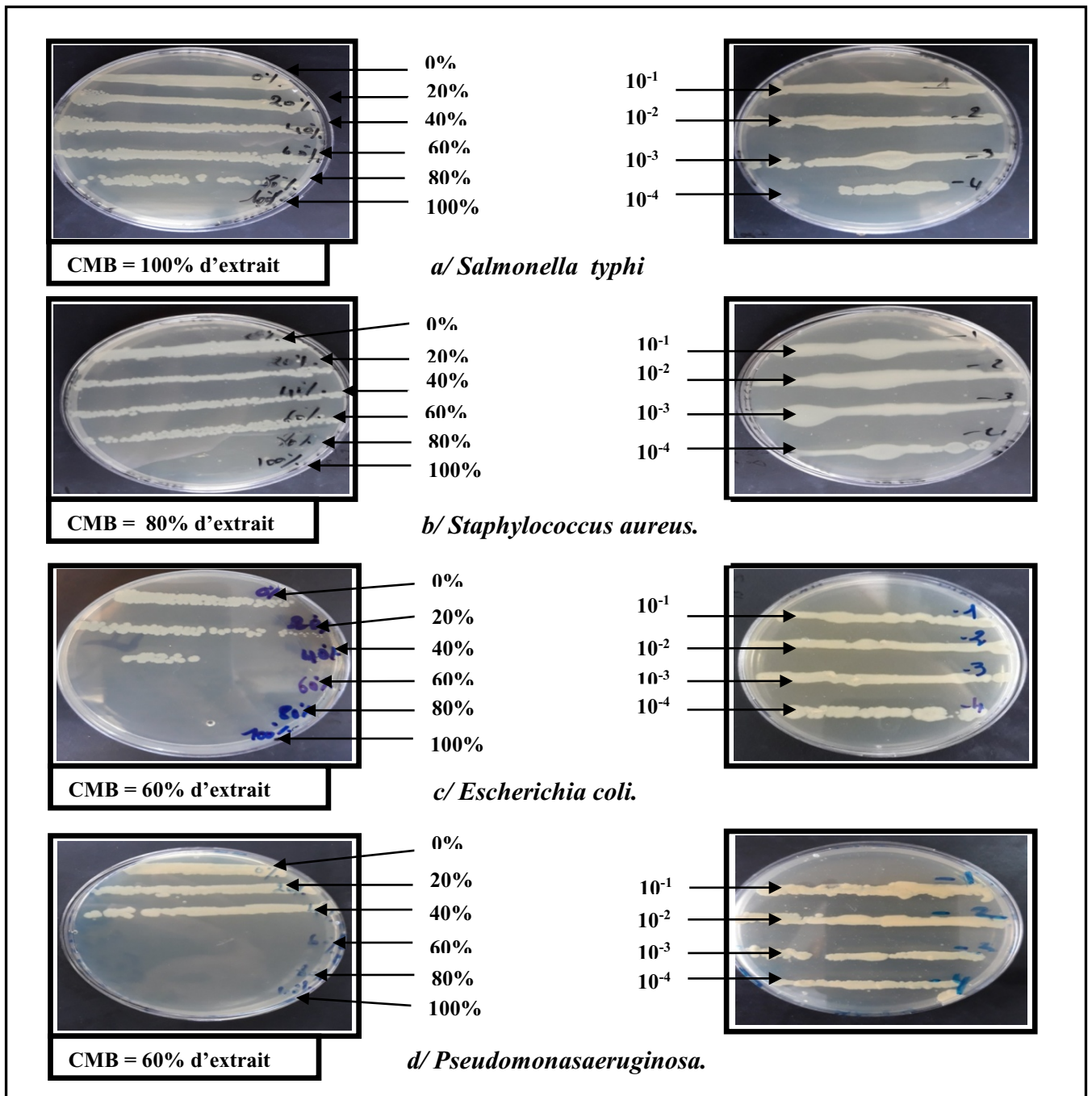


Figure 16. Détermination des CMB de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de certains germes pathogènes.

1.7. Type d'inhibition de l'extrait hydro-méthanolique de romarin

L'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* riche en composés phénoliques à montré un effet de type bactéricide vis-à-vis des germes pathogènes étudiés à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Tableau 6).

Tableau 6. Types d'inhibitions exercés par l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance de certains germes pathogènes.

