

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie et ecologie végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم علم البيئة و بيولوجيا النبات.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : *Biologie et physiologie végétale*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Romarin : Extraction des composants actifs et leurs effets anti bactériens de quelques souches bactériennes

Présenté par : Benmansour Arslen
Soudani Souha

Le 21/06/2022

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Kara Karima (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice : Bouchareb Radia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Encadreur : Saoudi Mouna (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

سُبْحَانَ اللَّهِ عَمَّا يُشْرِكُونَ

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, Louange à Allah l'unique Dieu tout puissant le miséricordieux, la lumière des cieux et de la terre qui nous a éclairé la voie du savoir et qui nous a donné la force nécessaire et la volonté pour finaliser ce modeste mémoire.

Mes vifs remerciements vont tout particulièrement à notre encadreur «Madame Saoudi Mouna » qui a bien voulu diriger ce travail ; Nous la remercions pour toute la confiance qu'elle a sue nous porter, pour la patience, et pour ses encouragements dont elle a fait preuve à notre égard. Ses conseils et remarques constructives nous ont permis d'améliorer grandement la qualité de notre travail.

Nous présentons nos respects et nos remerciements aux membres du jury.

Présidente du jury «Kara Karima » et l'examinatrice « Bouchareb Radia »qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer notre travail.

Nous tenons aussi à remercier chaleureusement l'ensemble des enseignements du département de Biologie et physiologie végétale, de l'Université Frères Mentouri.

C'est un énorme et immense remerciement que nous adressons maintenant à nos familles qui n'ont cessé de nous encourager lors de la rédaction de ce mémoire.

Et pour couronner le tout nous souhaitons également présenter nos remerciements à celle et ceux qui nous ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire

Dédicace.

Dieu soit loué pour les bénédictions qu'il nous a données pour arriver à ce niveau, et nous aidé à valoriser cette étape.

Je dédie ce travail à ma très chère mère la plus douce au monde la prunelle de mes yeux, pour son affection, son amour, sa tendresse ,ses sacrifices et sa bienveillance qui me guide , sa présence à mes côtés a toujours été la source de ma force pour affronter les différents obstacles que dieu te garde et te protège .

A mon très cher père le guide de ma vie pour son encouragement, son soutien, et surtout son amour et son aide, que dieu te bénisse.

A mes jolis sœurs Fadwa et Dounia les roses de ma vie et sa source de joie.

A mes chers Souhaila ,Hiba et Nis pour leur soutien, encouragement et leur présences dans mes situations difficiles en me donnant le bonheur vous êtes tous dans mon cœur .

A mon binome Arslen pour sa collaboration , sa patience et ses efforts dans le but de réussir ce mémoire.

A toute ma famille et mes amis ...

Souha

Dédicace.

Mes remerciements les plus sincères, au tout puissant ALLAH, pour tout.

Je dédie ce travail aux personnes qui me sont chères, tout celles, qui dans les moments difficiles, m'ont données leur soutien, qu'il soit moral ou physique, ou pour certains, un simple sourire, qui voulait tout dire.

A commencer par mes parents, qui malgré toutes les difficultés de la vie, ont été et seront à tout jamais les piliers de mon existence. Ma maman, ma reine celle qui passait des nuits blanches à s'inquiéter pour moi, quand moi-même je ne me soucier de rien ; Mon très cher papa, qui, même au court de ses longs voyages fatigants, ne songer qu'à nous, et ne se préoccuper que de notre avenir et de nôtres bien être. Ayant comme objectif, faire de nous des hommes et des femmes forts et Indépendants ; Un sacrifice qui est et qui sera à tout jamais gravé dans mon cœur.

Un amour et un soutien indélébile, qui aujourd'hui

a apporté ses fruits. Qu'Allah vous protège et vous garde à mes côtés.

A ma sœur bien aimée, Maria et à mes très chers frères Ishak et Yakoub ; Vous êtes la lumière de notre maison. Votre sourire qui me donnait la force et le courage d'aller de l'avant ; A vous, qui m'avez redonné la force de continuer quand je voulais abandonner.

Qu'Allah le tout puissant, vous protège et vous garde à mes côtés.

A mes frères et sœurs d'outre-mer, celles et ceux qui n'ont pas hésités à me faire part de leur aide, quand j'étais en difficulté. Celles et ceux, qui, à tout moment, étaient et seront

là, présent pour m'épauler. A savoir : krimou , Aymen , Wassim , yasser ,Achref ,Mouhamed , Hosni , Louai, Riad ,Fadhl Allah , Aymen , Noufel , Akrem, Oussama, Ilyes , et Assem , I.Bensaid , R.Bezziche , I.Ayachi , M.Ayachi , L.bensaid.

Ma fierté

C'est en grande partie grâce à vous que j'y suis arrivé

Et pour couronner, A mon binôme Souha pour sa collaboration, sa patience et ses efforts dans le but de réussir ce mémoire.

ARSLEN

Résumé

Dans le contexte d'évaluer l'effet de l'extrait méthanolique, une récolte de la plante *Rosmarinus* domestiqué (partie feuille) provenant de trois sites différents de la wilaya de Constantine est effectuée en saison printanière afin de mettre en évidence ses potentialités antibactériennes. Obtention des extraits est réalisée selon la méthode d'extraction liquide solide par l'évaporateur rotatif après une macération méthanolique.

L'activité antibactérienne des extraits est évaluée sur sept bactéries dont une à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et six à Gram négatif (*Esherichia coli* (1), *Esherichia coli* (2), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*).

Les résultats obtenus font exécutés que les feuilles fraîches ont donnés des zones d'inhibitions plus importantes que celles des feuilles sèches des différents sites de prélèvement. Aussi on note que la souche *C.frendii* est la bactérie la plus sensible aux extraits, alors *E.coli* est plus résistante aux mêmes extraits mise à part *E.coli* (2) vis-à-vis de l'extrait de feuilles fraîche.

Abstract

In order to evaluate the effect of the methanol extract, a harvest of the plant domestic *Rosmarinus* (leaf part) from three different sites of the wilaya of Constantine is carried out in spring season in order to highlight its antibacterial potential. Obtaining the extracts is carried out according to the method of solid liquid extraction by the rotary evaporator after methanol maceration.

The antibacterial activity of the extracts is evaluated on seven bacteria including one Gram positive (*Staphylococcus aureus*) and six Gram negative (*Esherichia coli* (1), *Esherichia coli* (2), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*).

The results obtained show that the fresh leaves gave more inhibition zones than those of the dry leaves of the different sampling sites. Also note that the strain *C.frendii* is the bacterium most sensitive to extracts, so *E.coli* is more resistant to the same extracts except *E.coli* (2) fresh leaf extract.

ملخص

من أجل تقييم تأثير مستخلص الميثانولي، يتم جمع نبات *Rosmarinus* المحلي (منطقة الأوراق) من ثلاثة مواقع مختلفة من ولاية قسنطينة في موسم الربيع من أجل تسليط الضوء على إمكاناته المضادة للبكتيريا. يتم الحصول على المستخلصات وفقاً لطريقة استخراج السائل الصلب بواسطة المبخر الدوراني بعد نقع في الميثانول، تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات على سبع بكتيريا بما في ذلك واحدة ذات Gram موجب (*Staphylococcus aureus*) وستة ذات Gram سالب (*Esherichia coli* (1), *Esherichia coli* (2), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*).

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن الأوراق الطازجة أعطت مناطق تثبيط أكثر من تلك الموجودة في الأوراق الجافة لمواقع أخذ العينات المختلفة. لاحظ أيضاً أن السلالة *C.frendii* هي البكتيريا الأكثر حساسية للمستخلصات، لذا فإن *E. coli* أكثر مقاومة لنفس المستخلصات باستثناء *E.coli* (2) بالنسبة لمستخلص الأوراق الطازجة.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Revue bibliographique.	
I.1 -Histoire et évolution du romarin.....	3
I.2 Distribution et répartition géographique du romarin	3
I.3 La classification taxonomique de la plante.....	4
I.4 Famille des lamiacées	4
I.5 Description et caractères botanique du genre <i>Rosmarinus</i>	4
I.5.1 La formation des racines, feuilles, tiges et fleurs.....	5
I.5.1.1 Racines.....	5
I.5.1.2 Feuilles.....	5
I.5.1.3 Tiges.....	6
I.5.1.4 fleurs.....	6
I.5.2 Diagramme florale	6
I.5.2.1 Formule florale.....	6
I.6 Intérêt nutritionnel, économique et pharmacologique du <i>Rosmarinus</i>	7
I.6.1 Utilisations traditionnelles	9
I.6.2 Utilisations actuelles	10
I.6.3 Composition chimiques.....	10
I.7 Activité du <i>Rosmarinus</i>	11
I.7.1 Utilisation de la plante.....	11
I.7.2 Toxicité	11
I.7.3 Activité antioxydant.....	11
I.7.4 Activité antibactériennes	12

I.7.5 Activité insecticides.....	12
I.7.6 Activité antifongiques.....	12
I.7.7 Activité des métabolites secondaire.....	12

