

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

# Mémoire de Master

**Domaine :** Science de la nature et de la vie

**Filière :** Science biologique

**Option :** Biotechnologie microbienne

## *Thème :*

Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'Artemisia absinthium* contre les souches pathogènes responsables des infections urinaires

**Soutenu le : 09 Septembre 2020**

**Présenté par :**

**Mr AMIRI Zine laabidine**

**M<sup>elle</sup> AMICHI Aziza**

**Devant le jury composé de :**

**Président(e) : Mr. BENINE MOHAMED .L**

**(MCA - UDL - SBA)**

**Encadreur : M<sup>me</sup> KHALDI .A**

**(MCA - UDL - SBA )**

**Examinatrice : M<sup>me</sup> GHALEM .M**

**(MCB - UDL - SBA )**

**Année Universitaire : 2019/2020**

## Remerciement

*On voudraient exprimer nous reconnaissance la plus sincère à tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce mémoire.*

*Tous d'abord nous remercions **Dieu** notre créateur de nous avoir donné la force la volonté et le courage ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés afin d'accomplir ce modeste travail en toute transparence.*

*On s'adresse tout d'abord nos remerciements les plus sincères, nos respects et nos profondes gratitudees à notre encadrent **Dr. KHALDI AMINA** Maitre de conférences « A » au Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Djilali Liabbes, notre directrice de recherche, qui a mis toutes ses connaissances et son expérience à notre disposition, en nous faisant part de ses suggestions les plus judicieuses et de ses critiques les plus constructives. Nous avons vraiment apprécié sa façon de travailler, son efficacité et son enthousiasme. Bref, une directrice de recherche digne de ce nom.*

Nos remerciements sont adressés également aux membres du jury d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre profond respect à **Dr. BENINE MOHAMED LAMINE** Maitre de conférences « A » au Département des Sciences Biologique Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Djilali Liabbes, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, un grand merci pour tout ce que nous avons appris grâce à vous au cours de nos années de graduation, vous trouverez ici toutes nos expressions respectueuses et notre profonde gratitude.

Nous remercions vivement aussi **Dr Ghalem Mimouna** , Maître de Conférences « B » au Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Djilali Liabbes d'avoir eu l'amabilité de bien vouloir examiner ce travail, mais aussi pour tous ses efforts avec nous, nous étions tous le temps satisfaits de votre qualité exceptionnelle de bon enseignant.

Nous remercions également le corps professoral et administratif de la faculté des sciences de la nature et de la vie pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leur étudiants une formation actualisée.

*Nous rendons un hommage particulier à tous les ingénieurs de Laboratoire de département de biologie Pour leur assistance, disponibilité, gentillesse. Nous tenons à remercier, également, les personnes de la bibliothèque et on profite aussi de cette occasion pour adresser nous remerciements à nos parents pour leurs sacrifices, et a tous les membres de la promotion 2019/2020 Master biotechnologie microbienne d'université Djilali Liabbes*

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail a :

- La Vrai Source De Ma Vie Mes Parents Ahcene Et Nacera  
Qui M'ont Données La Vie La Tendresse Et Leur Soutien

- A mes chères Frères

Mohamed Habib ..Alla Eddine ..Abdeljalil

- A mes chères prof

Mr Abbouni B ... Mr Benine A ...Mme Khaldi A

Mme Kanoun K ...Mme Ghalem M

Pour leurs efforts durant mes années d'études

- Mes adorable Ami(es)

Cherif ... Toufik ...Nabil ...Adnane ...Ghizlane ...Aziza

Avec qui j'ai passé d'agréables moment durant mes années  
d'études

- A Tous les étudiants Promo 2019/2020

Biotechnologie microbienne

Zine Laabidine

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mon père qui a quitté très tôt à jamais, que dieu le tout puissant l'accueille dans son vaste paradis.*

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail :*

*A ma Phère mère la source de joie, nul mot ne parviendra jamais à exprimer tout l'amour que je te porte. Tu as consacré ta vie à nous. Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le support de la réussite et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. J'espère que je réalise un de tes rêves. Qu'ALLAH te bénisse et t'alloue bonne santé, bonheur et longue vie afin que je puisse à mon tour te combler.*

*A ma chère Grand-mère mes cousin, cousine à toute ma famille de près ou de loin.*

*A Mes très chers frères et sœurs*

*Avec eux j'ai et je partagerai ma vie, et avec eux j'ai passé des moments agréables, ils m'ont encouragé pour réaliser mon rêve après des longues années d'étude en leurs souhaitons à toutes bonne réussite dans leur vie.*

*A mon binôme et cher ami à qui je souhaite bonne chance pour son prochain projet et je le souhaite une bonne réussite dans sa vie.*

*A Tous mes chers amis(es)*

*Pour tous les instants inoubliables que j'ai passés avec vous je vous remercie*

*A Ma meilleure amie qui est loin des yeux et près de cœur*

*A Ma très chère amie qui me soutien à tous les moments merci pour cette amitié*

*A Tous les membres de la pharmacie que je respecte*

*A Mon encadreur et à tous mes professeurs*

*A Tous ceux qui m'aiment*

*A Tous ceux que j'aime*

*Aziza*

## Résumé

Cette étude a pour objectif d'examiner l'activité biologique des huiles essentielles extraites de la partie aérienne de l'absinthe récoltée dans la région de Ras El Ma ( Sidi Bel Abbès ).

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation, le rendement obtenu est 0.55 %

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'absinthe a été testée *in vitro* selon deux méthodes ( diffusion sur gélose et microdilution ) sur deux bactéries pathogènes ( *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli.* ). Cette étude a montré que cette huile a un effet inhibiteur vis à vis des microorganismes testés

Le test d'aromatogramme de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* en présence d'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* nous a permis de tester plusieurs concentrations inhibitrices. Les résultats de l'aromatogramme obtenus ont montré une bonne activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Artemisia absinthium* sur ces germes.

Les tests CMI et CMB et leurs résultats ont permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice et celle de bactéricide de deux souches dont les valeurs d'inhibition enregistrées pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli.* (15.62 , 250)  $\mu\text{l.ml}^{-1}$  et (15.62 , 125 )  $\mu\text{l.ml}^{-1}$  respectivement de l'huile essentielle d' *Artemisia absinthium*.

**Mots clé :** *Artemisia absinthium*, huile essentielle, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli.* effet antibactérien, CMI, CMB,

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى فحص النشاط الحيوي للزيت العطري المستخرج من الجزء العلوي لنبته الشيبية المقطوفة في منطقة رأس الماء ( سيدي بلعباس )

تم الاستخلاص بالتقطير المائي حيث بلغ الناتج 0.55 بالمئة

تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات لزيوت الشيبية على نوعين من البكتيريا بطريقتين (انتشار على أجار و التخفيف الدقيق)

أظهرت دراسة تأثير مضادات الميكروبات أن هذا الزيت له تأثير مثبت على الكائنات الحية الدقيقة المختبرة علاوة على ذلك يعتمد هذا النشاط على طبيعة الزيت والجراثيم نفسها .

اختبار أقراص بوجود الزيت العطري سمح لنا باختبار العديد من التركيزات المثبطة . و نتيجة أظهرت نشاطا جيدا مضادا للبكتيريا لزيوت العطري على هذه جراثيم

اختبارات الحد الأدنى للتركيز و تركيز الحد الأدنى مضاد للجراثيم مكنتنا نتائجهما من تحديد الحد الأدنى للتركيز مثبت و التركيز الحد الأدنى مضاد للبكتيريا لسلاطين *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*. سجلت قيم تثبيطهما  $15.62$  ,  $250$   $\mu\text{l.ml}^{-1}$  . و  $15.62$  ,  $125$   $\mu\text{l.ml}^{-1}$  على التوالي.

**الكلمات المفتاحية :** الشيبية , الزيوت الأساسية , النشاط المضاد لبكتيريا , تقنية الأقراص , الحد الأدنى

للتركيز , تركيز الحد الأدنى مضاد للجراثيم

## Abstract

This study aims to examine the biological activity of essential oil extracted from the aerial part of wormwood harvested in the region of Ras El Ma (Sidi Bel Abbas).

The extraction was carried out by hydrodistillation, the yield obtained is 0.55%

The antimicrobial activity of wormwood oil was tested in vitro by two methods (diffusion on agar and microdilution) on two photogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). The study of the antimicrobial effect has shown that this oil has an inhibitory effect on the microorganisms tested. Moreover, this activity depends on the nature of the oil and of the germ itself.

The aromatogram test of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the presence of essential oil of *Artemisia absinthium* allowed us to test several inhibitory concentrations the results of the aromatogram obtained showed good antibacterial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* on these germs.

The CMI and CMB tests and their results enabled us to determine the minimum inhibitory concentration and that of bactericide of two strains whose inhibition values recorded for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. (15.62, 250)  $\mu\text{l.ml}^{-1}$  and (15.62, 125)  $\mu\text{l.ml}^{-1}$  respectively of essential oil of *Artemisia absinthium*.

**Key words :** *Artemisia absinthium* , *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli*. , antibacterial activity , Aromatogram, minimal inhibitory concentration , minimal bactericidal concentration

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : les plantes médicinales .....	03
<b>Figure 02</b> : historique des plantes médicinales, copie en arabe de 1334 (wordpres,2015).....	05
<b>Figure 03</b> : Présentation de mode Infusion.....	12
<b>Figure 04</b> : Présentation de mode Décoction .....	13
<b>Figure 05</b> : La plante <i>Artemisia absinthium</i> .....	16
<b>Figure 06</b> : Aspect morphologique de <i>Artemisia absinthium</i> (pierre,1996).....	17
<b>Figure 07</b> : Alpha-thuyone (Erowid.,2008).....	20
<b>Figure 08</b> : Beta-thuyone (Erowid.,2008) .....	20
<b>Figure 09</b> : Schéma représentant le montage d'une hydrodistillation.....	23
<b>Figure 10</b> : Appareil Urinaire .....	24
<b>Figure 11</b> : Schéma d'une coupe frontale du rein (Leila, 2005). .....	25
<b>Figure 12</b> : la structure du néphron (Chantale P ;Jil C, 2016) .....	26
<b>Figure 13</b> : Appareil Génito-urinaire de la femme et de l'homme (Seven Mice SARL 2008 ) .....	27
<b>Figure 14</b> : coupe de la structure de la vessie .....	27
<b>Figure 15</b> : Diagramme général de la procédure expérimentale .....	37
<b>Figure 16</b> : Carte géographique de la commune de Ras El Ma wilaya de sidi bel Abbes .....	39
<b>Figure 17</b> : La plante <i>Artemisia absinthium</i> .....	40
<b>Figure 18</b> : La pesée de 100 g de la matière végétale .....	40
<b>Figure 19</b> : Hydrodistillateur utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle.....	41
<b>Figure 20</b> : Présentation de la phase de décantation.....	42
<b>Figure 21</b> : Récupération de la phase huileuse dans un ballon de 500 ml.....	43

<b>Figure 22</b> : Présentation de la technique de séparation ( Rotavapeur).....	43
<b>Figure 23</b> : Préparation de milieu Muller-Hinton dans des boites.....	46
<b>Figure 24</b> : l'agitation au vortex.....	47
<b>Figure 25</b> : préparation des différentes concentration d'HE.....	47
<b>Figure 26</b> : Préparation des disques d'HE de <i>Artemisia absinthium</i> .....	48
<b>Figure 27</b> : la méthode des disques.....	50
<b>Figure 28</b> : présentation de la sensibilité des souches bactériennes.....	50
<b>Figure 29</b> : L'ajustement par spectrophotomètre .....	51
<b>Figure 30</b> : Méthode de détermination de la CMI .....	52
<b>Figure 31</b> : Méthode de détermination CMB.....	53
<b>Figure 32</b> : Présentation d'huile essentielle extraire d' <i>Artemisia absintium</i> .....	55
<b>Figure 33</b> : Présentation des résultats d'aromatogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	56
<b>Figure 34</b> : Présentation des résultats d'aromatogramme pour <i>Escherichia coli</i> ....	57
<b>Figure 35</b> : Résultat de l'aromatogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	57
<b>Figure 36</b> : Résultat de l'aromatogramme pour <i>Escherichia coli</i> .....	58
<b>Figure 37</b> : Résultat de l'évaluation de CMI de l'HE d' <i>Artemisia absinthium</i> pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	59
<b>Figure 38</b> : Résultat de l'évaluation de CMI de l'HE d' <i>Artemisia absinthium</i> pour <i>Escherichia coli</i> .....	59
<b>Figure 39</b> : Présence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube témoin .....	60
<b>Figure 40</b> : Présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube témoin .....	60
<b>Figure 41</b> : Absence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube 250 µL/ml .....	60
<b>Figure 42</b> : Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube 250 µL/ml .....	60
<b>Figure 43</b> : Absence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube 125 µL/ml .....	61
<b>Figure 44</b> : Présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube 125 µL/ml .....	61

<b>Figure 45</b> : Présence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube 62.5 µL/ml .....	61
<b>Figure 46</b> : Présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube 62.5 µL/ml .....	61
<b>Figure 47</b> : Présence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube 31.25 µL/ml .....	61
<b>Figure 48</b> : Présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube 31.25 µL/ml .....	61
<b>Figure 49</b> : Présence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube 15.62 µL/ml .....	62
<b>Figure 50</b> : Présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube 15.62 µL/ml .....	62
<b>Figure 51</b> : Présence de <i>Escherichia coli</i> dans le tube 7.8 µL/ml .....	62
<b>Figure 52</b> : Présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le tube 7.8 µL/ml .....	62

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification de l’Absinthe.....	17
<b>Tableau 02</b> : Le matériel utilise.....	38
<b>Tableau 03</b> : Origines des souches.....	46
<b>Tableau 04</b> : Rendement d'HE de l'absinthe .....	54
<b>Tableau 05</b> : Caractéristiques organoleptiques d'HE <i>d'Artemisia absinthium</i> .....	54
<b>Tableau 06</b> : Activité antibactérienne de l'huile essentielle <i>d'Artemisia absinthium</i> vis a vis des souches bactériennes en présence des différentes concentrations .....	56
<b>Tableau 07</b> : Evaluation de CMI de l'HE <i>d'Artemisia absinthium</i> .....	58
<b>Tableau 08</b> : Evaluation de CMB de l'HE <i>d'Artemisia absinthium</i> .....	60

## Liste des abréviations

**H.E** : Huile essentielles

**%** : Pourcentage

**O<sup>2</sup>** : Oxygène

**d** : la densité

**HD** : Hydrodistillation

**SFE** : Extraction par fluide

**CO<sup>2</sup>** : Dioxyde de carbone

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CMB** : Concentration minimale bactéricide

**SBA** : Sidi bel Abbes

**ml** : Millilitre

**RHE** : Rendement en huile essentielle

**MHE** : La masse de l'huile essentielle

**MMV** : Matière végétale en gramme

**R** : Résistant

**S** : Sensible

**IU** : Infection urinaire

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines

**MH** : Muller-Hinton

**C°** : Degré Celsius

**E.coli** : Escherichia coli

**BN** : Bouillon nutritif

**µL** : Microlitre

**mm** ; millimètre

**UFC/ml** : Unité format colonne par millimètre

**AFNOR**: Association Française de Normalisation

**IST** : Infection sexuellement transmissible

# Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

## \* Etude bibliographique

Introduction ..... 01

### Chapitre I : La plante *Artemisia absinthium*

I. Généralités sur les plantes médicinales .....03

I.1.Définition .....03

I.2. Historique .....04

I.3 .Classification des plantes médicinales .....05

I.3.1 Classification botanique .....05

I.3.2 Classification commercial .....05

I.3.3. Classification thérapeutique .....05

I.4.Intérêt d'étude des plantes médicinales .....06

I.5. Mode d'emploi des plantes médicinales .....06

I.6. Principes actifs des plantes médicinales .....	07
I.6.1 .Les différents groupes des principes actifs .....	07
a. Les Polyphénols .....	07
a.1. Les acides phénoliques.....	07
a.2 Les flavonoïdes .....	08
a.3 .La lignine .....	08
a.4. Les tanins .....	08
a.5. Les coumarine.....	08
a.6 Les anthocyanes .....	08
b. Alcaloïdes .....	08
C. Terpènes et stéroïdes .....	09
C.1. Les saponines .....	09
C.2. Huiles essentielles .....	09
I.7. Domaine d'utilisation des plantes médicinales .....	09
I.7.1 La phytothérapie .....	09
I.7.1.1.Le domaine de la phytothérapie .....	10
I.7.2 L'aromathérapie .....	10
I.8. La récolte et le Séchage des plantes médicinales .....	10
I.8.1. La récolte .....	10
I.8.2. Le Séchage.....	11
I.9. Stockage et conservation des plantes médicinales .....	11
I.10. Les différentes modes de préparation des plantes .....	12

a- Infusion .....	12
b-Décoction .....	13
c-Macération .....	13
I.11.Les formes d'utilisation des plantes médicinales .....	13
I.11.1 Les sirops .....	14
I.11.2 La poudre .....	14
I.11.3 Les tisanes .....	14
I.11.4 Teintures .....	14
I.11.5 Les sucs . .....	14
I.12. Les plantes et les systèmes de régulation .....	14
I.12.1.La Peau.....	14
I.12.2.Le Système Immunitaire.....	15
I.12.3.Le Système Urinaire .....	15
I.12.4.Les Organes Digestifs .....	15
I.13. La plante <i>Artemisia absinthium</i> .....	15
I.13.1. Définition .....	15
I.13.2. Description Botanique .....	16
I.13.3.Classification .....	17
I.13.4. Nomenclature .....	18
I.13.4.1. Noms communs .....	18
I.13.4.2.Noms vernaculaires .....	18
I.13.5.Culture .....	18
I.13.6.Période de Récolte .....	18