Germes	CMI	CMB	Rapport CMB/CMI	Type d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	60%	80%	0,75	Bactéricide
<i>Salmonella typhi</i>	60%	100%	0,6	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i>	60%	60%	1	Bactéricide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	80%	60%	1,33	Bactéricide
Normes	<p>* D'après (Olivier, 2007) CMB/ CMI d 2(Effet bactéricide) CMB/ CMI >2(effet bactériostatique)</p> <p>* D'après (Marmonier, 1990) CMB/ CMI d 4(Effet bactéricide) CMB/ CMI > 4(effet bactéristatique)</p>			

2. Discussion :

L'analyse des données expérimentaux a montré que le nombre des germes (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), a diminué significativement ($P < 0,01$) sous l'effet d'extrait au solvant polaire hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* préparé à 60, 80 et 100 %.

A ce propos, (Moreno et al., 2006) ont démontré que le romarin est riche en composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne contre plusieurs bactéries.

Au fait, ces composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (Urquiaga et Leighton, 2000).

Chez *Rosmarinus officinalis* plusieurs composés antimicrobiens comme les huiles essentielles, phénols diterpéniques, flavonoïdes, dérivés de l'acide cinnamique, triterpènes et stéroïdes ont été décrits par de nombreux auteurs (Blot et al., 2012 ; Gilly, 2005 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Macheix et al., 2005 ; Piquemal, 2008 et Malesev et Kuntic, 2007).

Par ailleurs, dans une étude menée par (Romano et al., 2009), l'activité antibactérienne d'un extrait méthanolique de Romarin contenant 30% d'acide carnosique, 16% de carnosol et 5% d'acide rosmarinique a été étudiée in vitro seul et combiné avec des additifs alimentaires antioxydants : le BHT (hydroxytoluène butylé), le BHA (hydroxyanisole butylé) et l'acide benzoïque afin de déterminer le type d'interaction existant. L'activité antibactérienne a été testée sur deux bactéries d'origine alimentaire *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les résultats ont bien indiqué que l'extrait méthanolique de romarin présente une plus grande activité antibactérienne contre ces germes que le BHT et l'acide benzoïque.

L'extrait hydro-méthanolique de romarin a montré une plus grande activité antibactérienne contre la bactérie *S. aureus* à gram positif que chez *E. coli* à Gram négatif. Les bactéries à Gram négatif semblent plus résistantes aux composés phénoliques de la plante.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la plus grande sensibilité des bactéries Gram positif par rapport aux Gram négatif (Bouzouita et al., 2008).

D'après les résultats, il s'avère que la plupart des souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*),

sont plus ou moins sensibles vis-à-vis de l'extrait hydro-méthanolique de romarin, sauf pour *Pseudomonas aeruginosa* qui semble très résistante.

Une Etude très intéressante à été réalisée par (Muhaisem et al., 2015), sur l'efficacité antimicrobienne in vitro de l'extraits hydro-méthanoliques de 23 espèces de plantes médicinales, vis à vis de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Parmi les 23 plantes testées, seulement 5 extraits méthanoliques de *Rosmarinus officinalis* L., *Carduus marianium* L., *Lantana camara* L., *Rhus tripartita* (ucria) et *Thymus capitatus* L. ont montré une grande activité antimicrobienne envers *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* sp.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent aussi que les quatres germes étudiés (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) sont très sensibles à l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis* notamment lorsqu'il est utilisé à l'état pur, sans dilutions.

Par ailleurs, l'extrait pur de romarin a dévoilé une activité antimicrobienne importante contre *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 12 mm ; alors que la zone d'inhibition occasionnée par cet extrait chez *Staphylococcus aureus* est faible (9mm). Plusieurs auteurs confirment à ce propos que la souche *E.coli* à Gram négatif est plus sensible aux composés bioactifs de romarin que *Staphylococcus aureus* (Skocibusic et al., 2006 ; Sharififar et al., 2007).

Cependant, d'après (Benkhlef, 2014), l'extrait methanolique de romarin peut developper un diametre d'inhibition plus élevé chez *E.coli* de l'ordre de 34 mm contre 16,5 chez *P. aeruginosa*.

Ainsi, nos résultats montrent clairement que les extraits bioactifs préparés surtout à des concentrations sévères manifestent une activité antibactérienne certaine de type dose-reponse sur la croissance in vitro des quatres germes étudiés. Cela nous a permis de déterminer les différents paramètres antibactériens de l'extrait contre l'espèce étudiée à savoir la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

Ainsi, la concentration minimale inhibitrice a été déterminée chez *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* avec l'extrait hydro-méthanolique de 60%.