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1.Objectif	15
II.2.choix du site d'étude.....	15
II.2.1.1.Localisation.....	15
II.2.1.2.Milieu biologique de la plante	16
II.2.1.3.La flore	16
II.2.1.4.La faune.....	16
II.3.Prelevement des échantillons.....	16
II.4.Extraction des tissus végétaux.....	16
II.4.1.Extraction liquide/solide.....	17
II.4.2.Principe de l'évaporateur rotatif.....	17
II.4.3.Le protocole (méthode standard).....	17
II.4.4.Extractionsolide /liquide.....	18
II.5.1.Mode opératoire.....	18
II.5.1.1.Preparation des dilutions.....	18
II.5.1.2.Souches microbiennes utilisées.....	19
II.5.1.3.Ensemencement des bactéries.....	19
II.5.1.4.Methode de puits.....	20

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Resultats des extraits feuilles sèches des trois sites.....	21
III.2.Resultats des extraits feuilles fraîches des trois sites.....	22

Conclusion

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification taxonomique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
Tableau 2 : Valeurs nutritifs pour 100 g de romarin frais et séché.....	7

Liste des figures

Figure1: Photographie d'un arbrisseau du romarin au niveau du site Mentouri	3
Figure 2 : Aspects morphologiques du Romarin.....	5
Figure3 : Photographie de feuille de romarin Ain Smara (notre étude)	6
Figure 4 : Fleurs du romarin site AinSmara(notre étude).....	6
Figure 5 : Le diagramme floral de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Hammiche 1988).....	7
Figure 6 : Carte de situation géographique des sites de prélèvement.....	15
Figure 7 : Evaporateur rotatif : a Photographie de l'appareil, b dessin schématique de l'appareil.....	17
Figure 8 : Pilulier contenant l'extrait de feuilles fraîches.....	19
Figure 9 : Boîtes de Petri contenant le milieu de culture	20
Figure 10 : Résultats des feuilles sèches avec une concentration de 200mg/ml , 500mg/ml de différents sites. 1 : DMSO seul, 2 : a, résultat positif avec [200] mg/ml, 2 : b, Résultats positif avec [500] mg/ml des feuilles sèches 3 : Résultat négatif avec la bactérie <i>E.coli</i>	21
Figure 11 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles sèches à concentration 200 mg/ml pour les différents sites.....	22
Figure 12 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles sèches a concentration 500 mg/ml pour les différent sites	22
Figure 13 : Résultats des feuilles fraîches avec une concentration de 200mg/ml , 500mg/ml de différents sites. 1 : DMSO seul, 2 : a, résultat positif avec [200] mg/ml, 2 : b, Résultats positif avec [500] mg/ml des feuilles sèches 3 : Résultat négatif avec la bactérie <i>E.coli</i>	22
Figure 14 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles fraîches a concentration de 200mg/ml.....	23
Figure 15: Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles fraiche a concentration de 500 mg/ml.....	23

Introduction

Introduction

Les plantes sont utilisées depuis longtemps par l'homme pour leur survie et à travers leur vie difficile à l'époque il les a utilisés dans le but de la guérison de certaines maladies et depuis des plantes médicinales on apparut.

Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée européenne dont une de ses parties peut être employée dans le but de se soigner. Les plantes médicinales sont utilisées depuis au moins 7 000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie **(Ducourthial, 2016)**.

En médecine les remèdes tirés des plantes sont autrement appelés préparation galénique (le nom Galin médecin de 1^{er} siècle) **(Ramawat ,2008)**

Le médicament à base de plantes est un "complexe" de molécules, issu d'une ou plusieurs espèces végétales. De nombreuses formes galéniques sont aujourd'hui proposées, certaines plus innovantes que d'autres, laissant l'infusion originelle plus ou moins désuète. Pourtant ces changements de forme peuvent parfois cacher des modifications quant à l'action sur le métabolisme ou la biodisponibilité des principes actifs **(Wichtl,2003)**

Les bactéries sont responsables de plusieurs maladies. Leur résistance aux antibiotiques est de plus en plus prononcée. Pour arrêter ce processus de synthèse-résistance, il est nécessaire de chercher une autre approche afin de diminuer ou d'éliminer les affections sans l'utilisation des produits synthétiques, donc il est évident de trouver des solutions par l'utilisation des molécules bioactives qui sont à base de plantes **(Vanden-Berghe et Vlietinck, 1991)**.

Rosmarinus officinalis est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des huiles essentielles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui, le Romarin est entré dans la médecine moderne **(Hostettmann ,1997)**

Il existe un nombre incroyable de plantes médicinales dans le monde. L'Algérie est un pays très riche en ces plantes, qui poussent généralement à l'état spontané **(Baba Aïssa, 1991)**.

Notre travail va s'articuler de la manière suivante :

Le premier chapitre consiste en une revue bibliographique en abordant les informations nécessaires sur la plante et aussi l'activité anti-microbienne.

Le deuxième chapitre présente la méthodologie de notre travail en focalisant sur le matériel et les méthodes utilisées.

Le troisième chapitre traite les résultats obtenus et consacré à l'étude de l'effet antibactérien de notre extrait. Enfin, une conclusion qui nécessite de dégager les perspectives pour mieux foncer dans ce travail est donnée.

Chapitre I : Revue bibliographique

Généralités sur la plante

I.1. Histoire et évolution du romarin

Le romarin qui doit son nom au latin *ros*, rosée et *marinus*, marin, est un arbrisseau qui se reconnaît de loin à son odeur pénétrante (**Beniston., 1984**) c'est une plante très connue depuis l'Antiquité et été considéré comme une plante bénéfique depuis fin VIII^{ème} au début du IX^{ème} siècle .il trouve son origine en Europe de sud et sur le littoral méditerranée. Il a été utilisé par les Grec et les romains en 500 BC, cultivé depuis plus de 5000 ans, des brins de romarins séchés sont apparus dans des tombes égyptiennes à partir de 3000 BC. (**Di paxoli., 2012**).

Cette plante miracle servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes et de la podagre. Les médecins arabes utilisaient beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (**Berkane., 2015**), de nos jour dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* (**Escuder., 2007**)

I.2. Distribution et répartition géographique du romarin

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (**Quezel et Santa., 1963**). Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (**Schauenberg et Paris., 1977**).

Le romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, de préférence dans les lieux secs et arides, exposé au soleil, à état sauvage il se trouve sur des sols calcaires. (**Zeghad. ,2009**).



Figure 1: Photographie d'un arbrisseau du romarin au niveau du site Mentouri. (notre étude)

I.3. Classification taxonomique de la plante

Le romarin *Rosmarinus Officinalis* fait partie de la famille des Lamiacées (ou labiées)

Tableau 1 : classification taxonomique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*. (Quezel et Santa., 1963).

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiale (Labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Nom local	Iklil el djabal

I.4 .Famille des lamiacées

Les lamiacées, encore parfois appelées labiées ou labiatiées, sont une famille de plantes dicotylédones, comprend environ 7000 espèces, très riche, particulièrement utilisée par l'homme. Plantes aromatiques, les Lamiacées soignent, parfument plats ou cosmétiques, la famille est très représentée dans la flore naturelle, elle montre d'ailleurs des caractères typiques très faciles à reconnaître pour le botaniste débutant.

Les Lamiacées sont rares dans les montagnes et les régions arctiques. Elles sont utilisées en herboristerie, en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates. (Botineau, 2010).

I .5. Description botanique et caractères botanique du genre *Rosmarinus*

Le romarin *Rosmarinus officinalis*. plante odorante qui se présente sous forme d'un arbrisseau de la famille des labiées (Zeghad.,2009), d'après (Makhloufi.,2013) il se trouve

d'une hauteur de 50 cm et plus ,toujours vert il se distingue par sa forme très feuillée, très rameux et caractérisé par son odorat très aromatique ses feuilles persistantes sans pétiole facile à reconnaître longues, coriaces enroulées légèrement aux bords d'une couleurs verte sombre distinctive ,blanchâtres en dessous (**Zeghad.,2009**) ,la floraison commence dès le mois de février et parfois janvier selon le climat et se poursuit jusqu' au avril – mai , des fleurs généralement Hermaphrodites , très courtes grappes axillaires et terminales. Chaque fleur environ 1 cm de long de couleur purpurin ; bleu pâle ou blanchâtre en cloche bilabée à lèvre supérieure ovale entière et à lèvre à 2 lobes lancéolés. Lèvre supérieure en casque légèrement bifide Lèvre inférieure à 3 lobes dont le médian est large et concave. Les 2 étamines sont plus longues que la corolle. Le Gynécée présente 2 carpelles surmontées d'un style long courbe et bifide (**Belbachir., 2017**). Le fruit est un tetrakène (de couleur brune).



Figure2 : Aspects morphologiques du Romarin (Quezel et Santa., 1963)

I .5.1. Formation des racines, feuilles , tige et fleurs

I .5.1.1. Racines

C'est l'organe souterrain qui sert à la fixation au sol et y à puiser l'eau et les éléments nutritifs nécessaire à la plante, elles sont profondes et pivotante. (**Sanon. ,1992**).

I .5.1.2. Feuilles

Le romarin possède un feuillage linéaires, coriaces, opposée, rigides, persistants et vivaces la pointe est aigüe, cornée et très piquantes d'une longueur 10 à 25 mm et une largeur de 1,5 mm la face supérieure verte avec deux bandelettes blanchâtres à des stomates nettement distinctes (**Debazac., 1991**).



Figure3 : Photographie de feuille de romarin Aïn Smara (notre étude) .

