

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

Melle Temmouri Ferial & Melle Belkacemi Kaouther

Thème

**Evaluation de l'effet antagoniste de l'extrait éthanolique
de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis des bactéries pathogènes
du milieu hospitalier.**

Soutenu le : 03 / 07 /2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme BOUDJELAL</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme BENBARA T</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme DJOUAHRA Dj</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Avant toute chose nous tenons à remercier notre Bon Dieu de nous avoir accordé le savoir, la force, la patience et la chance d'avoir pu poursuivre nos études et réaliser ce modeste et passionnant travail. Toute notre gratitude et reconnaissance est dirigée en premier lieu vers notre promotrice Mme BENBARA enseignante au département de biologie à l'université Akli Mohand Oulhadj de Bouira pour son excellence, sa confiance, ses nombreux conseils ainsi d'avoir nous guidés durant toute cette période de stage malgré ses nombreuses préoccupations. Nous remercions également Mme BOUDJELAL pour l'honneur d'avoir accepté de présider notre mémoire. Un grand Merci également à Mme DJOUAHRA d'avoir consenti d'examiner ce travail. Nous tenons également à remercier le personnel du laboratoire de bactériologie pour l'aide, les conseils, les encouragements apportés durant cette longue période ainsi qu'à tous nos camarades avec qui nous avons partagés de nombreux souvenirs.

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise du diplôme et ma joie

*A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allume mon chemin, ma moitié, ma reine... Maman « **Linda Aicha** »*

*A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour, à mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, à celui qui représente la vie, à mon roi ... Papa « **Saad** »*

*A mon frère « **Djamel Oussama** » pour l'amour qu'il me réserve*

*A tous les membres de ma grande famille « **Temmouri** »*

*A mes chères cousines, « **Nourhane & Farida** »*

*A mes meilleurs amis, « **Nassim, Hafsa & Ibtissem** » qui savent toujours comment me procurer la joie et le bonheur*

*A mes belles **Anfel, Khaoula, Meriem et Rahil** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

*A ma chère promotrice **Mme BENBARA***

A tous ce qui ont participé à ma réussite et à tous qui m'aiment

Temmouri Ferial

Dédicace

Je dédie mon travail

A mon cher père

Autant de phrase et d'expression aussi éloquentes soit elles ne sauraient exprimer ma gratitude. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite, ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur. Je t'aime mon héros.

A ma chère mère,

Autant de phrases aussi expressives soient elles ne sauraient montrer le degré d'Amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu ma combl2 avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours, tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotes pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi. je t'aime ma reine.

*À mes étoiles brillantes, à ma source de joie et ma force, à mes sœurs **SARAH** et **HADJER**, Merci pour votre soutien. Je vous aime.*

*A mon seul frère d'amour, mon bras droit **DJABER**, qui est toujours à mes côtés. Je t'aime Frérot.*

*A tout ma famille **SAIDANI** et surtout **SAMIA***

*A mes amis **MILIZA, SARA** et **SAMIA** je vous aime.*

Belkacemi Kaouther

Table de matière

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Listes des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Rosmarinus officinalis*, le romarin

1. Généralités	3
1.1. Origine	3
1.2. Classification systématique	3
1.3. Description botanique.....	4
1.4. Composition chimique (Principes actifs)	5
2. Les activités biologiques	7
2.1. Activité antioxydante.....	7
2.2. Activité antibactérienne	7
2.3. Activité anticancéreuse.....	8
2.4. Activité antivirale	8
2.5. Activité antiparasitaire/insecticide	8
3. Usage de <i>Rosmarinus officinalis</i>	9
3.1. Usage traditionnel.....	9
3.2. Usage moderne	9

Chapitre II : Les bactéries pathogènes

1. <i>Escherichia coli</i>	11
1.1. Généralités sur <i>E. coli</i>	11
1.2. Caractères bactériologiques	12
1.3. Pouvoir pathogène	13
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.1. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.2. Caractères bactériologiques	14
2.3. Pouvoir pathogène	15
3. <i>Bacillus cereus</i>	15
3.1. Généralités sur <i>Bacillus cereus</i>	15

Table de matière

3.2. Caractères bactériologiques	16
3.3. Pouvoir pathogène	16
4. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
4.1. Généralités sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
4.2. Caractères bactériologiques	18
4.4. Pouvoir pathogène	19
5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
5.1. Généralités sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
5.2. Caractères bactériologiques	20
5.3. Pouvoir pathogène	21
6. <i>Streptococcus pyogenes</i>	21
6.1. Généralités sur <i>Streptococcus pyogenes</i>	21
6.2. Caractères bactériologiques	22
6.3. Pouvoir pathogène	22

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel & méthodes

1. Présentation de lieu de stage	24
2. Matériels et méthodes	24
2.1. Matériels	24
2.2. Méthodes	25
2.2. Isolement des bactéries pathogènes	26
2.3. Identification biochimique et coloration de Gram.....	29
2.4. Conservation des souches	31
2.5. Antibiogramme	31
2.6. Activité antibactérienne	32

Chapitre IV : Résultats & discussion

1. Répartition des prélèvements.....	42
2. Résultats d'isolement des souches.....	44
3. Profils d'antibiorésistance des souches isolées.....	52
4. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis des souches testées.....	58
Conclusion.....	75

Table de matière

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau I: Classification systématique de la plante de <i>Rosmarinus officinalis</i>	3
Tableau II : Taxonomie d' <i>Escherichia coli</i>	11
Tableau III: Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Tableau IV: Taxonomie de <i>Bacillus cereus</i>	15
Tableau V: Taxonomie de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
Tableau VI: Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Tableau VII : Matériel utilisé.	24
Tableau VIII: Les échantillons des urines.....	25
Tableau IX: Taux des différents prélèvements réalisés.....	40
Tableau X: L'aspect des cultures sur géloses sélectives observé pour chaque prélèvement. .	42
Tableau XI: Nombre des souches isolées de chaque espèce.	51
Tableau XII: Calcul de rendement d'extraction à partir de <i>R. officinalis</i> par l'éthanol.	58

Liste des figures

Figure 1: Système racinaire de <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
Figure 2: Les fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
Figure 3: Feuilles linéaires de <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
Figure 4: Tige ligneuse de <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
Figure 5: Structure chimique des polyphénols.....	6
Figure 6: Structure de base des flavonoïdes.....	6
Figure 7: Structure chimique des tannins.....	7
Figure 8: Aspect morphologique d' <i>Escherichia coli</i>	12
Figure 9: Observation par microscope électronique des cellules de <i>S. aureus</i>	14
Figure 10: Morphologie de <i>B. cereus</i>	16
Figure 11: <i>K. pneumoniae</i>	18
Figure 12: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
Figure 13: <i>Streptococcus pyogenes</i>	21
Figure 14: Schéma explicatif de réalisation d'un ECBU.....	28
Figure 15: Schéma d'une galerie Api 20 E.	30
Figure 16: Disposition des disques des antibiotiques sur gélose Mueller Hinton par un distributeur des disques.	32
Figure 17: Préparation de la poudre de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Broyage et tamisage).....	33
Figure 18: Macération de la poudre de <i>Rosmarinus officinalis</i> avec de l'éthanol pendant 24h.	34
Figure 19: Filtration du mélange après macération.....	34
Figure 20: Schéma représentatif du protocole de l'extraction.	35
Figure 21: Préparation des extraits dans des tubes à endoofs.	36
Figure 22: Stérilisation des extraits avec des disques filtrants à seringue.	37
Figure 23: Imprégnation des disques de papier Wattman avec de l'extrait.....	38
Figure 24: Répartition des prélèvements réalisés.....	40
Figure 25: Taux des cas positifs, négatifs et contaminés lors de chaque prélèvement.	41
Figure 26: Résultat positif de test catalase sur <i>E. coli</i>	43
Figure 27: L'aspect morphologique des colonies d' <i>E.coli</i> sur milieu EMB.	43
Figure 28: Aspect microscopique d' <i>E. coli</i> après coloration de Gram X100.....	43
Figure 29: Aspect microscopique de <i>Klebsiella pneumoniae</i> après coloration de Gram X100.	44
Figure 30: Galerie positive d' <i>E. coli</i> responsable d'infections urinaires.	44
Figure 31: Galerie positive de <i>Klebsiella pneumoniae</i> des urines.	44

Liste des figures

Figure 32: Résultats confirmé d' <i>E. coli</i> par le site Api Web.....	44
Figure 33: Taux d' <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i> dans les urines.	45
Figure 34: Aspect microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> X100.	46
Figure 35: Aspect morphologique des <i>S. aureus</i> sur Chapman.	46
Figure 36: Taux de <i>S. aureus</i> et <i>S. pyogenes</i> dans les prélèvements nasaux et oraux.	47
Figure 37: Résultat positif de test oxydase de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Figure 38: <i>Bacillus cereus</i> sous le microscope X100.	48
Figure 39: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous le microscope X100.....	49
Figure 40: Aspect morphologique des colonies de <i>P. aeruginosa</i> sur Hektoen.	49
Figure 41: Colonies de <i>P. aeruginosa</i> sur King A.	49
Figure 42: Taux de répartition de <i>P. aeruginosa</i> et <i>B. cereus</i> des services de l'hôpital.	50
Figure 43: Répartition des isolats selon le type de Gram.....	51
Figure 44: Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	52
Figure 45: Taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> vis-à-vis des antibiotiques testés. .	53
Figure 46: Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis des antibiotiques testés. .	54
Figure 47: Taux de résistance de <i>Streptococcus pyogenes</i> vis-à-vis des antibiotiques testés. 55	
Figure 48: Taux de résistance de <i>Bacillus cereus</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.....	56
Figure 49: Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis des antibiotiques testés.	57
Figure 50: Pouvoir antibactérien des extraits de différentes concentrations de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis des souches isolées.	59
Figure 51: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 10mg/ml vis-à-vis des souches isolées.....	60
Figure 52: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 20mg/ml vis-à-vis des souches isolées.....	61
Figure 53: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 30mg/ml vis-à-vis des souches isolées.....	62
Figure 54: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 40mg/ml vis-à-vis des souches isolées.....	63
Figure 55: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 50 mg/ml vis-à-vis des souches isolées.....	63
Figure 56: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 60 mg/ml vis-à-vis des souches isolées.....	64
Figure 57: Pouvoir antibactérien des extraits de romarin vis-à-vis des bactéries à Gram +... 65	

Liste des figures

Figure 58: Pouvoir antibactérien des extraits de romarin vis-à-vis des bactéries à Gram -... 66

Liste des abréviations

- ADH:** antidiuretic hormone (hormone antidiurétique, vasopressine).
- ALAT :** L'alanine aminotransférase.
- AMP:** Ampicilline.
- ASAT :** L'aspartate aminotransférase.
- ATM:** Aztréonam.
- AX:** Amoxicilline.
- AZM:** Azithromycin.
- BCP:** BromoCrésol Pourpre.
- BLSE:** Bêta-lactamases à spectre élargi.
- CAZ:** Céfotazidime.
- CFM:** Céfixime.
- CL:** Céphalexine.
- CTX:** Céfotaxime.
- ECBU :** Examen cyto bactériologique des urines.
- EHEC:** *Escherichia coli* entérohémorragiques.
- EIEC :** *Escherichia coli* entéroinvasifs.
- EPEC:** *Escherichia coli* entéro pathogènes.
- ER+:** Estrogen Receptor positive.
- ETEC:** *Escherichia coli* entérotoxinogènes.
- FEP:** Céfépime.
- GEL:** Gélatinase.
- HER2 :** Human Epidermal growth factor Receptor 2, c'est-à-dire récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain.
- IPA:** les îlots de pathogénicité.
- K:** Kanamycine.
- LDC:** Lysine décarboxylase.
- MEVAG:** Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides.
- MHC II:** Major Histocompatibility Complex.
- MRS:** Man, Rogosa ET Sharpe.
- ODC:** Ornithine décarboxylase.
- ONPG:** Orthonitrophényl- β -D-galactopyrannoside.
- ORL :** otorhinolaryngologiste.
- OXA :** oxacillinasés.
- PBP:** penicillin-binding proteins.

Liste des abréviations

PRL: Pipéracilline.

PSE : *Pseudomonas* Spécifie Enzyme.

S: Streptomycin.

SCCs: les chromosomes cassettes *Staphylococcus*.

STX: Sulafaméthoxazole + triméthoprime.

TDA: tryptophane désaminase.

TE: Tetracycline.

TSB: Tryptic Soy Broth.

UPEC : Uropathogenic *Escherichia coli*.

VP: *Voges-Proskauer*.

VRS : Virus Respiratoire Syncytial.

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, les êtres humains ont utilisé les ressources naturelles de leur environnement pour traiter et soigner diverses maladies. Dans de nombreuses régions du monde, jusqu'à 80% des populations ont recours aux plantes médicinales en raison de l'inaccessibilité aux médicaments modernes et de leur efficacité avérée **(Pelt, 2001)**.

L'Algérie, en tant que pays méditerranéen, possède une flore diversifiée et une longue tradition de médecine traditionnelle basée sur l'utilisation de plantes médicinales. Ces connaissances populaires ont permis le développement de techniques efficaces basées sur les plantes. **(Hamel et al., 2018)**.

L'utilisation intensive des antibiotiques a conduit à l'émergence de la résistance aux antimicrobiens, un problème mondial majeur. Il est donc crucial d'adopter une gestion responsable des antimicrobiens. Les composés antimicrobiens présents dans les plantes médicinales peuvent inhiber la croissance bactérienne en ciblant des mécanismes cellulaires différents de ceux visés par les antibiotiques actuellement utilisés. **(Levinson et al., 1996)**.

Les infections nosocomiales, souvent causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques, entraînent chaque année des coûts exorbitants. Dans ce contexte, l'utilisation des plantes médicinales, telles que le romarin (*Rosmarinus officinalis*), qui est couramment utilisé dans la cuisine méditerranéenne, peut offrir des solutions alternatives. Le romarin est une plante ou une herbe médicinale, dont une partie ou toute la plante est utilisée pour ses propriétés médicinales, que ce soit sous forme séchée ou fraîche. **(Leplat, 2017)**.

Ce mémoire est consacré à l'étude de l'effet antagoniste de l'extrait brute d'une plante médicinale : *Rosmarinus officinalis* (le romarin) sur quelques souches hospitalières notamment : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*. L'objectif de cette étude consiste à trouver une alternative aux antibiotiques pour lutter contre le problème d'antibiorésistances dans le monde. Cette étude est divisée en deux parties : une première partie consacrée à une synthèse bibliographique sur la plante utilisée et aussi un aperçu sur les bactéries pathogènes. Dans la deuxième partie, les étapes et les différents tests réalisés ainsi que leurs résultats obtenus, ils ont été détaillés dans le chapitre matériel et méthodes et résultats et discussion respectivement.

Synthèse
bibliographique
Chapitre I
Rosmarinus officinalis

1. Généralités

Rosmarinus officinalis L. (famille des Lamiacées), communément appelé romarin, est l'une des herbes culinaires vivaces les plus populaires dans le monde entier. Les feuilles fraîches et séchées de romarin ont été utilisées pour leur arôme caractéristique dans la cuisson des aliments ou consommées en petite quantité comme tisane, tandis que les extraits de romarin sont couramment utilisés comme antioxydant naturel pour améliorer la durée de conservation des aliments périssables. L'autre utilisation majeure du romarin est dans l'industrie de la parfumerie où ses huiles essentielles sont utilisées comme ingrédients naturels (Gianmario et al., 2007 ; Solomon, 2015).

1.1. Origine

Le romarin, connu sous le nom scientifique *Rosmarinus officinalis*, est un petit arbuste dont le nom est dérivé du latin "ros", signifiant rosée, et "marinus", signifiant marin. Il est originaire d'Europe du Sud et est largement utilisé depuis longtemps comme aromate et plante médicinale (Rameau, 2008).

Selon la légende, le romarin pousse uniquement dans les zones où la rosée marine se répand. Dans d'autres régions, il est souvent appelé "La rose de mer" en référence au terme latin "rosamarina", qui est à l'origine du nom de son genre L'épithète spécifique "officinalis" souligne que le romarin est une plante médicinale (Leplat, 2017). L'épithète spécifique "officinalis" rappelle que le romarin est une plante médicinale.

1.2. Classification systématique

Tableau I: Classification systématique de la plante de *Rosmarinus officinalis* (Begum et al., 2013).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Rosmarinus</i>

Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
--------	----------------------------------

1.3. Description botanique

Le romarin est un sous-arbrisseau méditerranéen qui peut atteindre une hauteur d'un mètre. Il possède des feuilles lancéolées, coriaces et d'un vert foncé, ainsi que de petites fleurs blanchâtres avec des nuances de lilas qui fleurissent entre les mois de Mai et Juillet (Schauenberg et Paris, 2020).

1.1.1. Partie souterraine

a. Racine

Le romarin a une racine dense et profonde qui lui permet d'absorber l'eau en profondeur lors des périodes de sécheresse (Comas et al., 2013).



Figure 1: Système racinaire de *Rosmarinus officinalis*. (Comas et al., 2013).

1.1.2. Partie aérienne

a. Fleurs

Les fleurs du romarin se regroupent en petites grappes axillaires et terminales, situées au sommet des rameaux. Elles sont de couleur bleu pâle à blanchâtre et presque sessiles (Rameau et al., 2008). Les fleurs du romarin sont généralement composées de cinq parties et sont souvent hermaphrodites (Marrou et Reynand, 2007).



Figure 2: Les fleurs de *Rosmarinus officinalis* (Rameau et al., 2008).

b. Feuille

Les feuilles du romarin sont généralement coriaces, persistantes et sans pétiole. Elles ont une forme linéaire, sont dressées, de couleur verte, avec une texture ponctuée et rugueuse sur la face supérieure. Sur la face inférieure, elles sont de couleur blanche et tomenteuse, avec les extrémités enroulées vers l'intérieur (Mouas *et al.*, 2016 ; Mértola, 2018).



Figure 3: Feuilles linéaires de *Rosmarinus officinalis*. (Mértola, 2018).

c. Tige

Le romarin présente des tiges ligneuses fortement ramifiées, qui sont pubescentes lorsqu'elles sont jeunes. Les tiges sont de forme subcylindrique avec quatre légères protubérances, et elles renferment du collenchyme sous un épiderme bien défini (Mértola, 2018). De plus, elles sont dotées d'une épaisse cuticule jaune verdâtre et de nombreux poils (Hoefler, 1994).



Figure 4: Tige ligneuse de *Rosmarinus officinalis*. (Mértola, 2018).

1.4. Composition chimique (Principes actifs)

1.1.3. Polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants présents dans de nombreux végétaux. Leur activité antioxydante est due à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme des agents réducteurs. Ils neutralisent les radicaux libres, qui peuvent endommager les cellules et

contribuer à des maladies (Gülçin et al., 2010 , Fillon, 2014).

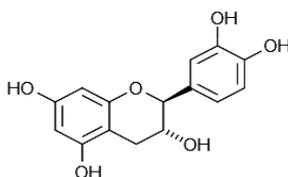


Figure 5: Structure chimique des polyphénols.

1.1.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés présents dans les plantes responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils se trouvent en concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles. Les flavonoïdes sont une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Leur structure chimique leur confère des propriétés antioxydantes, qui aident à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages oxydatifs dans le corps (Loto, 2011, Ghedira, 2005).

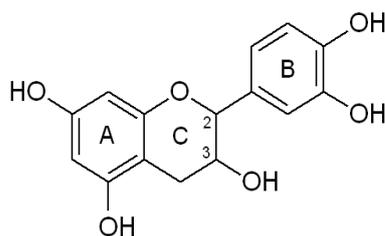


Figure 6: Structure de base des flavonoïdes. (Loto, 2011).

1.1.5. Terpènes

Les huiles essentielles sont composées d'un ensemble de composés terpéniques, qui sont généralement les plus volatils et de faible masse moléculaire. Ces composés dérivent de l'isoprène, une unité de base chimique répondant à la formule générale (C₅H₈). Ils sont également connus sous le nom d'isoprénoïdes ou de terpénoïdes. (Bruneton, 1993).

1.1.6. Tannins

Les tanins, également appelés tannins, sont des substances naturelles largement répandues dans le règne végétal. Ils sont localisés dans les vacuoles quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. Elles sont des glucosides de l'acide gallique (tanins galliques) ou de la pyrocatechine (tanins catéchique) (Alignan, 2006). Elles sont des glucosides de l'acide

gallique (tanins galliques) ou de la pyrocatéchine (tanins catéchique) (Hui et al., 2010).

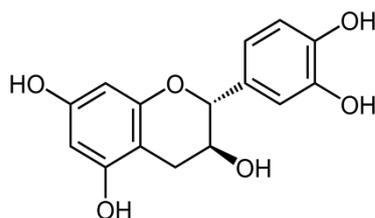


Figure 7: Structure chimique des tannins. (Hui et al., 2010).

1.1.7. Huile essentielle

L'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*) a été étudiée pour évaluer ses composants. Parmi les 29 composés identifiés, les principaux étaient le 1,8-cinéole (43,77%), le camphre (12,53%) et l' α -pinène (11,51%). L'huile essentielle de romarin empêche l'augmentation de la peroxydation lipidique induite dans des homogénats de foie (Leplat, 2017).

2. Les activités biologiques

2.1. Activité antioxydante

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*), une plante de la famille *Lamiaceae*, est riche en polyphénols, des composés antioxydants. Les feuilles de romarin sont utilisées depuis longtemps comme épice pour aromatiser les aliments et sont également utilisées comme source de composés antioxydants pour la conservation des aliments, notamment la viande. Les polyphénols du romarin ont montré des propriétés antioxydantes significatives, aidant à neutraliser les radicaux libres et à réduire le stress oxydatif. (Andrade et al., 2018, Erkan et al., 2008).

2.2. Activité antibactérienne

L'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*) est reconnue pour son activité antibactérienne. De nombreuses études ont été menées pour évaluer son efficacité, que ce soit seule, en combinaison avec d'autres huiles essentielles ou comparée à d'autres huiles essentielles. L'huile essentielle de romarin contient des concentrations significatives de différents composés, tels que la pipéritone (23,6) (Leplat, 2017).

Les huiles essentielles de *R. officinalis* peuvent être utilisés dans le développement de nouveaux agents anti-biofilm, cela revient à une étude réalisée sur les effets de deux huiles essentielles (*Menthapiperita* et *Rosmarinus officinalis*) sur *Staphylococcus mutans* et *Staphylococcus pyogenes* avec la chlorhexidine comme antibactérien de référence dont le résultat montrait que toutes les concentrations de l'huile essentielle sont significativement plus efficaces que la chlorhexidine (**Rasooli et al., 2008**).