La CMI chez *Pseudomonas aeruginosa* est observée avec la solution d'extrait de romarin de 80%.

Les deux germes *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont accusé CMB avec 60% d'extrait ; alors que *Staphylococcus aureus* a noté cette CMB avec l'extrait de romarin plus concentré de 80%. Quant au germe *Salmonella typhi* le plus résistant des germes a enregistré une CMB en présence de l'extrait pur concentré à 100% ; sans dilution à l'eau distillée.

D'après (Oliver, 2007) étant donné que le rapport CMB/CMI est inférieur ou égale à 2, les extraits de romarin récoltés dans la région de Naama-Algérie exercent donc un effet de type bactéricide vis-à-vis des germes testés.

D'autre part, selon (Marmoier, 1990) lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance antibactérienne est inférieur ou égale à 4 ceci suppose qu'elle présente un effet bactéricide ; alors que si le rapport est supérieur à 4, elle présente plutôt un effet bactériostatique.

Plusieurs études ayant pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certains extraits de *Rosmarinus officinalis*, ont aussi été rapportées par de nombreux auteurs (Cowan, 1999 ; Muhaisem et al., 2015 et Jiang et al., 2011), ce qui confirme bien que, l'extrait de la plante riche en composés bioactifs (polyphénols- alcaloïdes- huiles essentielles et en bien d'autres composés) sont très inhibiteurs vis-à-vis des souches testées.

L'activité des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* chez les germes pathogènes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.) par la technique d'aromatogramme a bien montré le pouvoir antimicrobien de ces composés marqués par une action de type bactéricide très important contre les germes suscités (Boutabia et al., 2016).

D'après, certains auteurs (Siebert et al., 1999), les composés actifs de l'extrait méthanolique de romarin sont capables de bloquer la prolifération des microorganismes.

Plus spécifiquement, (Rhayour, 2002) a montré que les composés majoritaires phénoliques peuvent attaquer directement la bactérie en se fixant sur son enveloppe cellulaire, entraînant un déséquilibre de la perméabilité membranaire et un blocage de la phosphorylation oxydative qui représente la source de la vie respiratoire.

Au terme de cette étude, il semble que l'extrait hydro-méthanolique de *Rosmarinus officinalis*. L (romarin) contient l'essentiel des composés phénoliques capables d'exercer un pouvoir antimicrobien intéressant chez la plupart des germes pathogènes testés, sauf à l'égard de *pseudomonas aeruginosa*, qui s'avère une bactérie très résistante.

Conclusion

Au terme de l'étude et à travers les résultats obtenus il apparaît que l'extrait, hydrométhanolique de *Rosmarinus officinalis L.* (romarin) riche en composés phénoliques présente un potentiel antimicrobien intéressant de type bactéricide vis-à-vis des germes étudiés responsables de toxi-infections alimentaires dont (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*).

A seulement, 60 % d'extrait de la plante aucune croissance de ces bactéries n'a été observée.

Comparativement à la gentamicine, qui est un antibiotique à large spectre, l'extrait utilisé à l'état pur a occasionné des taux d'inhibitions intéressants et variables de 53 à 67,12 % chez les principaux germes testés.

La CMI a été obtenue à 60 % d'extrait hydrométhanolique de romarin chez *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli*, et à 80% d'extrait chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Par ailleurs, la CMB chez *Salmonella typhi* a été réalisée avec l'extrait de la plante non diluée à l'eau. Chez *Staphylococcus aureus* la CMB a été remarquée à 80% d'extrait expérimentale.

Enfin, chez *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* la CMB a été enregistrée avec l'extrait préparé à 60 %.

L'extrait hydro-méthanolique de romarin a exercé un effet inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis de l'ensemble des germes testés.

En perspective, il est important de procéder au dosage par HPLC des principaux composés phénoliques constitutifs de la plante objet de l'étude (*Rosmarinus officinalis L.*) et contenus dans l'extrait hydro-méthanolique.

D'autres études sur la même espèce végétale peuvent être menées en utilisant d'autres solvants d'extraction d'une part et en ciblant d'autres germes bénéfiques ou pathogènes, d'autre part.