I .5.1.3 .Tiges

Arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètre cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme plus ou moins simulant des épis. (Sanon.,1992)

I .5.1.4.Fleurs

La fleur généralement hermaphrodite, petite et bleu pâle ou move tachetées de violet (Darwin et al.,2003).



Figure 4 : Photographie de fleurs du romarin site Aïn Smara (notre étude).

I .5.2. Diagramme florale : La fleur est tétra cyclique.

I .5. 2.1.Formule florale : La formule florale de *Rosmarinus officinalis* est comme suit :

Formule florale= $5S+5P+ 4E+2C$

S : Sépales ; **P :** Pétales ; **E :** Etamines ; **C :** Carpelles

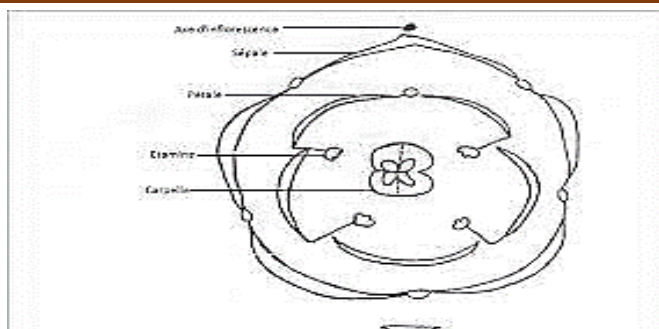


Figure 5 : Le diagramme floral de *Rosmarinus officinalis* (Hammitche, 1988)

I.6. Intérêt nutritionnel économique et pharmacologique du *Rosmarinus*

Tableau 2 : Valeurs nutritifs pour 100 g de romarin frais et séché

NUTRIMENTS	ROMARIN FRAIS - VALEUR POUR 100 G	ROMARIN SÉCHÉ - VALEUR POUR 100 G
Caractéristiques intéressantes		
Eau	67,7 g	9,31 g
Protéines	3,31 g	4,88 g
Total des lipides	5,86 g	15,22 g
Sucres (carbohydrates)	20,7 g	64,06 g
par différence		
Fibres	14,1 g	42,6 g
Minéraux	-	-
Calcium (Ca)	317 mg	1280 mg
Fer (Fe)	6,65 mg	29,25 mg
Magnésium (Mg)	91 mg	220 mg
Phosphore (P)	66 mg	70 mg
Potassium (K)	668 mg	955 mg
Sodium (Na)	26 mg	50 mg

Zinc (Zn)	0,93 mg	3,23 mg
Vitamines		
Vitamine C (acide ascorbique totale)	21,8 mg	61,2 mg
Thiamine	0,036 mg	0,514 mg
Riboflavine	0,152 mg	0,4428 mg
Niacine	0,912 mg	1 mg
Vitamine B6	0,336 mg	1,74 mg
Acide folique	109 µg	307 µg
Vitamine B12	0	0
Vitamine A, RAE	146 µg	156 µg
Vitamine A, IU	2924 IU	3128 IU
Vitamine D (D2 + D3)	0	0
Vitamine D	0	0
Lipides		
Acides gras totaux saturés	2,838 g	7,371 g
Acides gras totaux mono insaturés	1,160 g	3,014 g
Acides gras totaux polyinsaturés	0,901 g	2,339 g
Cholestérol	0	0

Le romarin séché contient plus de calories pour 100gr que le romarin frais, car ce dernier contient beaucoup plus d'eau. Toutefois le romarin séché contient davantage de nutriment puisque celui-ci est plus concentré.

Récemment, la recherche dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires ont trouvés que le romarin possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques ainsi que le système nerveux (**Gonzalez et al., 2007**). Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne, Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Antispasmodiques, diurétiques, hépatoprotectrices, soulagement des désordres respiratoires (**Lemonica et al.,1996**)
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibañez et al., 2000**).
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques (**Cheung et Tai .,2007**).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (**Singleton et Nelshopp .,1991**) et la prolifération des tumeurs cutanées (**Huang et al., 1994**).
- Il est connu pour ces multiples propriétés. En raison de sa teneur en Huile essentielle, en médecine traditionnelle, le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, la médecine traditionnelle, le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, les branchites, les coliques, améliore les fonctions hépatiques et biliaires en cas de troubles digestifs. Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires (**Teuscher., 2005**)
- autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offord et al., 1995**)
- L'infusion de feuilles de romarin, calme les nerfs, surtout au moment de la ménopause (**Volak et Stodola .,1983**)

I .6.1. Utilisations traditionnelles :

Le romarin est utilisé dans la cuisine orientale et les pays méditerranéens comme dans la cuisine occidentale, en particulier la cuisine italienne réputée pour ses riches plats naturels à base de plantes, en raison de la disponibilité d'un environnement approprié pour sa croissance en Italie une de ses utilisations les plus importantes :

- Il peut être ajouté comme poudre ou comme feuilles sèches ou vertes. L'utilisation la plus populaire peut être ajoutée comme viande, poulet et poisson barbecue. Il peut être utilisé comme petit paquet pour fumer de la viande au barbecue.

- Le romarin donne une saveur à la crème glacée, aux jus de fruits et aux smoothies.
- L'ajout du « Rosemary » au beurre et au le fromage lui donne un goût délicieux lors de la préparation des sandwichs et des pâtisseries.
- Il est utilisé comme améliorant nutritionnel afin d'être ajouté à la boulangerie pour lui donner une saveur granuleuse et dans le but de prolonger sa durée de conservation en raison de sa teneur en antibactériens et antioxydants.
- Le romarin est utilisé comme agent de conservation lorsqu'il contient des antioxydants et comme agent de conservation de la viande contre la pourriture lorsqu'il est ajouté pour prévenir l'oxydation et les dommages.
- Utilisé comme boisson en le trempant dans de eau de façon traditionnelle, individuellement ou mélangé à d'autres herbes (comme la sauge, le gingembre et la lavande) selon l'état et le désir.

I.6.2. Utilisation actuelle

Usages industriels

- L'huile de romarin est utilisée dans l'industrie du parfum et de l'encens.
- Il est utilisé dans la fabrication de désodorisants et d'huiles essentielles aromatiques.
- Il est utilisé dans la fabrication de crèmes hydratantes dermatologiques.
- Dans la fabrication du shampoing, savon liquide, produits d'hygiène.
- Une vaste utilisation comme condiment et différentes combinaison d'épices.
- Utilisé dans la fabrication d'agents de conservation du pain et de viandes.

I.6.3. Composition chimique

L'huile essentielle du romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l'apinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus de l'huile essentielle on trouve dans le romarin: 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique , l'acide oléanolique ,l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol,romadial,des acides phénolique, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline , du mucilage (**Belakhdar., 1997**),et de la résine (**Beloued.,1998**).

Les éléments minéraux, la spectrométrie d'émission atomique a pu identifier 18 éléments :

Al : 146.48 mg/kg ; Ca : 7791.80 mg/kg

Fe : 330.16 mg/kg ; K : 14916.23 mg/kg

Mg : 1634.55 mg/kg ; Na : 2711.87 mg/kg

P : 1474.60 mg/kg ; Cr : 97.36 mg/kg

Sr : 74.65 mg/kg (Arslan et al., 2007).

I.7. Activité du *Rosmarinus*

I.7.1. Utilisation de la plante

Dans la médecine traditionnelle on utilise les parties aériennes par voie orale pour soulager les coliques rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol l (Heinrich et al., 2006).

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (Arnold et al., 1997)

1.7.2. Toxicité

- Aucune toxicité aiguë ou chronique lors de l'utilisation en cuisine en quantités normales.
- Irritation de l'estomac ou des intestins ou apparition de fibrose rénale en cas d'absorption de fortes doses d'huiles essentielles.
- Déclenchement de l'épilepsie en cas de doses élevées. (Di paxoli., 2012).

1.7.3. Activité antioxydant

Le romarin est considéré en tant qu'épice ayant une activité antioxydant très élevée (Wang et al., 2008).

Cette activité est connue depuis envers 30 ans, pour cela plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation du *Rosmarinus* comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (Balentine et al., 2006 ; Fernandez-Lopez et al., 2005 ; Sebrotynek et al., 2005)

1.7.4. Activité antibactériennes

Des études ont prouvées que les extraits aqueux et méthanoliques du romarin ont un effet sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* (inhibition) et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase, ainsi que ces extraits peuvent éliminer les plaques dentaires par la suppression de l'activité de la glucosyl transferase (Tsai et al., 2007)

Selon Wang (2008) et al le rosmarinus et ses composants 1,8-cinéole, α -pinène et β -pinène possèdent une activité antibactérienne. Ces derniers ont été très efficaces contre 3 souches bactériennes. Ces souches sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

C'est un effet qui se manifeste par une accélération de la mort des bactéries (Muanda., 2010).

Cette action bactéricide des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée (Lakhdar et al., 2012)

I .7.5. Activité insecticides

L'huile de romarin est désormais un agent insecticide contre trois espèces de moustique (*Anophelesstephensi*, *Aedesaegypti* et *Culexquinquefasciatus*) (Gillij et al., 2007), aussi que cette huile présente une activité répulsive contre les moustiques (*Aedesaegypti*) (Prajapati et al., 2005).

I .7 .6. Activité antifongique

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose ,les résultats ont montré que le romarin a une activité inhibitrice modéré sur les cinq levures examinées (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis* , *Schizosaccharomycespombe* , *Saccharomycescerevisiae* , *Yarrowialypolitica*) (Sacchetti et al., 2005) .