2.3. Activité anticancéreuse

L'extrait de *Rosmarinus officinalis* (romarin) a montré des propriétés antitumorales contre les cellules cancéreuses de différents organes, y compris le sein. Les principaux composés actifs de l'extrait, tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique, ont démontré une activité antiproliférative et la capacité d'induire l'apoptose des cellules cancéreuses. De plus, ces composés peuvent augmenter la production d'oxyde nitrique, ce qui peut avoir des effets antitumoraux. Ces résultats suggèrent que l'extrait de romarin pourrait être utilisé dans la chimio-prévention et le traitement du cancer. (**González-Vallinas et al., 2014 ; Rafie et al., 2017**).

2.4. Activité antivirale

L'acide carnosique, un composé actif présent dans l'extrait de *Rosmarinus officinalis* (romarin), a montré une forte activité antivirale contre le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) et a été efficace contre les types A et B du virus. De plus, l'acide carnosique a démontré une capacité d'inhibition sur une protéase du Virus de l'Immunité Humaine (VIH). Ces résultats suggèrent que l'acide carnosique pourrait être prometteur dans le traitement des infections virales (**Shin et al., 2013**).

2.5. Activité antiparasitaire/insecticide

Les extraits de plantes ont été utilisés depuis longtemps comme insecticides contre les moustiques vecteurs de maladies humaines. Ils sont considérés comme une alternative préférable aux insecticides chimiques en raison de leur caractère respectueux de l'environnement et de la biodégradabilité de leurs molécules. Les composés naturels présents dans ces extraits agissent en perturbant les processus biologiques des moustiques (**Pohlit et al., 2011 ; Gitaari et al., 2018**).

3. Usage de *Rosmarinus officinalis*

3.1. Usage traditionnel

Dans l'Antiquité, cette plante aromatique était également utilisée en dehors de la cuisine. Il a été utilisé pour les maux de dents, les pieds froids, les problèmes d'estomac, l'artériosclérose, l'empoisonnement, la fatigue, les accidents vasculaires cérébraux et la circulation sanguine. De plus, le romarin protégeait des mauvais esprits et de la peste. En médecine traditionnelle, ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager les coliques néphrétiques et la dysménorrhée, comme antispasmodique, et par voie topique pour traiter l'eczéma (**Gonzalez-Trujano, 2007**).

Le romarin est également utilisé comme rince-bouche pour les rhumes, la congestion nasale, l'hygiène buccale et la fumigation au romarin pour soulager les maux de dents (**Wichtl et al., 2003 ; Bakirel, 2008**).

3.2. Usage moderne

Grâce à ces propriétés antioxydantes, le romarin est considéré comme une excellente source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir l'oxydation potentielle et la dégradation microbienne des aliments (**Martini, 2011**). En effet, les feuilles et extraits de *Rosmarinus officinalis* et ses principes actifs (acide rosmarinique, acide carnosique, rosmanol, carnosol) sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour conserver la viande et les aliments gras (**Wichtl et Anton, 2003**).

L'huile essentielle de romarin est utilisée dans les compositions de parfum et d'eau de Cologne, notamment pour les hommes, ainsi que dans la formulation d'onguents pour la peau et de produits de soins capillaires (**Martini, 2011**). Ils sont notamment utilisés dans des compositions d'huiles corporelles et sont également utilisés pour aromatiser des produits d'hygiène comme le dentifrice et le savon (**Faucon, 2012**).

Chapitre II

Les bactéries pathogènes

Les agents des maladies infectieuses humaines appartiennent à cinq grands groupes d'organismes : les bactéries, les champignons, les protozoaires, les helminthes et les virus. Les bactéries appartiennent au royaume des procaryotes, sont classées selon leur forme en trois groupes de base : Cocci, bacilles et spirochètes (**Levinson et al., 1996**). Les bactéries produisent différents facteurs de virulence qui leur confèrent la capacité de causer différentes maladies (**Levinson et al., 1996**).

1. *Escherichia coli*

1.1. Généralités sur *E. coli*

➤ **Classification d'*E. coli***

Tableau II : Taxonomie d'*Escherichia coli* (Basavaraju et al., 2022)

Domaine	Bactéries
Royaume	Bactéries
Phylum	Protéobactéries
Classe	Gamma protéobactéries
Ordre	Entérobactéries
Famille	Entérobactéries
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)

Des critères de différenciation basés sur leur sérotype, leur virulence et leurs conséquences cliniques ont permis de classer ces souches pathogènes en quatre groupes. On distingue : *E. coli* entéropathogènes (EPEC), *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), *E. coli* entéroinvasifs (EIEC) et *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) (**Brisabois et al., 1997**).

➤ Morphologie d'*E. coli*

C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, elle peut être mobile grâce à des flagelles péritriches ou non mobile et peut avoir des capsules ou des microcapsules (Fratamico et al., 2006). Les cellules ont généralement la forme d'une tige (Basavaraju et al., 2022).

➤ Habitat

Escherichia coli est un type de bactérie qui peut vivre dans de nombreux environnements différents. Les bactéries se trouvent dans l'environnement ainsi que sur les organismes vivants, y compris les plantes, les animaux et l'individu. *E. coli* est un commensal de l'intestin (Manning et al., 2010, Brisabois et al., 1997).

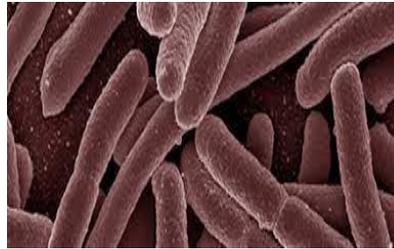


Figure 8: Aspect morphologique d'*Escherichia coli*. (Aanonym)

1.2. Caractères bactériologiques

➤ Caractères cultureux

E. coli peut se développer à des températures comprises entre 4°C et 46°C, avec une croissance optimale à 37°C et pH 4,6-9,5 (Brisabois et al., 1997). Cette bactérie est chimio-organotrophe et se développe finalement de manière anaérobie (Fratamico et al., 2006).

➤ Caractères biochimiques

Elle est oxydase et catalase négative, fermentative (glucose, lactose, D-mannitol, D-sorbitol, arabinose, maltose), réduit les nitrates et est positive à la β -galactosidase. Environ 95% des souches d'*E. coli* sont indole et méthyl rouge positives, mais Voges-Proskauer et citrate négatives.

1.3. Pouvoir pathogène

Escherichia coli est la cause la plus fréquente d'infection des voies urinaires et de septicémie Gram-négative. C'est l'une des deux causes importantes de la méningite néonatale et l'agent le plus souvent associé à la "diarrhée du voyageur", une diarrhée aqueuse. Certaines souches d'*E. coli* sont entérohémorragiques et provoquent une diarrhée sanglante (**Levinson et al., 1996**). Les infections extra-intestinales peuvent inclure des infections des voies urinaires, causées par une obstruction du tractus urinaire ou spontanément par le pathovar UPEC (**Brisabois et al., 1997**). En revanche, les infections intestinales sont causées par les différents pathovar d'*E. coli* tels que EPEC, ETEC, EIEC et EHEC (**Brisabois et al., 1997**).

2. *Staphylococcus aureus*

2.1. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

➤ Classification

Tableau III: Taxonomie de *Staphylococcus aureus* (**Prescott, 2010**).

Règne	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

➤ Morphologie

Staphylococcus aureus est une bactérie Gram positif, de forme sphérique, et de taille entre 0,5-1,5 µm de diamètre. Elle est non mobile et apparaît bleuâtre/pourpre par coloration Gram (**Rasheed et al., 2021**). *S. aureus* a la forme de Cocci et à tendance à être disposée en grappes décrites comme « ressemblant à du raisin » (**Brisabois et al., 1997**).

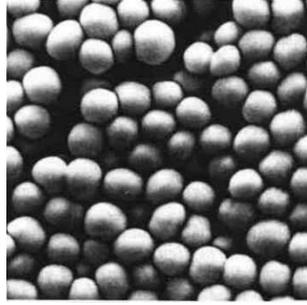


Figure 9: Observation par microscope électronique des cellules de *S. aureus* (Avril et al., 2000).

➤ Habitat

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont isolées de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaire ainsi qu'à partir de denrées alimentaires (Fleurette, 1990). Cette espèce bactérienne peut coloniser aussi bien l'Homme que plusieurs espèces animales. Chez l'Homme, on peut retrouver *S. aureus* au niveau du nez, des aisselles et le système gastro-intestinal (Gordon et al., 2008).

2.2. Caractères bactériologiques

➤ Caractères cultureux

S. aureus est une bactérie aéro-anaérobie facultative, se développe aussi bien sur les milieux ordinaires que sélectifs. C'est une bactérie mésophile, neutrophile et halophile (Couture, 1990). C'est un anaérobie facultatif qui obtient de l'énergie pour la croissance par respiration aérobie ou fermentation (Rasheed et al., 2021). Elle peut se croître à des températures comprises entre 6 °C et 46 °C (température optimale : 37 °C), à un pH compris entre 4 et 9,8 (pH optimum : 6 à 7). Cette espèce tolère une concentration élevée de NaCl (jusqu'à 20 %) (Brisabois et al., 1997).

➤ Caractères biochimiques

Il existe plusieurs tests biochimiques qui peuvent être utilisés pour identifier et différencier *S. aureus* des autres coques Gram positifs. La bactérie est catalase positive (+), ce qui la distingue des streptocoques catalase négatifs (-). Elle est également oxydase négative (-) (Rasheed et al., 2021).

2.3. Pouvoir pathogène

Selon **Brisabois et al., (1997)**, *S. aureus* est une des bactéries les plus fréquentes chez l'être humain, causant de multiples infections chez l'Homme.

Grâce à ses multiples facteurs de virulence, *S. aureus* est considéré comme l'un des staphylocoques les plus virulents. Lorsque les conditions sont favorables, cette bactérie peut provoquer diverses infections, notamment des endocardites, des ostéomyélites, des infections cutanées, des pneumonies et des intoxications alimentaires (**Gordon et al., 2008**). *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline est la cause la plus fréquente d'abcès cutanés. Elle est également une cause importante de pneumonie, et de septicémie chez les patients immunocompétents (**Levinson et al., 1996**).

3. *Bacillus cereus*

3.1. Généralités sur *Bacillus cereus*

➤ Classification

Tableau IV: Taxonomie de *Bacillus cereus*.

Domaine	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillaceae
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>Bacillus cereus</i>

➤ Morphologie

Les bactéries appartenant au genre *Bacillus*, à l'exclusion de *B. anthracis*, peuvent adopter diverses formes morphologiques en fonction du milieu de culture. *B. cereus* est une bactérie Gram-positif sous forme de tige (1,0-1,2 µm par 3,0-5,0 µm) (**Savini, 2016**).

Elle est mobile par ciliature péritriche, elle est rarement capsulée, sauf *B. anthracis* dans certaines conditions (Avril et al., 2000).

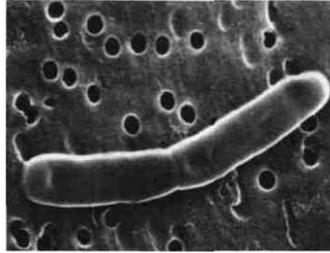


Figure 10: Morphologie de *B. cereus* (Avril et al., 2000).

➤ Habitat

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des bactéries présentes dans l'environnement, telles que le sol, l'eau, les poussières, les plantes, ainsi que dans les matières fécales humaines et animales. Parmi ces bactéries (Teyssou et al., 1998) *B. cereus*, qui est considéré comme un saprophyte, c'est-à-dire qu'il se nourrit de matière organique en décomposition. On le trouve couramment dans le sol, sur les végétaux, les épices et les céréales, en particulier le riz. (Avril et al., 2000).

3.2. Caractères bactériologiques

➤ Caractères cultureux

Bacillus cereus est une bactérie qui peut pousser à une grande variété de températures, allant des souches psychrophiles aux souches thermophiles. Elle se cultive entre 10 et 45°C avec un optimum à 30-35°C (Kramer et Gilbert, 1989, Avril et al., 2000).

➤ Caractères biochimiques

Bacillus cereus appartient au Groupe 01 du genre *Bacillus*. Gram (+), aéro-anaérobie facultatif, mobile (±), nitrate (+), catalase (+), mannitol (-) (Avril et al., 2000)

3.3. Pouvoir pathogène

Bacillus cereus est une bactérie responsable d'intoxications alimentaires causées par la prolifération de la bactérie dans les aliments contaminés. Deux types d'intoxications sont décrits :

- L'un se manifeste par une diarrhée profuse, des douleurs abdominales et des nausées, similaire à une toxi-infection due à *Clostridium perfringens* (Kayser et al., 2005).
- L'autre se caractérise par des vomissements violents après l'ingestion d'entérotoxines préformées dans les aliments, avec une incubation plus courte. (Kayser et al., 2005).

4. *Klebsiella pneumoniae*

4.1. Généralités sur *Klebsiella pneumoniae*

➤ Classification

Tableau V: Taxonomie de *Klebsiella pneumoniae* (Bergogne et al., 1995).

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Klebsiella</i>
Espèce	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

➤ Morphologie

Klebsiella est une famille de bactéries appelée Enterobacteriaceae qui se caractérise par son immobilité. C'est un bacille à Gram négatif, de dimensions similaires à celles d'*Escherichia coli*. Elle est généralement enveloppée d'une capsule et peut fermenter de nombreux types de glucides. Contrairement à d'autres bactéries, elle ne possède pas les enzymes ODC, ADH ou TDA, et ne produit pas d'H₂S. De même, elle ne produit pas de lipase (Richard et Grimont, 1992, Avril et al., 2000).

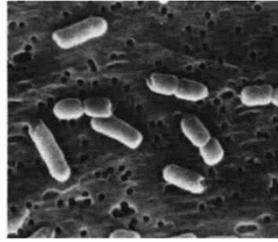


Figure 11: *K. pneumoniae* (Avril et al., 2000)

➤ **Habitat**

Klebsiella pneumoniae est l'espèce la plus fréquemment dans les infections humaines parmi les bactéries du genre *Klebsiella*. Mais elle peut également être présente dans l'environnement, comme le sol et l'eau. Il est important de noter que bien que *K. pneumoniae* puisse être un commensal normal chez l'homme, elle peut également causer des infections opportunistes chez les personnes immunodéprimées ou ayant des conditions de santé précaires (Levinson et al., 1996, Avril et al., 2000),

4.2. Caractères bactériologiques

➤ **Caractères cultureux**

K. pneumoniae est une bactérie qui peut se développer en présence ou en absence d'oxygène. Sur les milieux couramment utilisés pour isoler les entérobactéries (gélose Drygalski, Hektoen, Mac Conkey, EMB), après une incubation de 18 à 24 heures à 30 ou 37°C, les colonies de *K. pneumoniae* ont un diamètre de 3 à 4 mm, elles sont rondes, lisses, muqueuses, bombées, brillantes et positives pour le lactose. En milieu liquide comme le bouillon nutritif ou l'eau peptonée, la culture de *K. pneumoniae* est rapide (quelques heures) à 30°C et 37°C, avec parfois la formation d'un dépôt muqueux et d'une collerette visqueuse en surface (Le Minoret Véron, 1989).

➤ **Caractères biochimiques**

Selon Avril et al., (2000), *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie à test VP positif, à test ONPG positif et à test LDC positif. Elle produit également une grande quantité de gaz lorsqu'elle attaque le glucose.

4.4. Pouvoir pathogène

K. pneumoniae est isolées principalement de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections urinaires, hépatobiliaires ou de pus divers (Avril et al., 2000). *K. pneumoniae* est le plus susceptible d'être un pathogène primaire, non opportuniste ; cette propriété est liée à sa capsule antiphagocytaire. Bien que cet organisme soit un pathogène primaire, les patients atteints d'infections par *K. pneumoniae* ont souvent des conditions prédisposantes telles que l'âge avancé, les maladies respiratoires chroniques, le diabète ou l'holisme alcoolique (Levinson et al., 1996).

5. *Pseudomonas aeruginosa*

5.1. Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa*

➤ **Classification**

Tableau VI: Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (Benabid, 2009).

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>

➤ **Morphologie**

Pseudomonas aeruginosa sont des tiges longues avec plusieurs flagelles polaires C'est une bactérie de forme bacille à Gram négatif. Parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée

slime qui peut jouer un rôle important dans sa pathogénicité (Kayser et al., 2005 , Avril et al., 2000).

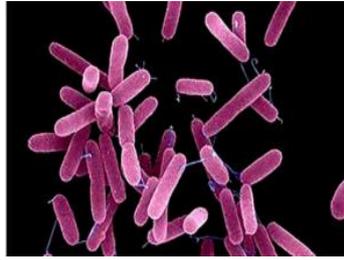


Figure 12: *Pseudomonas aeruginosa* (Biquand, 2017).

➤ **Habitat**

Les souches de *Pseudomonas* sont présentes dans la nature et peuvent être retrouvées dans les différentes niches écologiques, sur les plantes ainsi que dans les intestins humains et animaux en faible quantité. Ils ont la capacité de se développer dans des milieux humides, même en présence de faibles quantités de nutriments. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif. (Kayser et al., 2005).

5.2. Caractères bactériologiques

➤ **Caractères cultureux**

Cette bactérie non fermentaire est aérobic stricte et non exigeante, pouvant se développer à des températures variant de 30 °C à plus de 40°C (LaBauve et al., 2012). Elle peut être cultivé facilement sur tous les milieux en aérobiose (Avril et al., 2000).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie qui peut être facilement cultivée sur des milieux de culture courants tels que la Trypticase Soja en seulement 24 heures. Elle peut également être cultivée sur des milieux sélectifs contenant du Cétrimide (Kayser et al., 2005).

➤ **Caractères biochimiques**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie aérobic stricte, non fermentaire, qui présente des caractéristiques métaboliques spécifiques. Elle possède une activité d'oxydase et peut réduire les nitrates jusqu'à l'étape du diazote gazeux. Elle est capable d'effectuer une oxydation oxydative des sucres (Ryan et al., 2013)

5.3. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa a la capacité de provoquer des infections dans presque toutes les parties du corps, bien que les infections des voies urinaires, la pneumonie (surtout chez les patients atteints de fibrose kystique) et les infections de plaies (en particulier les brûlures) soient les plus courantes. Cette bactérie est une cause importante de pneumonie contractée à l'hôpital, surtout chez les patients sous ventilation mécanique (pneumonie associée à la ventilation mécanique). Une fois établie, la bactérie peut se propager dans le sang, provoquant une septicémie. Elle peut également causer des lésions cutanées noires et nécrotiques appelées *ecthyma gangrenosum* (Levinson et al., 1996).

6. *Streptococcus pyogenes*

6.1. Généralités sur *Streptococcus pyogenes*

➤ Classification

S. pyogenes appartient à la famille des *Streptococcaceae* regroupant les genres *Lactococcus*, *Lactovum* et *Streptococcus* (Plainvert, 2013).

➤ Morphologie

Streptococcus pyogenes (groupe A) apparaissent sous forme de cocci à Gram-positifs avec un diamètre de 1 µm, immobiles et asporulés sphériques ou ovoïdes. (Kayser et al., 2005 , Avril et al., 2000).

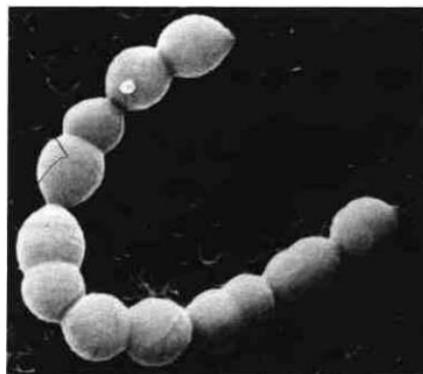


Figure 13: *Streptococcus pyogenes* (Avril et al., 2000).

➤ Habitat

Les streptocoques sont présents partout dans l'environnement et certains d'entre eux peuvent survivre pendant de longues périodes. En ce qui concerne *Streptococcus pyogenes*, les êtres humains sont le seul réservoir pathogène connu de cette bactérie (Avril et al., 2000 ; Kayser et al., 2005).

6.2. Caractères bactériologiques

➤ Caractères cultureux

C'est une bactérie qui se croit en atmosphère enrichie en CO₂ avec une température optimale de 37°C et un pH optimal de 7,3 (Avril et al., 2000)

➤ Caractères biochimiques

Cette bactérie est une aéro-anaérobie facultatif, une catalase et oxydase négative et un métabolisme fermentaire (Avril et al., 2000).

6.3. Pouvoir pathogène

Les infections streptococciques invasives surviennent lorsque les agents pathogènes pénètrent dans le corps par des lésions cutanées ou muqueuses et causent des infections locales ou généralisées graves. Les cas graves d'infection septicémique et de fascite nécrosante sont rares, mais ils surviennent chez des personnes ayant un allotype MHC II à haut risque. Chez ces patients, les super antigènes PSE, en particulier PSEA, provoquent une forte libération de cytokines en se liant simultanément au complexe MHC II et à la chaîne b du récepteur des cellules T, ce qui entraîne des symptômes graves (Kayser et al., 2005).

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel & méthodes

1. Présentation de lieu de stage

Les travaux pratiques de notre étude ont été réalisés au niveau de laboratoire central de polyclinique « Hadiouche Salah » à Ain Bessem, la wilaya de Bouira durant la période allant du mois de Mars au mois d’Avril 2023. Ce laboratoire s’intéresse à faire des analyses médicales suivantes : les analyses bactériologiques et les analyses biochimiques.

Notre travail est précisément réalisé au niveau de laboratoire de bactériologie qui s’intéresse à faire : les examens cytologiques et bactériologiques des urines, et les examens bactériologiques des selles (Copro-parasitologie).

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Tableau VII : Matériel utilisé.

Matériels	Milieux de culture	Réactifs	Matériel végétale
Flacon stérile	BCP	Ethanol96%	Poudre de romarin
Pipette Pasteur	Gélose Chapman	Huile à immersion	
Bec bunsen	Gélose nutritive	Alcool	
Lame	Gélose Hektoen	Violet de gentiane	
Tube a essaie	Gélose King A	Lugol	
Boites de Petri	Gélose Muller Hinton	Fuchsine	
Antibiotiques	Gélose MAC Conkey		
Ecouvillon	Gélose EMB		
Tamis	Bouillon nutritif		
Filtre à seringue	Bouillon TSB		
Micropipette	Gélose Citrimide		
Moulin			

2.2. Méthodes

2.1. Echantillonnage

2.1.1. Les échantillons d'ECBU

Les échantillons de l'ECBU ont été réalisés sur des malades non hospitaliers (externes) durant 1 mois.

Tableau VIII: Les échantillons des urines.