Références bibliographiques

- Accarias. S, (2014).** Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat en Immunologie et maladies infectieuses, université de Toulouse III, 212p.
- Atik bekkara. F, Bousmaha. L, Taleb bendiab. SA, Boti. JB, Casanova. J, (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 7: 6-11.
- Babbott . FL et Gordon. JE, (1954).** Modern measles. *Am J Med Sci*; 61, 228:334.
- Bacha. D, (2015),** Gestion d'une Toxi infection Alimentaire Collective en Milieu Militaire. La revue médicale DE L'HMRUO, volume 2, N1, 62-63pp.
- Bahorun. T, (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritus, 83-94.
- Barakat. R, (2012).** Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de *Staphylococcus aureus* la pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. Thsès de doctorat en Microbiologie, université de Rochelle, France, 212p.
- Barbar. HL, (1996).** *Pseudomonas aeruginosa*. In *Medical Microbiology*, 4 Édition, université of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.
- Beloued. A, (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Édition office des publications universitaires, Alger, 277p.
- Ben Haj Khalifa. A et Moissenet. D, (2011).** Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation Article in *Annales de biologie clinique* ; 69 (4) : 393-403.
- Beni Khlef. A, (2014).** Comparaison entre les huiles essentiels et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la region de Bechar et Ouargla, Algérie, 36p.
- Biaujeaud. M, Ringuet. J, Bloth. J, et Botrel. A, (2001).** Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Édition Larousse, Hong Kong, 335p.

Birembaux. J, (2017). Conseils à l'officine : prévention des infections alimentaire chez les populations à risque. Thèse du doctorat en Pharmacie, universite de Lille 2, France, 73p.

Blattner. FR, Plunkett. G 3rd, Bloch. CA, Perna. NT, Burland. V, Riley. M, Collado-Vides. J, Glasner. JD, Rode. CK, Mayhew. GF, Gregor. J, Davis. NW, Kirkpatrick. HA, Goeden. MA, Rose. DJ, Mau. B, Shao. Y, (1997). The Complete Genome Sequence of *Escherichia Coli* K-12. *Science* 277 (5331): 1453-1453-62.

Bossert. ID, et Young. LY, (1986). Anaerobicoxidation of paracresol by a Denitrifying bacterium. *Applied and environmental Microbiology*, 1117-1122 pp.

Bossert. ID, Rivera MD, et Young. LY, (1986). p-Cresol biodegradation under denitrifying conditions: isolation of a bacterial coculture. *FEMS Microbiol. Ecol.* 38:313-319.

Boudet. AM, (2000). L'usine chimique. 9^{ème} conférence de l'université de tous les savoirs, France, 1-16 pp.

Boukoucha. M, (2014). Caractérisation phynotypique et moléculaire des salmonelles isolées à partir des aliments et d'origine humaine responsables de gastro-entérites. These de doctorat en sciences alimentaires, Université de constantine, Algerie, 170 p.

Bourgeois. CM, Leveau. JY, (1980). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Volume 3 : Le contrôle microbiologique, édition Lavoisier : Tech. Et Doc, 331p.

Boutabia. L, Telailia. S, Bouguetof. I, Guenadil. F, (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). In *Bulletin de la Societe Royale des Sciences de Liege*, 85(85) : 174-189.

Bouzouita. K, (2016). Phytovigilance : Enquête auprès des pharmaciens officinaux d'Oujda. Thèse doctorat en pharmacie, université Mohamed V, Rabat, 121p

Bouzouita. N, kachouri. F, Beb halima. M, Chabouni.MM, (2008). Composition chimique et activités anti-oxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de juniperus phoenicea. *Journal de société chimique de Tunisie*, 10, 119-125.

Bruneton. J, (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Édition TEC, 4éd, Paris, France, 1269p.