I.13.7. Composition chimique.....	18
I.13.8. Utilisations traditionnelles .....	18
I.13.9. Toxicité de la plante .....	19
I.13.10. L'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium L.</i> .....	19
I.13.10.1. Composition chimique.....	19
I.13.10.2. La thuyone.....	20
I.13.11. Domaines d'utilisation des huiles essentielles .....	21
I.13.11.1. En pharmacie.....	21
* Activité antibactérienne .....	21
* Activité anti oxydante.....	21
* Activité antifongique.....	21
I.13.11.2. En cosmétologie.....	22
I.13.11.3. En industries agroalimentaires.....	22
I.13.11.4. En agriculture .....	22
I.13.12. Technique d'extraction de L'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium</i> .....	22
I.13.12.1. Hydrodistillation.....	22
I.13.13. Conservation de L'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthiu.</i> .....	23

## **Chapitre II : Les infections urinaires**

II. Les infections urinaires .....	24
II.1. Anatomie de l'appareil urinaire.....	24
II.1.1. Définition .....	24

II.1.2. L'appareil urinaire supérieur.....	24
a. Les reins .....	24
b. Les uretères .....	26
II.1.3. L'appareil urinaire inférieur .....	27
a. La vessie.....	27
b. L'urètre.....	28
II.1.4 Fonctionnement des organes de l'appareil urinaire .....	28
II.1.4.1. Rein .....	28
II.1.4.2. Uretère .....	28
II.1.4.3. Vessie .....	28
II.1.4.4. Urètre .....	28
II.2. L'urine .....	28
II.2.1. Définition .....	28
II.2.2. Caractéristiques physiques de l'urine .....	29
II.2.3. La composition chimique de l'urine .....	29
II.3. La défense du l'appareil urinaire .....	29
II.3.1. Défense naturelle par l'organisme .....	29
II.3.2. Défense immunitaire .....	29
II.4. Infections urinaires .....	31
II.4.1. Définition.....	31
II.4.2.Epidémiologie .....	31
II.4.2.1. Chez l'enfant (rare) .....	31
II.4.2.2. Chez l'homme (rare) .....	31

II.4.2.3. Chez la femme (fréquente) .....	31
II.4.3. Classifications des infections urinaires .....	31
II.4.3.1. Infection urinaires simple .....	31
II.4.3.2. Infection urinaire compliquées .....	31
II.4.4. Facteurs de risques de l'infection urinaire .....	32
II.4.5. Les symptômes d'infection urinaire .....	33
II.5. Physiopathologie des infections urinaires .....	33
II.5.1. Origine de l'infection .....	33
II.5.1.1. Infection endogène .....	33
II.5.1.2. Infection exogène .....	33
II.5.2. Types des infections urinaires .....	33
II.5.2.1. Les infections urinaires du haut appareil urinaire .....	34
II.5.2.2. Les infections urinaires du bas de l'appareil urinaire.....	34
II.5.3. Voies de contamination de l'infection urinaire.....	35
II.5.3.1. Infection communautaire .....	35
II.5.4. Infection nosocomiale .....	36

**\* Etude expérimentale**

**Chapitre III : Matériel et méthode**

III. Matériel et méthode .....	37
III.1. Objectif .....	37
III.2. Procédure expérimentale .....	37
III.3. Lieu de travail et identification de la plante .....	38

III.4. Matériel utilisé .....	38
III.5. Récolte de la matière végétale .....	39
III.6. Séchage de la matière végétale .....	39
III.7. Extraction des huiles essentielles .....	40
III.7.1. Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation .....	40
III.7.2. Décantation .....	42
III.7.3. Séparation .....	43
III.8. Analyse des huiles essentielles .....	44
III.8.1. Analyses quantitatives .....	44
III.8.1.1. Rendement.....	44
III.8.2. Analyse qualitative .....	44
III.8.2.1. Contrôle organoleptique .....	44
III.8.2.2 Etude des propriétés physico - chimiques.....	44
III.8.2.3. Densité relative d à 20° .....	44
III.9. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE .....	45
III.9.1. Méthode de l'aromatogramme (technique en milieu solide ) .....	45
III.9.1.1. Principe .....	45
III.9.1.2. Méthode des disques .....	45
III.9.2. Les souches bactériennes testés .....	45
III.9.3. Préparation de milieu de culture .....	46
III.9.4. Préparation des différentes concentration d' HE.....	47
III.9.5. Préparation des disques d'HE de <i>Artemisia absinthium</i> .....	48

III.9.6. Préparation des suspensions bactériennes pour les 02 souches	48
III.10. Technique d'évaluation de l'activité antibactérienne	49
III.10.1. Evaluation de l'activité de tween 80	49
III.10.2. Evaluation de l'activité d'huile essentielles	49
III.10.2.1. La méthode des disques	49
III.10.2.2. Lectures de résultats	50
III.11. Détermination la concentration minimale inhibitrice CMI	51
III.11.1. La préparation de l'inoculum 0.5 Mc Farland	51
III.11.2. Technique de macro dilution en milieu liquide	52
III.12. Détermination la concentration minimale bactéricide CMB en milieu solide	53

## **Chapitre IV : Résultats et discussion**

IV. Résultat	54
IV.1. Analyse quantitative	54
IV.2. Analyse qualitatives	54
IV.2.1. Contrôle organoleptique	54
IV.2.2. Etude de propriétés physico-chimique	55
IV.3. Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne	55
IV.3.1. Technique de l'aromatogramme	55
IV.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	58
IV.3.3. Détermination de la CMB	60
IV.4. Discussion	63

Conclusion .....65

Référence bibliographique

Annexe

# Introduction

### Introduction

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. Elles étaient employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur **(Brahmi, 2014)**.

Les plantes médicinales représentent la première source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997). Ces plantes sont également utilisées pour leur propriété antibactérienne et antifongique. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale. Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes **(Mohammedi, 2013)**.

Les plantes aromatiques constituent une source naturelle potentielle de molécules bioactives, elles font l'objet d'études scientifiques rigoureuses pour leur éventuelle utilisation comme alternative aux médicaments. Les effets thérapeutiques de ces plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques **(Bouzouitaet al., 2008)**.

La thérapie ancienne était basée sur l'utilisation de ces plantes et des produits disponibles dans la nature pour calmer les douleurs et les fièvres, la sauge et le thym, l'Eucalyptus comme antiseptiques. Actuellement, on utilise beaucoup de plantes et graines dans notre vie quotidienne.

Le phénomène de résistance aux antibiotiques cause un sérieux problème pour la santé publique, la découverte de nouveaux composés antimicrobiens est devenue un objectif primordial dans la lutte contre les maladies infectieuses

Cette utilisation quotidienne nous rend curieux et nous pousse à étudier ces plantes et leurs effets sur le corps humain.

Le choix de ces plantes s'est fondé sur les faits qu'elles sont parmi les plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle.

Dans le cadre de notre mémoire, nous apporterons une l'étude l'effet d'une plante médicinale sur les bactéries responsable des infections urinaires. Pour cela, notre travail a été devisé en deux partie :

- Une partie relative à l'étude bibliographique qui se compose en deux chapitres

- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : l'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre Consacré à la présentation des résultats obtenus et la discussion.

# Etude bibliographique

# Chapitre I

La plante *Artemisia absinthium*

## I. Généralités sur les plantes médicinales

### I.1. Définition

Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Omar et Mohammed, 1993).

Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont (Ahmed, 1995). Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth et al., 1986).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et al., 2007).

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie. Ils montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (Gurib, 2006).



Figure 01 : les plantes médicinales (123RF, 2005)

## I.2. Historique

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples de tous les continents utilisent ce vieux remède. Malgré les efforts des chimistes, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Newman et al., 2000**).

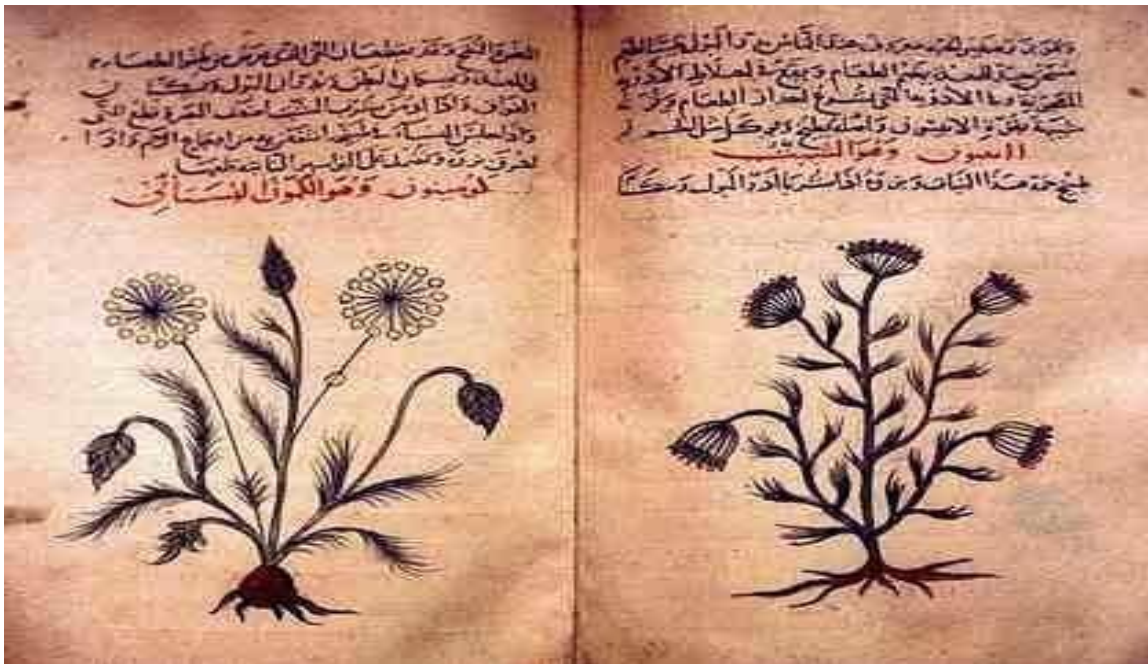
Depuis la nuit des temps et à travers les siècles, les traditions humaines apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes et ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales (**Verdrager, 1978**).

Parmi les médecins pionniers ayant contribué à l'évolution de cette science, les grecs : Hippocrate (460-v. 377 av. J.-C) ; Dioscoride (I<sup>o</sup> siècle apr.J.-C), Galien (v. 131-v. 201), et le Romain Pline l'Ancien (23-79), à la fois amiral, écrivain et naturaliste, a écrit une Histoire naturelle en 37 volumes, Dioscoride, le successeur spirituel d'Hippocrate et médecin des armées de Néron, mentionne dans son œuvre, *Materia Medica*, à peu près de 600 plantes. Galien allait à employer ces plantes sous forme de préparations magistrales et marquer ainsi pendant près de 15 siècles l'histoire de la médecine (**Verdrager, 1978**).

Jusqu'au XIX<sup>e</sup> siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la « pharmacie du bon dieu » pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du quinquina, la digitaline de la digitale, etc...). Poursuivant leurs recherches au début du XX<sup>e</sup> siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques.

Récemment, des médecins et des professeurs dynamiques ont créé des centres de formation en phytothérapie (dans des universités ou dans des institutions privées). Ils expérimentent de nouvelles plantes, modernisent la présentation des médicaments et rendent ceux-ci plus efficaces

Aujourd'hui, les plantes ont montré leurs efficacités thérapeutiques prouvées et leurs bienfaits incontestables pour notre santé (**Anonyme, 1999**).



**Figure 02 :** Historique des plantes médicinales, copie en arabe de 1334(wordpres,2015).

### I.3.1 Classification commerciale

Elle se base essentiellement sur l'utilité

- les plantes aromatiques très riches en adurant, utilisées également dans la fabrication des parfums (ex : jasmin ,menthe )
- les plantes condimentaires utilisées comme plantes médicinales et comme épices ou condiments

### I.3.3. Classification thérapeutique

Cette classification est basée sur la détermination de l'action d'une plante sur l'organisation humaine. Les plantes utilisées peuvent être sédatives, nerveuses, purgatives etc. ....

Pour examiner l'activité thérapeutique d'une drogue il est nécessaire de connaître sa toxicité à savoir distinguer les propriétés à dose tonique cependant, il existe des drogues dont l'administration peut entraîner les phénomènes d'intolérances ou d'allergies, dont la pharmacognosie et le phytothérapeutique doivent être avertis.

#### **I.4. Intérêt d'étude des plantes médicinales**

Depuis des temps immémoriaux les plantes ont servi comme première source de médicaments pour les humains, et elles ont continué à fournir à l'humanité, des remèdes thérapeutiques nouveaux et originaux jusqu'à aujourd'hui.

L'intérêt de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales a mené à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures et a l'isolation de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique incontestable (**Leduc C.coonishish J,2006**)

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (**decaux,2002**).

#### **I.5. Mode d'emploi des plantes médicinales**

Certaines plantes contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement puissants, d'autres sont toxiques à faible dose. Le fait que l'on n'utilise que des plantes ne signifie pas que cela est sans danger, la culture libre de certaines plantes est interdite dans certains pays, le cas le plus courant étant le pavot dont la culture est réglementée en France et destinée à la seule industrie pharmaceutique

La pharmacologie reconnaît l'action bénéfique de certaines plantes et s'attache donc à extraire le principe actif de ces plantes. La consommation « brute » de la plante induit la consommation d'autres produits contenus dans la plante que le principe actif, ne permettant ainsi pas de connaître la dose exacte de principe actif ingéré entraînant un risque de sous dosage ou de surdosage. Pour certains médecins phytothérapeutes, les autres principes vont atténuer les effets secondaires en entrant en interaction. Un exemple : la distillation de la lavande permet de dénominer plus de 200 molécules différentes, dont des cétones et coumarines, dont la toxicité est moindre que s'ils étaient utilisés seuls.

La composition d'une plante peut varier d'un spécimen à l'autre, dépendant du terrain, des conditions de croissance, humidité, température, ensoleillement, qui vont déterminer ce que l'on appelle en aromathérapie l'hémotype.

De même, il ne faut pas utiliser des plantes d'origine douteuse, puisque les facteurs de pollution, la cueillette et les méthodes de conservation, de stockage... peuvent altérer les propriétés des plantes (**Gahbiche, 2009**).

## I.6. Principes actifs des plantes médicinales

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments. Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées : les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines.

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

Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes (Zerari, 2016)

### I.6.1 . Les différents groupes des principes actifs

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes (Seghaouil et Zermane, 2017) :

- a. Les polyphénols.
- b. Les alcaloïdes
- c. Les stéroïdes et terpénoïdes.

#### a. Les Polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins...etc. (Chakou et Medjoudja, 2014).

##### a.1. Les acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, éthérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Seghaouil et Zermane, 2017)

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Guelmine, 2018).

## a.2 Les flavonoïdes

Terme en latin ; flavus = jaune, les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes. Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (Jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (Les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Ladham, 2016**).

## a.3 . La lignine

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (Tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Guelmine, 2018**).

## a.4. Les tanins

Les tanins est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux. Nous pouvons distinguer deux catégories : Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines. Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Ladham, 2016**).