Catégories	Age	Nombre de prélèvements
Femmes enceintes	25 à 35 ans	10
Vieux	82 ans	01
Adultes	17 à 23 ans	08
Nouveau-né	2 mois	02
Enfants	4 à 5 ans	07
Femme âgée	58 ans	01
Homme diabétique	42ans	01

2.1.2. Les échantillons d'ORL

Les échantillons ont été prélevés à partir de la sphère ORL (nasal / Oral). Les caractéristiques des échantillons sont mentionnées dans le tableau IX.

Tableau IX: Les échantillons nasaux et oraux.

Catégories	Age	Nombre de prélèvements
Jeune fille (Atteinte de la sinusite)	22 ans	04
Jeune fille allergique	25 ans	01

(Allergie saisonnière)		
Jeune homme (Attient des angines)	28 ans	01

2.1.3. Les échantillons de différents services de l'hôpital

Les prélèvements des services de l'hôpital ont été pris par des écouvillons stériles à partir des murs, des surfaces et le matériel biologique.

Tableau X: Les échantillons pris de divers services de l'hôpital.

Services	Nombre de prélèvements
Salle d'accouchement (maternité)	02
Sanitaire (pédiatrie)	02
Salle de soin (les urgences)	04

2.2. Isolement des bactéries pathogènes

2.2.1. Prélèvements et isolement

➤ **Les bactéries pathogènes responsables des infections urinaires (ECBU)**

Il est recommandé d'utiliser des tubes stériles à usage unique avec un couvercle pour les prélèvements d'urine. Si ces tubes sont réutilisés, il est important de veiller à éliminer toute trace de produit nettoyant qui pourrait altérer les résultats de l'analyse chimique. Les prélèvements des urines doivent être réalisés avec les premières urines du matin ou après une période d'au moins 4 heures sans uriner.

Dans le cas des prélèvements chez les jeunes enfants ou les personnes incapables de contrôler leur vessie, on utilise des récipients spéciaux stériles tels que des sachets

autocollants. Avant de procéder au prélèvement, il est recommandé de réaliser une toilette préalable.

Après le recueil des premières urines au laboratoire, on a réalisé un test de chimie des urines « LABSTIX », qui permet un examen qualitatif des urines pour déterminer le pH et de rechercher la présence du glucose, de corps cétoniques, de leucocytes, de nitrites, de protéines, de sang, d'urobilinogènes et de bilirubine.

L'analyse de l'ECBU se déroule en deux principales étapes :

- **Examen macroscopique** : laisser les urines recueillies durant quelque instant pour examiner son aspect, sa couleur, son odeur...etc.
- **Examen microscopique**
 - **Analyse cytologique** : Consiste à examiner le culot après centrifugation par une observation microscopique afin de chercher des leucocytes, cellules épithéliales ...
- **Examen bactériologique**

Cet examen consiste à déterminer le nombre et la nature des bactéries. Devant le bec bunsen, On a ensemencé un volume des urines fraîches dans des boîtes de pétri contiennent des géloses différentes :

- **Milieu BCP sélectif (Bromo Crésol Pourpre)** : pour le développement des germes à Gram négatif du genre *Enterobacter*.
- **Milieu Chapman sélectif** : pour le développement des germes à Gram positif du genre *Staphylococcus*.
- **Milieu Gélose nutritive** : milieu non-sélectif pour tous genres des bactéries.

Après l'ensemencement, On a incubé les boîtes de Petri dans l'étuve réglée à 37°C pendant 24h à 48h.

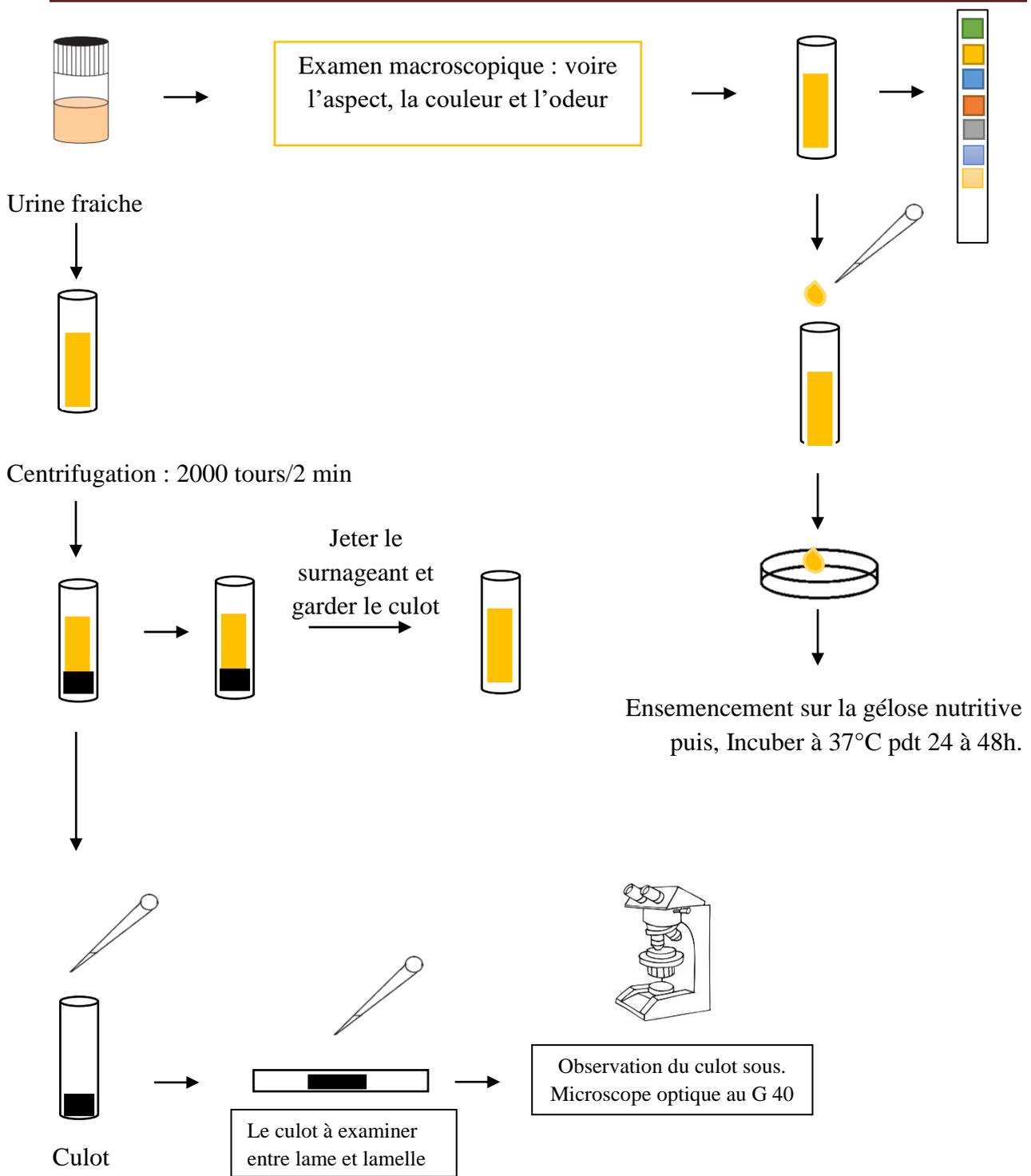


Figure 14: Schéma explicatif de réalisation d'un E.C.B.U.

➤ **Les bactéries pathogènes responsables des infections de la sphère ORL**

Les prélèvements (Oral et nasal) ont été réalisés par écouvillonnage qui sont par la suite introduit dans de bouillon MRS (Man, Rogosa et Sharpe) pour un enrichissement. On les a incubés pendant 18 heures à 37°C.

Après les 18 heures, on a récupéré les écouvillons pour faire des cultures sur gélose Chapman et l'incubation se réalise pendant 24h à 48h à 35-37°C.

➤ **Les bactéries pathogènes responsables des infections nosocomiales**

On a suivi les mêmes étapes précédentes, Après avoir enrichir les écouvillons des prélèvements faits à partir de l'hôpital (Sanitaire, salle d'accouchement, matériels...), on a réalisé des cultures sur des boites de Petri qui contiennent de milieu Hektoen, King A et gélose nutritive puis incubé pendant 24h à 48h à 37°C.

2.3. Identification biochimique et coloration de Gram

Pour identifier les bactéries obtenues après les cultures réalisées, on a réalisé une galerie Api20E qui est basée sur l'évaluation de l'activité biochimique des souches bactériennes en recherchant les modifications apportées au milieu par le métabolisme bactérien. Une coloration de Gram a été ensuite réalisée.

➤ **La galerie Api 20 E**

Pour la réalisation de la galerie, On a suivi ces étapes :

En respectant les conditions stériles, devant un bec bunsen, On a pris une série des tubes à essai en plastique pour la préparation des suspensions bactériennes avec 2 à 3 colonies dans un volume de l'eau physiologique, et on a rempli les tubes de la galerie selon la méthode suivante :

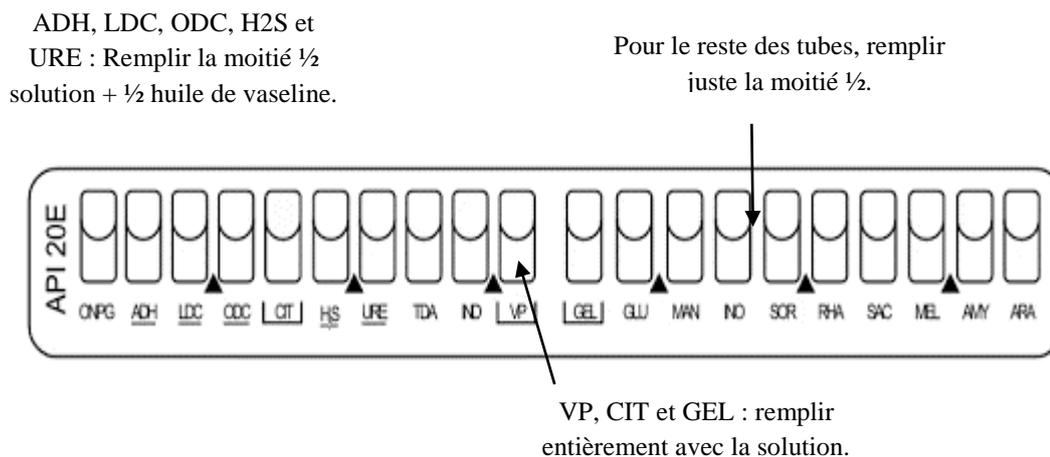


Figure 15: Schéma d'une galerie Api 20 E.

- Après le remplissage des galeries, on les couvre et les incube à 37 °C pendant 24h.

➤ **Les tests biochimiques**

- Test oxydase

Toujours dans la zone stérile, on a mis un disque d'oxydase sur une lame, et on a pris une colonie de bactérie à identifier avec une pipette Pasteur et on l'a frottée sur le disque. Dans le cas d'oxydase positif, on observe l'apparition d'une couleur mauve violet sur le disque.

- Test catalase

On a versé une goutte de l'eau oxygénée H₂O₂, et on a ensemencé dessous 2 à 3 colonies bactériennes. On observe l'apparition des bulles d'air si le test est positif.

➤ **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est une technique de coloration de référence utilisée en bactériologie. Voici les étapes de cette coloration :

1. Préparer un frottis fixé à la chaleur sur une lame.
2. Recouvrir la lame avec du violet de gentiane et laisser agir pendant environ 1 minute.
3. Éliminer l'excès de violet de gentiane en rinçant la lame.
4. Recouvrir la lame avec du lugol et laisser agir pendant environ 1 minute.
5. Éliminer le lugol en rinçant la lame.

6. Décolorer en utilisant de l'alcool, en tenant la lame inclinée. La durée de décoloration dépend de l'épaisseur du frottis, et elle est suffisante lorsque le liquide qui s'écoule en bas de la lame devient clair.
7. Arrêter la décoloration en rinçant la lame à l'eau.
8. Recouvrir la lame avec de la fuchsine diluée pendant environ 30 secondes à 1 minute.
9. Rincer la lame à l'eau.
10. Sécher la lame entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur.
11. Examiner le frottis à l'immersion. Les bactéries à Gram positif apparaîtront colorées en violet, tandis que les bactéries à Gram négatif apparaîtront en rose.

Cette coloration permet de différencier les bactéries en fonction de leur réaction face à la coloration, en les classant en bactéries à Gram positif ou à Gram négatif

2.4. Conservation des souches

Après avoir isolé les souches bactériennes, nous avons prélevé 2 à 3 colonies et les avons transférées dans des tubes à essai stériles contenant 5 ml de bouillon TSB. Les tubes ont ensuite été incubés à 37°C pendant 24 heures. Après cette période d'incubation, les tubes contenant les souches bactériennes ont été placés au réfrigérateur à une température de 4°C pour les conserver.

2.5. Antibiogramme

L'étude de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques permet de déterminer quel antibiotique est le plus efficace et actif contre le germe pathogène. Cette analyse vise à guider le choix du traitement antibiotique le plus approprié pour lutter contre l'infection causée par la bactérie en question.

Le protocole est fait en suivant les recommandations de CA.SFM 2018, mais en utilisant des antibiotiques disponibles au laboratoire (Voir annexe VII).

L'antibiogramme permet d'évaluer la réaction entre un antibiotique et une bactérie en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour d'un disque contenant

l'antibiotique, déposé sur une gélose préalablement ensemencée par la bactérie à tester. Pour réaliser l'antibiogramme :

- On a prélevé une colonie bactérienne isolée après incubation, et mise en suspension dans l'eau physiologique pour la préparation de l'inoculum.
- On a ensemencé par écouvillonnage les boîtes en éliminant l'excès de liquide en tournant l'écouvillon.
- On a frotté la surface entière de la boîte trois fois, en faisant tourner la boîte d'environ 60° entre les stries pour assurer une distribution uniforme.
- Les boîtes ont été ensuite laissées sécher pendant 15min à 37°C.
- Une fois que les boîtes de gélose sont sèches, les disques d'antibiotiques à tester sont déposés à l'aide d'un distributeur automatique de disques. Il est important de veiller à ce que les disques soient séparés les uns des autres par des intervalles d'au moins 30 mm et qu'ils soient situés à une distance de 15 mm du bord de la boîte. Cette disposition permet d'assurer une répartition uniforme des antibiotiques sur la surface de la gélose.
- Incubation dans l'étuve pendant 16h à 24h à 37°C.

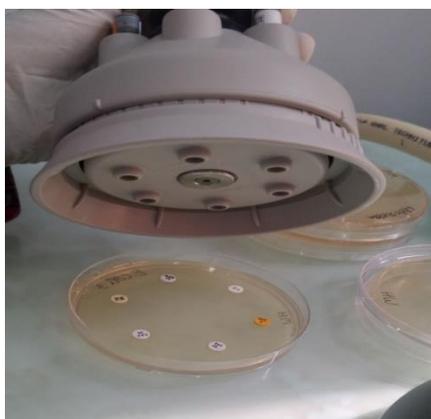


Figure 16: Disposition des disques des antibiotiques sur gélose Mueller Hinton par un distributeur des disques.

2.6. Activité antibactérienne

2.6.1. Préparation d'extrait éthanolique de « *Rosmarinus officinalis* »

Notre étude a été portée sur une espèce de plante de la famille des lamiacées qui est *Rosmarinus officinalis*. Pour avoir notre extrait éthanolique, plusieurs étapes ont été réalisées.

▪ Broyage et tamisage

Les feuilles et les tiges ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine qui a été utilisée pour la préparation des extraits. La poudre a ensuite été tamisée pour obtenir une poudre très fine, avec un diamètre de particules de 60 μm .

Pour préserver leur couleur et leurs propriétés thérapeutiques, la poudre de plante a été conservée dans des flacons en verre. Ces flacons ont été stockés soigneusement dans un endroit sec, à l'abri de la lumière, en attendant leur analyse ultérieure



Figure 17: Préparation de la poudre de *Rosmarinus officinalis* (Broyage et tamisage).

▪ Extraction

L'extraction à partir de la poudre de romarin a été effectuée selon le protocole décrit par (Atmani et al., 2009) en réalisant les étapes suivantes :

➤ Macération

Dans un bicher contenant un barreau magnétique, on a mélangé 30g de poudre de romarin dans 120ml d'éthanol (96%), on a laissé le tout agiter pendant 24h (**Figure 19**).

➤ Décantation

Après 24h, on a récupéré le mélange et on l'a mis dans une éprouvette et laissé décanter pendant 24h.

➤ Séparation des phases

Le surnageant a été récupéré et filtré avec un papier wattman, puis on l'a mis dans des boîtes de Petri en verre pour s'évaporer à l'étuve à 40°C pendant 18h-24h afin de récupérer l'extrait brut (**Figure 20**).

➤ **Evaporation**

Une fois que l'éthanol est évaporé complètement, l'extrait est récupéré.



Figure 18: Macération de la poudre de *Rosmarinus officinalis* avec de l'éthanol pendant 24h.



Figure 19: Filtration du mélange après macération.

2.6.3. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage et déterminé par le rapport entre le poids du matériel végétal et celui de l'extrait sec avec la formule suivante (**Bohui et al., 2018**) :

$$(\%) = \frac{P1 - P0}{E 100}$$

P0 = poids de boîte de Petri vide (g)

P1 = poids de boîte de Petri contenant l'extrait après l'évaporation du solvant (g)

E = poids de la matière végétale initiale (g)

Le protocole suivi à fin d'évaluer l'activité antibactérienne est bien présenté sur le schéma ci-dessous :

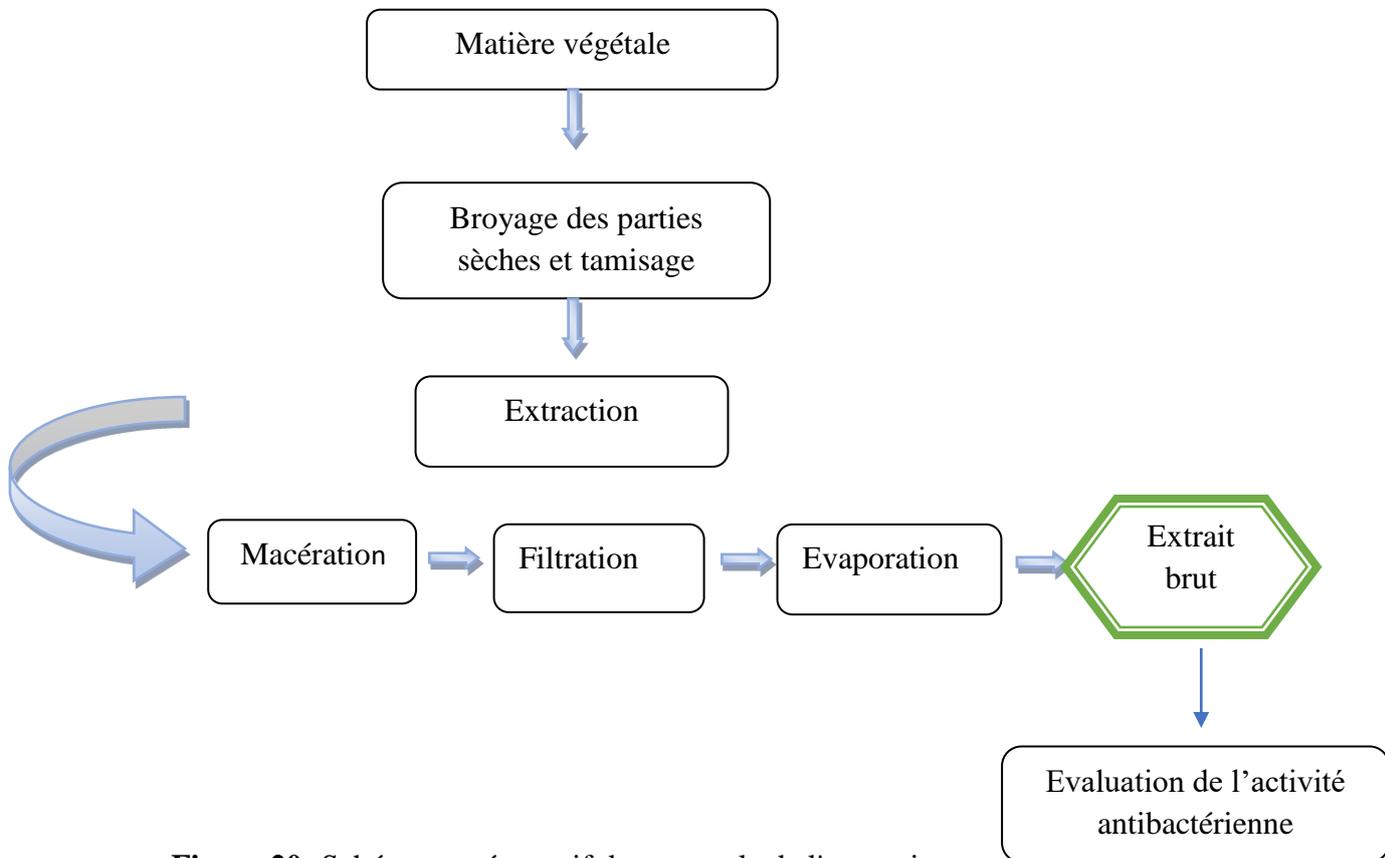


Figure 20: Schéma représentatif du protocole de l'extraction.

2.6.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le romarin « *Rosmarinus officinalis* » a fait l'objet des recherches récentes dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires. Comme toute les plantes aromatiques et médicinales, le romarin contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes (Mouas et al., 2017).

Dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne de *Rosmarinus officinalis* neuf souches bactériennes ont été sélectionnées. Ces souches bactériennes sont couramment associées à différentes pathologies chez l'homme, ce qui permet de tester l'efficacité de *Rosmarinus officinalis* contre des agents pathogènes pertinents.

➤ Préparation des différentes concentrations de l'extrait

Après qu'on a frotté la boîte, on a utilisé l'extrait obtenue pour préparer trois différentes concentrations (quantité de l'extrait dans 1ml d'éthanol) : 2mg/ml, 2.5mg/ml et 3mg/ml. Par la suite, d'autres concentrations ont été préparées et testées à savoir : 10, 20, 30, 40, 50 et 60 mg/ml (**Figure 21**).



Figure 21: Préparation des extraits dans des tubes à ependoofs.

➤ L'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut de romarin, la méthode d'aromatogramme a été utilisée. Cette méthode implique la diffusion de disques imprégnés de l'extrait sur une gélose contenant des bactéries. La zone d'inhibition de croissance observée autour des disques indique l'activité antimicrobienne de l'extrait de romarin (**Ben Djelali et al., 1986**) :

Milieu de Mueller Hinton stérile est coulé dans des boîtes de Petri (15 ml / boîte) puis laissées pour le refroidissement et la solidification. L'inoculum a été préparé par 2 à 3 colonies dans 5ml de l'eau physiologique et on a bien agité à l'aide d'un vortex. Après, on a frotté l'inoculum sur la totalité de la surface de gélose Mueller Hinton de haut en bas en stries

serrées à l'aide d'un écouvillon en faisant tourner la boîte d'environ 60° entre les stries pour assurer une distribution uniforme.