- Brusselmans. K, Vrolix. R, Verhoeven. G, Swinnen. JV, (2005).** Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity.
- Bylka. W, Mathawska. I, Pilewski. NA, (2004).** Natural flavonoid as antimicrobial agents. *Journal of the American Nutraceutical Association*, 7 (2): 24-26.
- Carip. C, (2008),** *Microbiologie Hygiène, Bases microbiologiques de la diététique.* Édition Lavoisier: TEC DOC, France, Paris, 429p.
- Chabrier. JY, (2010).** *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.* Thèse de doctorant en pharmacie, université Henri Poincaré-Nancy1, Lorraine, 172p.
- Chenni. M, (2016).** Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic *Ocimum basilicum L.* extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat en chimie moléculaire, université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Oran, 166p.
- Chevalier. A, (2007).** *Les plantes médicinales.* Édition Gründ, Paris, France, 288p.
- Cowan. MM, (1999).** Plant products as antimicrobial agents, *Clinical microbiology reviews*, 12 (4): 564-570
- Cowan. ST, (1954).** Abbreviation of bacterial generic names, *Science*. 120 (3131):1103-1104.
- D'Aoust. JV, (1989).** *Salmonella.* In *Foodborne bacterial pathogens* (M.P. Doyle, éd.). Marcel Dekker Inc, New York, 327-445.
- Decloitre. F, (1993).** Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse : bases d'une prévention des cancers par l'alimentation. *Cahiers de Nutrition et de diététique*, 28 (2) : 85-95.
- Denis. FE, Bingen. C, Martin. MCP, Quentin. R, (2011).** *Bactériologie Médicale.* Édition Elsevier Masson, 2^{éd}, Paris, 640p.
- Depeint. F, Gee. JM, Williamson. G, Johnson. IT, (2002).** Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities. *Proceeding of the Nutrition Society*, 61 : 97-103.
- Diallo. AA, (2013),** *Escherichia coli* pathogènes et résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat en Microbiologie, université de Toulouse III, 204p.

Direction générale de la Santé (2006). Infection liées aux soins réalisés en dehors des établissements de santé, guide prévention, France.

Doyle. J, Evans. jr, Dolores.GE (1996), *Escherichia coli* in Diarrheal Disease, In Medical Microbiology, 4 Édition, université of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.

Drame. B, (2001). Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse Pharm.N° 86. Dakar.

El-Anzi. O, (2014). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'isolées au centre hospitalier IBNSINA de Rabat. Thèses de doctorat en Médecine, université de Mohamed V, Souissi, Rabat, 104p.

Emerenciano. VP, Barbosa. KO, Scotti. MT, et Ferriro. M J P, (2007). Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. Journal of brazilian chemical society, 18 (5) : 891-899.

Fadi. Z, (2011). Le Romarin *Rosmarinus officinalis* Le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. Thèse du doctorat en pharmacie, université Mohamed V, Rabat, 153p

FAO (2005). FAO/WHO regional meeting on food safety for the Near East, Amman, Jordan. The impact of current food safety systems in the Near Esat/Easten Mediterranean region on human health. Available at ftp.fao.org/es/esn/food/meetings/NE_wp2_en.pdf. accessed 22 February 2012.

FAO (2005a). FAO/WHO regional meeting on food safety for the Near East, Amman, Jordan. The impact of current food safety systems in the Near Esat/Easten Mediterranean region on human health. Available at ftp.fao.org/es/esn/food/meetings/NE_wp2_en.pdf. accessed 22 February 2012.

Fauchère. JL, et Avril. JL, (2002). Bactériologie générale et médicale.Édition Ellipses, France, paris, 365p.

Francisco. A, Moreno. MD, Christopher. B, Wiegand. ME, Keolani Taitano. PD, Pedro. L, Delgado.MD, (2006). Safety Tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive compulsive disorder copyright physicans postgrauate press, J clin psychiatry 67: 11, 1735-1740.

Ghedira. K, (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3 (4): 162-169.

- Gianmario. A, Silvi. S, Rita.PA, Teres. M, Roberto. D, Aurelia.T, (2007).** Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (5): 1718-1723.
- Goetz. P et Ghédira. K, (2012).** Phytothérapie anti- infectieuse, Springer- Verlage, Paris, France, 382p.
- Gonzalez. ME, Pena. EI, Martinez. AL, Moreno. J, Guevara-Fefer. P, Deciga-Camp. FM, Lopez-Munoz. L, (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L., using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 111: 476-482.
- González-Gallego. J, Sánchez-Campos. S, Tuñón. MJ, (2007).** Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición hospitalaria*, 22 (3) : 287-293.
- Grimond. F, et Grimond. PAD, (1986).** Ribosomal ribonucleic acid gene restriction patterns as potential taxonomic tools. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol*, 137B, 165-175.
- Guignard. JL, (2000).** Biochimie végétale. Dunod, Paris, p: 274.
- Guilhem. P, (2017).** Usage de la phytothérapie dans traitement des principales pathologies des chevaux de sport. Thèse de doctorat en vétérinaire, université Claude Bernad, Lyon, 173p.
- Guiraud. JP, (2012),** Microbiologie Alimentaire. Édition Dunod, France, Paris, 654p.
- Hammou. J, Benmamoun. A, El Menzhi. O, Bennouna. M, Barkia. A, Hasbi. B et Elajroumi. H, (2012).** Étude communautaire sur le trachome cécitant chez les populations les plus désavantagées au Maroc. *Bull. épidémiol. Edi Avril*, 4-9 pp.
- Heinrich. M, Kufer. J, Leonti. M, Pardo-de-Santayana. M, (2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *Journal of Ethnopharmacol*, 107: 157-160.
- Henry. I, (2011).** Épidémiologie analytique de *Salmonella* subsp. *enterica* et de *Campylobacter* ssp. dans élevage de poulets de chair à la Réunion. Investigation des sources infectieuses de *Salmonella* subsp. *enterica* de la production à la transformation en Biologie. Thèses de doctorat en Biologie, université de la Réunion, 256p.
- Hertog. MG, (1996).** Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceeding of the nutrition society*, 55 (1B) : 385-397.