## a.5. Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses pièces et possèdent des propriétés très diverses. Certaines coumarines contribuent à fluidifier le sang (*Melilotus officinalis*) alors que d'autre, soignent les affections cutanées (*Apium graveolens*). Rapidement métabolisées au niveau du foie en 7 hydroxy- coumarine, elles peuvent rarement induire une hépato nécrose sévère (**Habibatni, 2009**).

## a.6 Les anthocyanes

Sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux. La mure sauvage (*Rubus fruticosus*) et la vigne rouge (*Vitis vinifera*) en contiennent beaucoup (**Messioughi, 2010**).

## b. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (**Ounis et Boumaza, 2018**), son rencontrer dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer et certains sont fortement toxiques (**Gaci et Lahiani, 2017**).

## C. Terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule  $(C_5H_8)_n$  selon la variation de nombre  $n$ , dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes. Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (**Guelmine, 2018**).

### C.1. Les saponines

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (Hopkins, 2003). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (**Guelmine, 2018**).

### C.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de substances volatiles aromatiques obtenues à partir d'une matière première végétale (**Nahal Boudarba, 2016**) offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs (**Guelmine, 2018**).

## I.7. Domaine d'utilisation des plantes médicinales

Les plantes aromatique et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines sont :

### 1.7.1 La phytothérapie

La phytothérapie (En grec, Phytos = végétal et Therapeia = soigner) est l'art de soigner par les plantes. La phytothérapie permet à la fois de traiter le terrain du malade et les symptômes de sa maladie. Le malade est pris en charge dans sa globalité afin de comprendre l'origine de ses symptômes et d'en prévenir leur apparition.

Seules les plantes ayant fait preuve de leurs vertus médicinales ont un intérêt en phytothérapie. Les parties les plus concentrées en principes actifs seront choisies donc il peut s'agir de la plante entière, des feuilles, de la tige, des rameaux, des sommités fleuries, de l'écorce, des racines, des fruits ou des fleurs, utilisées fraîches ou sèches. Des modes de préparations seront privilégiés en fonction de la partie de la plante concernée, de la nature du principe actif qu'il soit hydrophile ou lipophile et du type de patient qui va la recevoir : On ne traitera pas un jeune enfant avec une teinture mère à degré alcoolique élevé (**Bourry, 2013**).

Traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes, la phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (**Nadia Z, 2009**).

### **I.7.1.1. Le domaine de la phytothérapie**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (**Bahourun, 1997**).

Il y a eu un réveil d'intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effets secondaires défavorables. Ainsi, une recherche de nouvelles drogues est, un choix normal (**Boyd et al., 2003**).

Quelques exemples d'utilisation en médecine en tant que médicament pour l'homme :

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux (**Svoboda et Hampson, 1999**).

- Systèmes cardiovasculaires, ex : Flavoc est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose (**Narayana et al, 2001**).

- Les maladies du stress, des activités antioxydantes ; tels que le thé noir, le thé vert et le cacao riches en composés phénoliques, parmi lesquels théaflavine, le resvératrol, le gallate et epigallocatechine procyanidine, très étudiée en raison de leur rôle en tant qu'agents chimiopréventifs basés sur leurs capacités antioxydantes (**Lee et al, 2003**).

### **2.7.2 L'aromathérapie**

L'aromathérapie est certes une branche de la phytothérapie. Puisqu'il s'agit de soigner par les plantes, mais en aromathérapie, on utilise seulement la partie volatile étherée de la plante.

L'aromathérapie est l'art de soigner par les huiles essentielles c'est une super phytothérapie bien que les hommes la traitent ainsi depuis des milliers d'années, le mot aromathérapie n'est apparu qu'en 1930 ce qui n'est pas si ancien à condition de choisir l'huile essentielle adéquate et de l'employer à bon escient (dosage, posologie...) on est assuré d'être soigné vite, bien et sans risque d'effets délétères (**Daniéles, 2015**).

## **I.8. La récolte et le Séchage des plantes médicinales**

### **I.8.1. La récolte**

La récolte des plantes médicinales est une étape très importante, notamment en médecine traditionnelle.

Elle doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs.

Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les auteurs de cette référence (**Larousse des plantes médicinales, 2001**) ont proposé quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr.
- Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles.
- Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures.
- Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer
- Dans la nature, un sac à dos (évitiez le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique.
- Récolter uniquement des plantes saines.
- Récolter les plantes par temps sec, plutôt par une matinée bien ensoleillée

### **I.8.2 Le Séchage**

Le séchage des plantes médicinales est, normalement, effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes.

Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (**Berton, 2001**).

Il existe également d'autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques (adsorption, absorption, réfrigération et séchage par évaporation) (**Boulementafes, 2011**).

### **I.9. Stockage et conservation des plantes médicinales**

Il existe diverses méthodes de conservation, les plus courantes et les plus simples étant le séchage à l'air ou au four (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les plantes séchées sont coupées grossièrement et disposées dans des bocaux de verre ou dans des sacs en papier, à l'abri de l'air et de la lumière. Les boîtes en fer sont naturellement proscrites (**Berton, 2001**).

Le stockage des plantes doit être réalisé dans un local aère, sec, obscur à une température optimale entre 15 et 18°C. Il est souvent nécessaire de désinfecter l'endroit. Les plantes doivent être renouvelées régulièrement sachant que d'une façon, les durées limites de bonne conservation sont les suivantes :

Un à deux ans pour les fleurs feuilles, sommités fleuries, parties fragiles de la plante.

Environ 4 ans pour les racines, écorces, parties moins fragiles de la plante (**catier et roux, 2007**).

Au Cours d'un stockage prolongé, les méthodes et les conditions de conservation doivent permettre d'éviter toute modification de la nature des plantes, afin de préserver l'intégrité de leurs propriétés actives. La qualité des plantes aromatiques ou médicinales en dépend. C'est une étape importante dans la garantie des propriétés des plantes médicinales (**Endrias, 2006**).

Toutes les drogues doivent être conservées au sec dans l'obscurité, dans des récipients bien fermé, passagèrement dans des boîtes en carton ou des sachets en papier.

Eviter les emballages et les sachets en manière plastique à cause du risque de fermentation. (**Rubin, 2005**) La conservation en milieu étanche peut être utile pour les plantes qui s'oxydent rapidement ou qui contiennent des produits volatils (**Endrais, 2006**).

### I.10. Les différents modes de préparation des plantes

Le mode de préparation d'une plante médicinale est la méthode d'extraction des principes actifs responsables d'action guérisatrice. Il peut avoir un effet sur la quantité ces produits chimiques présents. Les modes de préparation les plus courants sont : l'infusion, la décoction et la macération.

**a- Infusion** : Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (**Sofowora, 2010**).



**Figure 03** : Présentation de mode Infusion (**Larousse des plantes médicinales ,2011**)

**b- Décoction** : Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (**Pierre et Lis, 2007**).



**Figure 04** : Présentation de mode Décoction (**Larousse des plantes médicinales,2011**)

**c-Macération** : Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (**Pierre et Lis, 2007**).

Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients (**Pierre et Lis, 2007**)

Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche **KONKON et al., 2006** afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique.

Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion).

### **I.11. Les formes d'utilisation des plantes médicinales**

Avant d'aborder les recettes, il nous faut encore voir l'emploi des plantes médicinales. Une

fois récoltées, séchées, parfois réduites en poudre, tiges, feuilles, écorces, racines et graines.

### 1.11.1 Les sirops

Sont des conservateurs efficaces qui peuvent être mélangés à des infusions et à des décoctions pour donner des sirops et des cordiaux. Ils ont en outre des propriétés adoucissantes qui en font d'excellents pour soulager les maux de gorge (**Iserin,2001**)

### 2.11.2 La poudre

Les plantes séchées et finement coupées sont pulvérisées dans un mortier, elles peuvent être mélangées à la nourriture ou les placer directement sur la langue du patient.

Les poudres peuvent aussi être saupoudrées sur les aliments ou diluées (**Iserin,2001**)

### 3.11.3 Les tisanes

Sont des préparations aqueuses que l'on peut édulcorer légèrement destinées à servir de véhicule pour diverses substances médicamenteuses soit le plus souvent des boissons pour le malade (**Duraffourd et lapraz,2002**)

### 4.11.4 Teintures

C'est la plus utilisée pour obtenir une action immédiate des principes actifs de la plante sur l'organe affectés (**Alloun,2007**)

Une teinture est obtenue par immersion prolongée d'une plante fraîche ou séchée dans l'alcool dilué (**Schauenberg Pet Ferdinand,2006**)

### 5.11.5 Les sucs

Les sucs extraits de nombreuses plantes sont employés en usage interne ou externe (**Iserin,2001**)

Il s'obtient à partir de plantes fraîches broyées et pressées. Le jus obtenu est conservé au frais pendant 1 jour.

## I.12. Les plantes et les systèmes de régulation

### I.12.1. La Peau

- Les antiseptiques, tel que le (*Melaleuca altemifolia*) désinfectent la peau.
- Les émollients, ou adoucissants, tels que le souci (*Calendula officinalis*) calment les démangeaisons
- Les astringents, comme l'hamamélis (*Hamamelis virgmiana*), tendent la peau

- Les dépuratifs, tels que la bardane (*Arctium lappa*), facilite l'évacuation des déchets. (Iserin, 2001).

### **I.12.2. Le Système Immunitaire**

Les immunostimulants, comme l'échinacée (genre *Echmacea*) ou le lapacho (genre *Tabebma*), aident le système immunitaire à prévenir les infections ( Iserin, 2001).

### **I.12.3. Le Système Urinaire**

- Les antiseptiques, tels que le buchu (*Barosma betulina* ), désinfectent les conduits urinaires  
Les astringents, comme la prêle (*Equisetum arvense*), les tendent et les protègent. Les diurétiques, comme le maïs (*Zea mays*), stimulent la production d'urine ( Iserin, (2001).

### **I.12.4. Les Organes Digestifs**

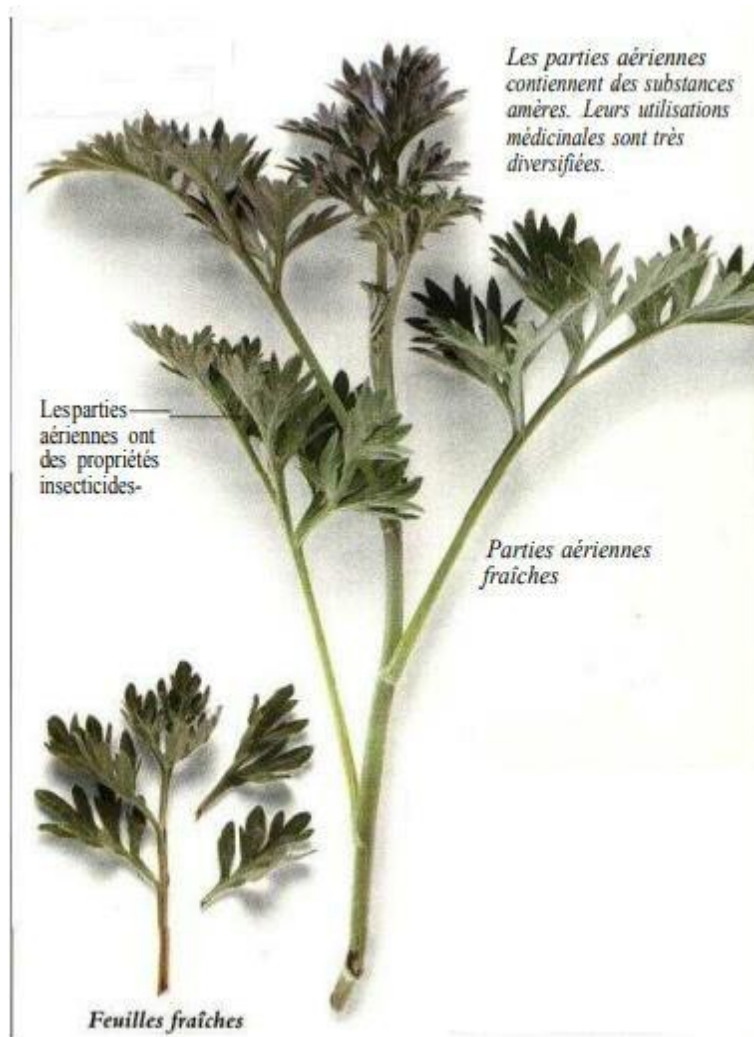
- Les antiseptiques, tels que le gingembre (*Zingiber officinalis*) préviennent les infections.
- Les astringents, bistorte en tête (*Polygonum btstorta*), renforcent la paroi des intestins
- Les amers, à l'instar de l'absinthe (*Artemisia absinthium*) stimulent les sécrétions intestinales. ( Iserin, (2001).

## ***I.13. La Plante Artemisia absinthium***

### **I.13.1. Généralités**

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées : c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille ; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces, Dans la grande majorité des cas, les astéracées sont des plantes herbacées mais elles sont également représentées par des arbres, des arbustes ou des lianes, certaines sont également succulentes (Barkely,2006)

Le nom " *Artemisia* "est dérivé de la déesse Artémis qui avait découvert les effets de la plante, alors que le mot "absinthe" signifie imbuvable à cause du goût très amer de la centrale



**Figure 05** : La plante *Artemisia absinthium* (Larousse des plantes médicinales,2011)

### I.13.2. Description Botanique

*Artemisia absinthium* (absinthe) est un sous-arbrisseau vivace pouvant atteindre 1 m de haut. La tige, souterraine, est ligneuse, dressée et rameuse dont les feuilles alternes, aromatiques, sont bi- ou tripenniséquées et portent une pubescence dense et soyeuse sur les deux faces. Les feuilles inférieures ont des lobes lancéolés obtus. Les supérieures peuvent devenir entières et linéaires. Les inflorescences sont de petits capitules floraux jaunes, globuleux, disposés en grappes composées, ramifiées. Le fruit est un akène de petite taille, lisse et sans aigrette (K. Ghédira et al . 2016.)



**Figure 06 :** Aspect morphologique de *Artemisia absinthium* (Pierre, 1996)

### I.13.3. Classification

La classification de l'Absinthe est montrée dans le tableau suivant :

**Tableau 01 :** Classification de l'Absinthe (GUIGNARD. J. LOUIS.P.M, 1983)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Aseridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia absinthium</i>

## I.13.4. Nomenclature

### I.13.4.1. Noms communs

Elle est connue sous le nom absinthe, grande absinthe, herbe sainte, absinthe suisse, alvine, armoise amère.

### I.13.4.2. Noms vernaculaires

Chedjret Meriem, chaibet el adjouz, chih quoraçani, degnatech cheik, siba, chiba

## I.13.5. Culture

L'absinthe peut être assez facilement cultivée à partir de semences. Propager les graines sur la surface du sol. Quand elles ont poussé et après que tout risque de gel soit passé, transplanter là à l'extérieur. Il faut prévoir au moins 1 mètre pour qu'elle puisse se développer. L'absinthe est capable de croître dans des sols pauvres en plein soleil à mi-ombre. La taille se fait à l'automne, à l'exception de celle du sud qui est réduite au printemps ou en été. Les plantes ont besoin du plein soleil et de sols secs et bien drainés.

## I.13.6. Période de Récolte

*Artemisia absinthium* est collectée généralement entre le printemps et l'été

## I.13.7. Composition chimique

La partie plus souvent utilisée est la partie aérienne de la plante. (Mahmoudi et al., 2009). Des nombreuses études ont montré que l'absinthe présente une variation intra spécifique significative des constituants terpéniques des huiles essentielles. Les composés les plus fréquents sont la thuyone, la myrcène, le sabinène, le linalol, le cis-époxy-ocimène, l'acétate de chrysanthényle et l'acétate de trans-sabinyle (Nguyen et al., 2018 ; Nguyen et Németh, 2016). L'extrait de la plante contient les phénols, flavonoïdes, thiophènes et terpénoïdes (Liu et al., 2019). D'autres constituants ont été aussi identifiés, il s'agit des glucides, glycosides, huiles et graisses, saponines, phytostérols, protéines et acides aminés, tanins...etc. (Nguyen et al., 2018 ; Nguyen et Németh, 2016).

## I.13.8. L'utilisations traditionnelles

*A. absinthium* L a une longue histoire d'utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle et en pharmacologie moderne. Elle est utilisée dans des préparations anthelminthiques, anti-rhume, anti-inflammatoires et antimicrobiennes et pour ses effets antiseptique, antidépresseur, digestif, carminatif, stimulant, cholérétique et tonique (Goud et Swamy, 2015 ; Nguyen et al., 2018). Elle est également utilisée dans le traitement de la fièvre chronique et comme antispasmodique (Tariq et al., 2008). L'absinthe est aussi utilisée pour favoriser la cicatrisation des plaies cutanées (Bora et Sharma, 2011 ; Craciunescu et al., 2012).