Des disques de papier Wattman de 06mm de diamètre sont stérilisés à l'autoclave. On a mis les extraits de romarin de différentes concentrations dans des seringues stériles contenant des disques filtrant afin de les stériliser (**Figure 22**).

Après la stérilisation, à l'aide d'une pince stérile, les disques ont été déposés à la surface des boîtes de Petriensemencées par les souches à tester.

A l'aide d'une micropipette, On a pris un volume de 10 µL de l'extrait de chaque concentration, et on l'a versé sur les disques d'une façon verticale (**Figure 23**). Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffusées 30 min au réfrigérateur à 4°C puis à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

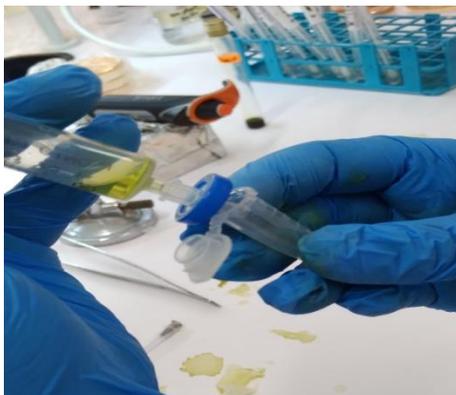


Figure 22: Stérilisation des extraits avec des disques filtrants à seringue.

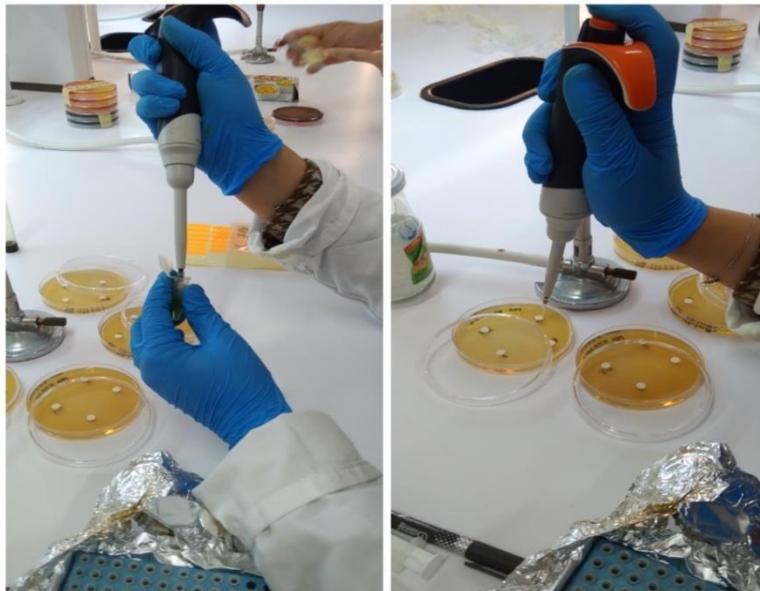


Figure 23: Imprégnation des disques de papier Wattman avec de l'extrait.

Chapitre IV :

Résultats & discussion

1. Répartition des prélèvements

Durant la période de notre étude, 44 prélèvements ont été réalisés à partir des différents échantillons. (Tableau IX)

Tableau IX: Taux des différents prélèvements réalisés.

Prélèvements	ECBU (Prélèvements des urines)	Prélèvements nasaux et oraux	Prélèvements pris des services de l'hôpital	Total
Résultat	30	6	8	44
Pourcentage	68%	14%	18%	100%

Le taux de prélèvements le plus élevé est représenté par celui de l'ECBU (prélèvements des urines) de **68 %**, suivi par les prélèvements pris de l'hôpital **18 %** et en fin, **14 %** pour les prélèvements nasaux-oraux comme il est représenté dans la figure suivante : (Figure 24)

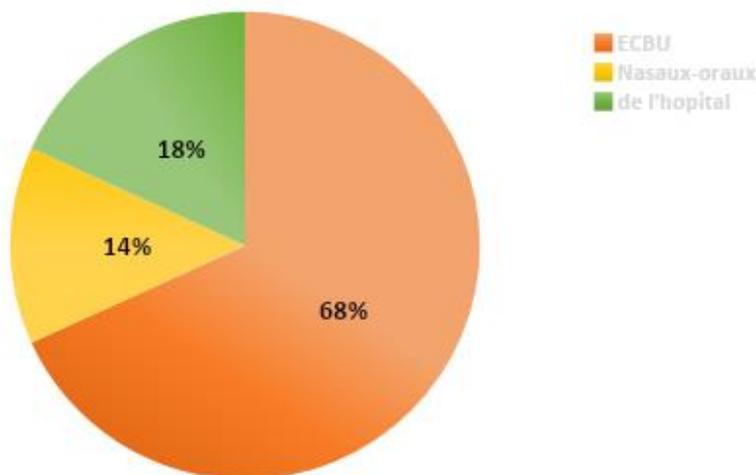


Figure 24: Répartition des prélèvements réalisés.

La figure suivante montre le taux des cas positifs, négatifs et contaminés lors de chaque prélèvement : (Figure 25)

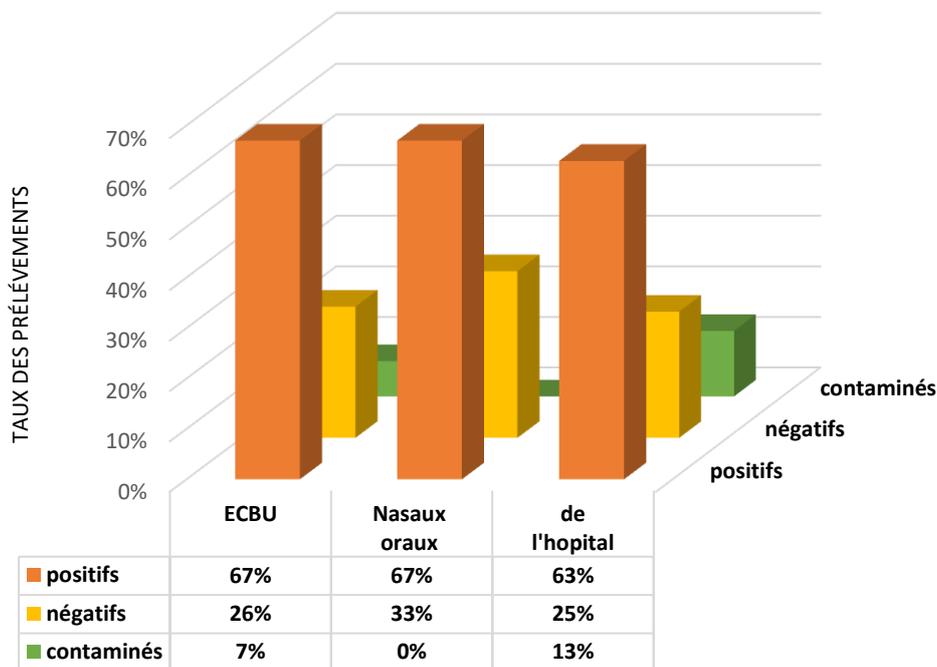


Figure 25: Taux des cas positifs, négatifs et contaminés lors de chaque prélèvement.

Parmi ces prélèvements, 29 prélèvements ont été révélés positifs, 10 autres négatifs et seulement 5 prélèvements contaminés suite à un mauvais prélèvement ou ensemencement lors de la manipulation.

Les résultats obtenus indiquent que sur l'ensemble des 29 cas chez lesquels le prélèvement était positif, la prédominance était pour les prélèvements des urines et les prélèvements nasaux et oraux avec un pourcentage de **67%** contre **63%** pour les prélèvements pris de l'hôpital.

2. Isolement et identification des souches

Après la période d'incubation, on a eu des cultures bactériennes dans les différentes géloses utilisées pour chaque prélèvement, les résultats sont représentés dans le tableau suivant : **(tableau X)**

Tableau X: L'aspect des cultures sur géloses sélectives observé pour chaque prélèvement.

	Echantillons	Milieu de culture	Aspect de colonie
ECBU	Femme enceinte	BCP	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies rondes bombées de couleur presque jaune clair.
	Enfant	BCP	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies arrondies, lisses de couleur blanc châtre.
	Vieux	BCP	<ul style="list-style-type: none"> Colonies aplatées de même couleur de milieu avec l'apparence d'un virage de couleur (violet devient jaune).
	Homme diabétique	BCP / GN	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies arrondies, lisses de couleur blanc châtre.
	Femme âgée	BCP / GN	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies blanches châtres aplatées, regroupées.
	La sphère ORL (nasal / Oral)	Jeune fille (Atteinte de la sinusite)	Chapman
Jeune fille allergique (Allergie saisonnière)		Chapman	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies blanches châtres entourées d'un halo jaune.
Jeune homme des angines		Chapman	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies jaunes en chaine arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre.
Différents services d'hôpital	Sanitaire (pédiatrie)	GN/Hektoen/King A	Hektoen / King A : des colonies vertes visqueuses d'aspect rond, irrégulières.
	Salle de soin (les urgences)	GN/Hektoen/King A	<ul style="list-style-type: none"> GN : colonies blanches arrondies, bien définis, rugueuses. Même aspect de colonie précédentes sur Hektoen / King A

2.1. Les germes responsables d'infections urinaires

L'aspect morphologique des deux souches isolées sur EMB et BCP à partir des échantillons des urines positifs indique que ces souches sont caractéristiques aux *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Après le test biochimique, ces souches possèdent une catalase positive (+) et une oxydase négative (-). (**Figure 26**)



Figure 26: Résultat positif de test catalase sur *E. coli*.

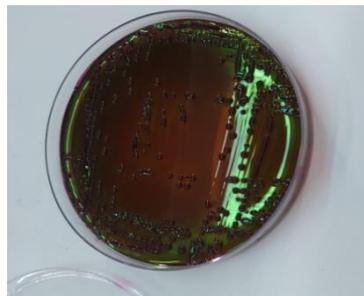


Figure 27: L'aspect morphologique des colonies d'*E.coli* sur milieu EMB.

La coloration de Gram montre que nos souches sont des souches à Gram négatif qui apparaissent en couleur rose sous le microscope (**Figure 28**) (**Figure 29**).

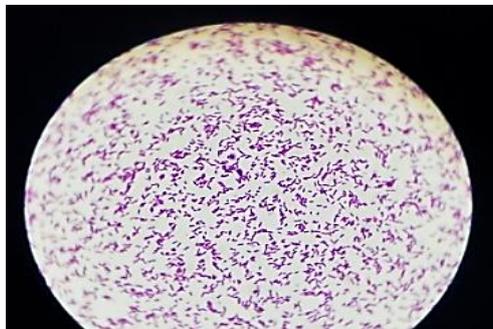


Figure 28: Aspect microscopique d'*E. coli* après coloration de Gram X100.

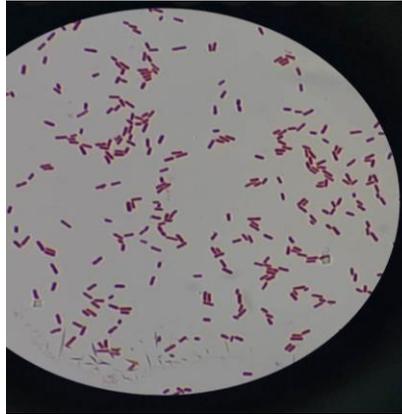


Figure 29: Aspect microscopique de *Klebsiella pneumoniae* après coloration de Gram X100.

Les résultats d'identification par les galeries biochimiques confirment que les germes isolés à partir des urocultures sont : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* (voir annexe) (Figure 30) (Figure 31)



Figure 30: Galerie positive d'*E. coli* responsable d'infections urinaires.



Figure 31: Galerie positive de *Klebsiella pneumoniae* des urines.

BIOMÉRIEUX Collège de rosemont - Montréal APIWEB™

API 20 E V5.0 Impression Export Nouveau test Modification

REFERENCE: DATE: 15/06/23
COMMENTAIRE:

PROFIL DOUTEUX

Galerie	API 20 E V5.0		
Profil	5 1 6 5 5 2		
Note(s)			
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Escherichia coli 1	99.9	0.18	TDA 0% VP 1%
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Escherichia coli 2	0.1	0.0	ODC 20% TDA 0% VP 1% MEL 3%

Figure 32: Résultats confirmé d'*E. coli* par le site Api Web.

Ces germes isolés au laboratoire de bactériologie de polyclinique Hadiouche Saleh montrent la grande variabilité des étiologies microbiennes responsables d'infections urinaires (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*). Nous avons remarqué que la fréquence des infections urinaires causées par *E. coli* est représentée avec un pourcentage de **60%** (12 souches isolées) suivie par d'autres espèces d'entérobactéries à Gram négatif avec **30%**, et en dernière position *Klebsiella pneumoniae* (3 souches) qui présente une fréquence de **10%**. Ces résultats sont présentés dans la figure suivante (**Figure 33**).

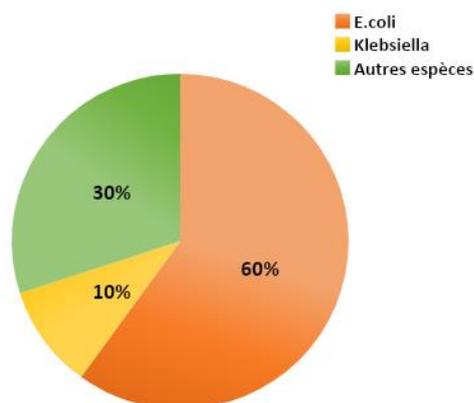


Figure 33: Taux d'*E. coli* et *K. pneumoniae* dans les urines.

Dans notre étude, nous avons observé que les entérobactéries étaient les bactéries les plus fréquemment isolées dans les échantillons d'urine des patients atteints d'infections urinaires. Parmi les entérobactéries, *Escherichia coli* était l'espèce la plus courante, suivie de près par *Klebsiella pneumoniae* qui occupait la deuxième place en termes de fréquence d'isolation ce qui concorde parfaitement avec les résultats trouvés par **Hailaji et al., (2016)** et **Lahlou et al., (2009)**.

La prédominance des entérobactéries, en particulier *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, dans les infections urinaires peut être expliquée par la physiopathologie de l'appareil urinaire. L'infection urinaire est généralement d'origine ascendante, avec une colonisation importante de la région périnéale par les entérobactéries d'origine digestive, notamment *E. coli*. En plus des facteurs spécifiques d'urotropisme, *E. coli* possède des adhésines qui lui permettent de se fixer à l'épithélium urinaire et d'éviter l'élimination lors des vidanges vésicales. De son côté, *Klebsiella pneumoniae* produit une enzyme appelée uréase, qui alcalinise l'urine. Cette alcalinisation est bénéfique pour la prolifération des germes, car l'urine a naturellement un pH acide qui inhibe leur croissance (**Larabi et al., 2009**).

L'infection urinaire reste une pathologie fréquente, elle peut avoir des conséquences pathologiques sévères et entraîne des complications graves, notamment des atteintes de la fonction rénale, d'où la nécessité d'un diagnostic précoce, basé sur l'examen cytbactériologique des urines.

2.2. Les germes responsables d'infections de la sphère ORL

Après l'incubation de la culture des 6 prélèvements purs sur milieu Chapman, les colonies qui apparaissent dans les 3 boîtes positives (3 autres négatives) qui correspondent aux prélèvements nasaux sont caractéristiques de *Staphylococcus aureus*, car le virage de couleur de milieu de culture au jaune indique la fermentation de mannitol (mannitol +). Et seulement les colonies présentes dans la boîte qui correspond au prélèvement oral des angines sont caractéristiques des *Streptococcus pyogenes*.

Après coloration de Gram, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* apparaissent en couleur violet car elles sont des bactéries à Gram positif qui représentent une morphologie de coque (**Figure 34**).

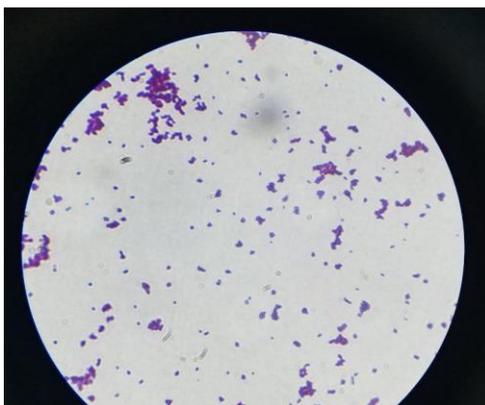


Figure 34: Aspect microscopique de *Staphylococcus aureus* X100.

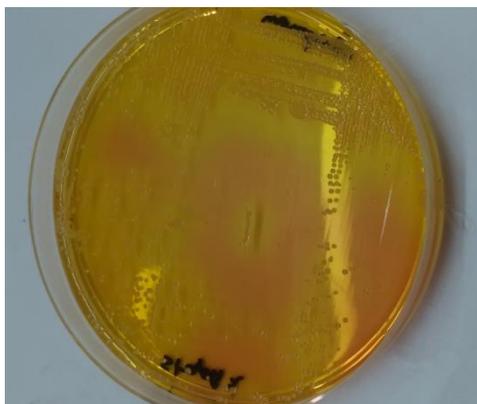


Figure 35: Aspect morphologique des *S. aureus* sur Chapman.

Nous souches de *Staphylococcus aureus* représentent une catalase + et une oxydase – contrairement au *Streptococcus pyogenes*, elles sont dépourvues de catalase et d’oxydase.

La distribution des souches isolées essentiellement à partir des prélèvements de gorge et de nez présente une prédominance de *S. aureus* à un pourcentage de **75 %** des germes isolés (prélèvement nasal), suivie par des souches de *S. pyogenes* avec un pourcentage de **25 %** (prélèvement de gorge) comme il est montré dans la figure suivante. (**Figure 36**).

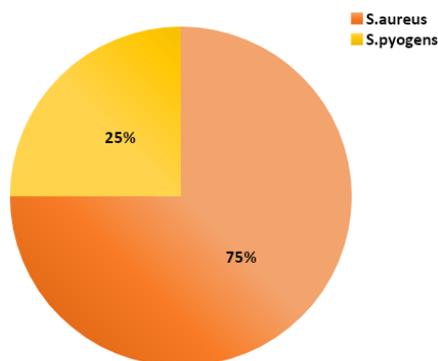


Figure 36: Taux de *S. aureus* et *S. pyogenes* dans les prélèvements nasaux et oraux.

S. aureus est un agent commensal de la peau et des muqueuses de l’Homme. Il présente le potentiel de pathogénicité le plus important de toutes les espèces du genre *Staphylococcus*. Ce germe est responsable d’infections aiguës et chroniques dont la plupart sont dues à sa capacité à adhérer à des dispositifs médicaux et à former un biofilm (**Liesse Iyamba, 2012**).

Ainsi que, selon plusieurs études, *Staphylococcus aureus* est l’espèce bactérienne la plus fréquemment isolée et est l’agent causal le plus répandu dans les infections après *E. coli* (**Otto, 2012**).

En plus, on a noté un taux de 25 % des isolats de *S. pyogenes* à partir des angines et cela a été démontré par une étude faite par **Durel-Maurisse (2009)** dans sa thèse de doctorat de médecine, elle a trouvé que les *Streptococcus pyogenes* représentent l’espèce des bactéries le plus fréquemment retrouvé dans l’angine, elles ne représentent que 25 à 40 % des angines de l’enfant et 10 à 25 % des angines de l’adulte (**Durel-Maurisse, 2009**).

2.3. Les germes responsables des infections nosocomiales

Après la période d’incubation, seulement les boîtes correspondantes aux prélèvements pris à partir de service de pédiatrie et salle de soin présentent des colonies sur Hektoen et king d’aspect vert, pigmentées caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa*, avec une odeur

caractéristique d'acacia due à la production très fréquente d'une molécule aromatique (o-amino- acétophénone).

Sur les boites de gélose nutritive, les colonies représentées sont caractéristiques à celle des *Bacillus cereus* originaire de l'air.

Nos isolats représentent une catalase + et une oxydase + (**Figure 37**).



Figure 37: Résultat positif de test oxydase de *Pseudomonas aeruginosa*.

Après coloration de Gram, les bactéries de *Pseudomonas aeruginosa* se présentent comme des bacilles à Gram négatif, colorés uniformément en rose. Contrairement aux bactéries des *Bacillus cereus*, elles apparaissent en bacilles violet car elles sont des bactéries à Gram positif. Les figures suivantes représentent l'aspect microscopique des 2 souches (**Figure 38**) (**Figure 39**).

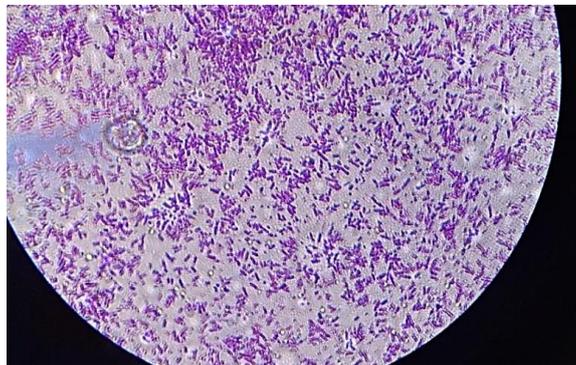


Figure 38: *Bacillus cereus* sous le microscope X100.

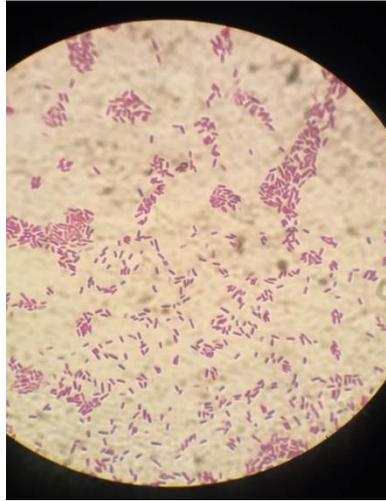


Figure 39: *Pseudomonas aeruginosa* sous le microscope X100.

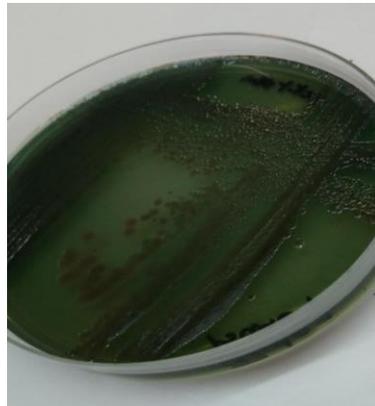


Figure 40: Aspect morphologique des colonies de *P. aeruginosa* sur Hektoen.