I .7.7. Activité des métabolites secondaire

Outre les métabolites primaires classiques produits par les plantes (glucides, protéines, lipides), ces dernières accumulent souvent des métabolites dits secondaires, dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente, mais qui est une source importante de métabolites. Des molécules utilisables par l'homme dans différents domaines comme la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al. , 2005).

Composé phénolique

Les composés phénoliques sont présents dans toutes les plantes supérieures. Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et ont un profil de distribution qualitative et quantitative très hétérogène selon les espèces considérées, et Organes, tissus et stades physiologiques (**Macheix., 1996**).

Les composants phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence de cycles aromatiques avec des groupes hydroxyle libres ou liés aux glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, l'enracinement, la germination des graines et la maturation des fruits. Les composants phénoliques comprennent principalement les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide férulique, acide chlorogénique, etc.), les flavonoïdes, les coumarines et les tanins. Les composants phénoliques sont des molécules bioactives largement utilisées en thérapeutique comme vasoconstricteurs, agents anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, agents antioxydants et anti-radicalaires, agents antibactériens (**Djemai., 2008**).

Tanins

Les tanins, substrat naturel dont nombreuses plantes le contient, elles sont des glucosides de l'acide gallique (tanins galliques) ou de la pyrocatechine, on obtient les composants de glycosides par hydrolyse avec des acides ou des bases ou bien l'enzymetannase. (**Wichtl., 2003**)

Flavonoïdes

Ces substances de structure C6-C3-C6 sont biosynthétisées à partir de phloroglucinols et d'un acide phénylpropanique Elles augmentent la résistance de la paroi cellulaire et diminuent la perméabilité capillaire, leurs indications thérapeutiques concernent principalement les créneaux vasculotropes, veinotropes et protecteurs capillaires. Les flavonoïdes présents dans les parties vertes de nombreux végétaux. (**Ghedira., 2005**).

Terpène

Ce sont des composants organiques aromatiques dérivés de l'isoprène (hydrocarbure de 5 atomes de carbone) qui se trouvent dans tout type de végétation. (**Brunton., 1993**).

Coumarines

Les coumarines est présente chez plusieurs végétaux, c'est une substance naturelle organique aromatique hétérosidique oxygénée de formule brute $C_9H_6O_2$. (**Bensouici., 2015**).

Chapitre II :

matériels et méthodes

II.1.Objectif

L'objectif de notre travail consiste à caractériser l'extrait alcoolique des feuilles du *Rosmarinus* domestiqué afin de déterminer leurs activités antimicrobienne sur des bactéries souvent fréquentes en pathologie humain dans trois régions différents. La récolte des feuilles est réalisée durant une période d'un mois environ (Mars) incluant la saison printanière.

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de département des Sciences de la Nature et de la Vie, faculté des sciences

II.2.choix du site d'étude

Pour cette étude nous avons choisi l'Est de l'Algérie plus précisément la région de Constantine qui contient un milieu favorable à la croissance du romarin vu son abondance dans cette région ce dernier fait partie des plantes très résistante qui prospère dans les régions méditerranéennes, notamment sur des collines arides et rocailleuses. Il préfère les endroits ensoleillés et peut tolérer relativement bien à la sécheresse. C'est sur ce type de sol que son arôme se développe le mieux.

II.2.1.1. Localisation

Pour cette étude nous avons choisis trois sites qui diffèrent notamment en altitude donc en température ces sites qui sont respectivement de la plus haut au plus bas mais aussi du nord vers le sud et qui sont : Djabel el Ouahch ,Mentouri et Ain Smara.

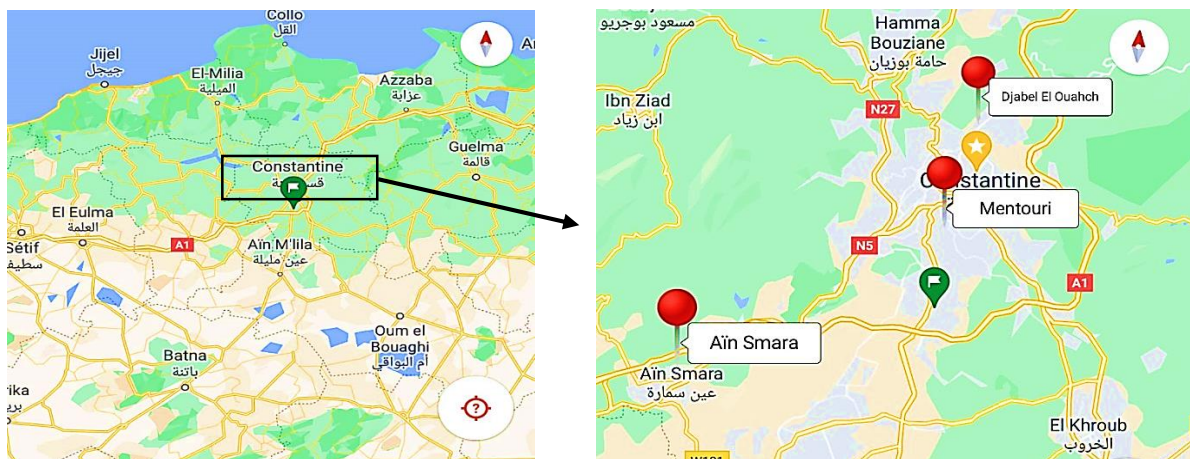


Figure 6 : Carte de situation géographique des sites de prélèvement

II.2.1.2. Milieu biologique de la plante

Le milieu biologique de Constantine, plus précisément dans la région de l'Est de l'Algérie, est à la fois diversifié et restreint. Il abrite une faune et une flore spécifiques qui sont adaptées aux conditions environnementales particulières de la région. Il présente une grande richesse en termes de biodiversité, avec des espèces végétales et animales endémiques qui ne se trouvent que dans cette zone géographique.

II.2.1.3. La flore

La flore de Constantine se caractérise par une végétation variée, comprenant des espèces adaptées à la sécheresse et aux sols rocailloux.

On y trouve des plantes telles que le romarin, le genévrier, l'olivier sauvage et diverses herbes méditerranéennes. Ces végétaux offrent un habitat et une source de nourriture pour la faune locale.

II.2.1.4. La faune

La faune de Constantine est tout aussi fascinante. On y trouve une grande diversité d'espèces animales, notamment des reptiles tels que des lézards et des serpents, des oiseaux migrateurs, des mammifères comme le renard et la belette, ainsi que divers invertébrés. Certaines espèces sont spécifiques à la région et jouent un rôle important dans l'écosystème local.

II.3. Prelevement des échantillons

Le prélèvement s'est effectué sur les lieux de récolte précédemment cités en utilisant les outils nécessaires comme les gants, sécateur.... Et en prenant les différentes parties de la plante pour avoir les 3 genres de feuilles : les feuilles jeunes, les feuilles du milieu, et les feuilles les plus vieilles mais aussi la fleur.

II.4. Extraction des tissus végétaux

Pour l'extraction des tissus végétaux c'est-à-dire les feuilles, le processus s'est fait manuellement en retirant les feuilles des tiges puis divisé en deux échantillons.

Celles utilisées pour l'extraction à l'état frais sont immédiatement mises dans le solvant et celles qui vont être utilisées à l'état sec ont été nettoyées, et lavées avec de l'eau distillée puis séchées à l'ombre pendant deux semaines à température ambiante.

Nous avons choisi cette technique pour préserver les propriétés médicinales de ces produits, car les feuilles vertes subissent des transformations chimiques, sous l'influence des ultraviolets, où leur couleur vire vers le jaune, ainsi pour éviter les réactions enzymatiques et les contaminations par les microbes. Le matériel végétal a été ensuite broyé à l'aide d'un

broyeur mécanique. Après broyage la poudre obtenue a été soumise à une extraction afin de récupérer les différentes classes de composés chimiques contenus dans les feuilles.

II.4.1.Extraction liquide/solide

Dans le cadre de cette étude l'extraction des feuilles du romarin a été effectuée en utilisant l'évaporateur rotatif. (Figure 7)

La méthode d'extraction implique de laisser les tissus végétaux dans le solvant pendant 24 heures, puis de filtrer le liquide obtenu en deux étapes.

La première étape de filtration consiste à utiliser une passoire pour éliminer les grosses particules, puis à utiliser un entonnoir et du coton pour filtrer davantage le liquide.

Ensuite, le liquide obtenu est passé dans l'évaporateur rotatif en suivant le protocole cité ci-dessous jusqu'à ce qu'il atteigne un état solide, pour obtenir l'extrait.