### **I.13.9. Toxicité de la plante**

Quelques études de toxicité d'*Artemisia* à court terme sont disponibles. L'absinthe n'a montré aucun effet toxique. Cependant, l'incertitude persiste à cause de la présence du thuyone dans l'huile essentielle, qui possède des effets neurotoxiques (**Lachenmeier, 2010**).

### **I.13.10. L'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*L.**

C'est un liquide épais ayant un pouvoir rotatoire dextrogyre, vert foncé à bleu verdâtre avec une odeur aromatique forte et caractéristique, que l'on obtient par hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau, vapo-hydrodistillation, extractions assistées par les micro-ondes ou distillation sèche. Son goût est amer et âcre. Sa densité varie de 0,925 à 0,95. C'est un liquide soluble dans les solvants organiques, l'alcool et les huiles. (**MOUAKITE N.,1986**)

L'huile essentielle d'absinthe *Artemisia absinthium* L. est composée en majorité de composés terpéniques et en particulier de monoterpènes (environ 85 %) (**BLAGOJEVIĆ P et al., 2006**)

#### **I.13.10.1. Composition chimique**

Il existe plusieurs catégories:

##### **a) Les composés terpéniques**

Ils constituent 85 % de l'huile essentielle d'absinthe (*Artemisia absinthium*L.).

Il s'agit de lactones sesquiterpéniques, d'homoditerpènes peroxydés et de monoterpènes.

##### **- Les lactones sesquiterpéniques**

Ce sont eux qui sont responsables du goût amer de la plante et c'est au cours du mois de juillet, lors de la floraison, que leur teneur est maximale (**MOUAKITE N.,1986**)

On les trouve principalement dans les trichomes (poils glandulaires) des feuilles supérieures de la plante.

##### **- Les monoterpènes**

Leur synthèse est liée à la présence des chloroplastes, on les retrouve dans l'huile essentielle.

On va retrouver des monoterpènes de haut poids moléculaire comme les esters de thuyole, les esters de sabinyle ou encore les esters de chrysanthényle (**LAMARTI A et al.,1996**)

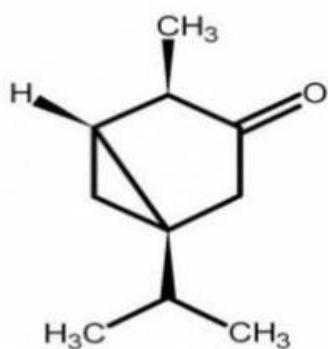
### - Les hydrocarbures saturés

Il y en a très peu par rapport aux autres composés chimiques, ils sont largement minoritaires. On en retrouve environ une soixantaine dans l'huile essentielle d'absinthe *Artemisia absinthium* L. notamment le nonacosane appartenant à la famille des paraffines (CHIALVA F *et al.*, 1983)

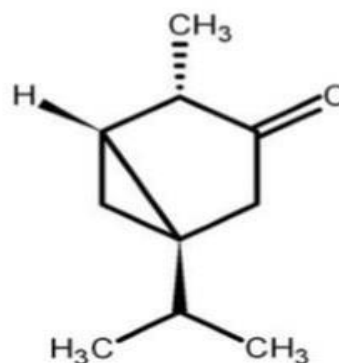
#### I.13.10.2. La thuyone

Ce composé issu de l'absinthe *Artemisia absinthium* L (ainsi que d'autres plantes comme la sauge, le thuya et, plus généralement, issu des plantes appartenant aux familles des Lamiacées et des Astéracées) appartient, il s'agit plus précisément d'une cétone terpénique bicyclique. On la retrouve dans l'huile essentielle.

Il en existe 2 isomères: l'alpha et la beta thuyone (Figure 07, Figure 08). L'alpha étant lévogyre et la beta étant dextrogyre.



**Figure 07:** Alpha-thuyone  
(Erowid.,2008)



**Figure 08:** Beta-thuyone  
(Erowid.,2008)

La thuyone (parfois anciennement nommée tanacétone, absinthone ou bien encore salvione) de formule chimique C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O est un composé insoluble dans l'eau mais soluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme (MOUAKITE N.,1986)

L'huile essentielle contient une quantité variable de thuyone en fonction de l'origine géographique et elle est antibactérienne. (Fabien *et al.*,2003)

La thuyone est le principe actif de la plante *Artemisia absinthium* que l'on trouve aussi dans la sauge ou dans le thuya compose à elle seule plus de la moitié de l'essence d'absinthe. (Fabien et al.,2003)

### **I.13.11. Domaines d'utilisation de L'huile essentielle d'*Artemisia absinthium***

#### **I.13.11.1. En pharmacie**

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures (Duarte et al., 2005) et également des moisissures (Koba et al., 2004), de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques.

- **Activité antibactérienne** : Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganisme, ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains (Remmal, 1993 ; Chami, 2005 ; Caillet et al., 2009).
- **Activité anti oxydante** : L'activité anti oxydante des huiles essentielles est l'une des propriétés biologiques de grand intérêt.

Selon Gazzani et son équipe (1998) un anti oxydant peut être défini comme "toute substance qui est en petites quantités capable d'empêcher ou de retarder l'oxydation de substrat eschant que ces antioxydants sont à des concentration plus basses que les matières oxydables à protéger " Ils peuvent être d'origine synthétique ou naturelle. Ce dernier sont soit synthétisés par le processus du métabolisme dans le corps humain ou sont complétés par d'autres sources naturelles, et l'activité des anti oxydants naturels dépend du mécanisme d'action et leurs propriétés physiques et chimiques (Misra et al.,2004)

- **Activité antifongique** : Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes médicinales a été mis en évidence par de nombreux chercheurs contre les champignons pathogènes et opportunistes (De Bellerbeck, 2002).

### **I.13.11.2. En cosmétologie**

Le secteur d'hygiène et l'industrie des cosmétiques sont également des consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'huile essentielle comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable (**Bruneton, 1999**).

### **I.13.11.3. En industries agroalimentaires**

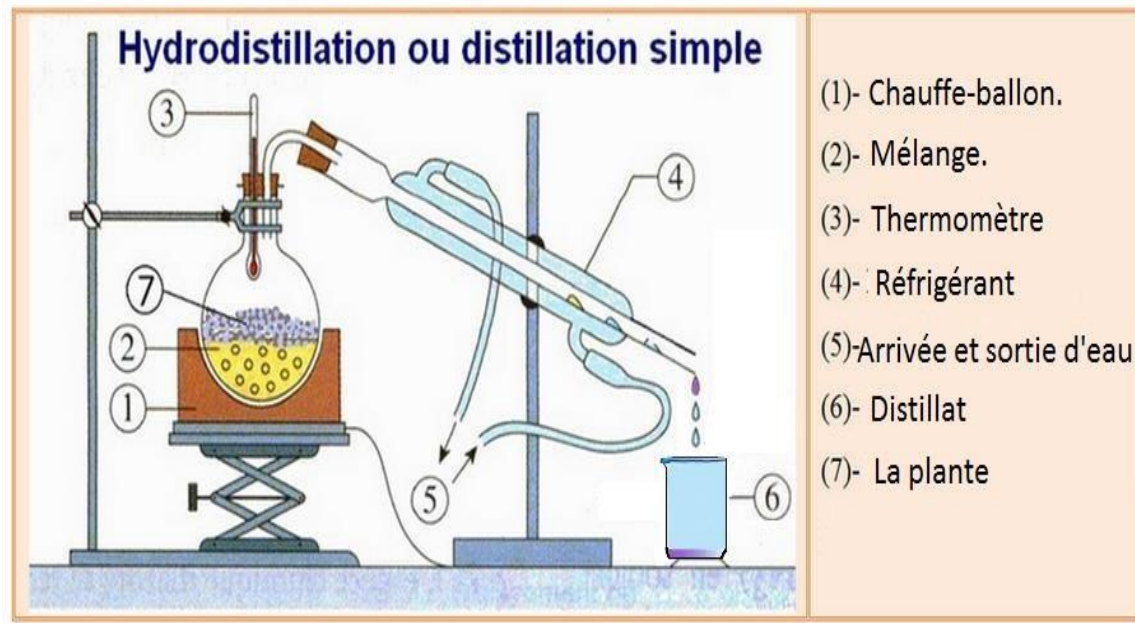
Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Kurita et Koike, 1982**).

### **I.13.11.4. En agriculture**

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Isman, 2000 ; Dayan et al., 2009**). Les huiles essentielles sont utilisées comme agent de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus* (**Ilboudo, 2009**).

## **I.13.12. Technique d'extraction de L'huile essentielle d'*Artemisia absinthium***

**I.13.12.1. Hydrodistillation :** L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles (**Lucchesi, 2005**). Selon **Bruneton (1999)**, l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide, le mélange l'huile- eau se sépare par différence de densité (décantation). Dans beaucoup de cas l'appareil utilisé est de type Clévenger.



**Figure 09** : Schéma représentant le montage d'une hydrodistillation

### I.13.13. Conservation de L'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L.

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet, 2000).

# Chapitre II

## Les infections urinaires

## II. Les infections urinaires

### II.1. Anatomie de l'appareil urinaire

#### 1.1.1. Définition

Le système ou l'appareil urinaire est l'un des principaux systèmes d'organes constitutifs du corps humain. Il permet l'évacuation des produits du catabolisme du corps humain sous forme liquide, l'urine, et assure par conséquent, l'épuration du sang ainsi que le maintien de l'homéostasie au sein de l'organisme. On peut considérer le système urinaire comme une succession d'organes rétro et sous péritonéaux qui sont : les deux reins, les deux uretères, la vessie, l'urètre. (Leila,2005)

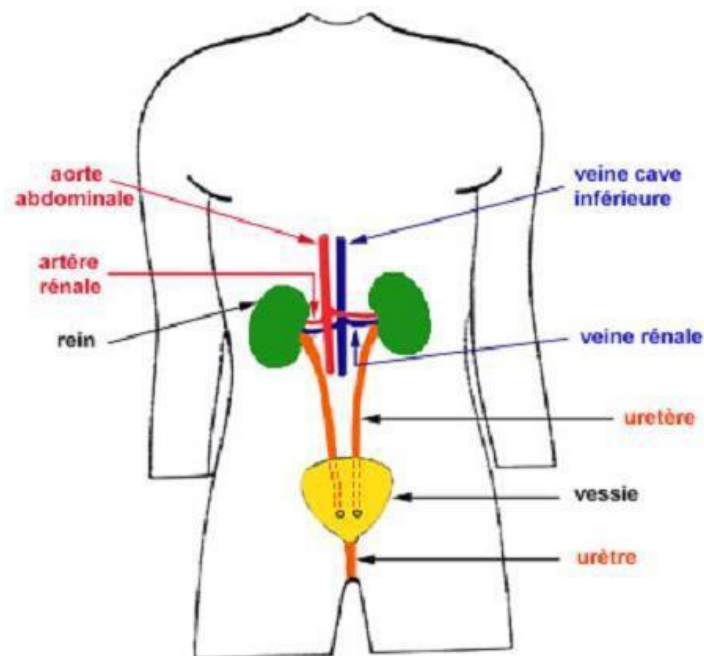


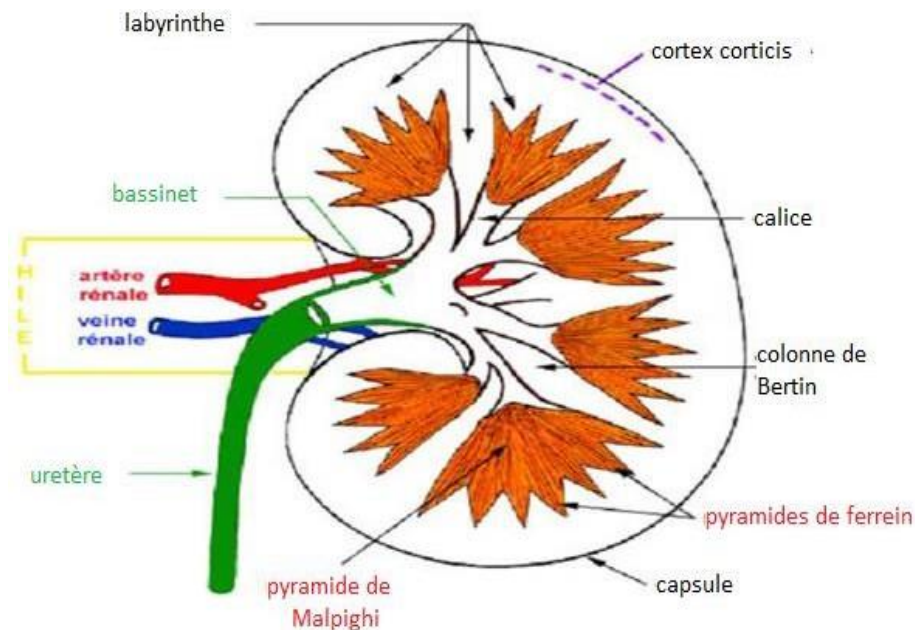
Figure 10 : Appareil Urinaire. (Leila,2005)

#### 2.1.2. L'appareil urinaire supérieur

##### a. Les reins

Les reins sont deux organes en forme de haricot situés dans la partie postérieure de l'abdomen. Ils sont composés d'une partie externe c'est la corticale et une partie interne, C'est la médullaire. Chez l'adulte, chaque rein pèse environ 150g et mesure 12cm de haut,7cm de

large et 3cm d'épaisseur. Ils contribuent à la régulation de la pression artérielle et l'élimination des déchets du métabolisme protéique, ils régulent le volume, la composition et le pH du sang. Ils synthétisent le glucose et participent à la synthèse de la vitamine D et évacuent les débris dans l'urine (Sebe et al., 2008).



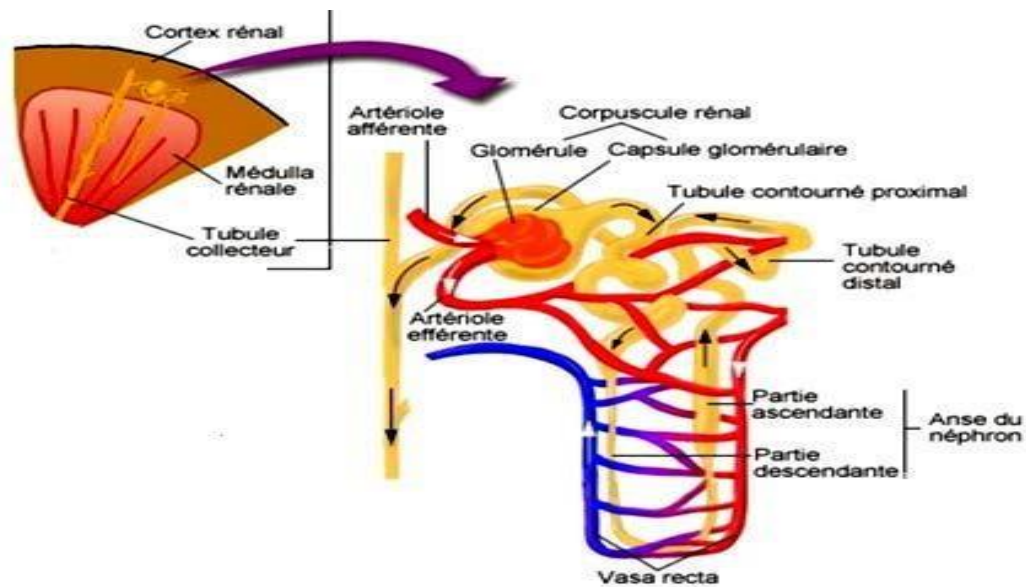
**Figure 11** : Schéma d'une coupe frontale du rein (Leila, 2005).

## - Le néphron

Chaque rein est constitué d'environ 1 million de néphrons, qui constituent ses unités fonctionnelles et histologique. Ils sont enrobés dans le tissu interstitiel ou cheminent les nerfs et les vaisseaux, et assurent la formation des urines (figure 12) (Akli B ; M. 2009).