Hoefler. C, (1994). Contribution à l'étude Pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment jeunes pousses : activités cholérétiques, anti –hépatotoxique, anti inflammatoire et diurétiques. These de doctrat en pharmacognosie, université de METZ, 148p.

Holt. KE, Thomson. NR, Wain. J, Langridge. GC, Hasan. R, Bhutta. ZA, (2009). Pseudogene accumulation in the evolutionary histories of *Salmonella enterica* serovars Paratyphi A and Typhi. *BMC Genomics* 10: 36.

Hutzler. P, Fishbach. R, Heller.W, Jungblut. TP, Reuber. S, Schmitz. R, Veit. M,

Weissenböck. G, et Schnitzler. J P, (1998). Tissue localisation of phenolic compound in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of experimental botany*, 49 (323) : 953-965.

INSP (2010). Info-santé. Bulletin d'information de santé publique, Algérie.

INVS (2011). Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives. Données de la déclaration obligatoire.

Iserin. P, Masson. M, Restellini. J P, Ybert. E, De Laage de Meux. A, Moulard.

F, Khia. A, Ghanmi. M, Aafi. A, Aberchane. M, Quaboul. B, Charrouf. Z. (2014). Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huilles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc, *phytothérapie*, 12:341-347.

Jiang. Y, Wu. N, Fu. YJ, Wang. W, Luo. M, Zhao. CJ, Zu. YG, Liu. XL, (2011).Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental Toxicology And Pharmacology*, 32 ; 63-8.

Joffin. C et Joffin. JN, (2010), Microbiologie Alimentaire. Édition Scrérén, 6éd, Bordeaux cedex, 344p.

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

Jorite. S, (2015). La phytothérapie une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. Thèse de doctorat en pharmacie, université Bordeaux 2,155p.

Karaali. A, Boyacio lu. D, GĖnez. G, et NzĖelik. B, (2004). Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commision's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university.Turkey

- Kim. HP, Son. KH, Chang. HW, et Kang .SS, (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 96 (3) :229-245.
- Korasak. N, Clinquart. A, Daube. G, (2004).** *Salmonella spp.* dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique. *Ann. Méd. Vét*, 148, 174-193
- Kothe. HW, (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Édition terres, Toulouse, 336p.
- Kra. AKM, (2001).** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISC A contre *Aspergillus fumigatus*. *Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Bioscience, université Abidjan*, p: 126.
- Lahouel. M, (2005).** Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. *Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine*.
- Lakhdar. A, (2015).** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycete mcomitans* : étude in vitro. *Thèse de doctorat en sciences odontologiques, université Mohamed V, Rebat*, 164p.
- Le Minor. L, et Genus III, (1984).** *Salmonella*, In: Krieg N, Holt, J. (Eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins: Baltimore 1,427-458.
- Le Minor. L, et Popoff. MY, (1987).** Designation of *Salmonella enteric* sp. nov. nom. rev, as the type and only species of the genus *Salmonella*. *Int J Syst Bacteriol* 37:465-468.
- Le Querrec. F, (2003).** Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives, MDO infos n° 5 p: 1-4.
- Leyral. G et Vierling. É, (2007),** *Microbiologie et toxicologie des aliments, Hygiène et sécurité alimentaire*. Édition Scérén, 4éd, Pays – Bas, 287p.
- Macheix. J J, Fleuriet. A, et Jay–Allemand. C, (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Édition Presses polytechnologiques et universitaires romandes, 4-5 pp.
- Mahmoudi. Y, (1992).** La thérapeutique par les plantes. Édition Palais du livre, Blida, 128p.
- Mainil. J, (2003).** Facteurs de virulence et propriétés spécifique des souches invasives d'*Escherichia coli*. *Ann. Méd. Vét*, 147, 105-126

Makhloufi. A, (2011), Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru, thèse de doctorat, Université Aboubaker belkaid, algéer, 136p.