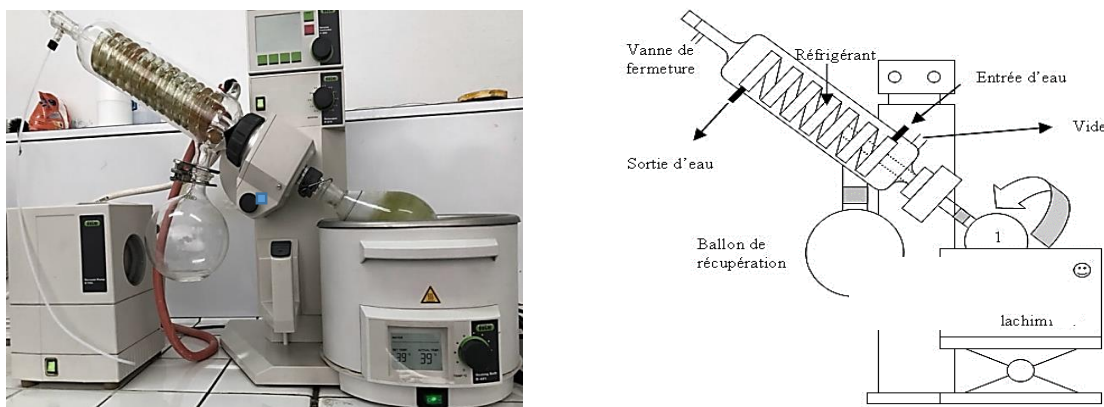


Figure 7 : Evaporateur rotatif : a Photographie de l'appareil, b dessin schématique de l'appareil

II.4.2.Principe de l'évaporateur rotatif

L'évaporateur rotatif permet de réaliser une distillation rapide et efficace du solvant, sans exposer les molécules synthétisées (parfois fragiles) à un chauffage trop important grâce à une diminution de la pression. En effet, plus la pression diminue, plus la température d'ébullition du solvant diminue.

II.4.3.1.Le protocole (méthode standard)

- Faire circuler l'eau dans le réfrigérant. Préchauffer le bain-marie.
- Fixer le ballon contenant le solvant à extraire au conduit de vapeur à l'aide d'un clip adapté. Déclencher le système d'obtention du vide.
- Mettre le ballon en rotation. Descendre le ballon pour le mettre en contact avec l'eau du bain-marie. Fermer doucement le robinet de mise sous vide pour mettre progressivement l'ensemble de l'appareil sous pression réduite.

▪ L'extraction commencée, on aperçoit des gouttes de solvant se condenser sur le réfrigérant et dans le ballon récepteur.

II.4.4.Extraction solide /liquide

Dans le cadre de notre recherche, nous avons entrepris l'initiative de convertir l'extrait solide de notre matériau d'étude de à l'état liquide.

Cette transition a été réalisée en pesant avec précision des quantités spécifiques d'extrait solide, soit 200 mg et 500 mg, et en les plaçant dans des piluliers dédiés.

Par la suite, nous avons introduit 1 ml de Di-Méthyl-Sulf-Oxyde (DMSO) dans chaque pilulier afin d'induire la transformation souhaitée.

Le DMSO a été choisi comme solvant pour cette procédure en raison de son innocuité vis-à-vis des bactéries étudiées. En effet, l'utilisation d'autres solvants aurait pu compromettre l'intégrité des échantillons bactériens, introduisant ainsi des biais indésirables dans nos résultats.

Le DMSO, en revanche, s'est révélé compatible avec notre étude, préservant l'intégrité des bactéries et minimisant toute influence potentiellement néfaste

II.5.1.Mode opératoire

La méthodologie expérimentale a débuté par la stérilisation rigoureuse de la surface de travail qui est une étape primordiale visant à éliminer les contaminants potentiels qui pourraient altérer les résultats de l'expérience. Puis l'allumage des becs Bunsen ce qui permet de créer une zone stérile en fournissant une source de chaleur suffisamment élevée pour éliminer les microorganismes présents dans l'air ambiants

La préparation méticuleuse du matériel comprend la disposition soignée des boîtes de Pétri, qui serviront de supports pour la culture des bactéries.

L'éthanol est utilisé dans certaines étapes de l'expérience et nécessite une manipulation précise. Les pipettes Pasteur sont employées pour le transfert précis de volumes de liquides. Les boîtes de Pétri stériles assurent un environnement de travail dépourvu de contaminants.

Enfin, la micropipette, positionnée à proximité du bec Bunsen, permet des manipulations précises de faibles volumes de liquides .

II.5.1.1.Preparation des dilutions

La préparation des dilutions nécessite impérativement le respect des consignes d'hygiène lors des manipulations. Elle implique la réalisation d'une dilution à partir d'un certain point dans une quantité déterminée de DMSO (DiMéthylsulfOxyde).

Dans notre cas spécifique, nous pesons 200 mg et 500 mg d'extrait respectivement. Ces quantités sont ajoutées à 1 ml de DMSO pour chaque poids. Pour ce faire, nous utilisons

une spatule pour déposer de petits fragments d'extrait dans un pilulier, que nous plaçons ensuite sur une balance jusqu'à atteindre le poids désiré. Ensuite, à l'aide d'une micropipette, nous ajoutons 1 ml de DMSO.

Une agitation est nécessaire pour obtenir une dilution homogène.

Il est important de noter que toutes ces manipulations doivent être effectuées avec rigueur et en suivant les bonnes pratiques d'hygiène afin d'assurer des résultats fiables et éviter toute contamination.



Figure 8 : Pilulier contenant l'extrait de feuilles fraîches

II.5.1.2.Souches microbiennes utilisées

Dans cette étude nous avons manipulé sept bactéries qui sont fréquentes en pathologie humaine dont une à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 43 300) et six à Gram négatif (*Esherichia coli* 25 922(1), *Esherichia coli* :ATCC 8739(2), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853, *Proteus vulgaris* ATCC 29 922, *Morganella morganii* ATCC 25 830, *Citrobacter freundii*. ATCC 8090). Ces souches sont fournies aimablement par le laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire ; Constantine1.

II.5.1.3.Ensemencement des bactéries

Pour procéder à l'ensemencement des bactéries sur gélose nutritive (GN), nous avons préparé un milieu nutritif gélosé conformément aux protocoles standard (voir Annexe).

Ensuite, à partir des cultures bactériennes pures de différentes souches, qui étaient soigneusement conservées et identifiées, nous avons préparé des suspensions bactériennes.

L'ensemencement a été réalisé en utilisant la technique d'étalement en surface. Une petite quantité de chaque culture bactérienne a été prélevée et répartie de manière uniforme sur la surface de la gélose GN à l'aide d'un écouvillon. Afin d'assurer une répartition homogène des bactéries, des mouvements circulaires ont été effectués tout en exerçant une pression constante.

Il est essentiel de souligner que ces manipulations ont été effectuées avec précaution en respectant les bonnes pratiques de laboratoire, afin de minimiser les risques de contamination croisée et d'obtenir des résultats précis lors des tests microbiens ultérieurs.



Figure 9 : Boîtes de Petri contenant le milieu de culture

II.5.1.4.Methode de puits

Le principe de cette méthode est similaire à celui de la méthode des disques : il consiste à réaliser des puits dans la gélose de 4 mm de profondeur, qui sont par la suite remplis d'extraits ou d'antibiotique à tester (**Carbonnelle., 1988**). (Dans notre étude on a mis 30 μ l)

Après 30 min de diffusion sur paillasse, les cultures sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18- 24 heures. Après incubation, la présence des zones d'inhibition claire au tour de chaque puits indique un résultat positif et l'absence de cette zone signale un résultat négatif ce qui montre que les souches sont résistantes.

La lecture des résultats s'effectue par mesure en millimètre les diamètres des zones d'inhibition en utilisant un double décimètre. Plus la zone est grande, plus la sensibilité de la souche testée vis-vis de l'effet de l'extrait augmente .

Chapitre III : Résultats et discussion.

III.1. Résultats des extraits feuilles sèches des trois sites

L'étude de l'activité de l'extrait des feuilles sèches des trois sites révèle une différence dans son profil. (figure 10)

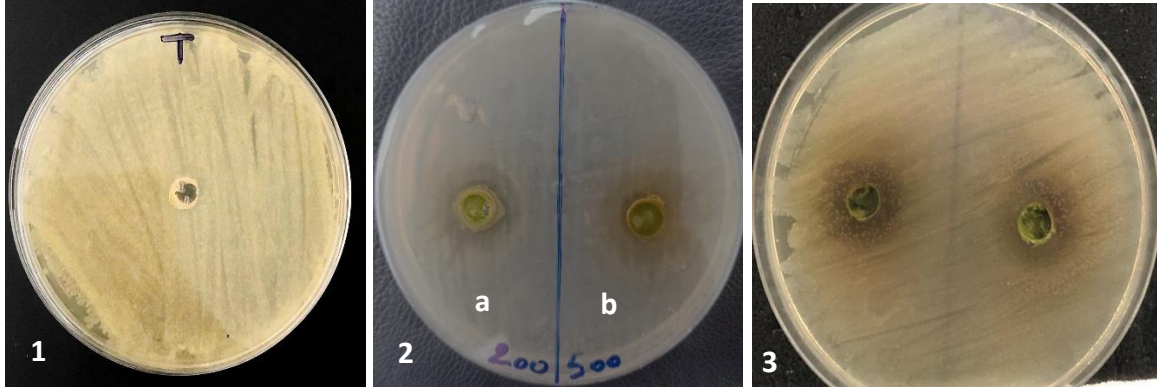


Figure 10 : : Résultats des feuilles sèches avec une concentration de 200mg/ml , 500mg/ml de différents sites. 1 : DMSO seul, 2 : a, résultat positif avec [200] mg/ml, 2 : b, Résultats positif avec [500] mg/ml des feuilles sèches 3 : Résultat négatif avec la bactérie *E.coli*

Cependant, on constate que les résultats obtenus du site Djabel Ouahch à une concentration 200mg/ml, montre une réponse positive plus significative que celle des deux autres sites voir 17 mm, 15 mm, 22mm, 16 mm et 23 mm respectivement pour les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, notamment : *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P.vulgaris*, *M.morganii*, *C.freundii*. (Figure11)