Figure 41: Colonies de *P. aeruginosa* sur King A.

Parmi les bactéries isolées à partir des différents services de l'hôpital, l'espèce de *Pseudomonas aeruginosa* est le plus représenté. Mais, on trouve aussi *Bacillus cereus* dans les différents prélèvements. Après la caractérisation de ces souches, il s'est avéré qu'elles se répartissent comme suit : **(Figure 42)**

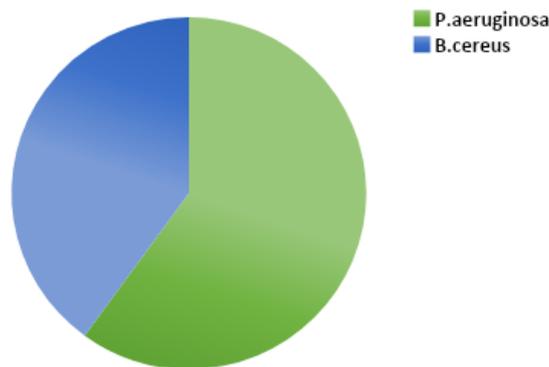


Figure 42: Taux de répartition de *P. aeruginosa* et *B. cereus* des services de l'hôpital.

Les bacilles à Gram négatif sont les germes les plus fréquents dans les infections nosocomiales. Elles sont dominées par la présence de *Pseudomonas aeruginosa* avec un taux de 60 % au niveau de service des urgences, le germe le plus fréquemment isolé. Alors que, une souche à Gram + parmi l'espèce de *Bacillus cereus* prend la deuxième place avec un taux de 40 %.

Le service le plus touché par le *P. aeruginosa*, est celui des urgences, où on a isolé 3 souches de *P. aeruginosa* qui représentent 60% du nombre total des souches isolées.

Dans une autre étude réalisée par **Bourahla et Haddache (2015)** dans leur thèse de doctorat en Pharmacie, elles ont démontré aussi une prédominance de *P. aeruginosa* aux services de CHU de Tizi Ouzo en 2015, cela revient à la multi-résistance de ce germe hospitalier.

Cette bactérie est une bactérie qui peut se propager facilement par l'eau, l'air et des particules ou surfaces contaminées. Sa capacité de transmission est attribuée à sa présence ubiquitaire, ainsi qu'à sa capacité de transférer ou d'acquérir des gènes de résistance provenant d'autres souches de bactéries, y compris des espèces plus éloignées, notamment dans un environnement hospitalier. Cela contribue à la propagation de souches résistantes aux antibiotiques, ce qui pose un défi important en matière de traitement des infections. Une gestion rigoureuse des mesures d'hygiène et de prévention des infections est nécessaire pour limiter la propagation de cette bactérie.

2.4. Répartition des souches isolée selon le Gram

A partir des différents prélèvements pris, on est arrivé à isoler 29 souches dont on a sensé à étudier 23. Le tableau ci-dessous montre le nombre des isolats dans chaque espèce : (Tableau XI)

Tableau XI: Nombre des souches isolées de chaque espèce.

Bactéries	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.cereus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	Enterobacteries
N°	12	3	3	1	3	1	6

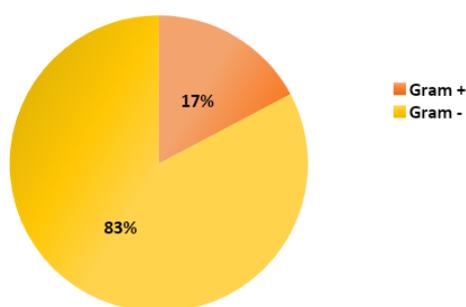


Figure 43: Répartition des isolats selon le type de Gram.

Selon la figure, les bactéries à Gram – qui ont été isolées à partir des différents prélèvements d’urine et les services de l’hôpital, occupent la première place avec 83 % par contre des bactéries à Gram + sont isolées avec 17%.

Les Bacilles à Gram - représentent 70 à 80 % des agents responsables d’infections nosocomiales (Espinasse *et al.*, 2010).

3. Profil d'antibiorésistance des souches isolées

3.1. Profil d'antibiorésistance d'*Escherichia coli*

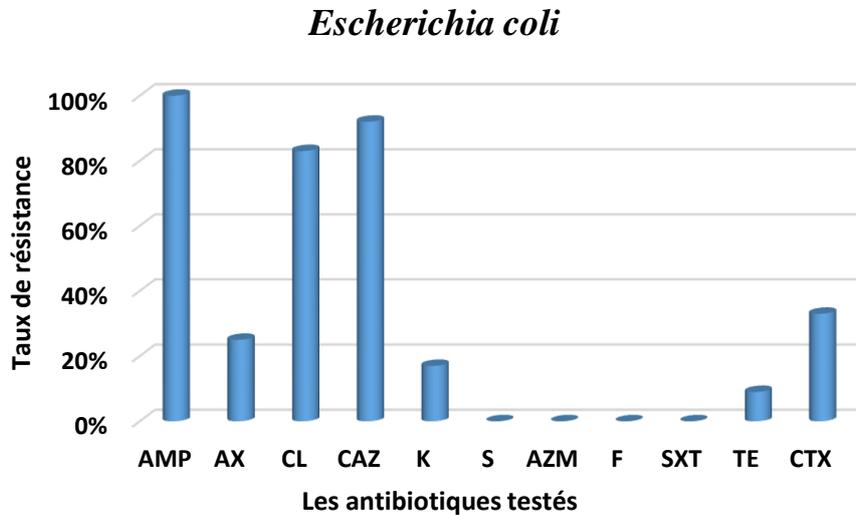


Figure 44: Taux de résistance d'*Escherichia coli* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Nous avons testé la sensibilité des 12 souches d'*E.coli* identifiées vis-à-vis de 11 antibiotiques de différentes familles. Les résultats présentés dans la figure montrent que les souches d'*E. coli* sont résistantes à tous les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (ampicilline 100%, ceftazidime 92%, cephalexine 83%), ces résultats sont similaires à celles retrouvées par **Basavaraju et al., (2022)**, et moins résistante au céfotaxime 33% et l'amoxicilline 25%, d'autres études faites par **Alouane et al., (2019)** indiquent une sensibilité totale (100%) pour la céfotaxime.

On explique cette résistance par l'expression des gènes de résistance, comme les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) qui rendent la bactérie résistante aux antibiotiques de la famille des pénicillines et des céphalosporines.

Par contre, les aminosides, les nitrofuranes, les sulfamides, les macrolides et les cyclines gardent une bonne activité sur le germe, Une sensibilité de 83% pour la kanamycine, cette valeur est la même retrouvée par **Alouane et Belkadi (2019)**.

Une sensibilité totale (100%) pour streptomycine, nitrofurantoin, sulfaméthoxazole+triméthoprime, l'azithromycine et 91% pour la tétracycline. Dans notre cas, la résistance aux aminosides rejoint celui de **Tassouiket, (2014)**.

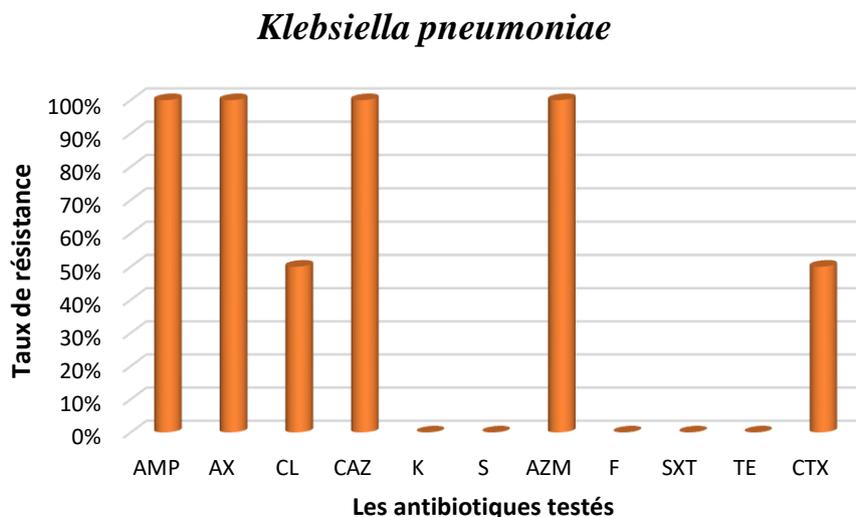
3.2. Profil d'antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae*

Figure 45: Taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae* vis-à-vis des antibiotiques testés.

La résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* au eftazidime était très importante (100%), ce résultat est similaire à celles de **Shukla et al, (2007)**. Concernant les bêta-lactamines parmi eux ampicilline et amoxicilline, *K. Pneumoniae* présente une résistance naturelle (chromosomique) à 100%, ce résultat concorde bien avec certaines études rapportées par **Alouane et Belkadi, (2019)**.

Pour les macrolides (Azithromycin), les résultats montrent que les souches sont résistantes (100%).

Concernant les autres antibiotiques, notre souche présente une sensibilité entière aux sulafaméthoxazole + triméthoprime (100%), kanamycine (100%), streptomycine (100%), nitrofurantoin (100%) et tétracycline (100%).

La résistance à la céfotaxime était à 50%, cette valeur est proche à celle de **Dhraief (2019)**, (77,5% des souches étaient résistantes au céfotaxime).

Notre souche était sensible au cephalexine à 100% contrairement à la souche isolée par **(Alouane et Belkadi, 2019)**, qui avait une résistance à la cephalexine.

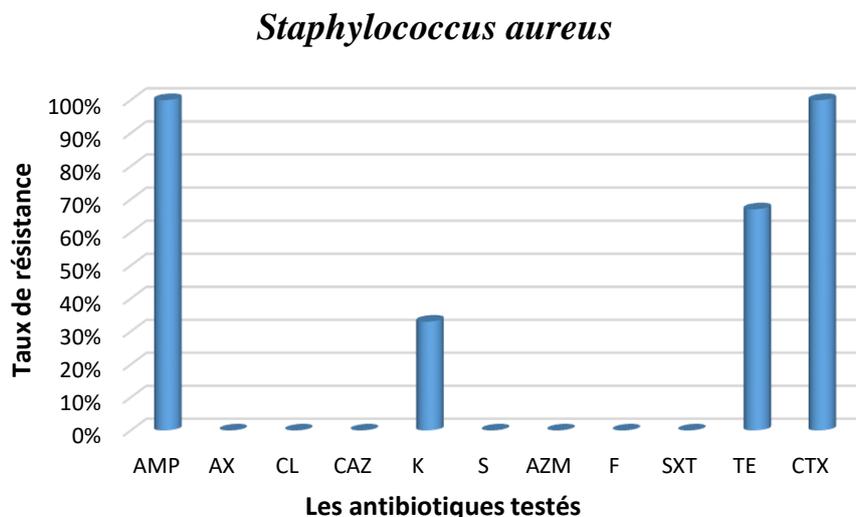
3.3. Profil d'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus*

Figure 46: Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Pour la famille des bêta-lactamines, tous les isolats sont révélées résistantes à l'ampicilline (100%), ce taux est similaire à celui trouvé par **Kiptoo, (2012) et Rebahi (2012)** qui rapportant que plus de 99% des souche de *S. aureus* sont résistantes à l'ampicilline par la production de pénicillinase qui inactive ce dernier. Les mêmes résultats sont retrouvés par **Ghali et Mostfai, (2019)**.

Concernant la résistance à la céfotaxime est de 100%, cette valeur est supérieure à celles de **Bellili et Djoudi** qui trouvent 70% de résistance à cet antibiotiques (**Bellili et Djoudi, 2017**), mais similaire aux résultats de **Ghali et Mostfai, (2019)**.

Une étude menée en Éthiopie par **Dilnessa et Bitew (2016)** a révélé un taux moins élevé d'infections urinaires, soit 17,5%.

Pour la famille des aminosides, deux antibiotiques ont été testés. Le pourcentage de résistance à la kanamycine obtenu dans cette étude est de 33%, ce résultat est proche de celui de **Ghali et Mostefai, (2019)**.

La résistance acquise des *S. aureus* aux aminosides peut être attribuée à trois mécanismes différents. Le premier mécanisme implique des mutations dans les gènes qui codent pour les protéines ribosomales, ce qui altère l'interaction des aminosides avec ces protéines. Le deuxième mécanisme est lié à des mutations affectant la perméabilité de

l'antibiotique, ce qui limite son entrée dans la cellule bactérienne. Enfin, le troisième mécanisme de résistance est basé sur la production d'enzymes (Ghali et Mostfai, 2019).

Par rapport à la streptomycine toutes les souches sont sensibles (100%), d'autres études fait par Bismuth, (2000) indiquent les mêmes résultats.

Nous avons noté une sensibilité de 100% aux autres antibiotiques (sulafaméthoxazole + triméthoprime, nitrofurantoin, azithromycin, amoxicilline, cephalexine, ceftazidime) et pour la tétracycline le taux de résistance est de 67%.

3.4. Profil d'antibiorésistance de *Streptococcus pyogenes*

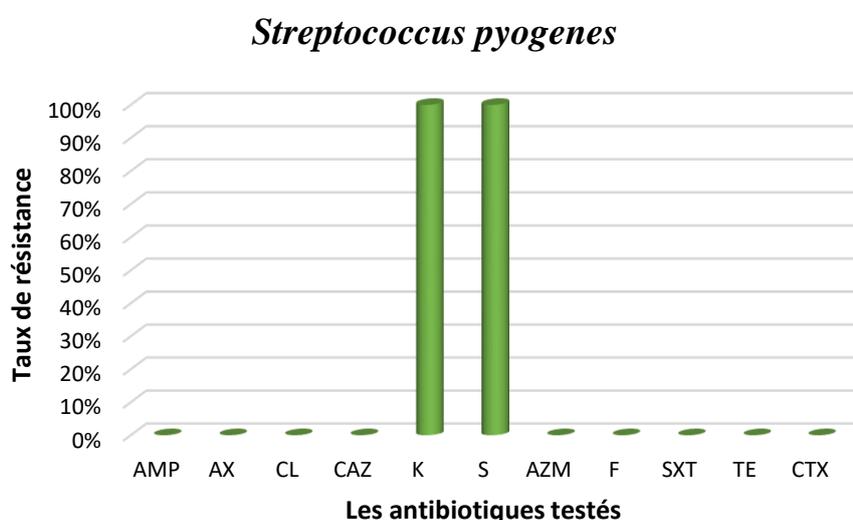


Figure 47: Taux de résistance de *Streptococcus pyogenes* vis-à-vis des antibiotiques testés.

D'après les résultats obtenus, on a noté que la souche étudiée est résistante à 100% aux aminosides (streptomycine et kanamycine), ce résultat est similaire à celui de Avril et al, (2000).

Une sensibilité totale à 100% ce qui concernant l'azithromycin, nitrofurantoin, sulafaméthoxazole + triméthoprime, ceftazidime, ampicilline, amoxicilline, céfotaxime, cephalexine et la tétracycline.

3.5. Profil d'antibiorésistance de *Bacillus cereus*

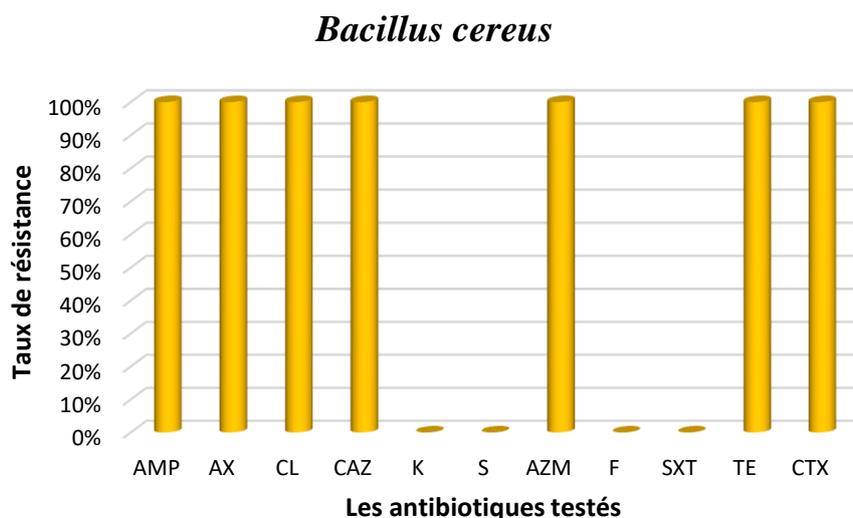


Figure 48: Taux de résistance de *Bacillus cereus* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Dans notre étude toutes les souches isolées sont sensibles de 100% aux aminosides (kanamycine et streptomycine). D'après **Teyssouet et ses collaborateurs**, *B. cereus* est toujours sensible à l'érythromycine, à la clindamycine, au chloramphénicol, à la vancomycine, aux aminosides, aux cyclines et aux sulfamides (**Teyssou et al., 1998**), par rapport à ces résultats, c'était le même cas pour les aminosides mais contrairement aux cyclines.

En ce qui concerne l'ampicilline et la tétracycline, les souches de *B. cereus* étaient résistantes à ces antibiotiques à 100% ce qui est en accord avec le résultat de **Owusu-Kwarteng et al., (2017)** qui ont obtenus un résultat similaire (98%,97% respectivement).

Une résistance importante avec un taux de 100% aux autres antibiotiques testés : amoxicilline, cephalexine, ceftazidime, azithromycin, sulafaméthoxazole + triméthoprime et céfotaxime, et une sensibilité totale au nitrofurantoin.

3.6. Profil d'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa*

On a observé une résistance importante la majorité des antibiotiques testés (**Figure 49**).

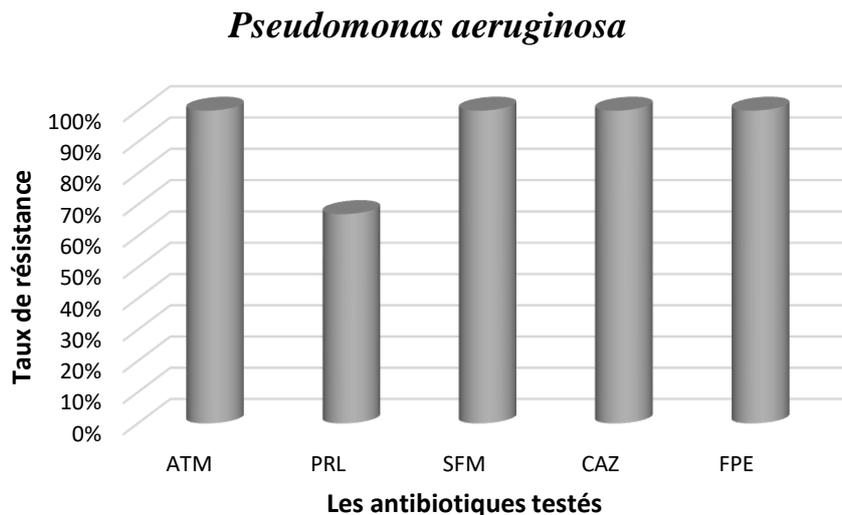


Figure 49: Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Toutes les souches isolées se sont révélées résistantes à la famille des céphalosporines, (la céfépime à 100%, le céfixime à 100%), ce qui confirme que *Pseudomonas aeruginosa* est naturellement résistant à de nombreux produits : amino-pénicillines, céphalosporines, tétracyclines, chloramphénicol, streptomycine, kanamycine, anciennes quinolones, nitrofuranes et cotrimoxazole. Les produits actifs se situent parmi les bêta-lactamines, aminosides et fluoroquinolones (**Lobel et al., 2007**).

100% des souches isolées sont résistantes à l'ampicilline et la piperacilline, ces résultats sont nettement plus élevés que ceux décrits par **Lobel et ses collaborateurs** qui indiquent une résistance de 43%,30 % respectivement.

Pseudomonas aeruginosa présente une résistance à plusieurs antibiotiques, notamment aux pénicillines, en raison de différents mécanismes. Sa paroi imperméable empêche l'entrée de certains antibiotiques, tandis que la production d'enzymes, telles que les bêta-lactamases, inactivent les antibiotiques. De plus, la bactérie peut modifier la structure de ses protéines de liaison aux antibiotiques, réduisant ainsi leur efficacité. Ces mécanismes de résistance rendent le traitement des infections à *P. aeruginosa* plus difficile et soulignent l'importance de la surveillance de la résistance et du développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. (**Avril et al, 2000**).

Par ailleurs, aucune résistance n'a été observée vis-à-vis de la ceftazidime (0%), contrairement aux résultats de **AIDI** qui montre une résistance intermédiaire à la céftazidime dans 52% des cas étudié (**AIDI, 2017**).

4. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis des souches isolées

4.1. Le rendement d'extraction

Pour une seule extraction, le rendement de l'extrait obtenu à partir des feuilles de la plante est représenté dans le tableau suivant.

Tableau XII: Calcul de rendement d'extraction à partir de *R. officinalis* par l'éthanol.

La plante	La matière végétale initiale (g)	Quantité de l'extrait après évaporation (g)	Rendement (%)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	30	1.01	3.37

Les résultats d'extraction montrent un rendement faible d'extraction en utilisant l'éthanol. Nos résultats sont moins que les résultats obtenus par **Do et al., (2014)** où le rendement des extractions par le solvant organique marque que le rendement d'extraction le plus important est noté avec le solvant de méthanol (26,06 %) suivi de l'éthanol (17,03%) et le plus faible est enregistré avec l'acétone (12,33%) (**Do et al., 2014**).

La variété des méthodes d'extractions et les types des solvants utilisés affecte le taux d'extraction. Selon **Hayouni et al.**, la méthode de macération est la méthode la plus utilisée qui donne un rendement très important (**Hayouni et al., 2007**). En comparant nos résultats avec d'autres, la valeur de rendement de notre extrait est approximative à celle obtenu par **Fadili et al.**, qui ont validé que le rendement est de 2,25% (**Fadili et al., 2015**).

4.2. Résultats de l'activité antibactérienne

Pour tester l'effet de *R. officinalis* vis-à-vis de nos souches isolées, nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme, c'est une méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller Hinton, On a choisi 9 souches résistantes parmi les 23 souches obtenues.

Nous avons testé l'activité en préparant 6 concentrations différentes, en l'augmentant à chaque essai.