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Un néphron à trois fonctions principales, est quelles participent à la formation de l'urine :

- La filtration glomérulaire le sang passe par les capillaires glomérulaires, et tout ce qui peut passer à travers la paroi des capillaires se retrouve dans le néphron.
- La réabsorption tubulaire du liquide tubulaire vers la lumière des capillaires péri tubulaire. C'est-à-dire que l'eau, le glucose et les sels minéraux retournent dans le sang par capillaires péri tubulaire.
- La sécrétion, à un principe que le sang se débarrasse d'autres déchets, et les envoie dans l'urine. Le liquide se rend ensuite dans le tube collecteur, puis vers le calice et le bassinnet du rein ou il est emmagasiné ( Gougous A, 2005)

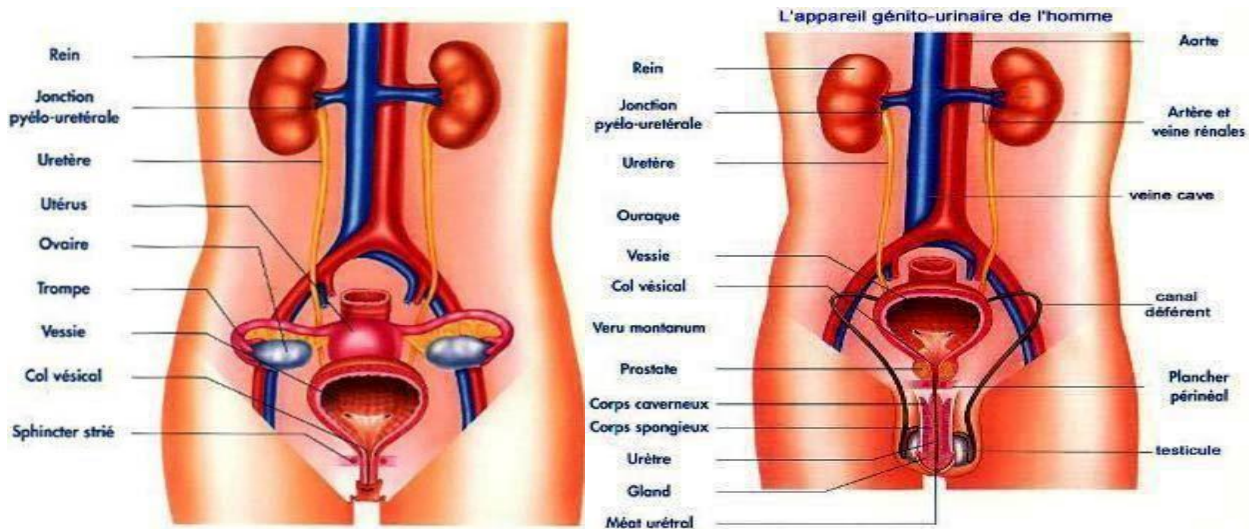


**Figure 12** : la structure du néphron (Chantale P ;Jil C,2016)

## b. Les uretères

Il y a deux uretères, un pour chaque rein (**figure 13**). L'uretère est un canal musculo-membraneux, cylindrique et étendu du bassin à la vessie. Il mesure 25 à 30 cm de long. Sa paroi est formée de trois couches, une muqueuse, une musculuse et l'adventice. On le divise en deux portions : lombaire et pelvienne. Ses rapports sont les suivants :

- Au niveau lombaire : il est appliqué contre le muscle psoas. Il répend à la deuxième portion du duodénum, à la gauche à la quatrième portion de celui-ci.
- Au niveau pelvien : il croise la vésicule séminale chez l'homme avant de pénétrer dans la vessie, et chez la femme il croise les organes génitaux (ovaire, utérus). A la fin, l'uretère traverse la paroi vésicale avec un trajet sous-muqueux oblique qui prévient le reflux des urines de la vessie vers l'uretère (**Delmas V et al., 2008**)



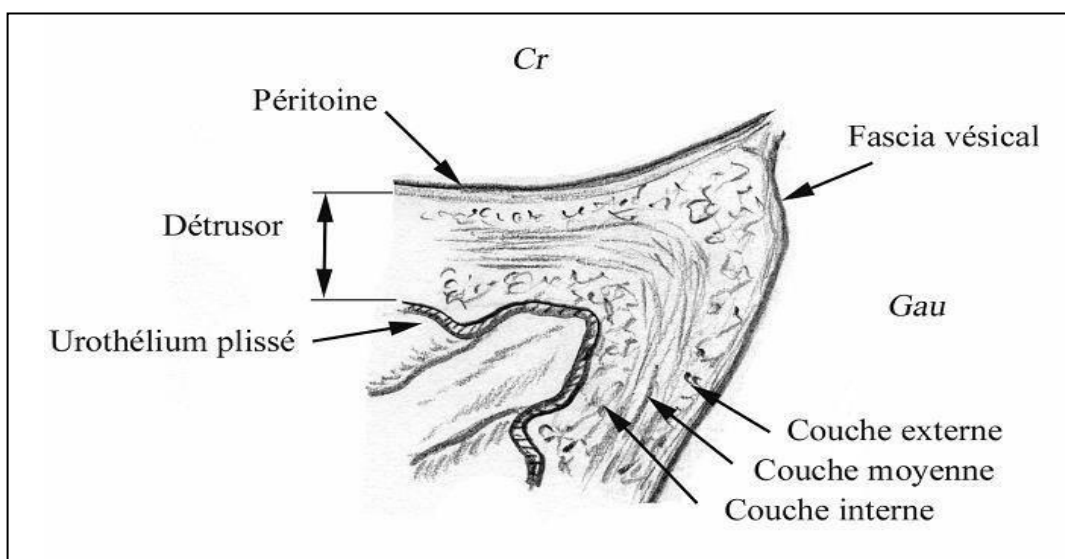
**Figure 13 :** Appareil Génito-urinaire de la femme et de l'homme (Seven Mice SARL 2008 )

### 3.1.3. L'appareil urinaire inférieur

#### a. La vessie

La vessie est un organe musculaire creux qui sert au stockage provisoire des urines.

La forme de la vessie dépend de son état de réplétion : lorsqu'elle est vide ou contient peu d'urine, elle prend la forme de pyramide inversée et quand l'urine commence à s'accumuler, elle se dilate et prend la forme d'une poire. Le remplissage maximal habituel de la vessie est d'une capacité physiologique de 300 à 600 ml en moyenne, mais elle peut aller jusqu'à 700 à 800 ml (Nguyen et Bourouina, 2008 ; Bresse, 1968).



**Figure 14 :** coupe de la structure de la vessie. (Leila,2005)

## b. L'urètre

L'urètre est le conduit qui achemine l'urine de la vessie vers l'extérieur (**Nguyen et Bourouina, 2008**). Son aspect est différent dans les deux sexes. Chez l'homme il est long et entouré par la prostate, sa longueur est d'environ 14 cm, alors que chez la femme, il s'étend du col de la vessie à la vulve et mesure environ 3 à 4 cm (**Lacombe, 2005**)

### II.1.4 Fonctionnement des organes de l'appareil urinaire

#### II.1.4.1. Rein

- Filtration glomérulaire de la plupart des petites molécules du plasma sanguin pour former un ultra filtrat de plasma.
- Réabsorption tubulaire sélective de la plus grande partie de l'eau et de certaines autres molécules de l'ultra filtrat.
- Sécrétion de certains produits d'excrétion directement du sang dans l'urine.
- Maintien de l'équilibre acido-basique par sécrétion tubulaire sélective d'ions H<sup>+</sup> dans l'urine. (**Eline, 2008**).

#### II.1.4.2. Uretère

Les uretères recueillent l'urine produite par les reins pour la conduire dans la vessie, où elle est stockée jusqu'à la miction.

#### II.1.4.3. Vessie

- La vessie accumule l'urine jusqu'à son excrétion.

#### II.1.4.4. Urètre

- L'urètre permet de transporter l'urine de la vessie jusqu'au méat à l'extrémité du pénis chez l'homme, ou jusqu'à un orifice allongé situé au milieu de la vulve, chez la femme (**Flèche, 2012**).

## II.2. L'urine

### 1.2.1. Définition

L'urine est issue du mot latin *urina* et du grec ouron. L'urine est un liquide organique de couleur jaune ambrée. Elle est sécrétée par les reins puis emmagasinée dans la vessie entre les mictions. Les reins sont les organes qui permettent l'élaboration et l'excrétion de l'urine (**Ait Miloud, 2011 ; Zamahoun, 2005**).

### 2.2.2. Caractéristiques physiques de l'urine

L'urine fraîchement émise est généralement claire. Sa couleur jaune varie de pale à intense. Cette coloration est due à la présence d'urochrome, un pigment qui résulte de la transformation de la bilirubine provenant de la destruction de l'hémoglobine des érythrocytes. Concernant l'odeur, l'urine fraîche est légèrement aromatique alors que l'urine qu'on laisse reposer dégage une odeur d'ammoniac attribuable à la décomposition ou à la transformation des substances azotées par les bactéries de l'urine. Quand l'urine devient extrêmement concentrée, les solutés se précipitent. Le pH de l'urine varie autour de 6, mais peut aller de 4.5 à 8 selon le métabolisme et le régime alimentaire (Traore,2012) .

### 3.2.3. La composition chimique de l'urine

L'urine est composée de 95% d'eau et 5% d'ions. Elle est formée aussi par des déchets azotés principalement : l'urée (25g/l), la créatinine (2g/l environ) et l'acide urique (0.5g). On trouve dans l'urine des quantités très faibles mais fortement variable d'ions de Calcium : Ca (150-250mg/24h), le Sodium : Na (3-4g/l), Potassium : K (2-4g/l), le Chlore Cl, Sulfate SO et Phosphate PO et de différents acides tel que : l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide pyruvique et l'acide oxalique (Traore, 2012).

## II.3. La défense du l'appareil urinaire

### 1.3.1. Défense naturelle par l'organisme

Les principaux moyens naturels de défense contre l'infection urinaire sont des moyens aspécifiques : volume du flux urinaire (environ 1.5L par jour), vidange régulières et complètes de la vessie (4-5 fois par jour), intégrité et imperméabilité de la muqueuse (urothélium) qui recouvre les cavités urinaires, sécrétion d'une protéine particulière par le rein et présente dans les urines, sécrétions vaginales chez la femme et prostatique chez l'homme (Dracke R, Wayne V, Adam W, Mitchel. 2006)

### 2.3.2. Défense immunitaire

Les leucocytes normalement présents dans le sang, sont très souvent présents et retrouvés dans les urines. Ce qui n'est pas normal est un nombre trop élevé de leucocyte dans les urines, en médecine on parle de leucocyturie. Dans l'immense majorité des cas, la cause est une infection urinaire. Normal : quand des bactéries prolifèrent dans les urines, notre système de défense immunitaire intervient, et en particulier les leucocytes. Ceux-ci vont alors se multiplier pour combattre l'infection. Ce qui sera significatif est et le nombre de leucocytes retrouvés dans les urines (Raynal, 2016).

Les lymphocytes constituent une deuxième ligne de défense capable de reconnaître l'envahisseur. Les micro-organismes continuant leur invasion, ils passent dans le sang puis dans les ganglions lymphatiques qui s'opposent à l'infection grâce aux cellules qu'ils contiennent les lymphocytes.

Ces cellules sont capables de reconnaître des molécules portées à la surface des bactéries ou libérées par celles-ci (toxine). Ces molécules sont appelées antigènes. Les lymphocytes sont capables de reconnaître les antigènes et réagissent contre tous les antigènes et qu'ils ne reconnaissent pas (les antigènes constituent donc la carte d'identité des cellules).

Les expériences décrites que la défense de l'organisme peut être assurée par les anticorps ou des cellules dans les deux cas, cette immunité est spécifique d'un micro-organisme donné et n'assure une protection que contre ce micro-organisme. Il coexiste donc une immunité à médiation moléculaire et une à médiation cellulaire basée sur l'action de cellules spécifiques (**Raynal, 2016**).

Les lymphocytes B fabriquent des anticorps toxiques pour l'envahisseur alors que les lymphocytes T détruisent les cellules infectées.

- Les lymphocytes B (LB) se forment dans la moelle des os. A maturité, ils migrent dans les ganglions lymphatiques ou la rate. En présence d'un antigène, les LB vont fabriquer des anticorps, spécifiques de cet antigène et capable de se fixer sur cet antigène pour former un complexe. Ce complexe neutralise les antigènes (immobilise les bactéries, inactive les toxines...) et permet leur élimination ultérieure par les macrophages.

- Les lymphocytes T (LT, la plus petite des cellules) sont des cellules tuant les cellules étrangères. Ils se forment eux aussi dans la moelle et migrent ensuite dans le thymus ou ils deviennent capables de reconnaître les cellules de l'organisme.

Les LT détruisent les cellules qu'ils ne reconnaissent pas (bactéries mais aussi cellules d'un greffon) en leur injectant des enzymes mortels (**Raynal, 2016**).

## II.4. Infections urinaires

### 1.4.1. Définition

Une infection urinaire est une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction (= l'émission de l'urine), parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre. (**Gonthier, 2000**).

Les infections urinaires (IU) peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épididymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite). (**Bréchet et al., 2013**)

### 2.4.2. Epidémiologie

**II.4.2.1. Chez l'enfant (rare) :** Les infections urinaires du nourrisson ou du grand enfant de sexe masculin sont associées à des malformations de l'appareil urinaire dans 50 % des cas.

**II.4.2.2. Chez l'homme (rare) :** Pour qui l'incidence augmente nettement après 50 ans. Toute infection urinaire basse de l'homme de plus de 50 ans doit être considérée comme une prostatite.

**II.4.2.3. Chez la femme (fréquente) :** Avec 2 périodes plus particulièrement à risque :

- Début de l'activité sexuelle
- Post ménopause (**Tattevin, 2003**)

### 3.4.3. Classifications des infections urinaires

#### II.4.3.1. Infection urinaire simple

Par définition, ce sont des IU survenant chez des patients ne représentant pas de facteurs de risque de complication. En pratique, elles ne concernent que la femme sans terrain particulier et sans comorbidités. Les IU simples comprennent les cystites aiguës simples et les pyélonéphrites aiguës simples. (**Caron, 2008**).

#### II.4.3.2. Infection urinaire compliquées

Par définition, ce sont des UI survenant chez des patients ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe.

Ces facteurs de risque de complication sont :

- Les anomalies organiques ou fonctionnelles de l'arbre urinaire, qu'elles soient (résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent, ...)
- Certaines situations pathologiques (diabète, immunodépression, insuffisance rénale,

Certains terrains physiologiques (homme, sujet âgé avec comorbidités, grossesse).  
(Caron,2008).

#### 4.4.4. Facteurs de risques de l'infection urinaire

Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la survenue d'infection urinaire tels que :

- Les anomalies fonctionnelles, les urines contenant des petites quantités de sucre représentent un excellent milieu de culture pour les bactéries. C'est un des facteurs expliquant les complications infectieuses urinaires chez les personnes diabétiques. **(Drusano, 1991)**.
- Les anomalies anatomiques, il pourra s'agir de tout obstacle présent sur les voies urinaires : lithiase, tumeurs, infections chroniques (tuberculose) **(Drusano, 1991)**.
- Les urines sont normalement acides et le risque d'infection varie avec le statut hormonal. Chez la femme la flore vaginale permet la production d'acide lactique par les lactobacilles permettant de maintenir un pH acide cet environnement empêche la colonisation par des germes uropathogènes. Après la ménopause, le pH est modifié (pH supérieur à 5) ce qui favorise la croissance bactérienne **(Chafai,2008 ; Guibert, 1992)**.
- Chez la femme et la jeune fille en raison d'un urètre court, il est plus facile pour le germe d'atteindre la vessie et de s'y développer **(Bonacorsi, 2007)**.
- L'activité sexuelle : Parmi les facteurs comportementaux, l'activité sexuelle chez la femme est un facteur de risque **(Lobel et Soussy, 2007)**.
- La stase urinaire est un facteur qui favorise la croissance bactérienne et la colonisation. En cas de boisson insuffisante, les mictions seront insuffisantes et ne permettront pas d'éliminer les bactéries grâce au flux mictionnel **(Leroy etTattevin, 2012)**.
- L'âge supérieur à 50 ans : Le risque d'infection est multiplié par 2 après 65 ans, du fait de l'immunodépression liée à l'âge avancé **(Bassi, 2013)**.
- Augmentation de fréquence des infections urinaires en cas de grossesse (car la compression par l'utérus entraîne une dilatation voire une certaine obstruction des uretères).
- Règles d'hygiène pas toujours bien respectées (contamination périnéale important et continue : douches vaginales avec des produits qui déséquilibrent la flore bactérienne habituelle du vagin) qui facilitent la colonisation du vagin et de l'urètre par des bactéries d'origine digestive.

### 5.4.5. Les symptômes d'infection urinaire

Plusieurs symptômes, seuls ou associés, permettent de suspecter une infection urinaire :

- Des douleurs au ventre et/ou dans le bas du dos.
- Des brûlures ou des douleurs en urinant.
- Une envie permanente d'uriner, même lorsque la vessie est vide.
- Des urines troubles, parfois nauséabondes.
- Une fatigue intense.
- De la fièvre.
- Des frissons (**Emiline, 2015**).