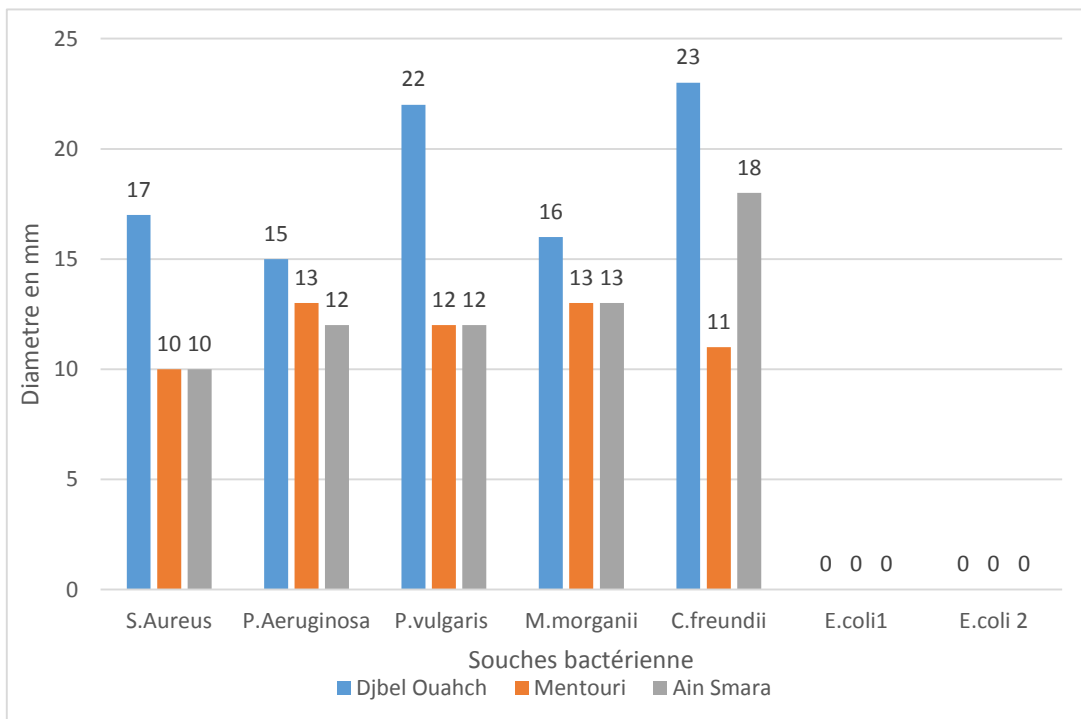


Figure 11 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles sèches à concentration 200 mg/ml pour les différents sites

Cet extrait a inhibé la croissance de ces bactéries, ce qui est observable sous la forme de zones claires entre les puits et la croissance des bactéries précédemment mentionnées.

Alors ce qui concerne les deux souches d'*E.coli* ont montré des résultats négatifs, ce qui signifie que ces dernières sont résistantes à la présence de l'extrait.

Une légère différence de diamètre c'est observée avec la concentration 500mg/ml notamment avec les bactéries *S.aureus* , *P.aeruginosa*, *P.vulgaris* *C.freundii*.

On conclut qu'ua chaque augmentation des concentrations on obtient des zones plus importantes

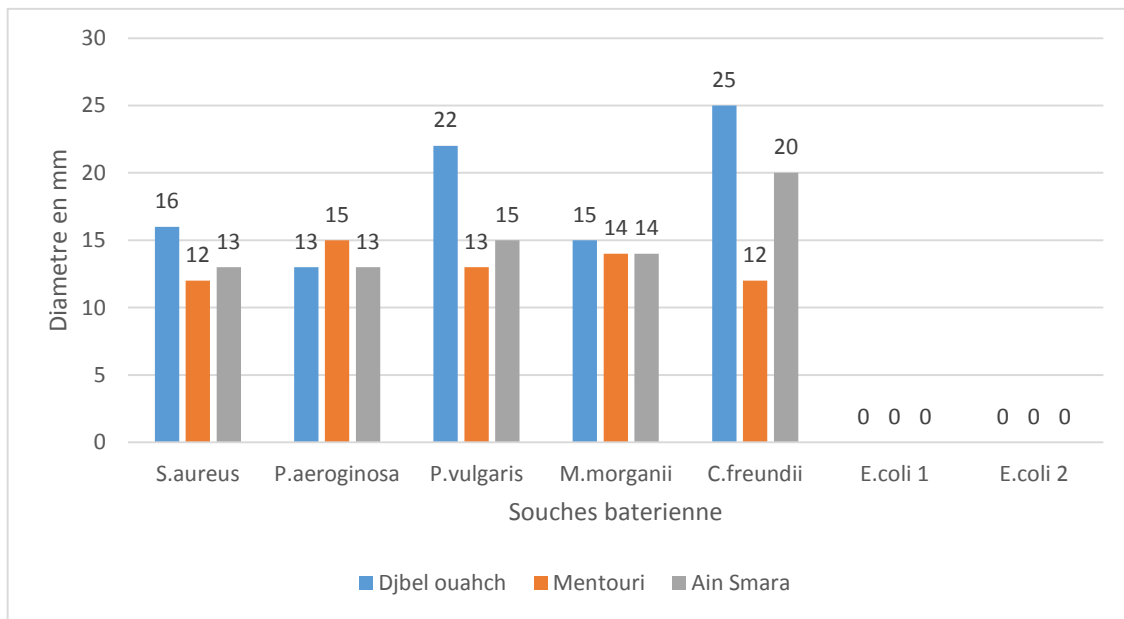


Figure 12 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles sèches a concentration 500 mg/ml pour les différents sites

Les résultats obtenus à partir d'extraits de feuilles fraîches plus précisément à la concentration 200mg/ml et 500 mg/ml du site Mentouri sont plus importants en comparaison avec les deux autres sites mais qui restent plus significatifs que ceux obtenus à partir de feuilles séchées.

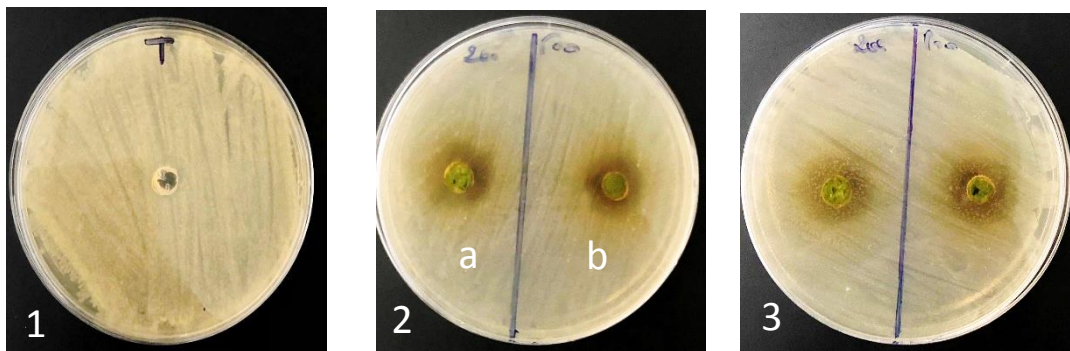


Figure 13 : Résultats des feuilles fraîches avec une concentration de 200mg/ml , 500mg/ml de différents sites. 1 : DMSO seul, 2 : a, résultat positif avec [200] mg/ml, 2 : b, Résultats positif avec [500] mg/ml des feuilles sèches 3 : Résultat négatif avec la bactérie *E.coli*

De plus, il est important de souligner que l'effet est considérablement plus prononcé avec les bactéries *P.vulgaris* et *C.freundii*. En outre, il est intéressant de noter qu'un résultat positif est observé avec la bactérie *Escherichia Coli* (2), ce qui n'est pas le cas avec les extraits de feuilles séchées (voir histogrammes si-dessous)

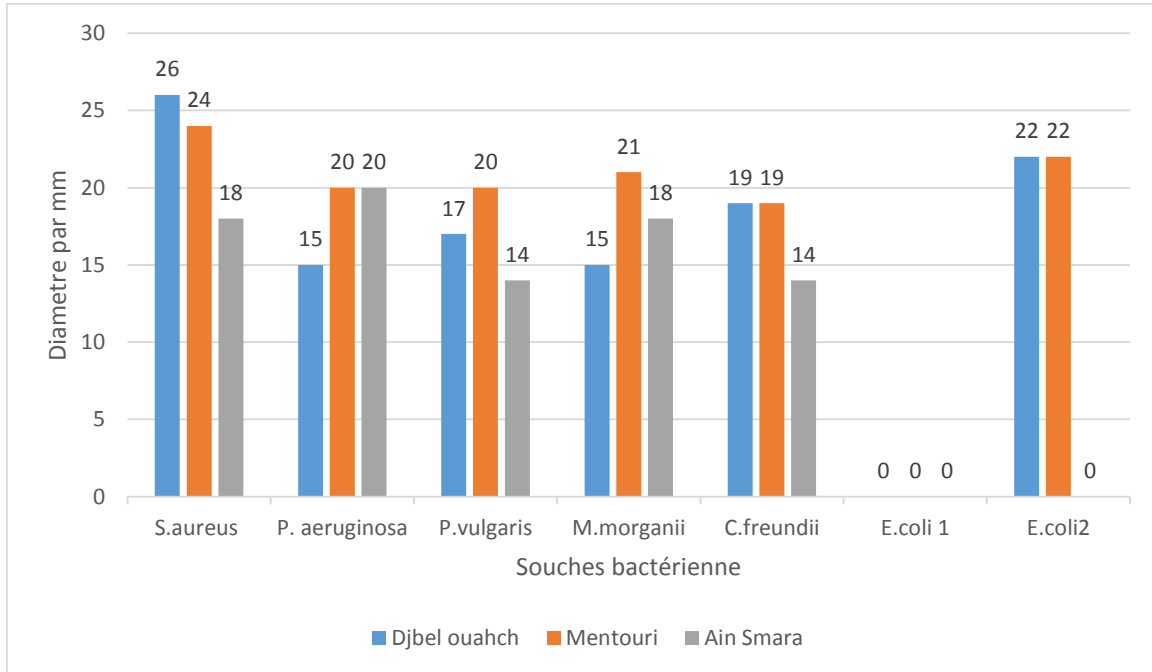


Figure 14 : Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles fraîches a concentration de 200mg/ml .