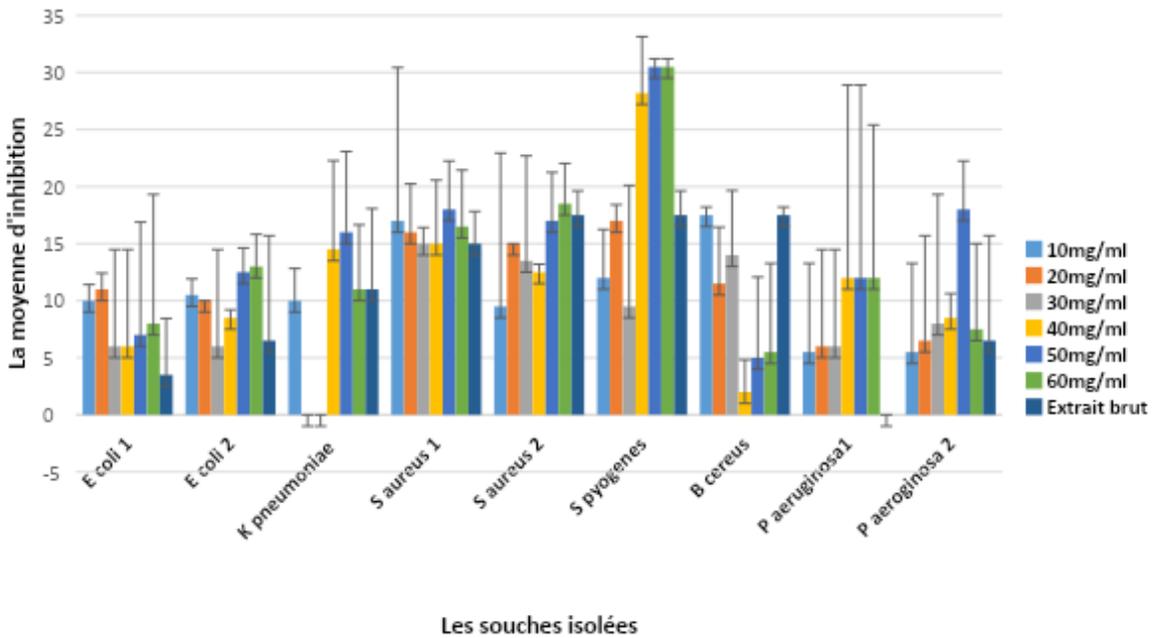


Figure 50: Pouvoir antibactérien des extraits de différentes concentrations de *R. officinalis* vis-à-vis des souches isolées.

Pour chaque souche bactérienne, les essais ont été répétés deux fois pour chaque concentration et pour chaque extrait brut, soit 14 essais au total. L'analyse statistique des résultats a été réalisée par l'EXCEL en calculant la moyenne et l'écart-type.

Le temps de diffusion n'était pas suffisant pour certaines concentrations, c'est pour ça, on n'a pas eu des résultats cohérents.

4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Rosmarinus officinalis* selon la concentration

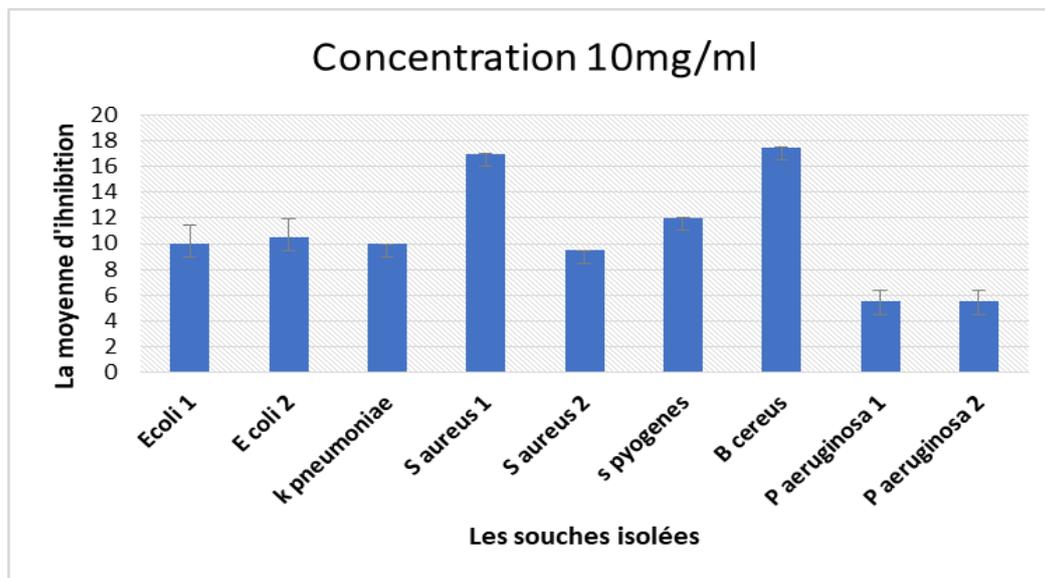


Figure 51: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 10mg/ml vis-à-vis des souches isolées.

La figure 51 montre les résultats de l'activité de l'extrait de *R. officinalis L.* avec une concentration de 10mg/ml et qui présente une activité contre toutes les souches isolées. On a constaté une inhibition importante de croissance des souches *B. cereus* et *S. aureus* avec une moyenne d'inhibition de 17mm suivi par une inhibition de *S. pyogenes* avec un diamètre de 12mm. En plus, on a noté une inhibition de croissance de : *K. pneumoniae* et *E. coli* avec une moyenne de 10mm. Contrairement, *P. aeruginosa*, n'a pas été très sensible à cette concentration.

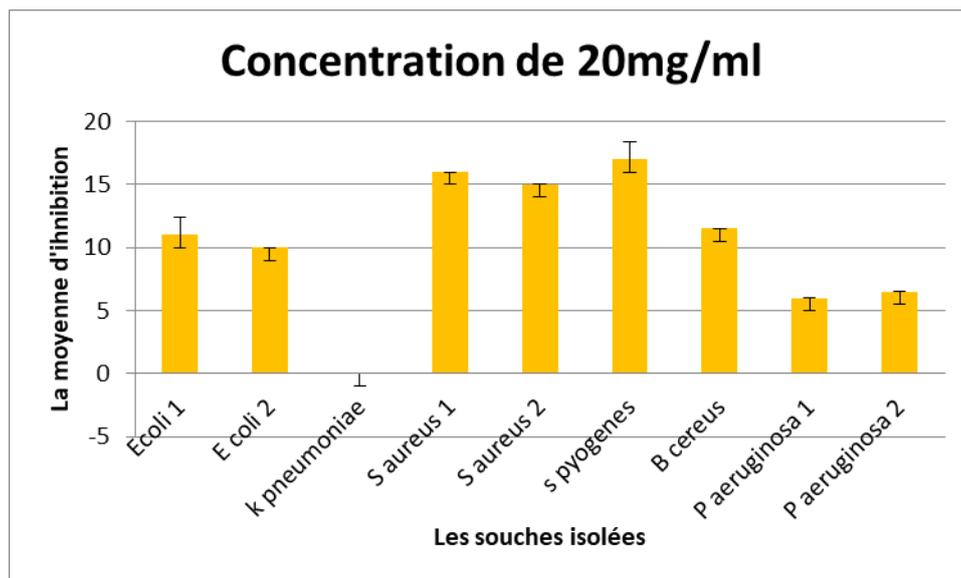


Figure 52: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 20mg/ml vis-à-vis des souches isolées.

Les résultats d'inhibition représentés dans la figure 52, montrent qu'à cette concentration de 20mg/ml, l'extrait de romarin a inhibé toutes les souches isolées sauf *K. pneumoniae*, aucune zone d'inhibition n'a été déterminée.

La moyenne d'inhibition la plus élevée était celle d'inhibition des souches de *S. aureus* et *B. cereus* comme elle était marquée dans la concentration de 10mg/ml. L'extrait de romarin avec la concentration de 20mg/ml a aussi réussi à inhiber les souches d'*E. coli* et *S. pyogenes* avec une zone d'un diamètre de 10 mm et 16mm respectivement, ainsi qu'on a montré une augmentation de la moyenne d'inhibition de *P. aeruginosa* de 5mm à 6mm.

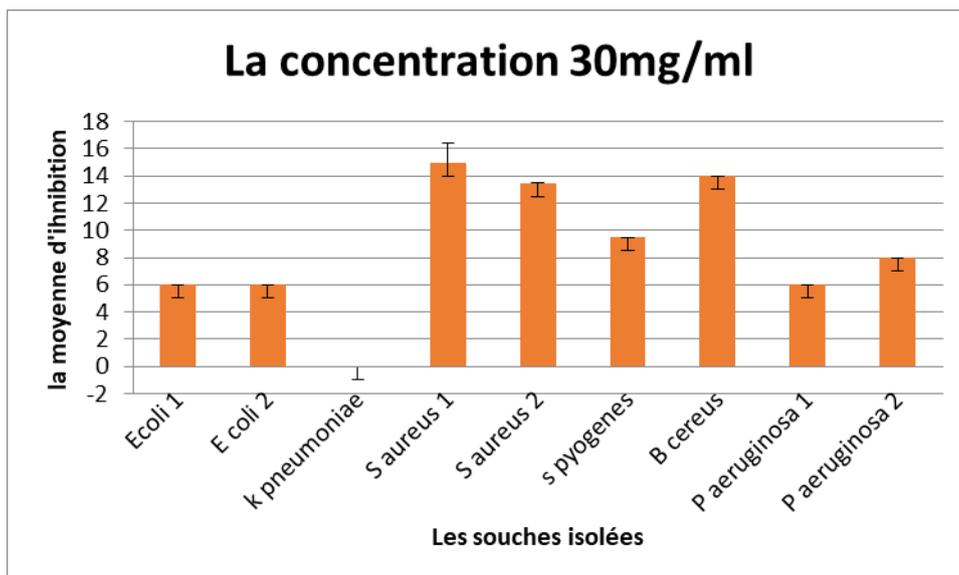


Figure 53: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 30mg/ml vis-à-vis des souches isolées..

La figure 53 a présenté que l'extrait avec la concentration de 30mg/ml a inhibé toutes les souches testées. La moyenne concernant l'inhibition d'*E. coli* et *P. aeruginosa* était approximative égale à 6mm et 8mm respectivement. Ainsi, aucune zone n'a été marqué concernant *K. pneumoniae* comme il a été marqué dans la concentration de 10mg/ml.

Concernant les autres souches, *S. aureus*, *B. cereus* et *S. pyogenes*, notre extrait a inhibé leur croissance avec une moyenne d'inhibition de 15 mm pour *S. aureus*, 14mm pour *B. cereus* et 9mm pour *S. pyogenes*.

On a remarqué que les moyennes d'inhibition des isolats ont été diminuées par rapport aux concentrations précédentes. On peut dire que cette diminution est liée à la mal-diffusion de cet extrait sur Mueller Hinton ou bien la charge bactérienne était un peu faible lors de la préparation de l'inoculum bactérien.

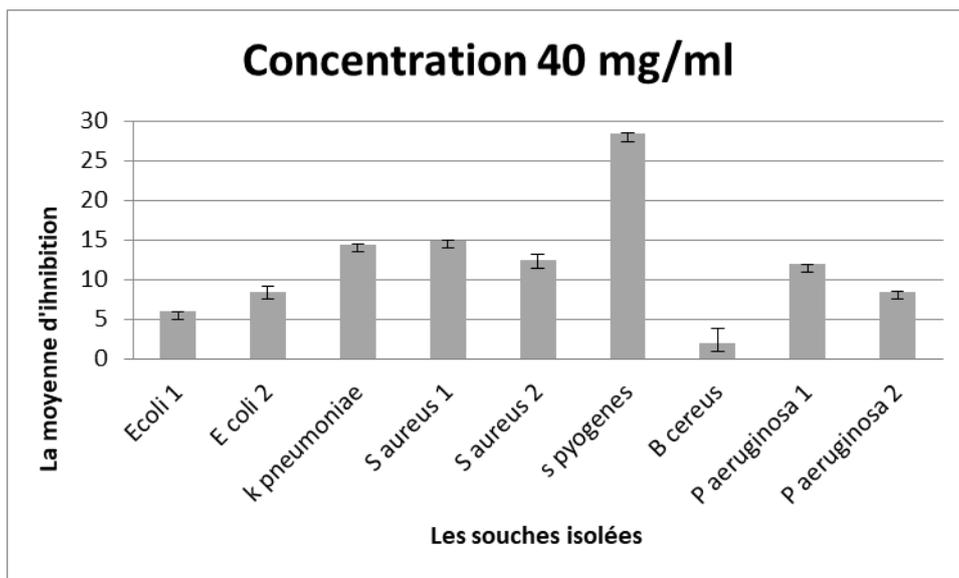


Figure 54: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 40mg/ml vis-à-vis des souches isolées.

Pour la concentration 40mg/ml, on a marqué une inhibition de croissance avec une moyenne importante de 28mm correspond à celle de *S. pyogenes*. Concernant *E. coli*, *B. cereus* et *P. aeruginosa*, on a marqué un faible degré de sensibilité envers cette concentration, cet extrait à inhibé la croissance de ces trois souches avec des moyennes d'inhibitions un peu basses. On a observé une inhibition autour des disques de 5mm et 7mm pour *E. coli*, 6 mm pour *B. cereus* et 11mm et 7mm pour *P. aeruginosa*.

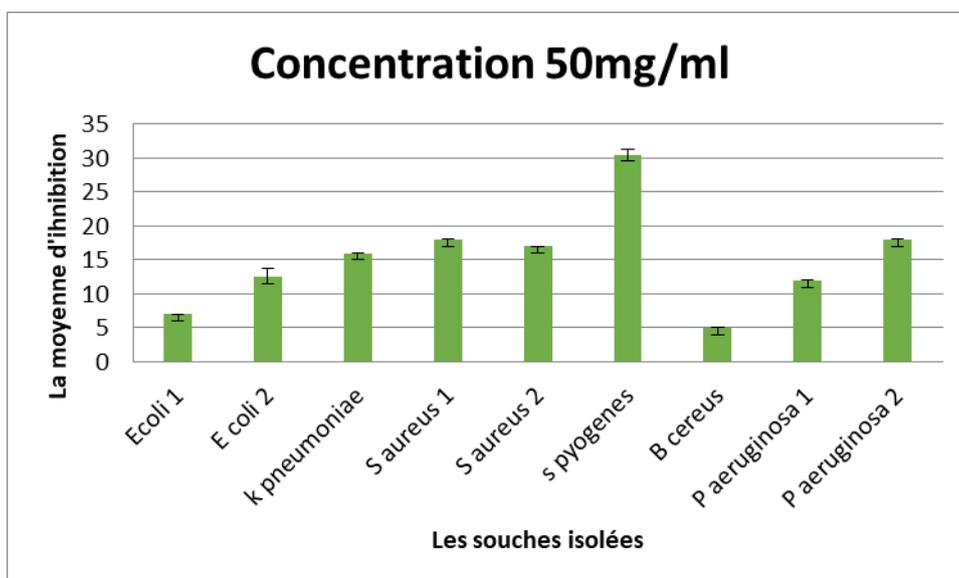


Figure 55: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 50 mg/ml vis-à-vis des souches isolées.

Dans cette concentration de l'extrait de romarin, nous avons marqué une augmentation des moyennes d'inhibition dans la majorité des souches comme : *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, et *S. aureus*, tandis que, la moyenne d'inhibition de *B. cereus* a été de 5mm, cette valeur est un peu élevée par rapport à celle marquée dans la concentration précédente.

Dans cette concentration, les diamètres marqués autour des disques dans les boites des isolats sont importants par rapport à ceux détectés dans les premiers essais. Ces diamètres ont atteint 30mm dans la boîte de *S. aureus*.

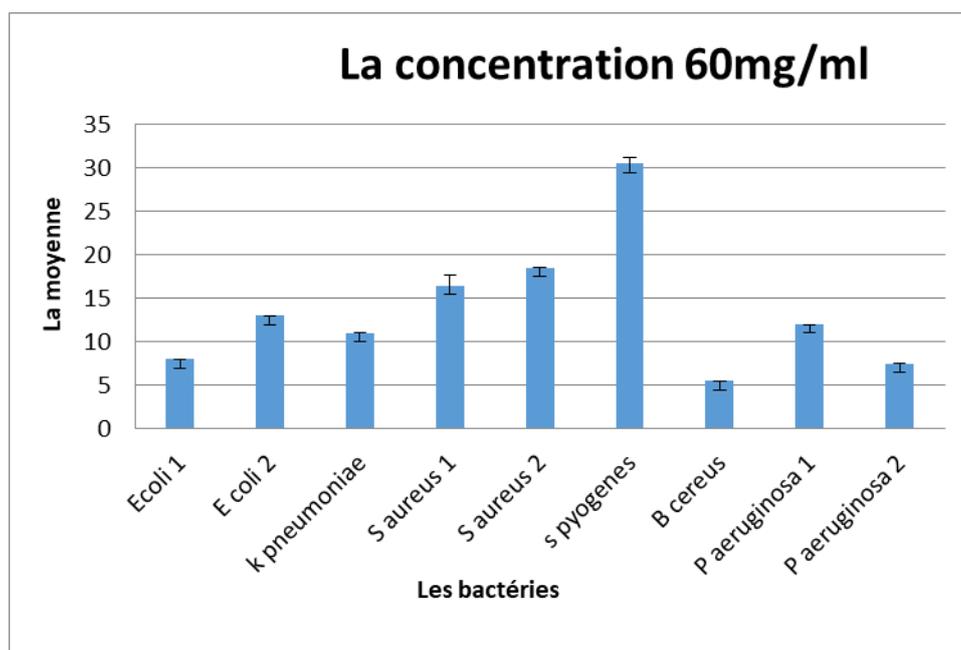


Figure 56: L'activité antibactérienne de l'extrait de romarin avec une concentration de 60 mg/ml vis-à-vis des souches isolées.

Dans la dernière concentration, nous avons marqué une augmentation des moyennes d'inhibition de toutes souches testées, spécifiquement *S. pyogenes* et *S. aureus*, le diamètre observé autour des disques est de 30 mm. On peut déduire que ces souches ont marqué un degré de sensibilité très élevé contre l'extrait de romarin à 60mg/ml.

Concernant les autres souches, l'effet marqué de l'extrait à concentration de 60mg/ml est important, on peut déduire que *E.coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *B. cereus* représentent un taux de sensibilité envers l'extrait de romarin à 60mg/ml.

En comparant les résultats de chaque concentration, on a constaté que les concentrations élevées de notre extrait de romarin (40mg/ml, 50mg/ml et 60mg/ml) ont marqué un taux d'inhibition élevé par rapport aux autres concentrations.

Les moyennes d'inhibitions des souches isolées ont augmenté en parallèle avec les concentrations, et ceci est bien marqué sur les souches de *P. aeruginosa*, on a noté un faible degré de sensibilité dans les basses concentrations de l'extrait (10mg/ml, 20mg/ml et 30mg/ml) en comparant avec le degré de sensibilité dans les concentrations élevées. Donc, on peut déduire qu'à force qu'on augmente la concentration des extraits, on aura une bonne inhibition de croissance des souches.

Pour les concentrations 20mg/ml et 30mg/ml, on a observé une diminution des moyennes d'inhibition pour plusieurs souches telles que *K. pneumoniae* et *E. coli* alors qu'on a marqué une inhibition avec une moyenne atteinte les 17mm dans la première concentration (10mg/ml). On peut argumenter cette diminution par un mal ensemencement ou bien l'extrait n'a pas assez bien diffuser sur la gélose, ou bien les souches ne sont plus sensibles à l'extrait avec ces concentrations.

4.4. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de *R. officinalis* selon le Gram des souches isolées

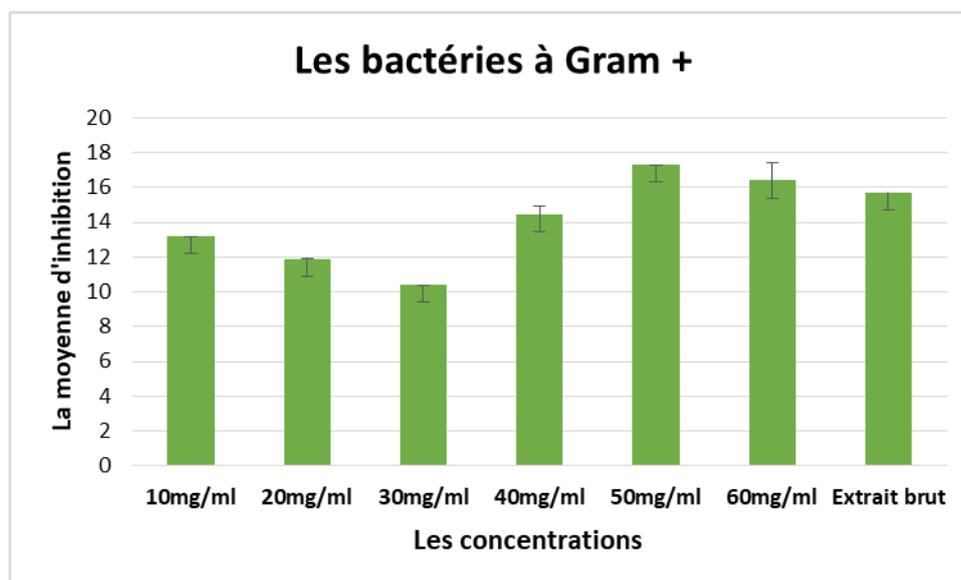


Figure 57: Pouvoir antibactérien des extraits de romarin vis-à-vis des bactéries à Gram +.

D'après les résultats, les différentes souches à Gram + isolées ont exprimé une sensibilité envers les différentes concentrations de l'extrait de romarin, notamment l'extrait brut. La moyenne d'inhibition de tous les isolats à Gram + atteint les 16mm.

Ces résultats sont similaires avec ceux de **Weckesser et al.**, ils ont validé que les extraits de romarin présentent principalement un pouvoir antibactérien contre les bactéries à Gram +.