Malešev .D, et Kunti . V, (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. Journal of the Serbian chemical society, 72 (10) : 921-939.

Marion. L, (2017). Le Romarin *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. These doctrat en pharmacie, université d'Aix- Marseille, 229p.

Marmonier. AA, (1990). Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. In : Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles. Doin, Paris, France, 227–236.

Mazoyer. M, Aubineau. M, Bermond. A, Bougler. J, Ney. B, Estrade. JR, (2002). Larousse Agricole. Édition Larousse 4éd, Paris, 767p.

MDC, <https://www.commerce.gov.dz/questions-frequentes/themes/les-toxi-infections-alimentaires>

Medi -Šari . M, Jasprica. I, Smol i -Bubalo. A, et Monar. A. (2004). Optimisation of chromatography of flavonoids and phenolic acids. Croatica Chemica Acta CCACAA, 77 (1-2) : 361-366.

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

Mouas. Y, Benrebiha. FZ, Chaouia. C (2017), Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essetielle et de l'extrait méthanolique de Romarin *Rosmarinus officinalis* L., 7(1), 363-370.

Mouas. Y, Djema.l H, Megdad. F, Benrebiha. FZ, (2016). Etude de l'influence de trois écotypes différents (Blida, Djelfa et Msila) sur la variation des paramètres physiologiques et biochimiques du romarin *Rosmarinus officinalis* L. Revue Agrobiologia, 6 (1): 96-100.

Muhaisem. HM, Ab-Mous MM, Ddeeb. FA, Rtemi. AA, Taba. OM, Parveen. M, (2015). Antimicrobial agents from selected medicinal plants in Libya. Chinese Journal of Integrative Medicine, 22(3):177-84.

Munoz. FL, Alamo. C, Garcia. P, (2006). « the herbs have the property of healing the phytotherapy in Don Quixote », journal of Ethnopharmacology, 106/ 429-441.

Nevola. JJ, Laux. DC, Cohen. PS, (1987). In vivo colonization of the mouse large intestine and in vitro penetration of intestinal mucus by an avirulent smooth strain of *Salmonella* Typhimurium and its lipopolysaccharide-deficient mutant. Infect Immun, 55, 2884-2890.

Nijveldt. R J, Van Nood. E, Van Hoorn. DEC, Boelens. PG, Van Norren. K, et Van Leeuwen. PAM, (2001). Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. American journal of clinical nutrition, 74 : 418-425.

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

OMS, (2018). Infections à Salmonella (non typhiques).

[https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Park .H J, et Cha. HC, (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. Korean journal of biological society, 7: 327-330.

Piquemal. G, (2008). Les flavonoïdes (en ligne) : http://www.detoursante.com/index.phpOption=com_content&view=article&id=166&Itemid=215.

Prescott. LM, Harley. JP, Klein. DA, (2003). Microbiologie. De Boeck-Supérieur, p: 1137.

Ralaph. AG, (1996). *Salmonella*, In Medical Microbiologie, 4 Edition, université of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.

Rhayour. K, (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur E.coli, Bacillus Subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum. Thèse de doctorat en vue de l'obtention du Doctorat Nationale. Faculté des sciences DharMehraz –Fés, 170p.

Romano. CS, Abadi. KE, Repetto. V, Moreno. S, (2009). Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. Food Chemistry, 115(2):456-461.

Sarni-Manchado. P, et Cheynier. V, (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Édition Lavoisier. p2- 10.

Seibert. SE, Michael Gant. J, Kraimer. ML, (1999). Proactive Personality and career Success, journal of Applied psychology, 84 (3) 416-427.