Histogramme des feuilles fraîches des différents sites à la concentration 500mg /ml qui comme à la concentration 200mg/mg on donner un effet négatif avec la bactérie *E.coli* (1)

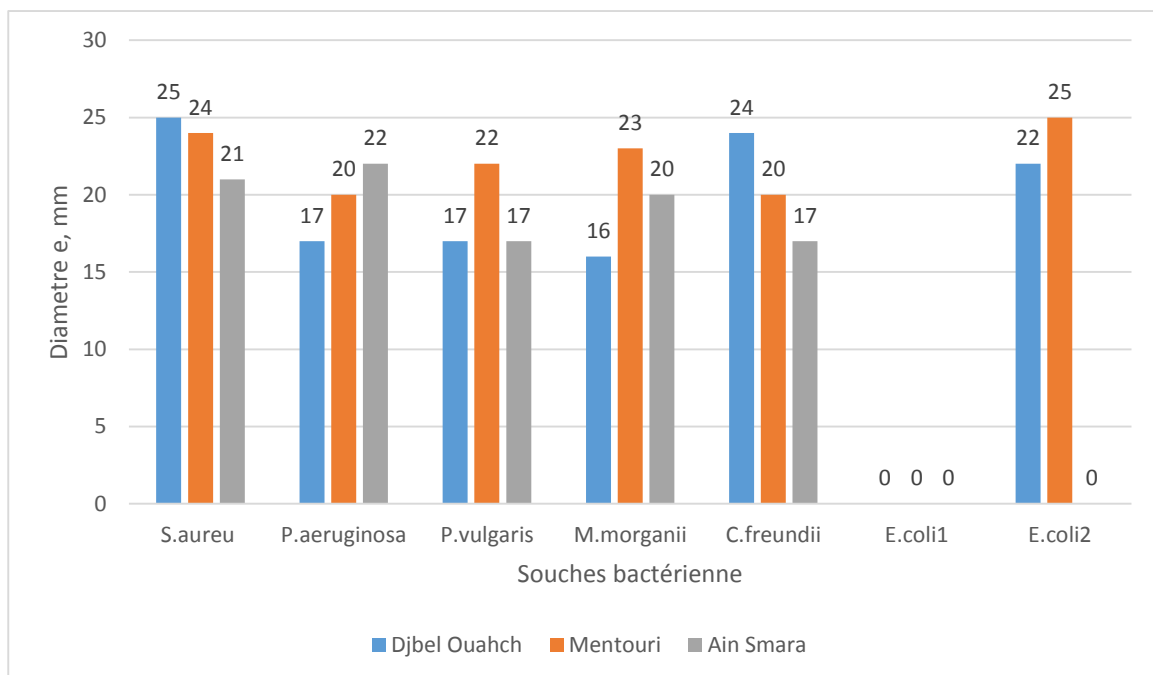


Figure 15: Histogramme représentant le pouvoir d'inhibition des extraits de feuilles fraîche a concentration de 500 mg/ml .

L'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits d'extrait étudié traduit l'action bactériostatique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm (**Sagdiç, 2003**).

Conclusion

Conclusion

En raison de sa richesse et sa biodiversité, l'Algérie a un héritage végétal important. Cette richesse floristique est considérable et comporte des milliers des substances naturelles qui offrent des potentialités considérables comme : des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie en cosmétologie, en agriculture.

Ce travail est axé sur l'étude de l'activité anti-bactérienne de l'extrait de la plante *Rosmarinus officinalis* qui appartient à la famille des Lamiacées. C'est une famille de plantes dicotylédones, comprend environ 7000 espèces.

La préparation de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus* été effectué à partir des feuilles fraîches et sèches de plante au niveau de trois localités de la wilaya de Constantine.

Cet effet est testé par l'utilisation des dilutions préparé à partir de nos extraits avec sept bactéries : (*S.aureus*), (*P. aeruginosa*), (*P.vulgaris*), (*M. morgani*), (*C. freundii*) et (*E.coli 1*) (*E.coli 2*). Les résultats montre que les (*M. morgani*), et (*C. freundii*) ont données des zones d'inhibitions plus importantes que les autres bactéries, mais aussi on a trouvés que le site Djbel Ouahch a donné les meilleurs résultats avec les feuilles fraîches par rapport aux autres sites .

Enfin on conclut que le *Rosmarinus officinalis* plus communément connu sous le nom de romarin a un effet anti bactérien avec les bactéries utilisé,) et que cette effet antibactérien est plus important quand l'utilisation du romarin a l'état frais.

Références bibliographiques

- Arnold,N.,Valentini, G., Bellomaria,B., Laouer, H.,(1997).**Comparative study of the essential oils from Rosmarinus eriocalyx Jordan & Fourr. From Algeria and R. Officinallis L. from other countries. J.essent.Oil Res. 9: 167-175
- Arslan D., Musa Ozcan M., (2007).** Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. Energy Conversion and Management.
- Baba Aissa F".,(1991).**"Les plantes médicinales en Algérie ",Coédition Bouchène et Ad. Diwan.
- Balentine et al.,(2006).** the pre-post grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and during storage of ground beef .*Meat science* .73, p .413-421.
- Beniston., (1984).** Fleurs d'Algérie « Rosmarinusofficinalis ».E.N.L.Alger. p 47
- By Amy Grant | December 5, 2019
- Bensouici C .(2015).** Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre Sedum (Crassulaceae).
- Berkane A., (2015).** Détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de RosmarinusOfficinalis L. Mémoire Master. Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana,38p
- Belakhdar J., (1997).** pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris, 764.
- Belbachir .A.,(2017).** Contribution à l'étude phyto-écologique et anatomique des deux espèces médicinales(Rosmarinusofficinalis et Juniperusoxycedrus)Dans les matorrals de Sidi Djilali (Réponses aux perturbations). p 20
- BelouedA . (1998).** Plantes médicinales d'Algérie.2enieEdition .Office des publications.
- Brahimi et Merzouk et Guenouna., (2018).** Effets antimicrobiens des extraits de romarin (Rosmarinusofficinalis) chez Staphylococcus aureus. Mémoire de Master. UniversitéAbdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- Bruneton J. (1993),** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, Tec &Doc.Lavoisier, Paris, 2ème édition, 915
- Carbonnelle ;B.,(1988) .** Bactériologie médicale ,techniques usuelles . Paris 330
- Cheung S. ET Tai J. (2007).**Anti-proliferative and antioxidant properties of Rosmarinusofficinalis. Oncology reports. 17 (6): 1525-1531

- Darwin jean ,Bérengréarnal-schnebelen,paulGoetz ,Michel, (2003).**les médecines de la nature .200 plantes pour se soigner .Reader s Digest ,Montréal Paris ,P 315
- Debazac E., (1991) ..** Manuel des conifères. E.N.G.R.E.F.-Nancy. 2ème edit. 172p.
- DjemaiZoughlache .,(2008)**.Etude de l activité biologique des extraits du fruitde Zizyphus lotus , mémoire magister,Université – El hadj lakhder- Batna
- Di paxoli ,T .,(2012).** le romarin *Rosmarinusofficinalis L* .M2 VRV valorisation industrielle des substances naturelles végétales Faculté science de la vie .Université de S trasbourg
- Ducourthial, (2016).**FLORE MÉDICALE DES SIGNATURES XVIIE - XVIIIE SIÈCLES
- Encyclopédie encarta 2009, CD**(la famille des lamiacées)
- Escuder O ., (2007) .**Plantes médicinales mode d emploi. Paris : Ulmer ,255 . d Chem . 83 :255 -262.
- Farnsworth N-R., Akerele O., Bingel A-S., Soejarto D-D., Guo Z., (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 64(2) : 159
- Fernandez lopez et al (2005) ..**antoxidant and antibacterial activities of natural extracts application in beef meatballs.meat science .p ,69: 371-380.
- Ghedira, K. (2005).**lesflavonoides:structure,propriétés biologiques ,roleprophylique et emplois en thérapeutique .phytothérapie ,4 ,162-169.
- Gillij Y G., Gleiser R M., Zygadlo J A., (2008).**Mosquito repllent activity of essentailolis of armatic plants growing in Argentina 2507-2515.
- Gonzelez-trujano, M E. et al., (2007).** Evaluation of antinociceptive effect of RomarinoffcinalisL.using three différent experimental models in modents .J theopharmacol. 111:476-482.
- Hammiche.V.,(1988)**Systèmes et morphologie botanique, O.P.U.
- Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M. ,(2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. J Ethnopharmacol. 107: 157-160.