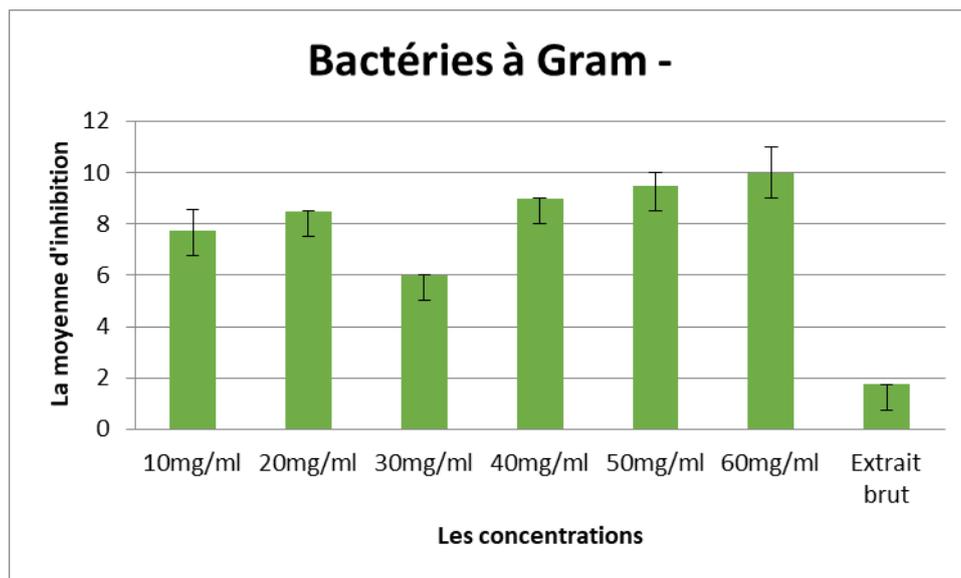


Figure 58: Pouvoir antibactérien des extraits de romarin vis-à-vis des bactéries à Gram -.

Les résultats montrent que les différentes concentrations ont inhibé les souches isolées à Gram -. La moyenne d'inhibition a été estimée de 7mm dans la concentration 10mg/ml jusqu'à 10 mm maximum dans la dernière concentration 60mg/ml. La concentration de l'extrait la moins inhibitrice c'est celle de 30mg/ml, la moyenne était de 6mm, plus l'extrait brut, la sensibilité des souches était de 1.9 mm,

Lorsqu'on compare les moyennes d'inhibition et le degré de sensibilités de nos souches isolées, on trouve que nos résultats sont valables à ceux qui confirment que les bactéries à Gram+ sont plus sensibles aux extraits que celles à Gram – (Poole, 2001).

Plusieurs études ont montré la sensibilité des bactéries à Gram + par rapport aux bactéries à Gram - Guesmi et Boudabous, 2006, Bouzouita et al., 2008.

Nos extraits de romarin ont montré une grande inhibition de croissance des différentes souches isolées, ceci est dû aux différences structurales de leur morphologie externe (la membrane) (Burt, 2004).

D'après Abdullah Ijaz et al., (2010) et Chao et al., (2000), ont bien définie les bactéries à Gram – qu'elles possèdent une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique constituée de lipopolysaccharides et de protéines qu'elle va empêcher l'entrée des huiles et des extraits et composer une barrière externe d'imperméabilité aux molécules comme les acides phénoliques dans le cas des extraits des plantes. Contrairement les bactéries

à Gram +, la couche de peptidoglycane est située à l'extérieur donc elle va permettre l'entrée des substances hydrophobes.

Les résultats ont marqué que les bactéries testées sont plus ou moins sensibles vis-à-vis des différentes concentrations de nos extraits de romarin ainsi que l'extrait brut. Donc, on peut conclure que nos extraits étudiés sont actifs sur les souches résistantes avec un degré de sensibilité plus élevé.

L'efficacité de n'importe quel extrait de plante est liée à sa teneur en polyphénols, car ils représentent les principes actifs de ces extraits. Plus spécifiquement les flavonoïdes et les tannins représentent des composés chimiques très importants (**Cahuzac-Picaud, 2012**). Ceci confirme l'effet important de notre extrait de *R. officinalis*, car notre espèce utilisée est très riche en composés phénoliques (flavonoïdes et tannins) à côté de l'acide rosmarinique.

Les flavonoïdes antibactériens ont plusieurs sites d'action. Parmi ces actions est de former des complexes avec les protéines membranaires des bactéries par des liaisons. Aussi, ils ont capable d'inactiver les molécules de métabolite secondaire. Ceci va détruire la cellule bactérienne et produire un dommage directement sur sa morphologie (**Cowan, 1999 ; Mishra et al., 2009**).

Les extraits et les huiles essentielles de *R. officinalis* ont été très testés sur différentes bactéries à Gram positif ou négatif qui peuvent entraîner plusieurs pathologies (**Leplat, 2017**). Ces derniers ont été très efficaces contre : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Wang et al., 2012**).

La bactérie Gram négative, *Helicobacter pylori*, est actuellement reconnue comme l'agent étiologique principal de la gastrite et de l'ulcère. Une étude a été réalisée sur la sensibilité *in vitro* de 15 souches de *Helicobacter pylori* vis-à-vis de divers extraits végétaux. L'extrait méthanoïque de *Rosmarinus officinalis* est parmi les trois extraits les plus actifs *in vitro* sur *Helicobacter pylori*. (**Leplat, 2017**).

Dans une étude qui repose sur l'activité des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Trachyspermum copticum* L. sur la croissance d'*Aspergillus parasiticus* et la production des aflatoxines, le résultat montrait que les huiles essentielles de romarin inhibent la croissance d'*Aspergillus parasiticus*. Les huiles essentielles pourraient être utilisées comme agents de conservation de certains types d'aliments pour prévenir le développement d'espèces fongiques toxigènes (**Rasooli et al., 2008**).

Conclusion

Conclusion

Le retour à la médecine traditionnelle a connu une attention dans le monde car les plantes médicinales représentent une source des principes actifs qui possèdent des propriétés avec un intérêt thérapeutique qui les a rendues capables d'être appliquées comme remèdes à plusieurs pathologies humaines.

Parmi ces plantes médicinales, le « *Rosmarinus officinalis* » est connu par son effet vaste, et ceci a été confirmé dans notre étude qui a consisté à évaluer l'extrait de romarin vis-à-vis des souches hospitalières dont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* et *Staphylococcus aureus*.

Notre extrait a été préparé par la méthode d'extraction par macération dans l'éthanol. L'ensemble des résultats obtenus par l'étude de l'activité antibactérienne de cet extrait montrent qu'il possède un effet antagoniste important sur les souches isolées. Ces dernières ont marqué un degré de sensibilité très élevé envers l'extrait de romarin.

Sachant que notre Algérie possède une biodiversité vaste dont la plante de romarin se caractérise par un réservoir important de polyphénols qui demandent d'être cultivés par les chercheurs afin d'inventer des remèdes naturels assez efficaces à base de plantes médicinales.

A la fin, il est important de noter que l'utilisation des plantes médicinales ne doit pas se substituer aux traitements médicaux conventionnels et qu'une consultation médicale appropriée est essentielle. De plus, une recherche continue est nécessaire pour mieux comprendre les propriétés thérapeutiques de romarin et maximiser son utilisation en tant que ressources médicinales.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abidini A, 2013**, Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes.
- Aherne S.A, Kerry J.P, O'Brien N.M, 2007**, Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. British Journal of Nutrition, Vol 97; p 321-8.
- Alignan M. 2006**. Thèse de doctorat : Phoma du Tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie, Toulouse 64p.
- Alouane L., Belkadi S. 2019**. Etude de l'activité antibactérienne de certaines souches de bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Mémoire de master en Biotechnologie microbienne. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre. Université de Akli Mouhaned Oulhadj Bouira. 49-52 P.
- Andrade T, 2018**, Essential oils and their Major compounds in the treatment of chronic inflammation: A Review of Antioxidant Potential in Preclinical Studies and Molecular Mechanisms, Vol 2018.
- Anonym 1**, National Center for Biotechnology Information (NCBI) Taxonomy Browser: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1396>
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. 2000**. Bactériologie clinique, Vol. 3: Ellipses, 31-276p.

B

- Bagnoli F., Rappuoli R., Grandi G. 2018**. *Staphylococcus aureus*: microbiology, pathology, immunology, therapy and prophylaxis (Vol. 409): Springer. 2-24p.
- Bakirel T, Bakirel U , Ustüner Keleş O, Güneş Ulgen S, Yardibi H. 2007**. *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan- diabetic rabbits. J Ethnopharmacol, Vol 116: p 64-73
- Basavaraju et al., 2022**. *Escherichia coli*: An overview of main characteristics. *Escherichia coli*, 1-10p.
- Begum A, Subarda S, Syed Shaffath Ali A, Kombath Ravindran V, Swapna R, Banji D. 2013**. An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae)

Références bibliographiques

- Belili Z., Djoudi F., Touati, A. E. 2017.** Etude des phénotypes de résistance aux antibiotiques chez les souches de **Staphylococcus aureus** isolées de la sphère ORL.
- Benabid D. 2009.** Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*. Université de Reim Champagne-Ardenne. Thèse de doctorat en Immunologie. P161.
- Bergogne-Berézin E, Dellamonica P. 1995.** Antibiothérapie en pratique clinique. Masson, Paris.486p.
- Biquand, A. (2017).** *Les infections à Pseudomonas aeruginosa et leurs traitements en* 2017.14p.
- Bismuth R., Leclercq R. 2000.** *Staphylococcus aureus* et antibiotiques, in Précis de Bactériologie clinique. Ed ESKA ; 611-616P.
- Bouzouita N., Kachouri F., Ben halima M., Chaabouni M.M., 2008.** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Journal of Société Chimique de Tunisie, 10, 119-125.
- Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E, 2007,** Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 19(55).
- Bruneton J, 1999,** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, p 575.
- Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology 94:223-253

C

- Carneiro A. L. B, Teixeira M. F. S, Oliveira V. M. A. D, Fernandes O. C. C, Cauper G. S. D. B, et Pohlit A. M, 2008,** Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 103(1), p 31-38.
- Chao S.C; Young D G; Oberg C.J., 2000.** Screening for activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. Journal of Science of Essential oil research, 12 (5), 639-649.
- Cheung S., Tai J. 2007.** Anti-proliferative and antioxidant propreties of rosmmary *Rosmarinus officinalis*. Oncology reports. 17 (6) : p 1525-1531.

Références bibliographiques

Comas L. H, Becker S. R, Cruz V. M. V, Byrne P. F, Dierig D. A, 2013, Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*, Vol 4, p442

Couture B. 1990. Bactériologie médicale « Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical ». Vigot, Paris. 20.15- 32p

Cowan M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Journal of American Society for Microbiology*, 12 (4), 564-582

D

Dhraief S., Messadi A., Thabet L. 2019. Profil bactériologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans un service de réanimation des brûlés durant sept ans. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 32(3), 197.

Diem Do Q ., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L., Huong

Dilnessa T, Bitew A. 2016. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples at Yekatit 12 Hospital Medical College, Addis Ababa, Ethiopia. DOI 10.1186/s12879-016-1742-5.

Djerroumi A., Nacef M, 2004. 100 plantes médicinales d'Algérie. Edition 2004.

E

Erkan N, Ayranci G, Ayranci E, 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* ; Vol 110 ; p 76-82.

Escuder O. 2007. Plantes médicinales mode d'emploi. Paris: Ulmer, p 255.

F

Fadili K., Amalich S., N'dedianhoua S.K., Bouachrine M., Mahjoubi M., El Hilali M., ZairT. 2015. Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus officinalis* et *Thymus Satureioides*. *Journal of Innovation and Scientific Research*, 17 (1), 24-33.

Faucon M, 2012, Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements et aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques, Sang de la Terre, Paris, p 880.

Fillon L, 2014. Le thé et le syndrome métabolique, P. 181.

Fratamico P. M., Smith J. L. 2006. *Escherichia coli* infections. *Foodborne infections and intoxications*, 205-208p.

Références bibliographiques

G

- Ghali K., Mosefai N. 2019.** Isolement, identification et étude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolés dans différents services de Lakhdaria. Mémoire de Master en biochimie appliquée. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre. Université de Akli Mouhaned Oulhadj Bouira. 34-40 P.
- Ghedira k. 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.*, 3 (4) : 162-169.
- Gianmario A, Silvio SP, Rita A, Teresa M, Roberto D, Aurelia T,** Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L.
- Gonzàlea-Vallinas M, Reglero G, Demolina AR. 2015.** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) extract as a potential complementary agent in anticancer therapy. *Nutrition and cancer*, 67(8), p 1-9.
- Gonzalez -Vallinas M., 2014.** Modulation des recepteurs des oestrogenes et du facteur de croissance epidermique par l'extrait de romarin dans les cellules cancéreuses du sein. Pubmed.
- Gonzalez-Trujano M.E, Pena E.I, Martinez A.L, Moreno J, Guevara-Fefer P, Deciga Campos M, Lopez-Munoz F.J, 2007.** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* Vol 111: p 476-482.
- Gordon R.J., Lowy F. D. 2008.** Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases.*46 (Supplement 5): p. S350-S359.
- Guesmi A., Boudous A. 2006.** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Journal of Régions Arides*, 1, 224-230
- Gülüce M, Sokmen M, Daferera D, Agar G, Ozkan H, Kartal N, Polissiou M, Sokmen A, Gupta V, Mittal P, Bansal P, Khokra S.L, et Kaushik D, 2010,** Pharmacological potential of *Matricaria recutita*-A review. *International journal of pharmacology science of drug research.* Vol 2, p 12-6.
- Guy D, 2016.** Flore médicale des signatures : XVIe – XVIIe siècles, Le Harmattan, p 670.

H

Références bibliographiques

Hailaji N.S.M., Ould Salema M.L., Ghaber S.M. 2016. La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott — Mauritanie, ELSEVIER, 1166-7087.

Hamel T, Sadou S, Seridi R., Boukhdir S, Boulemtafes A, 2018, Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien).

Hoefler C, 1994. Thèse de doctorat en pharmacognosie : la contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Univ de METZ. P 9-18.

Huynh L., Soetaredjo F.E, Ismadji S., Yi-Hsu J, 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, P 296-302.

Iyamba L. 2012. Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique. Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles d'Europe, France.

J

Juma B. W. 2014. Characterization of Enterotoxigenic *Escherichia coli* and other Enteric Pathogenic Bacteria isolated in Machakos District Hospital, Kenya. (23)

K

Kayser F., Bienz K., Ckert J., Zinkeernagel R. 2005. Basic principles of medical microbiology and immunology: Gerog Thieme Stuttgart, New York.244P.

Kiptoo V. K. 2012. Profil de sensibilité aux antibiotiques des isolats de *Staphylococcus aureus* des hémocultures, cathéters et des prélèvements de pus à l'Hopital Militaire d'instruction Mohammed V RABAT.

Kramer J. M., Gilbert, R. J. 1989. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In Foodborne bacterial pathogens ed. Doyle, M.P. pp. New York: Marcel Dekker Inc. 21-70p.

L

La Bauve A. E., Wargo M. J. 2012. Growth and laboratory maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*.Curr.Protoc.Microbiol.06.

Lahlou A., Chegri M., L'kassemi H., 2009. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès, ELSEVIER, V11, P90-96.

Références bibliographiques

- Larabi K., Masmoudi A., Fendri C. 2009.** Étude bactériologique et phénotypes de Résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas, « Médecine et Maladies Infectieuses », ELSEVIER, V33, P348-352.
- Le Minor L and Véron M. 1989.** Bactériologie médicale, 2ème édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris.2: 428-432p.
- Leclercq R. 2002.** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques Ann Fr Anesth Réanim. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. 21 : 375-83P.
- Leplat M., 2017.** Thèse de doctorat présentée et publiquement soutenue devant la faculté de pharmacie de Marseille.
- Levinson W., Jawetz E. 1996. **Medical microbiology and immunology: examination and board review: Appleton & Lange.**109-166p.
- Lhuillier A, 2007,** Thèse de doctorat sur la contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). À université de Toulouse.
- Lobel B., Soussy C. 2007.** Les infections urinaires: Springer science & Business media.
- Loto C.A, 2011,** Inhibition effect of tea extract on the corrosion of mild steel in dilute sulphuric acid. J.Mater. Environ. Sci. 2 (4), p 335-344.
- M**
- Makhloufi A. 2009.** Thèse de doctorat sur l'étude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et de beurre cru.
- Manning S. D. 2010.** *Escherichia coli* infections: Infobase Publishing, 15-19p.
- Marrou A, et Reynand J, 2007,** La botanique, Dunod, 1ed Paris. P 313 :241.
- Martini M. C, 2011,** Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie, Tec & Doc, 3ème éd, LAVOISIER, p 500.
- Mértola, 2018.** Bonnes pratiques de domestication de plantes aromatiques et médicinales : romarin et lavande jaune. Association de défense du patrimoine. p12-13, 37-38.

Références bibliographiques

Mouas Y., Benrebiha F.Z., Chaouia C.H. 2017, Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanoïque du romarin *Rosmarinus officinalis* L., revue Agrobiologia 7(1): 363-370.

Mouas Y., Djemal H., Megdad F., Benrebiha F.Z. 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.

O

Otto M., 2012. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity,

Owusu-Kwarteng J., Wuni A., Akabanda F., Tano-Debrah K., Jespersen L. 2017. Prevalence, virulence factor genes and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* sensu lato isolated from dairy farms and traditional dairy products. *BMC microbiology*, 17(1),1-8.

P

Pelt J.M. 2001. Les nouveaux actifs naturels. Marabout. Paris.

Plainvert C. 2013. Etude de la biodiversité des souches de *Streptococcus pyogenes* responsables d'infections invasives et de cas groupés par une approche de génomique comparative .Paris 5. 17p.

Poole K. 2001. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 4: 500-508.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D. 2010. Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université.

R

Rameau J. C., Mansion D., Dumé G, 2008. Flore forestière française : guide écologique illustré. Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier, Paris, p 2426.

Rasha A. Hashem, Aymen S. Yassin, Hamdallah H. Zedan, Magdy A. Amin. 2013. Fluoroquinolone resistant mechanisms in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Cairo, Egypt *J Infect Dev Ctries* 2013; 7(11):796-803p.

Rasheed N. A., Hussein N. R. 2021. *Staphylococcus aureus*: an overview of discovery, characteristics, epidemiology, virulence factors and antimicrobial sensitivity. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 8(3), 1160-1183p.

Références bibliographiques

Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A., Rezaei M.B, 2008, Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. International J of Food Microbiology, Vol 122 : p135-139.

Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C, 2008, Biopesticides d'origine végétale. Tec & Doc, 2^{ème} éd, LAVOISIER, Paris, p546.

Richard Cl., Grimont F., 1992. *Klebsiella*, Enterobacter, Hafnia, Serratia, In : LE MINOR (L). Bactériologie médicale, Paris : Flammarion, 427-31p. LECLERC H., Microbiologie générale, 2^e édition, 95p.

Ryan K. J., Sherris R. C. 2013. Medical Microbiology: R ONS^ SYX 7M1\Ka 2SVV.

S

Savini V. 2016. The diverse faces of *Bacillus cereus*: Academic Press, 8-11p.

Schauenberg P, Paris F, 2020, Guide des plantes médicinales ; plus de 400 espèces, Délacheaux et niestlé, p 291-292.

Shin S. 2003 ; Anti-*Aspergillus* activities of plant essential oils and their combination effects with ketoconazole or amphotericin B. Archives of Pharmacal Research, 26(5) ; p 389-93.

Shukla I., Tiwari R., Agrawal M. 2004. Prevalence of extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital. *Indian journal of medical microbiology*, 22(2), 87-91.

T

Tassouiket S. 2014. Sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires à l'institut pasteur de Casablanca. Rabat: Université Mohammed V-rabat.

Teuscher E, Anton R., Lobstein A, 2005, Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, LAVOISIER, Paris, p 522.

Teyssou R., Hance P., Nicand E., Nizou J., Buisson Y. 1998. Les infections à *Bacillus cereus*: bactériologie, clinique et traitement. Lett Infect, 99-104p.

W

Wang W., Wu N., Y.G Z., 2008, Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components, Food Chem, Vol 108, p 1019-1022.

Wichtl M., Anton R, 2003. Plantes thérapeutiques, Traditions, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec & Doc, 2^{ème} édition, éditions médicales internationales, p 692.

Références bibliographiques

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

Y

Yang C.S., Landau J.M., Huang M.T., Newmark H.L., 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. Annual Review of Nutrition, Vol 21, p 381-406.

Yao L.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Dattan Sinanusong R., Chen S.S., 2004, Flavonoids in Food and their health benefits Plant, Food Hum. Nutr.Vol59.