- Sharififar. F, (2007).** Comparaison of antioxydant and free radical scavenging activities of the essential oils from and fruits of *Otostegur Persica Boiss*; Pakistan journal of biological sciences, 10 (21): 3895-3899.
- Skocibusic. M, Bezic. N, Valerija. D, (2006).** Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from. *Satureja subspicata* Vis Growing, Journal of food chemistry, Croatia, 96 (1): 20-28.
- Sofowora. A, (2010).** Plantes Médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Édition Karthala, Paris, France, 345p.
- Strang. C, (2006).** Larousse Médical. Édition Larousse, Paris, France, 1219p.
- Subsamanian. S, Stacey. G, et Yu. O, (2007).** Distinct crucial roles of flavonoids during legume nodulation. Trends in plant science, 12 (7) : 282-283.
- Sultana. B, Anwar. F, Ashraf. M, (2009).** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules, 14: 2167-2180.
- Suzana. I, Katarina. R, Dusan. G, Mirjana. R, (2007).** A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L., and *Origanum vulgare* L.. Journal of Food Chemistry 104, 774-782.
- Tapas. AR, Sakarkar. DM, Kakde. RB, (2008).** Flavonoids as nutraceuticals. Topical journal of pharmaceutical research, 7 (3) : 1089-1099.
- Thomson. NR, Clayton. DJ, Windhorst. D, Vernikos. G, Davidson. S, Churcher. C, (2008).** Comparative genome analysis of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Gallinarum 287/91 provides insights into evolutionary and host adaptation pathways. *Genome Res* 18, 1624-1637.
- Thoresen. MA, Hildebrand. KS, (2003).** Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts. Aspects of accurate quantification. Journal of Chromatography A, 119-125.
- Urquiaga. I, et Leighton. F, (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Research, 33 (2) : 55-64.
- Verbois. S, (2015).** La phytothérapie. Édition Eyrolles, Paris, France, 189p.
- Verhoeyen. ME, Bovy. A, Collins. G, Muir. S, Robinson. S, De Vos. CHR, et**

Colliver. S, (2002). Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*, 53 (377): 209 -210.

Wolfgang. MC, Kulasekara BR, Liang. X, Boyd. D, Wu. K, Yang. Q, Miyada. CG, Lory. S, (2003). Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(14): 8484-9.

Yang R. Y, Lin. S, et Kuo. G, (2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition*, 17 (S1) :275-279.

Zeggwagh. AA, Lahlou. Y, Bousliman. Y. (2013). Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc. *The African Medical Journal*.14 :125.1746.

Zeghad. N, (2012). Évaluation de l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales. Édition universitaire européennes, 122p.

Zeghad. N, (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister en biotechnologie végétale, université Mentouri, Constantine, 96p.

Zha. E, De la Roque. R, De la Roque. O, Vican. P, Deelesalle –Féat. T, Biaujeaud. M, Ringuet. J, Bloth. J, et Botrel. A, (2001). Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Édition Larousse, Hong Kong, 335p.

Ziane. M, (2003). Caractérisation, identification et étude de la thermorésistance de souches de *Bacillus cereus* isolées de semoule de couscous. These en Microbiologie, Université de Abou baker Belkaid, Telemcen, 78 p.

Zrihi. GN, Kra. AKM, Etien. DT, (2007). Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) (Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr*, 20: 9-17.

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

<http://cellimagelibrary.org/images/40593>.

[http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Student%20presentations/Salmonellatyphi/Salmonellatyp
hi.html](http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Student%20presentations/Salmonellatyphi/Salmonellatyp
hi.html).

[https://www.pourquoidocteur.fr/Articles/Question-d-actu/21642-Escherichia-Coli-bacterie
dangereuse](https://www.pourquoidocteur.fr/Articles/Question-d-actu/21642-Escherichia-Coli-bacterie
dangereuse).

www.pseudomonas.com.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Wilaya_de_Na%C3%A2ma.

<http://www.dcwnaama.dz/index.php/wilaya-de-naama-2/presentation>.

Annexes

- **Mueller-Hinton agar**

La gélose Mueller-Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose.

Composition

Pour 1 litre de milieu :

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g
Agar.....	18g

pH = 7,3

Autoclavage 120°C, 20min.



- **Mueller-Hinton bouillon**

Le bouillon de Mueller-Hinton est utilisé comme milieu non sélectif pour la culture de très nombreux microorganismes de diverses origines, ainsi pour détermination les concentrations minimales inhibitrices par la méthode en dilution.

Composition

Pour 1 litre de milieu :

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g

pH = 7,3

Autoclavage 120°C, 20min.