- Hostettmann K(1997)** .Tout savoir sur le pouvoir des plantes. Ed. Favre. S.A. Lausanne. Suisse.
- Huang, K.-J., J.L. Schieberl, M.M. Igo.,(1994)**. A distant upstream site involved in the negative regulation of the Escherichia coli ompF gene. J.Bacteriol. 176:1309-1315
- Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F J., Cavero S., Reglero G., Hawthorne S B Subcritical .(2003)**.water extraction of antioxidant compounds from rosmary Plants. Journal of Agricultural and Food Chem., 51 (2): 375-382.
- Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. (1996)**. Study of the embryo toxic effects of an extract of Rosmary (Rosmarinusofficinalis). Brazilian journal of medical and biologicalresearch. 29 (2): 223-227.
- Macheix j j, Fleuriet A , jay-Allemand C. (2005)**.les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques).Edition techniques et documentation Lavoisier.
- Macheix j j .,(1996)**. Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, Acta Botanica Gallica, 143:6, 473-479, DOI: 10.1080/12538078.1996.10515344
- Mekhloufi A .(2013)**. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(Matricariapubescens (Desf.) et Rosmarinusofficinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.
- Muanda, F.N., (2010)**. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, 55-86.
- Offord E .,Macé K .,Ruffix C ., Malnoe A . Pfeifer A M (1995)** . Rosmary components inhibit benzopyrene-induced genotoxicity in human bronchical cells .*Carcinogenesis* . ,16(9) : 2057-2062 .
- Quezel et Santa, (1963)**, Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II. C.N.R.Sc. Paris.pp.781-783-793.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R. ,(2005)**.Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chem. 91: 621-632.

Sagdic O.,(2003). “Sensitivity of Four Pathogenic Bacteria to Turkish Thyme and Oregano Hydrosols,” *LebensmittelWissenschaft & Technologie*, Vol. 36, No. 5, , pp. 467-473.

Sanon.E.,(1992).Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun.Algerie N°686 Alger.p 121

Sanogo R., (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Faculté de médecine de pharmacie et d’Odonto-Stomatologie, Université de Bamako

Sebrotynek et al.,(2005).comparaison of natural rosmariny extracts and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage .*Meat science* .69:289-296

Schauenberg O.and Paris F.,(1977).Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT..

Singletary et Nelshoppen .,(1991).Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract

Teuscher., (2005). Plantes aromatique épices, aromates, condiments et huiles essentielles Tec & Doc -- Lavoisier -- Éd. médicales internationales -- impr. en Italie.

Tsai P G ,Tsai T H .,Yen J H .,Wu M J .,(2007) . In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus ordinus* .*Food chem* .

Volak S., STODOLA J., (1983) . *Plantes médicinales*. Illustration de Frantisek seven. Ed.Grund. Paris.

Wang et al.,(2008).antioxydative activity of *Rosmarinus officinalis L* essential oil compared to its own main components .*Food Chem* .108:1019-1022.

Wichtl, M ; et Anton,R.,(2003).plantes thérapeutiques .tec et doc ,2 ed..paris .p505.

Zeghad N., (2008). Etude Du Contenu Polyphénolique De Deux Plantes Médicinales D’intérêt Economique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) Et Evaluation De Leur Activité Antibactérienne. Thèse de Magister : Biotechnologie Végétale. Université de Constantine, p8-9

Références électroniques

<https://www.mnhn.fr/fr/romarin>

<https://blog.gardeningknowhow.com/tbt/history-of-rosemary-plants/#:~:text=Rosemary%20%28Rosmarinus%20officinalis%29%20has%20been%20used%20medicinally%20dating,and%20identification%20of%20medicinal%20herbs%20for%201%2C400%20years.>

<https://www.aujardin.info/plantes/famille-lamiaceae.php>

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/00/Rosmarinus_officinalis_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-258.jpg

Annexe

Annexe1

1. La Gélose Nutritive(GN)

Composition gélose nutritive	
Ingrédients	gramme/litre
Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar bactériologique	12,0 g

pH 7, à 120°C pendant 20min

Le Bouillon Nutritif (BN)

Bouillon nutritif	
Ingrédients	gramme/litre
Peptones	10 g
Extrait de boeuf	1 g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
pH final	6.8 ± 0.2 at 25°C

pH7, 120°C pendant 20min

Annex 2

1. Site Djabel El Ouahch feuilles sèches

Tableau : diamètre des zones d inhibitions des extraits de F.S Djabel El Ouahch a 200mg/ml et 500mg/ml

Bacteries/Consentration	200mg/ml	500mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	17mm	16mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15mm	13mm
<i>Proteus vulgaris</i>	22mm	22mm
<i>Morganella morganii</i>	16mm	15mm
<i>Citrobacter freundii</i>	23mm	25mm
<i>Esherichia coli</i> (1)	(-)	(-)
<i>Esherichia coli</i> (2)	(-)	(-)

2.Djabel El Ouahch feuilles fraiches

Tableau : diamètre des zones d inhibitions des extraits de F.F Djabel El Ouahch a 200mg /ml et 500ml/mg

Bacteries/Consentration	200mg/ml	500mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	26mm	25mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15mm	17mm
<i>Proteus vulgaris</i>	17mm	17mm
<i>Morganella morganii</i>	15mm	16mm
<i>Citrobacter freundii</i>	19mm	24mm
<i>Esherichia coli</i> (1)	(-)	(-)
<i>Esherichia coli</i> (2)	22mm	22mm

3. Site Mentouri feuilles sèches

Tableau : diamètre des zones d inhibitions des extraits de F.S Mentouri a 200mg/ml et a 500mg/ml

Bacteries/Consentration	200mg/ml	500mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	10mm	12mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13mm	15mm
<i>Proteus vulgaris</i>	12mm	13mm
<i>Morganella morganii</i>	13mm	14mm
<i>Citrobacter freundii</i>	11mm	12mm
<i>Esherichia coli</i> (1)	(-)	(-)
<i>Esherichia coli</i> (2)	(-)	(-)

4.Site Mentouri feuilles fraiches

Tableau : diamètre des zones d inhibitions des extraits de F.F du site Mentouri a 200mg/ml et a 500mg/ml

Bacteries/Consentration	200mg/ml	500mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	24mm	24mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20mm	20mm
<i>Proteus vulgaris</i>	20mm	22mm
<i>Morganella morganii</i>	21mm	23mm
<i>Citrobacter freundii</i>	19mm	20mm
<i>Esherichia coli</i> (1)	(-)	(-)
<i>Esherichia coli</i> (2)	22mm	25mm

5.Site Aine Smara feuilles sèches

Tableau : diamètre des zones d inhibitions des extraits de F.S Aine smara a 200mg/ml et a 500mg/ml

Bacteries/Consentration	200mg/ml	500mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	10mm	13mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12mm	13mm
<i>Proteus vulgaris</i>	12mm	15mm
<i>Morganella morganii</i>	13mm	14mm

<i>Citrobacter freundii</i>	18mm	20mm
<i>Esherichia coli</i> (1)	(-)	(-)
<i>Esherichia coli</i> (2)	(-)	(-)

6. Site Aine Smara feuilles fraiches

Tableau : diamètre des zones d inhibitions des extraits de F.F Aine Smara a 200mg/ml et a 500mg/ml

Bacteries/Consentration	200mg/ml	500mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	18mm	21mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20mm	22mm
<i>Proteus vulgaris</i>	14mm	17mm
<i>Morganella morganii</i>	18mm	20mm
<i>Citrobacter freundii</i>	14mm	17mm
<i>Esherichia coli</i> (1)	(-)	(-)
<i>Esherichia coli</i> (2)	(-)	(-)

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : Benmansour Arslen

Soudani Souha

Le romarin: Extraction des composants actifs et leurs effets antibactériens de quelques souches bactériennes

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et physiologie végétale

Résumé :

Dans le contexte d'évaluer l'effet de l'extrait méthanolique, une récolte de la plante *Rosmarinus* domestiqué (partie feuille) provenant de trois sites différents de la wilaya de Constantine est effectuée en saison printanière afin de mettre en évidence ses potentialités antibactériennes. Obtention des extraits est réalisée selon la méthode d'extraction liquide solide par l'évaporateur rotatif après une macération méthanolique .

L'activité antibactérienne des extraits est évaluée sur sept bactéries dont une à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et six à Gram négatif (*Esherichia coli* (1), *Esherichia coli* (2), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*).

Les résultats obtenus font exécutés que les feuilles fraîches ont donnés des zones d'inhibitions plus importantes que celles des feuilles sèches des différents sites de prélèvement. Aussi on note que la souche *C.frendii* est la bactérie la plus sensible aux extraits, alors *E.coli* est plus résistante aux mêmes extraits, mise à part *E.coli* (2) vis-à-vis de l'extrait de feuilles fraîche.

Mots clé : *Rosmarinus* , *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli* (1), *Esherichia coli* (2), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*., activité anti bactérienne

Présidente de jury : Dr Kara K.

Encadreur : Dr Saoudi M .

Examinatrice : Dr Bouchareb R .