Annexes

Tableau I: Matériels utilisés

Matériels biologiques	
Flacon stérile	Moulin
Pipette pasteur	Papier wattman
Bec bunsen	Broyeur électrique
Lame & lamelle	Plaque agitatrice
Tube a essaie en plastique	Barreau magnétique
Tube a essaie en verre	Balance analytique
Boîtes de pétri	Entonnoir
Spatule	Autoclave
Centrifugeuse	seringues stériles
Etuve	Balance analytique
Écouvillon	Entonnoir
Microscope	Autoclave
Distributeur des disques d'antibiotiques	seringues stériles
Support des tubes	Eprouvettes graduée
Tamis	Erlenmeyer
Papier wattman	Fiole
Bécher	Ampoule à décanter
Ampoule à décanter	Tamis
Balance analytique	Flacons en verre stérile
Plaque chauffante	Micropipette
Trépied	Flacons en verre stérile

Tableau II: Milieux de culture et Réactifs chimiques

Milieux de culture	Réactifs chimiques
BCP sélectif (Bromo Crésol Pourpre)	L'eau physiologique
Chapman sélectif	L'eau oxygénée H ₂ O ₂
Gélose nutritive	Disque d'oxydase
Bouillon MRS (Man, Rogosa et Sharpe)	Huile de vaseline
Hektoen	Galerie biochimique
King A	Alcool
Muller Hinton	violet de gentiane
MAC Conkey	Lugol
EMB	Fuchsine
Bouillon nutritif	Huile à immersion
Bouillon TSB	LABSTIX

Annexes

	Ethanol 96% (C ₂ H ₆ O)
	L'eau distillée

Tableaux : composition des milieux de culture

Gélose EMB

Ingrédients	g/l
Peptone	10
Lactose	10
Eosine	0,4
Bleu de méthylène	0,0625
Hydrogénophosphate de potassium	2
Agar	15

Gélose Héktoen

Ingrédients	g/l
Protéose-peptone	12
Extrait de levure	3
Lactose	12
Saccharose	12
Salicine	2
Citrate de fer III et d'ammonium	1,5
Sels biliaires	9
Fuchsine acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,065
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Agar	14

Annexes

Gélose Chapman

Ingrédients	g/l
Peptones	10
Peptones	11
Extrait de viande	1
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,25
Agar	15

Gélose King A

Ingrédients	g/l
Peptone	20
Glycérol	10
Sulfate et potassium	10
Chlorure de magnésium	1,4
Agar purifié	12

Gélose nutritive

Ingrédients	g/l
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2,5
Peptone	5
Chlorure de sodium	5
Agar-agar	15

Annexes

Gélose Mueller-Hinton

Ingrédients	g/l
Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5
Extrait de viande	2,0
Amidon	1,5
Calcium	20 à 25
Magnésium	10 à 12,5
Agar	15
Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5

Bouillon nutritif

Ingrédients	g/l
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait autolytique de levure	5
Glucose	20
Phosphate de dipotassique	2
Acétate de sodium	5
Citrate d'ammonium	2
Sulfate de magnésium	0,20
Sulfate de magnésium	0,05
Agar	15

Bouillon TSB

Ingrédients	g/l
Tryptone	15
Peptone papainique de soja	5
Chlorure de sodium	5

Annexes

Agar	15
------	----

Tableau III: Matériel végétale

Matériel végétale
Poudre de Romarin

Tableau IV: Les échantillons des urines

Catégories	Age	Nombre de prélèvements
Femmes enceintes	25 à 35 ans	10
Vieux	82 ans	01
Adultes	17 à 23 ans	08
Nouveau-né	2 mois	02
Enfants	4 à 5 ans	07
Femme âgée	58 ans	01
Homme diabétique	42ans	01

Tableau V: Les échantillons nasaux et oraux

Catégories	Age	Nombre de prélèvements
Jeune fille (Atteinte de la sinusite)	22 ans	04
Jeune fille allergique (Allergie saisonnière)	25 ans	01
Jeune homme (Attient des angines)	28 ans	01

Tableau VI: Les échantillons pris de l'hôpital

Services	Nombre de prélèvements
Salle d'accouchement (maternité)	02
Sanitaire (pédiatrie)	02
Salle de soin (les urgences)	04

Tableau VII : Liste des antibiotiques testés

Famille		Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	
Béta lactamines	Pénicillines		Ampicilline	AMP	10
			Amoxicilline	AX	25
			Pipéracilline	PRL	30
	Céphalosporines	Céphalosporines De 1 ^{er} génération	Cephalexine	CL	30
		Céphalosporines De 2 ^{ème} génération	ceftazidime	CAZ	30
		Céphalosporines De 3 ^{ème} génération	Céfixime	CFM	5
			Céfépime	FEP	30
		céfotaxime	CTX	30	
	Aminosides		Kanamycine	K	30
		Streptomycine	S	300	
Macrolides		Azithromycin	AZM	15	
		Aztréonam	ATM	30	
Produits Nitrés	Nitrofuranes	Nitrofurantoin	F	300	
Sulfamides		Sulafaméthoxazole + triméthoprime	SXT	25	
Cyclines		Tetracycline	TE	30	

Annexes

Tableau VIII: Les souches obtenues à partir des différents prélèvements

	Echantillons	Milieu de culture	Aspect de colonie
ECBU	Femme enceinte	BCP	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies rondes bombées de couleur presque jaune clair.
	Enfant	BCP / GN	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies arrondies, lisses de couleur blanc châtre.
	Vieux	BCP	<ul style="list-style-type: none"> Colonie aplatie de même couleur de milieu avec l'apparence d'un virage de couleur (violet devient jaune).
	Homme diabétique	BCP / GN	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies arrondies, lisses de couleur blanc châtre.
	Femme âgée	BCP / GN	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies blanches châtres aplatées, regroupées.
	Nouveau-né	BCP / GN	<ul style="list-style-type: none"> Stérile (pas de culture).
	La sphère ORL (nasal / Oral)	Jeune fille (atteinte de la sinusite)	Chapman
Jeune fille allergique (Allergie saisonnière)		Chapman	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies blanches châtres entourées d'un halo jaune.
Jeune homme (Attient des angines)		Chapman	<ul style="list-style-type: none"> Des colonies jaunes en chaine.
Différents services d'hôpital	Salle d'accouchement (maternité)	GN/Hektoen/KingA	<ul style="list-style-type: none"> Stérile (pas de culture) dans les trois milieux
	Sanitaire (pédiatrie)	GN/Hektoen/King A	<ul style="list-style-type: none"> Hektoen / King A : des colonies vertes visqueuses d'aspect rond, irrégulières.
	Salle de soin (les urgences)	GN/Hektoen/King A	<ul style="list-style-type: none"> GN : colonies blancs arrondies, bien définis. Même aspect de colonie précédentes sur Hektoen / King A

Annexes

Tableau IX: Résultats des tests biochimiques (Catalase / Oxydase)

Bactéries Test	Catalase	Oxydase
<i>E. coli</i> (1)	+	-
<i>E. coli</i> (2)	+	-
K. pneumoniae	+	-
<i>S. aureus</i> (1)	+	-
<i>S. aureus</i> (2)	+	-
<i>B. cereus</i>	+	+
<i>S. pyogens</i>	-	-
<i>p. aeruginosa</i> (1)	+	+
<i>p. aeruginosa</i> (2)	+	+

Tableaux : Résultats des galeries biochimiques

E. coli

Tests biochimiques	Résultats
ONPG	+
ADH	-
LDC	+
ODC	+
CIT	+
H ₂ S	-
URE	+
TDA	+
IND	+
VP	+
GEL	-

Annexes

GLU	+
MAN	+
INO	-
SOR	+
RHA	+
SAC	-
MEL	+
AMY	-
ARA	+

K. pneumoniae

Tests biochimiques	Résultats
ONPG	+
ADH	+
LDC	+
ODC	-
CIT	+
H ₂ S	-
URE	+
TDA	+
IND	+
VP	+
GEL	-
GLU	+
MAN	+
INO	+
SOR	+
RHA	+
SAC	+

Annexes

MEL	+
AMY	+
ARA	+

Tableau X: Les taux des différents prélèvements réalisés

Prélèvements	ECBU	Prélèvement nasal	Prélèvement de L'Hôpital	Total
Résultats	30	6	8	44
Pourcentages	68%	14%	18%	100%

Tableau XI: Résultats des différents cas dans chaque prélèvement

Echantillons	Positifs	Négatifs	Contaminés
ECBU	20	8	2
Prélèvement nasal	4	2	0
Prélèvement de L'Hôpital	5	2	1

Tableau XII: Taux d'*E. coli* et *K. pneumoniae* dans les urines

Espèces	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella</i>	Autres espèces	Total
Résultats	12	2	6	20
Pourcentages	60%	10%	30%	100%

Tableau XIII: Taux de *S. aureus* & *S. pyogenes* dans les prélèvements nasaux et oraux

Espèces	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	Total
Résultats	3	1	4
Pourcentages	75%	25%	100%

Tableau XIV: Taux de répartition de *P. aeruginosa* et *B. cereus* :

Espèces	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. Cereus</i>	Total
Résultats	3	2	5
Pourcentages	60%	40%	100%

Tableau XV: Nombre des souches isolées de chaque espèce

Bactéries	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	Entérobactéries
N°	12	3	3	2	3	1	6

Tableau XVI: Mesures des diamètres des concentrations critiques (résistance et sensibilité) pour chaque antibiotique testé

Antibiotiques	Charge du disque	Résistance	Sensible
---------------	------------------	------------	----------

Annexes

AMP	10	< 14	≥17
AX	25	< 14	≥18
CL	30	<11	≥11
CAZ	30	<19	≥ 26
K	30	< 13	≥18
S	300	<14	≥17
AZM	15	-	-
F	300	<	≥
SXT	25	< 13	≥16
TE	30	< 17	≥19
PRL	30	<21	≥24
CFM	5	<32	≥29
FEP	30	< 17	≥ 24
CTX	30	< 14	≥ 23
ATM	30	< 21	≥ 27

Tableau XVII: Résultats d'antibiogramme des souches pathogènes

N°	ATB	AMP	AX	CL	CAZ	K	S	AZM	F	SXT	TE	CTX
	SOUCHES											
01	<i>E. coli 1</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R
02	<i>E. coli 2</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
03	<i>E. coli 3</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
04	<i>E. coli 4</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
05	<i>E. coli 5</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S
06	<i>E. coli 6</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R
07	<i>E. coli 7</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S

Annexes

08	<i>E. coli 8</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
09	<i>E. coli 9</i>	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
10	<i>E. coli 10</i>	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
11	<i>E. coli 11</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
12	<i>E. coli 12</i>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R
13	<i>K.pneumoniae 1</i>	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S
14	<i>K.pneumoniae 2</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R
15	<i>S. aureus 1</i>	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R
16	<i>S. aureus 2</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
17	<i>S. aureus 3</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
18	<i>S.pyogens</i>	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R
19	<i>B. cereus 1</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R
20	<i>B. cereus 2</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R

Tableau XVIII: Résultats d'antibiogramme des souches de *P. aeruginosa*

N°	ATB	ATM	PRL	CFM	CAZ	FEP
	SOUCHES					
21	<i>P. aeruginosa 1</i>	R	S	R	S	R
22	<i>P. aeruginosa 2</i>	R	R	R	S	R
23	<i>P. aeruginosa 3</i>	R	R	R	S	R

Tableau XIX: Taux de résistance d'*Escherichia coli* vis-à-vis des antibiotiques testés

Antibiotiques	AMP	AX	CL	CAZ	K	S	AZM	F	SXT	TE	CTX
Nombres des Bactéries résistantes	12	3	10	11	2	0	0	0	0	1	4
Pourcentage	100%	25%	83%	92%	17%	0%	0%	0%	0%	9%	33%

Tableau XX: Taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae* vis-à-vis les antibiotiques testés

Annexes

Antibiotiques	AMP	AX	CL	CAZ	K	S	AZM	F	SXT	TE	CTX
Nombres des Bactéries résistantes	2	2	1	2	0	0	2	0	0	0	1
Pourcentage	100%	100%	50%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	50%

Tableau XXI: Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des antibiotiques testés

Antibiotiques	A MP	A X	C L	CAZ			K	S	AZ M	F	SX T	T E	CT X
Nombres des Bactéries résistantes	3	0	0	0			1	0	0	0	0	2	3
Pourcentage	100%	0%	0%	0%			33%	0%	0%	0%	0%	67%	100%

Tableau XXII: Taux de résistance de *Streptococcus pyogenes* vis-à-vis des antibiotiques testés

Antibiotiques	AMP	AX	CL	CAZ	K	S	AZM	F	SXT	TE	CTX
Nombres des Bactéries résistantes	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Pourcentage	0%	0%	0%	0%	100%	100%	0%	0%	0%	0%	0%

Tableau XXIII: Taux de résistance de *Bacillus cereus* vis-à-vis des antibiotiques testés

Antibiotiques	AMP	AX	CL	CAZ	K	S	AZ M	F	SX T	TE	CTX
Nombres des Bactéries résistantes	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2
Pourcentage	100%	100%	100%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	100%

Tableau XXIV: Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis les antibiotiques testés

Antibiotiques	ATM	PRL	CFM	CAZ	FEP
Nombres des Bactéries résistantes	3	2	3	0	3
Pourcentage	100%	67%	100%	100%	100%

Tableau XXV: Résultats du 1^{er} essai de Pouvoir antibactérien des extraits de différentes concentrations de *R. officinalis* vis-à-vis des souches isolées.

Annexes

Concentration (extrait /éthanol)	Ethanol 96%		Extrait brut		10mg/ml		20mg/ml		30mg/ml	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Répétition										
Bactéries testés										
<i>E. coli (1)</i>	9	10	7	/	9	11	10	12	/	12
<i>E. coli (2)</i>	12	9	13	/	12	9	10	10	/	12
<i>K. Pneumoniae</i>	9	15	6	16	11	9	/	/	/	/
<i>S. aureus (1)</i>	9	10	17	13	19	15	19	13	16	14
<i>S. aureus (2)</i>	11	12	19	16	19	/	15	15	20	7
<i>B. cereus</i>	9	/	16	19	18	17	16	18	2	17
<i>S. pyogenes</i>	9	8	15	14	15	9	15	8	18	10
<i>P. aeruginosa (1)</i>	8	/	/	/	/	11	/	12	/	12
<i>P. aeruginosa (2)</i>	10	7	/	13	7	11	21	13	/	16

Tableau XXVI: Résultats du 2^{ème} essai de Pouvoir antibactérien des extraits de différentes concentrations de *R. officinalis* vis-à-vis des souches isolées.

Concentration (extrait /éthanol)	Ethanol 96%		Extrait brut		40mg/ml		50mg/ml		60mg/ml	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Répétition										
Bactéries testées										
<i>E. coli (1)</i>	/	10	/	18	/	12	/	14	/	16
<i>E. coli (2)</i>	9	11	12	17	8	9	11	14	11	15
<i>K. pneumoniae</i>	10	10	22	11	20	9	21	11	20	12
<i>S. aureus (1)</i>	10	/	21	13	19	11	21	15	20	13
<i>S. aureus (2)</i>	10	/	23	/	12	13	20	14	21	16
<i>Bacillus cereus</i>	27	26	32	30	25	32	30	31	30	31
<i>Streptococcus</i>	/	9	/	14	/	4	/	10	/	11
<i>Pseudomonas (1)</i>	9	12	/	23	/	24	/	24	/	24
<i>Pseudomonas (2)</i>	10	/	/	21	7	10	21	15	/	15

Tableaux XXVII: Les concentrations de l'extrait testées (Moyenne + écart type)

10mg/ml

Bactéries testées	Essaie 1	Essaie 2	Moyenne	Ecart type
<i>E. coli 1</i>	9	11	10	1,414213562
<i>E. coli 2</i>	12	9	10,5	1,414213562
<i>K. pneumoniae</i>	11	9	10	0
<i>S. aureus 1</i>	19	19	19	0
<i>S. aureus 2</i>	19	19	19	0
<i>S. pyogenes</i>	15	9	12	4,242640687
<i>B. cereus</i>	18	18	18	0
<i>P. aeruginosa 1</i>	0	11	5,5	0,89
<i>P. aeruginosa 2</i>	0	11	5,5	0,89

Annexes

20mg/ml

Bactéries testées	Essaie 1	Essaie 2	Moyenne	Ecart type
<i>E. coli 1</i>	10	12	11	1,414213562
<i>E. coli 2</i>	10	10	10	0
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0	0
<i>S. aureus 1</i>	19	13	16	4,242640687
<i>S. aureus 2</i>	15	15	15	0
<i>S. pyogenes</i>	16	18	17	1,414213562
<i>B. cereus</i>	15	8	11,5	4,949747468
<i>P. aeruginosa 1</i>	0	12	12	0
<i>P. aeruginosa 2</i>	0	13	6,5	0

30mg/ml

Bactéries testées	Essaie 1	Essaie 2	Moyenne	Ecart type
<i>E. coli 1</i>	0	12	6	8,485281374
<i>E. coli 2</i>	0	12	6	8,485281374
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0	0
<i>S. aureus 1</i>	16	14	15	1,414213562
<i>S. aureus 2</i>	20	7	13,5	9,192388155
<i>S. pyogenes</i>	2	17	9,5	10,60660172
<i>B. cereus</i>	18	10	14	5,656854249
<i>P. aeruginosa 1</i>	0	12	6	8,485281374
<i>P. aeruginosa 2</i>	0	16	8	11,3137085

40mg/ml

Bactéries testées	Essaie 1	Essaie 2	Moyenne	Ecart type
<i>E. coli 1</i>	0	12	6	8,485281374
<i>E. coli 2</i>	8	9	8,5	0,7071067812
<i>K. pneumoniae</i>	20	9	14,5	7,778174593
<i>S. aureus 1</i>	19	11	15	5,656854249
<i>S. aureus 2</i>	12	13	12,5	0,7071067812
<i>S. pyogenes</i>	25	32	28,5	4,949747468
<i>B. cereus</i>	0	4	2	2,828427125
<i>P. aeruginosa 1</i>	0	24	12	16,97056275
<i>P. aeruginosa 2</i>	7	10	8,5	2,121320344

50mg/ml

Bactéries testées	Essaie 1	Essaie 2	Moyenne	Ecart type
<i>E. coli 1</i>	0	14	7	9,899494937
<i>E. coli 2</i>	11	14	12,5	2,121320344
<i>K. pneumoniae</i>	21	11	16	7,071067812

Annexes

<i>S. aureus 1</i>	21	15	18	4,242640687
<i>S. aureus 2</i>	20	14	17	4,242640687
<i>S. pyogenes</i>	30	31	30,5	0,7071067812
<i>B. cereus</i>	0	10	5	7,071067812
<i>P. aeruginosa 1</i>	24	24	24	0
<i>P. aeruginosa 2</i>	21	15	18	4,242640687

60mg/ml

Bactéries testées	Essaie 1	Essaie 2	Moyenne	Ecart type
<i>E. coli 1</i>	16	16	16	0
<i>E. coli 2</i>	11	15	13	2,828427125
<i>K. pneumoniae</i>	20	12	11	5,656854249
<i>S. aureus 1</i>	20	13	16,5	4,949747468
<i>S. aureus 2</i>	21	16	18,5	3,535533906
<i>S. pyogenes</i>	30	31	30,5	0,7071067812
<i>B. cereus</i>	0	11	5,5	7,778174593
<i>P. aeruginosa 1</i>	24	24	24	0
<i>P. aeruginosa 2</i>	15	15	15	0

Tableaux : Pouvoir antibactérien des différentes concentrations de l'extrait pour chaque souche (Moyenne+ écart type)

B. cereus

Concentration	Moyenne	Ecart type
10mg/ml	17,5	0,7
20mg/ml	11,5	0,5
30mg/ml	14	1,61
40mg/ml	2	2,82
50mg/ml	5	0,8
60mg/ml	5,5	0
Extrait brut	17,5	0,7

S. aureus

Concentration	Moyenne		Ecart type	
	<i>S. aureus 1</i>	<i>S. aureus 2</i>	<i>S. aureus 1</i>	<i>S. aureus 2</i>
10mg/ml	17	9,5	13,43	13,43
20mg/ml	16	15	4,24	0
30mg/ml	15	13,5	1,41	9,19
40mg/ml	15	12,5	5,56	0,7
50mg/ml	18	17	4,24	4,24
60mg/ml	16,5	18,5	4,94	3,53
Extrait brut	15	17,5	2,82	2,12

Annexes

E. coli

Concentration	Moyenne		Ecart type	
	<i>E. coli 1</i>	<i>E. coli 2</i>	<i>E. coli 1</i>	<i>E. coli 2</i>
10mg/ml	10	10,5	1,41	1,41
20mg/ml	11	10	1,41	0
30mg/ml	6	6	8,48	8,48
40mg/ml	6	8,5	8,48	0,7
50mg/ml	7	12,5	9,89	2,12
60mg/ml	8	13	11,31	2,82
Extrait brut	3,5	6,5	4,94	9,19

S. pyogenes

Concentration	Moyenne	Ecart type
10mg/ml	12	0
20mg/ml	11,5	1,41
30mg/ml	14	0
40mg/ml	2	2,94
50mg/ml	5	0,7
60mg/ml	5,5	0,7
Extrait brut	7,5	2,12

P. aeruginosa

Concentration	Moyenne		Ecart type	
	<i>P. aeruginosa 1</i>	<i>P. aeruginosa 2</i>	<i>P. aeruginosa 1</i>	<i>P. aeruginosa 2</i>
10mg/ml	5,5	5,5	7,77	7,77
20mg/ml	6	6,5	8,48	9,19
30mg/ml	6	8	8,48	11,31
40mg/ml	12	8,5	16,9	2,12
50mg/ml	12	18	16,9	4,24
60mg/ml	12	7,5	13,4	7,5
Extrait brut	0	6,5	0	9,19

K pneumoniae

Concentration	Moyenne	Ecart type
10mg/ml	10	2,82
20mg/ml	0	0
30mg/ml	0	0
40mg/ml	10	0
50mg/ml	11,5	0
60mg/ml	11	4,81
Extrait brut	11	2,31

Résumé

Résumé

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet antagoniste de l'extrait d'une plante médicinale « *Rosmarinus officinalis* », le romarin, vis-à-vis des souches isolées du milieu hospitalier. Les souches ont été isolées à partir des différents prélèvements : *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* (68%) à partir des échantillons d'ECBU, *Pseudomonas aeruginosa* & *Bacillus cereus* (18%) à partir des services de l'hôpital et *Staphylococcus aureus* & *Streptococcus pyogenes* (14%) à partir des prélèvements de nez et d'angines. Ces souches ont montré des taux élevés de résistance aux antibiotiques. La méthode utilisée est la méthode d'aromatogramme (des disques), diffusion de l'extrait sur milieu gélosé. Notre extrait a été préparé par macération avec éthanol 96% avec des différentes concentrations : 10mg/ml, 20mg/ml, 30mg/ml, 40mg/ml, 50mg/ml et 60mg/ml ainsi que l'extrait brut. Les résultats obtenus ont montré une inhibition des toutes les souches isolées. Les concentrations élevées possèdent une activité antibactérienne importante sur les bactéries à Gram + et les bactéries à Gram – avec une moyenne d'inhibition atteint 30mm.

Mots clés : Plantes médicinales, extrait brut, activité antibactérienne, *Rosmarinus officinalis*,

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير مستخلص نبات طبي "Rosmarinus officinalis"، إكليل الجبل، مقابل سلالات البكتيريا معزولة من بيئة المستشفى. تم عزل السلالات من العينات المختلفة (68%) *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* من عينات البول، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus* (18%) من أقسام المستشفى و *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus pyogenes* (14%). هذه السلالات أظهرت مقاومة عالية للمضادات الحيوية. الطريقة المستخدمة هي طريقة (الأقراص)، وانتشار المستخلص على وسط أغار. تم تحضير مستخلصنا عن طريق النقع بنسبة 96% من الإيثانول بتركيزات مختلفة: 10 مجم/مل، 20 مجم/مل، 30 مجم/مل، 40 مجم/مل، 50 مجم/مل و 60 مجم/مل بالإضافة إلى المستخلص الخام. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تثبيطاً لجميع السلالات المعزولة. تحتوي التركيزات العالية على نشاط كبير مضاد للبكتيريا على بكتيريا Gram + و Gram - بمتوسط تثبيط يبلغ 30 ملم.

الكلمات الرئيسية: النباتات الطبية، المستخلص الخام، النشاط المضاد للبكتيريا، *Rosmarinus officinalis*

Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of the extract of a medicinal plant « *Rosmarinus officinalis* », rosemary, against isolated strains of the hospital environment. The strains were isolated from the different samples: *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* (68%) from CTOU (Cytobacteriological testing of urine) samples, *Pseudomonas aeruginosa* & *Bacillus cereus* (18%) from hospital departments and *Staphylococcus aureus* & *Streptococcus pyogenes* (14%) from the nose and angina samples. These strains have shown high rates of antibiotic resistance. The method used is the method of aromatogram (discs), diffusion of the extract on agar medium. Our extract was prepared by maceration with 96% ethanol with different concentrations: 10mg/ml, 20mg/ml, 30mg/ml, 40mg/ml, 50mg/ml and 60mg/ml as well as the crude extract. The results obtained showed an inhibition of all isolated strains. High concentrations have significant antibacterial activity on Gram+ and Gram– bacteria with a mean inhibition of up to 30mm.

Key words: Medicinal plant, crude extract, antibacterial activity, *Rosmarinus officinalis*.