## II.5. Physiopathologie des infections urinaires

### 1.5.1. Origine de l'infection

#### II.5.1.1. Infection endogène

Les infections endogènes ou auto-infections sont celles où le malade fait une infection à ses propres germes, qui sont souvent d'origine digestive, dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésicale, cathétérisme ...), ou en raison d'une fragilité particulière. Ces cas ne peuvent qu'être majorés au cours de l'alitement à l'hôpital du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient. (**Marrhich, 2008**).

#### II.5.1.2. Infection exogène

Les infections d'origine exogène sont celles où le malade fait une infection à partir d'un germe qui lui a été transmis, soit par manu portage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou un instrument mal désinfecté, ou encore par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation ...) (**Marrhich, 2008**).

### 2.5.2. Types des infections urinaires

Les infections urinaires sont fréquentes et regroupent à la fois les infections du haut appareil et du bas appareil. Il y a 4 types d'infection qui sont comme suit : la cystite (la plus courante), l'urétrite (qui touche uniquement l'urètre), la pyélonéphrite (inflammation du bassinet et du rein) et prostatites (**Derbét Saighi, 2004**).

### II.5.2.1. Les infections urinaires du haut appareil urinaire

#### ➤ Pyélonéphrite

Un patient avec une infection au niveau du rein présente généralement des signes systémiques et nécessitera un traitement immédiat dans le but d'éviter des complications telle la formation d'abcès et la bactériémie. Une thérapie par voie orale peut être considérée pour une infection légère à modérée. (Daniel et al., 2003).

#### ➤ Pyélonéphrite aigue

Ce sont les plus fréquentes au niveau du haut appareil ; le syndrome clinique est le plus souvent très évocateur : la douleur lombo-abdominale vives à début brutal, fièvre élevée avec frissons et souvent des troubles digestifs. (Douham et Nil, 2012)

#### ➤ Pyo néphrose

Classiquement d'origine hématogène et à staphylocoques ; elle peut cependant succéder à une destruction du parenchyme rénal par une suppuration massive est souvent la conséquence d'un obstacle lithiasique sur les voies excrétrices. (Douham et Nil, 2012)

### II.5.2.2. Les infections urinaires du bas de l'appareil urinaire

#### a. La cystite

C'est une forme d'infection plus courante du bas de l'appareil urinaire, il s'agit d'un état inflammatoire de la vessie (Schull et al., 2012 ; Affsaps, 2008). On pense que les femmes font des cystites, car leur urètre est beaucoup plus court que celui des hommes (Pourcine, 2010). La plupart des cas de cette inflammation est provoqué par la prolifération d'*Escherichia Coli*, ainsi que d'autres bactéries tels que : *Staphylococcus Proteus*, *Klebsiella*. Selon (Prudhomme et al., 2010), les principaux signes de la cystite sont les brûleurs mictionnels, la pollakiurie, la dysurie, absence de fièvre et de douleurs lombaires.

#### b. L'urétrite

L'urétrite touche uniquement l'urètre. Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir.

Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*. L'urétrite se manifeste par une douleur vive au moment de la miction, ressemblant à des brûlures, une irritation au niveau du méat urinaire et des douleurs urétrales. Un écoulement par le méat urétral, survient plus fréquemment le matin associé à une pollakiurie (Affsaps, 2008).

### c. Prostatite

Est signifié simplement une inflammation du tissu prostatique, c'est une infection survenant en particulier chez l'homme (**Cothelineau et Volloncien, 2000**).

La prostatite s'accompagne pratiquement toujours d'une cystite associée (**Meyrier, 1998**).

#### 3.5.3. Voies de contamination de l'infection urinaire

Une infection est dite communautaire lorsqu'elle est acquise hors de l'hôpital (**Gavazzi et Krause, 2002 ; Tal et al., 2005**). Alors qu'une infection nosocomiale est acquise dans une structure de soins, ou bien reliée à la prise en charge du patient. Cette dernière est causée par des microorganismes dont l'origine est hospitalière, elle peut concerner les personnes séjournant, visitant ou travaillant à l'hôpital (**Eilenberg, 2005 ; Joly et Reynaud, 2002**).

##### II.5.3.1. Infection communautaire

Les micro-organismes atteignent l'appareil urinaire par différentes voies : Ascendante essentiellement, mais aussi hématogène ou lymphatique, ou encore par extension à partir d'un autre organe.

###### - Voie ascendante

L'infection par voie ascendante à point de départ urétral est la cause la plus fréquente de l'infection urogénitale de l'homme et de l'IU de la femme. (**Boulard et Ravussin, 1992**)

C'est la voie de pénétration la plus fréquente. Le germe colonise successivement les régions périnéales, vulvo-vaginale, urétrales et remontent à la vessie, ou à la faveur d'un reflux vésico-urétéral, aboutissent au haut appareil urinaire. (**Champetier, 1998**)

###### - Contamination spontanée

La flore fécale est la source habituelle des germes. Les bactéries d'origine intestinale colonisent la région périnéale, la cavité vaginale et la partie distale de l'urètre. On incrimine comme facteurs de risque, la distance entre l'anus et le méat, une hygiène déficiente, ou au contraire excessive, le type de protection menstruelle de contraception, un déséquilibre hormonal après la ménopause ou un défaut de production cutanée d'anticorps antibactériens. Cette voie d'ascension est plus fréquente chez la femme que chez l'homme. (**Chartier, 2001**).

###### - Voie hématogène (descendante)

Cette voie est moins fréquente. Les exceptions les plus notables sont constituées par la tuberculose, les abcès du rein et les abcès périnéaux. Par contre, il arrive souvent que les bactéries pénètrent dans la circulation sanguine au cours des infections aiguës du rein et de la prostate. Une bactériémie est d'avantage susceptible de venir compliquer une IU quand il existe des anomalies structurales et fonctionnelles plus que lorsque l'arbre urinaire est normal. (**Aninch et Tanagho, 1991**).

**- Voie lymphatique**

Elle est rare, mais les germes infectieux peuvent gagner la vessie et la prostate par les lymphatiques du rectum et du colon chez l'homme et les voies urogénitales féminines par les lymphatiques utérins (AFU , nosocomiales , pasteur,2002.)

**- Extension à partir d'un autre organe**

Les abcès intra péritonéaux, spécialement ceux qui sont associés à une maladie inflammatoire de l'intestin, une suppuration pelvienne aigue chez la femme, un abcès para-vésical, une fistule uro-génitale peuvent infecter l'arbre urinaire par extension directe. (**Chartier, 2001 ; Aninch et Tanagho, 1991**).

**4.5.4. Infection nosocomiale**

Ce sont les infections urinaires basses secondaires à un manœuvre endo-urinaire (sonde vésicale, endoscopie) ou survenant après 48h d'hospitalisation chez un patient auparavant indemne de toute infection. Elles sont au premier rang des infections acquises à l'hôpital représentant 4% de l'ensemble de ces infections et touchant près 3% des sujets hospitalisés. De 60% à 80% des IU nosocomiales surviennent sur sonde,5% après des manœuvres instrumentales tandis que 20% ne connaissent pas d'autre origine que l'hospitalisation (**Suetens C, et al 2007**)

# Etude expérimentale

# Matériels et méthodes

### III. Matériel et méthode

#### III.1. Objectif

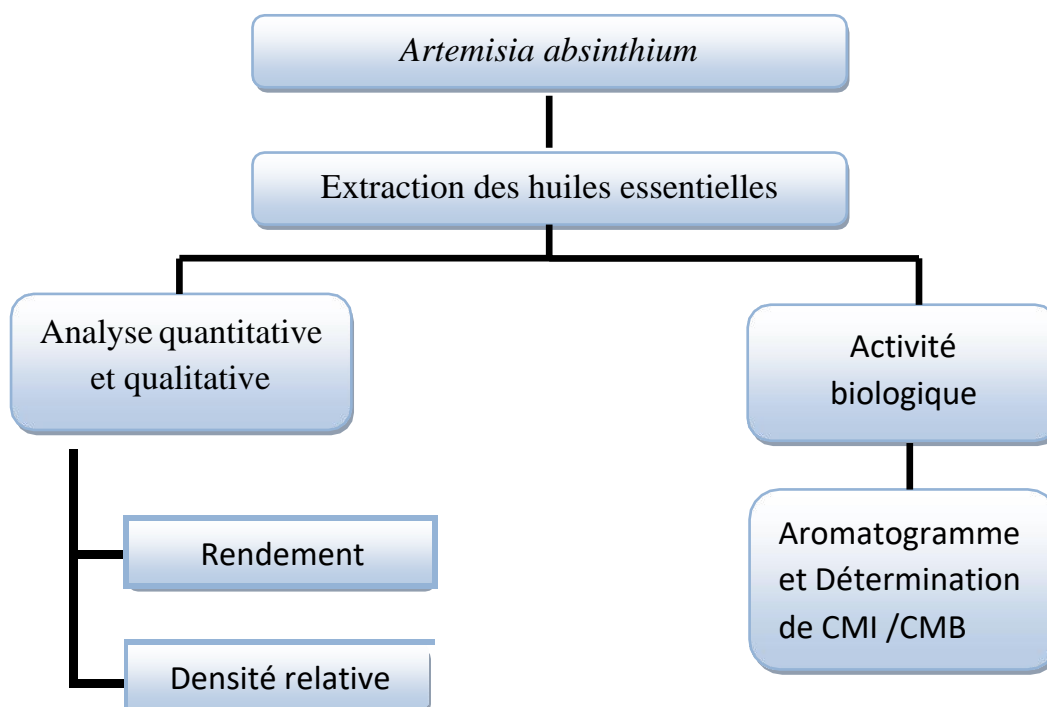
L'objectif de ce présent travail consiste à l'évaluation de l'effet des huiles essentielles obtenues par extraction à partir d'une plante médicinale *Artemisia absinthium* sur la croissance des souches pathogènes responsable des infections urinaires tel que :

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*

#### III.2. Procédure expérimentale

Cette étude menée sur l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* vise à valoriser cette plante médicinale et aromatique très répandue en Algérie. Les principaux objectifs sont l'extraction et la récupération des huiles essentielles, la détermination de la qualité de ces huiles extraites et l'étude de leurs activités biologiques (antibactérienne). Le plan de travail suivant est alors suivi :

- Extraction par hydrodistillation (clevenger) de l'huile essentielle d'*A. Absinthium* récoltée dans la région d'Algérie Ras El Ma (sidi Bel Abbes)
- Réalisation des analyses quantitatives et qualitatives sur les huiles essentielles obtenues
- Évaluation des activités antimicrobiennes par la méthode de l'aromatogramme



**Figure 15** : Diagramme général de la procédure expérimentale

### III.3. Lieu de travail et identification de la plante

L'étude est faite au niveau de Laboratoire de nutrition à l'Université Djilali liables faculté des sciences de la nature et de la vie.

L'identification de la plante a été faite en se référant à (Boyrie , 2014 ) et (busser ,2005;2012)

### III.4. Matériel utilisé

Le matériel utilise dans notre étude est le suivant :

**Tableau 02** : Le matériel utilisé

Verrerie	Appareillage nécessaire	Produits utilisés	Autre matériel
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ballon De 1000 ml</li> <li>- Ampoule A Décanter</li> <li>- Coude En Verre</li> <li>- Pipette Pasteur</li> <li>- Boite Petri</li> <li>- Tubes Stériles</li> <li>- Pipette Stérile</li> <li>- Becher</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Etuve</li> <li>- Bain Marie</li> <li>- Bec Bunsen</li> <li>- Autoclave</li> <li>- Spectrophotomètre</li> <li>- Agitateur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dichlorométhane</li> <li>- Eau Distillée</li> <li>- Eau Physiologique</li> <li>- Bouillon Nutritif</li> <li>- Milieu Muller-Hinton</li> <li>- Milieu Hektoen</li> <li>- Milieu Chapman</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Papier Filtre</li> <li>- Thermometre</li> <li>- Portoir</li> <li>- Ecouvillon</li> <li>- Micropipettes</li> <li>- Anse De Latine</li> <li>- Pince Métalique</li> </ul>

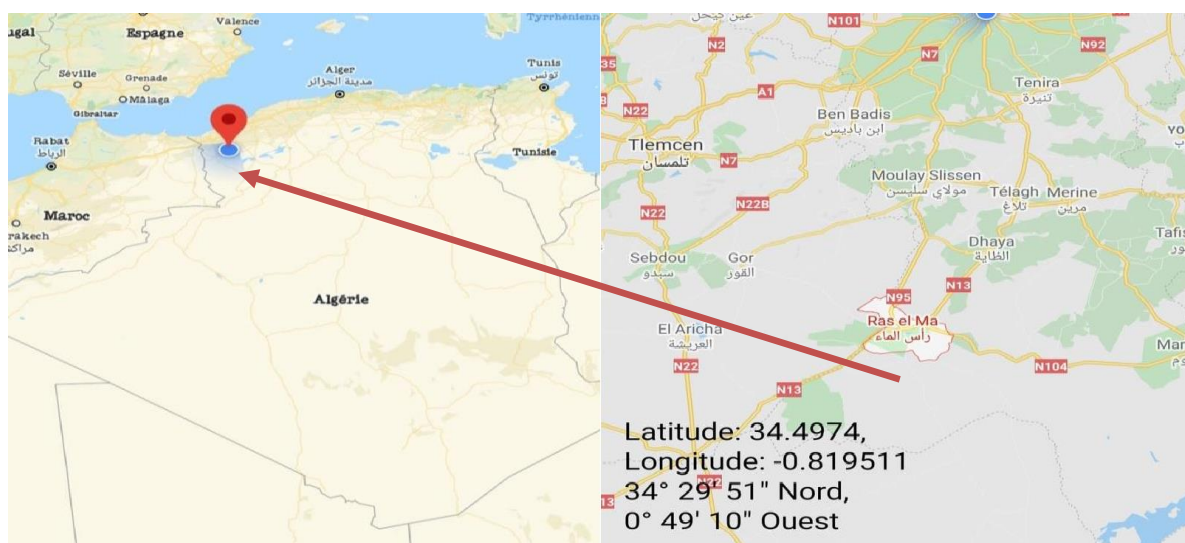
- **Matériel végétal**

Ce présent travail est porté sur *Artemisia absinthium*. Le choix de cette espèce est lié d'une part à leur spontanéité et d'autre part à leur forte utilisation par la population locale entant qu'une plante médicinale et aromatique.

### III.5. Récolte de la matière végétale

Les parties aériennes (feuilles et tiges) d'*Artemisia absinthium*. Est cueillie au mois de février 2020 dans la région de Ras El Ma à SBA ; les sites de prélèvement sont présentés en ellipse (figure 16).

La cueillette est effectuée par temps sec et non orageux, après le lever du soleil et la disparition de la rosée (9h00-12h00) à l'aide d'un sécateur.



**Figure 16** : Carte géographique de la commune de Ras El Ma wilaya de Sidi Bel Abbès) (01)

### III.6. Séchage de la matière végétale

Après cueillette des parties aériennes, les grandes tiges sont éliminées manuellement et seules les parties recouvertes de feuilles, débarrassées de la poussière et impurétés

Le matériel végétal est ensuite séché à l'abri de l'humidité et de la lumière à une température ambiante en les étalant de façon homogène durant 10 jours pour préserver le maximum d'intégrité des molécules.

Les parties aériennes séchées sont conservées dans des sacs de papier ou dans des boîtes en carton dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.



**Figure 17** : La plante *Artemisia absinthium*

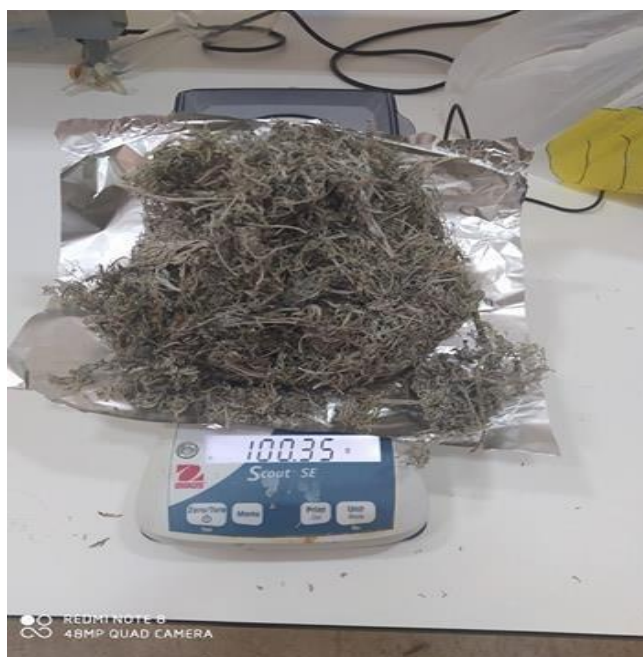
### **III.7. Extraction des huiles essentielles**

#### **III.7.1. Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation**

L'huile essentielle est obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type

« Clevenger ».

- La pesée de 100 g des feuilles *Artemisia absinthium* séchées et les mettre dans un ballon a distillation



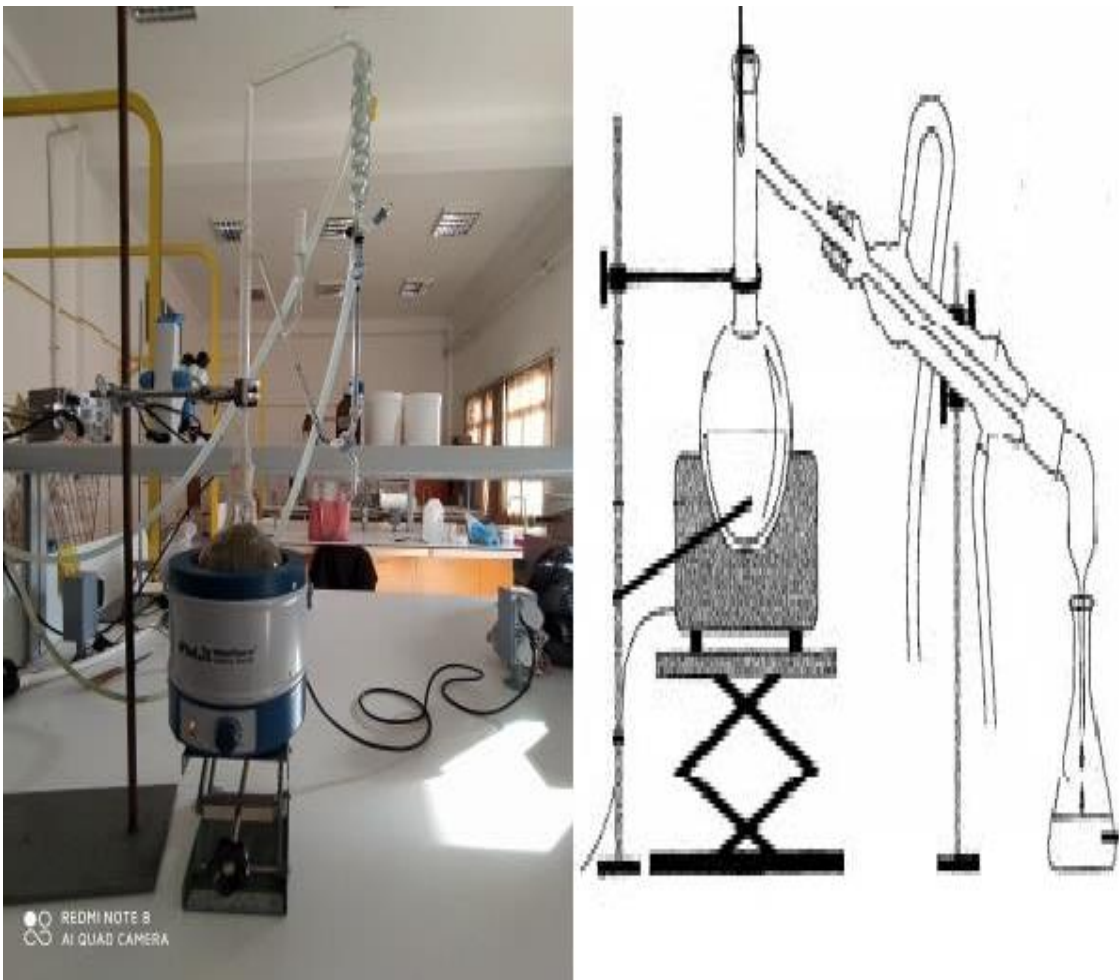
**Figure 18** : La pesée de 100 g de la matière végétale (photo prise par AMIRI)

- Ajouter 500 ml d'eau distillée dans le ballon

L'ensemble est porté à l'ébullition pendant trois heures. La vapeur d'eau provoque l'éclatement des cellules végétales enrichies en HE et la libération de leur contenu. La vapeur traverse un réfrigérant ou elle se condense puis le distillat (eau+HE) est récupéré dans une ampoule à décanter. Cette méthode est répétée plusieurs fois

- Le distillat (eau + HE) récupéré est formé de deux phases, une phase aqueuse majoritaire et quelques gouttes formant la phase huileuse claire surnageante. Ces deux phases sont intimement mélangées avant décanter.

- Un nettoyage de dispositif avec l'éthanol absolu suivi d'un rinçage à l'eau distillée est effectué après chaque utilisation et cela afin d'éviter la contamination de l'huile par les traces d'huile essentielle restant de l'autre plante.



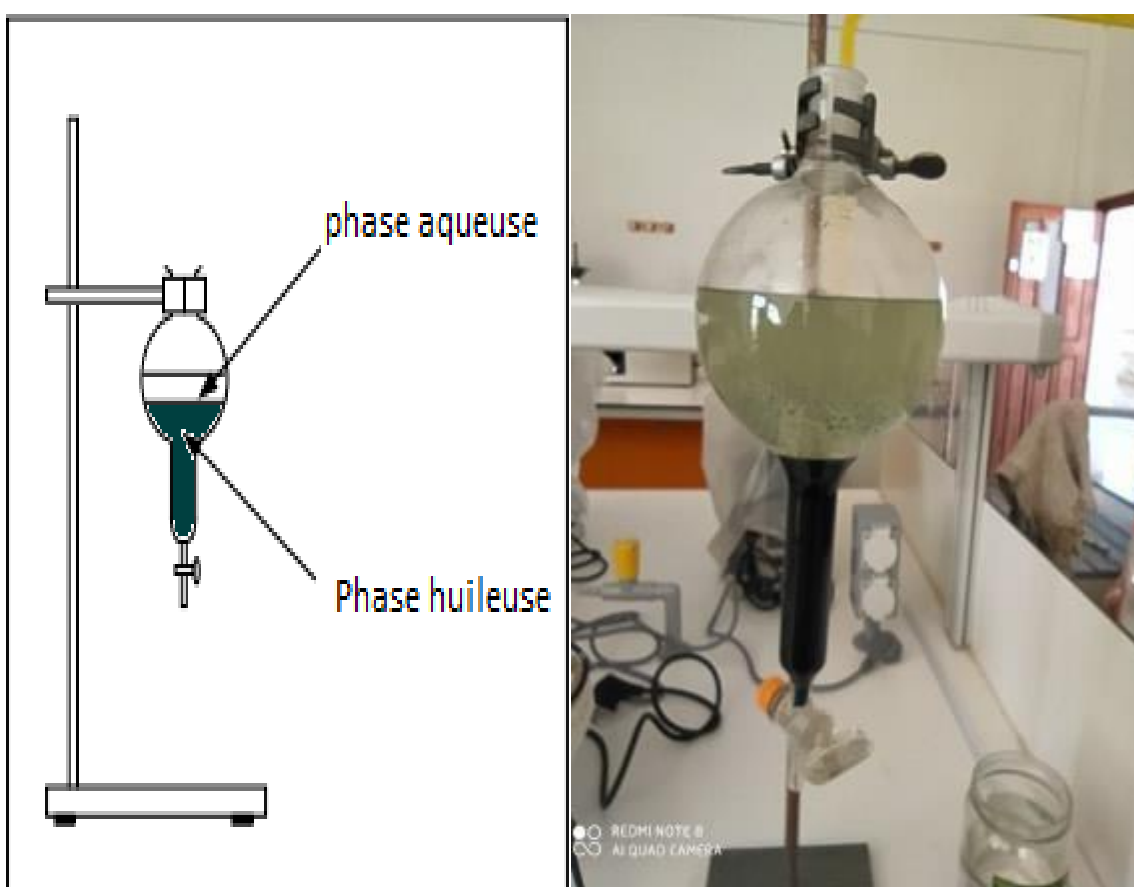
**Figure 19** : Hydrodistillateur utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle  
(Photo prise par AMICHI)

### III.7.2. Décantation

Après l'extraction, le distillat est récupéré dans une ampoule à décanter dans laquelle on rajoute 100 ml du dichlorométhane dans le but d'extraire l'huile essentielle de l'eau

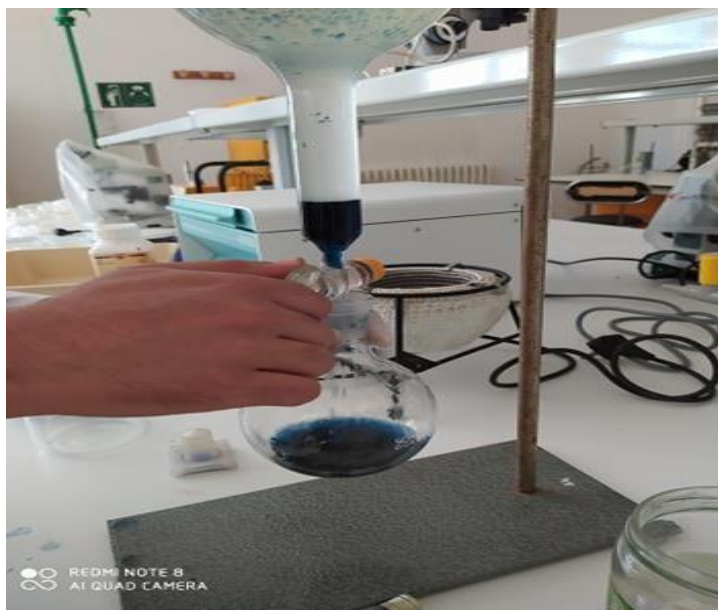
- Après l'ajout de dichlorométhane bouché l'ampoule et agiter énergiquement et dégazer régulièrement
- Laisser décanter ampoule débouchée

Par la suite deux phases sont observées, une phase aqueuse qui contient l'eau et une phase huileuse qui contient l'huile essentielle mélangée au dichlorométhane.



**Figure 20** : Présentation de la phase de décantation ( **photo prise par AMIRI** )

- La phase huileuse qui contient l'huile essentielle mélangée au dichlorométhane est récupérée dans un ballon de 500 ml



**Figure 21** : Récupération de la phase huileuse dans un ballon de 500 ml  
(photo prise par AMICHI )

### III.7.3. Séparation

Cette phase représente la dernière étape, dans laquelle le mélange est mis dans un Rotavapeur a une température de 40 °C, favorisant ainsi l'évaporation du dichlorométhane qui sera condensé par un réfrigérant et récupéré dans une ampoule. L'huile essentielle extraite est pesée pour le calcul du rendement puis conservée à froid dans des tubes en verre fermés hermétiquement, enveloppés avec du papier aluminium a une température 4°C (Bailen, 2013).



**Figure 22** : La technique de séparation par Rotavapeur (photo prise  
par AMICHI)

### III.8. Analyse des huiles essentielles

#### III.8.1. Analyses quantitatives

##### III.8.1.1. Rendement

On définit le rendement en huile essentielles (RHE) comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle en gramme (MHE) obtenue après distillations et la masse de matière végétale en gramme (MMV) il est exprimé en pourcentage (%) et donné par la formule suivante :

$$R (\%) = (\text{Masse de l'HE} / \text{Masse du matériel végétal utilisée}) \times 100$$

Masse de l'HE en (g) : Masse de flacon rempli - Masse de flacon vide.

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport de la masse d'HE obtenue et celle du matériel végétal sec à traiter (AFNOr,1982)

#### III.8.2. Analyse qualitative

##### III.8.2.1. Contrôle organoleptique

Consiste à contrôler les caractères organoleptiques de l'HE obtenue :  
Odeur / Couleur / Aspect

##### III.8.2.2. Etude des propriétés physico - chimiques

Afin de déterminer la qualité de notre HE nous avons déterminé un certain nombre de caractères physico- chimiques

##### III.8.2.3. Densité relative D à 20°C

La densité d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C (AFNOR,1994)

$$D_{20}^{20} = \frac{m}{m_0}$$

Ou :

$m$  : La masse en gr de l'huile

$m_0$  : La masse en gr de l'eau distillée

### **III.9. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE**

#### **III.9.1. Méthode de l'aromatogramme (technique en milieu solide)**

##### **III.9.1.1. Principe**

La technique de l'aromatogramme utilise des disques de papier whatman imprégnés d'une concentration donnée de l'huile testée. Ces disques sont déposés à la surface d'une gélose spécifique (Mueller Hinton) coulée en boîtes de Pétri uniformément ensemencée d'une suspension microbienne. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien de l'huile essentielle sur la souche étudiée. Ainsi la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (**Amhis et al., 2001**).

Selon **Erica F ,Soumya Vaish, Robert J** une technique utilisée pour évaluer dans un premier temps l'activité antibactérienne de l'HE .

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HE sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte pétrie

##### **III.9.1.2. Méthode des disques**

Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre. Ces disques sont mis dans un tube a essai stérilisé a l'autoclave puis stockés à une température ambiante. Les disques de papier wattman de 6mm stériles sont déposés à la surface de la gélose ensemencées après avoir été chargés de 15  $\mu$ l d'huile essentiels

#### **III.9.2. Les souches bactériennes testés**

Deux souches (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) ont été choisies pour leur pathogénicités et leurs résistances, les souches proviennent de laboratoire centrale Hassani Abdelkader SBA l'origine de chaque souche sont reportées sur le tableau suivant :

**Tableau 03** : Origines des souches

Souches	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Urine
<i>Escherichia coli</i>	Urine

### III.9.3. Préparation de milieu de culture

La gélose de Muller - Hinton a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de diamètre 90 mm, ces dernières doivent être séchées à une température ambiante avant leur emploi.

**Figure 23** : Préparation de milieu Muller-Hinton dans des boîtes pétri

### III.9.4. Préparation des différentes concentration d'HE

Il s'agit de préparer une solution mère de tween 80 pure pour réaliser les différentes dilutions d'HE

- Diluer 2.5 ml de tween 80 pure dans 90 ml d'eau distillé cette solution sera ensuite stérilisée a 120 C° pendant 15 min
- Dans un volume de 9 ml de cette solution nous ajoutons 1 ml d'HE et l'agitée au vortex le contenu



**Figure 24** : l'agitation au vortex ( photo prise par AMIRI )

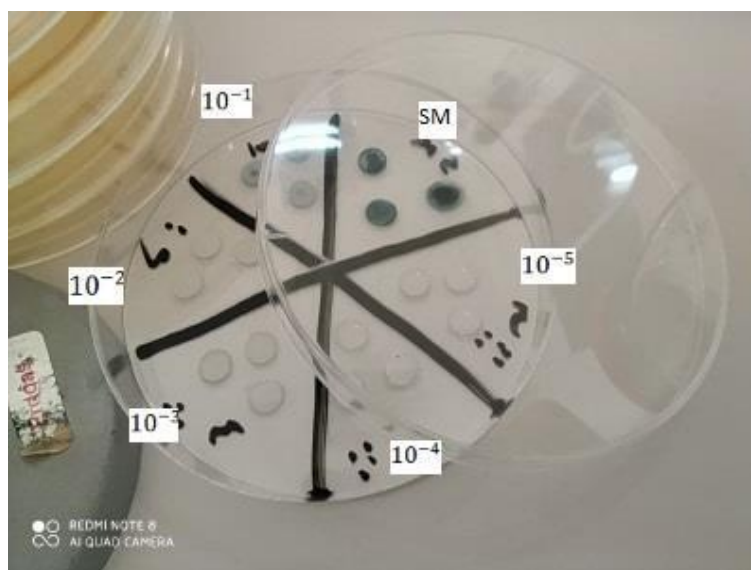
- Afin d'obtenir une solution bien homogénéisée, nous réalisons les dilutions successives allant de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$



**Figure 25** : préparation des différentes concentration d'HE ( photo prise par AMICHI)

### III.9.5. Préparation des disques d'HE de *Artemisia absinthium*

- On a coupé le papier Whatman en disque de 6mm par l'emporte-pièce.
- Ces disques doivent posséder un contour régulier pour donner une zone d'inhibition que l'on peut mesurer facilement.
- Stérilisés à la chaleur sèche et ensuite les plongés dans les différentes concentrations de l'HE
- Les disques sont par la suite séchés pendant 15 minute a une température ambiante



**Figure 26** : Préparation des disques d'HE de *Artemisia absinthium* ( photo prise par AMIRI )

### III.9.6. Préparation des suspensions bactériennes pour les 02 souches

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase de croissance exponentielle

- Racler une colonie bien isolée à l'aide d'une anse de platine
- Décharger l'anse dans un tube contient bouillon nutritif et bien homogénéiser la suspension bactérienne (équivalente de 0.5 Mc Farland)
- Incubation a 37 °C pendant 24 heure

### III.10. Technique d'évaluation de l'activité antibactérienne

#### III.10.1. Evaluation de l'activité de tween 80

Nous avons choisi le tween 80 comme solvant des huiles et nous avons par ailleurs montré son innocuité sur les souches comme suit :

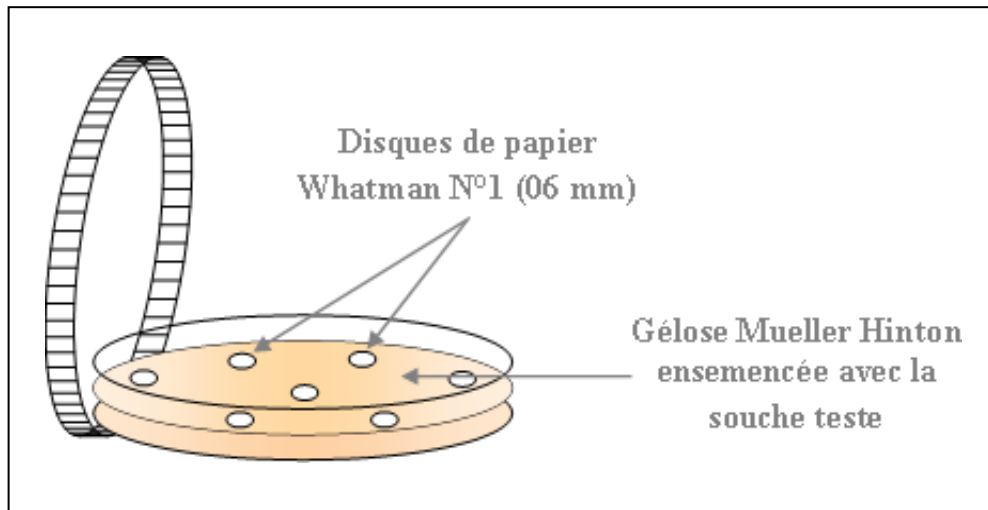
Un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne à  $10^8$ UFC/ml (**Rasooli et Mirmostafa, 2003**) sert à ensemercer des géloses Mueller-Hinton coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre avec une épaisseur d'au moins de 4mm (**Belaiche, 1979**).

Des disques de papier Whatman stériles, déposés sur les géloses de Mueller Hinton préalablementensemencées, sont imprégnés avec 5µl de tween 80 stérile. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le tween 80 ne présente aucune activité antibactérienne.

#### III.10.2. Evaluation de l'activité d'huile essentielles

##### III.10.2.1. La méthode des disques

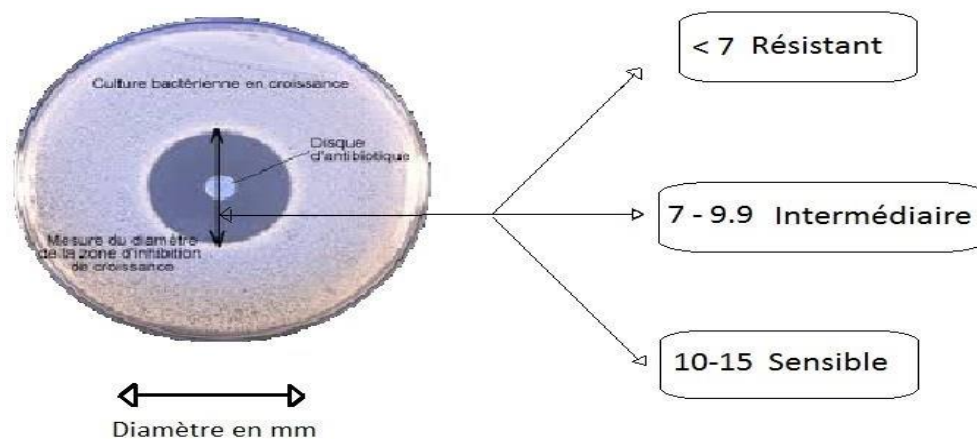
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne incubée.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose.
- Finie l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose
- Laisser sécher à une température ambiante pendant 15 minute.
- Des disques de papier Whatman stérile (diamètre est de 06 mm) sont disposés à égale distance les uns des autres (6 disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose préalablementensemencée par écouvillonnage avec la souche testé (**figure30**)
- Presser chaque disque stérile de l'huile essentielle à l'aide d'une pince stérile sur le milieu afin d'obtenir une bonne adhérence et ne pas déplacer les disques après l'application.
- Incubation à 37°C pendant 24 heure



**Figure 27** : la méthode des disques

### III.10.2.2. Lectures de résultats

Le caractère de sensibilité ou de résistance des souches bactérienne est apprécié en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.



**Figure 28** : présentation de la sensibilité des souches bactériennes

### III.11. Détermination la concentration minimale inhibitrice CMI

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'un antibiotique qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour mesurer in vitro l'activité d'un antibiotique elle s'exprime en mg/l (Fauchère et Avil ,2002 ;Toutain , 2010 ).

Cette technique consiste à préparer une série des tubes contenant le même volume de l'inoculum puis ajouter une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

#### III.11.1. La préparation de l'inoculum 0.5 Mc Farland

- A l'aide de spectrophotomètre réglée à une longueur d'onde 600 nm
- Mettre 4 ml de bouillon nutritif dans la cuve de spectrophotométrie et après cliqué sur Auto zéro
- Racler une colonie bien isolée de chaque souche bactérienne a l'aide d'une anse de platine bien décharger l'anse dans la cuve et ont la place dans le spectrophotomètre ajustée pour avoir une absorbance de 0.08 à 0.1. Équivalente à  $10^8$  UFC/ml.



**Figure 29** : L'ajustement par spectrophotomètre

Cette densité est ajustée en ajoutant du milieu de culture (BN) si elle est trop élevée, ou en incubant davantage les souches si jamais elle est trop faible.

Il est à signaler d'une part que la suspension ajustée devra contenir  $10^8$  UFC /ml (units forming colony /ml) et d'autre part que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne.

### III.11.2. Technique de macro dilution en milieu liquide

1000 $\mu$ L d'huile essentielle supplémenté en Tween 80 sont placés dans un tube contenant 4 ml de l'inoculum à 0.5 Mc Farland, ce qui permet d'obtenir une concentration en huile essentielle de 250 $\mu$ L/ml d'inoculum dans le premier tube. Une dilution en cascade est effectuée à partir du premier tube de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 250 $\mu$ L/ml et 7.8 $\mu$ L/ml. ( 6 tubes ). Les tubes sont incubés à 37°C, pendant 24 heures. Un témoin de la croissance bactérienne, pour lequel l'inoculum standardisé a été déposé dans le milieu BN-Tween 80, est également réalisé.

La CMI de l'huile essentielle testée est déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvue de croissance bactérienne.

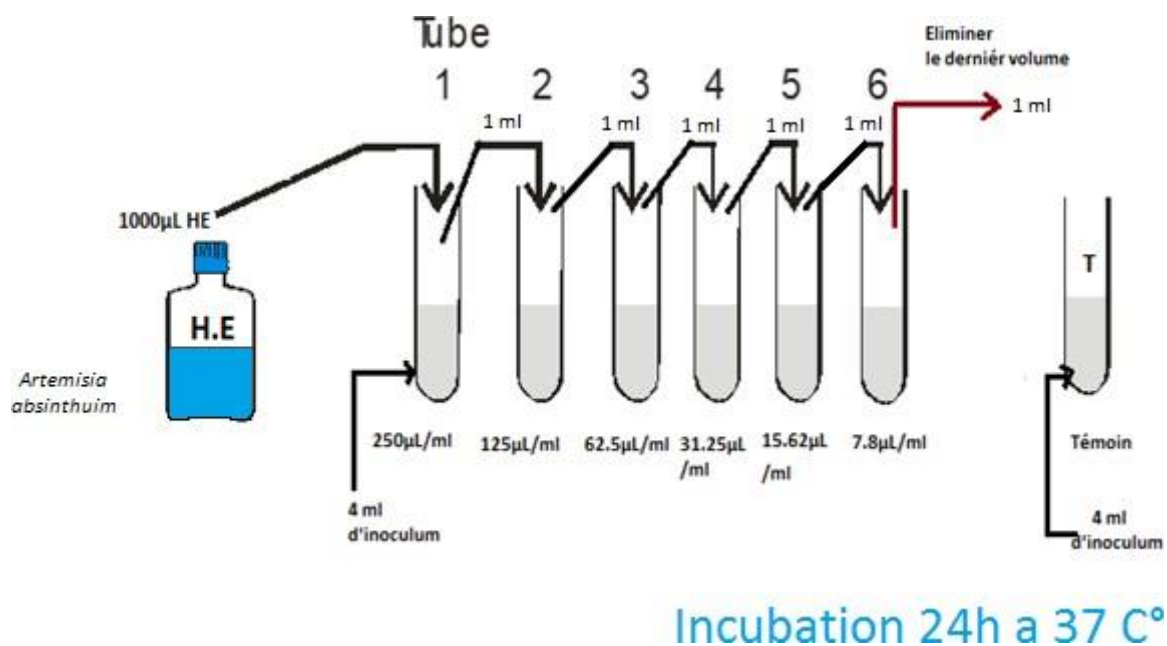
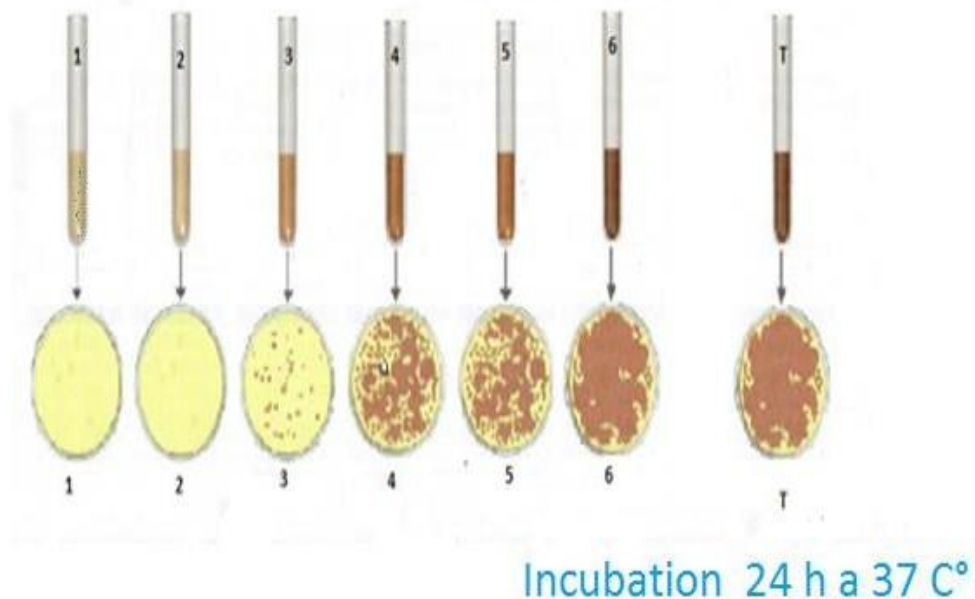


Figure 30 : Méthode de détermination de la CMI

### III.12. Détermination la concentration minimale bactéricide CMB en milieu solide

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99.9% de l'inoculum bactérienne initial (soit de 0.08% de survivant). Elle définit l'effet bactéricide d'une huile essentielle. La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macro dilution en milieu liquide, est utilisée pour déterminer la CMI et la CMB de l'huile essentielle à tester.

Des prélèvements sont effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de croissance bactérienne, puis déposés « en strie » sur gélose MH. Les tubesensemencés sont incubés pendant 24 heures à 37°C.



**Figure 31** : Méthode de détermination CMB.

# Résultats et discussion

# Résultats

## V. Résultat

### V.1. Analyse quantitative

Calcul de rendement en HE *d'Artemisia absinthium*

$$R (\%) = (\text{Masse de l'HE} / \text{Masse du matériel végétal utilisée}) \times 100$$

**Tableau 04** : Rendement d'HE de l'absinthe

R (%) = $M_{HE} / M_{HV} * 100$				
Masse de tube sec	Masse de tube rempli avec l'huile	$M_{HE}$	$M_{HV}$	Rendement (%)
5.34 gr	5.91 gr	0.55 gr	100 gr	0.55 %

$M_{HE}$  = La masse de tube rempli - La masse de tube sec

### V.2. Analyse qualitative

#### V.2.1. Contrôle organoleptique

**Tableau 05** : Caractéristiques organoleptiques d'HE *d'Artemisia absinthium*

Caractéristiques organoleptiques HE <i>d'Artemisia absinthium</i>		
Aspect	Couleur	Odeur
Liquide mobile	Bleu Foncée	Aromatisée et prononcé



**Figure 32** : l'huile essentielle extraire *d'Artemisia absinthium*

### V.2.2. Etude de propriétés physico-chimiques

Détermination de la densité relative :

$$D_{20}^{20} = \frac{m}{m_0}$$

$m$  : la masse en gr de l'huile = 0.55

$m_0$  : la masse en gr de l'eau distillée = 500

$$D_{20}^{20} = 0.55/500 = 0.0011 \text{ g/ml}$$

### V.3. Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne

#### V.3.1. Technique de l'aromatogramme

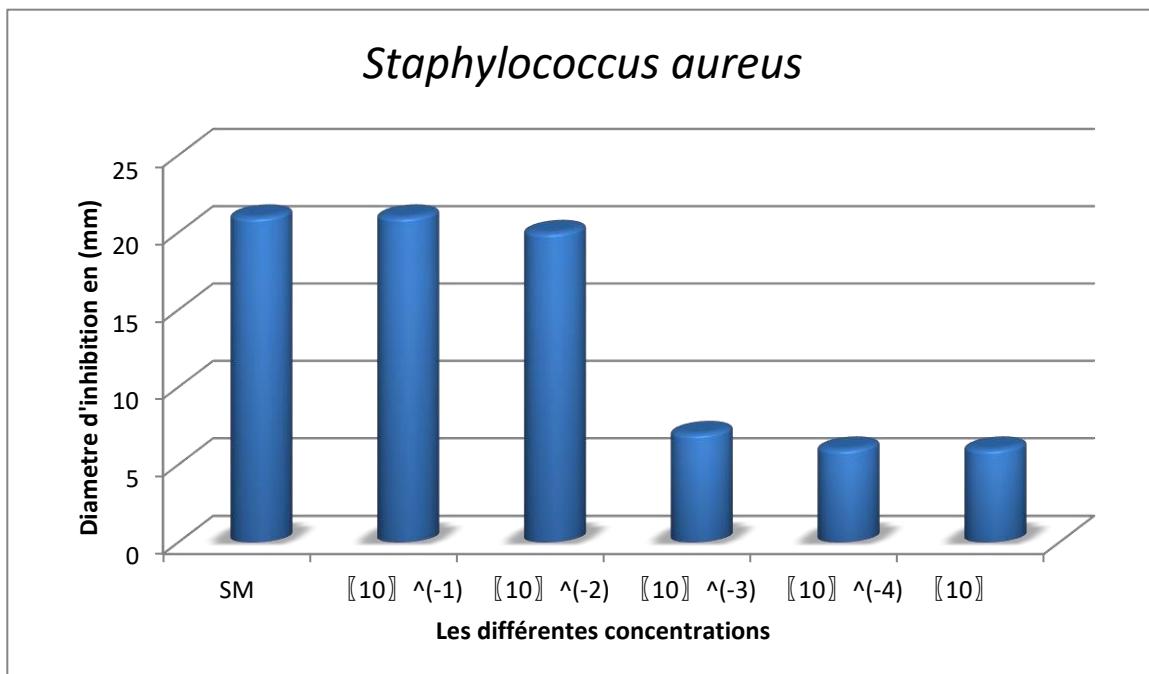
L'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle extraire des feuilles *d'Artemisia absinthium* a été mise en évidence par le test d'aromatogramme vis à vis *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* responsables des infections urinaires

Le tableau suivant indique que l'huile essentielle *d'Artemisia absinthium* possède une activité antimicrobienne qui inhibe la croissance des souches pathogènes responsables des infections urinaires

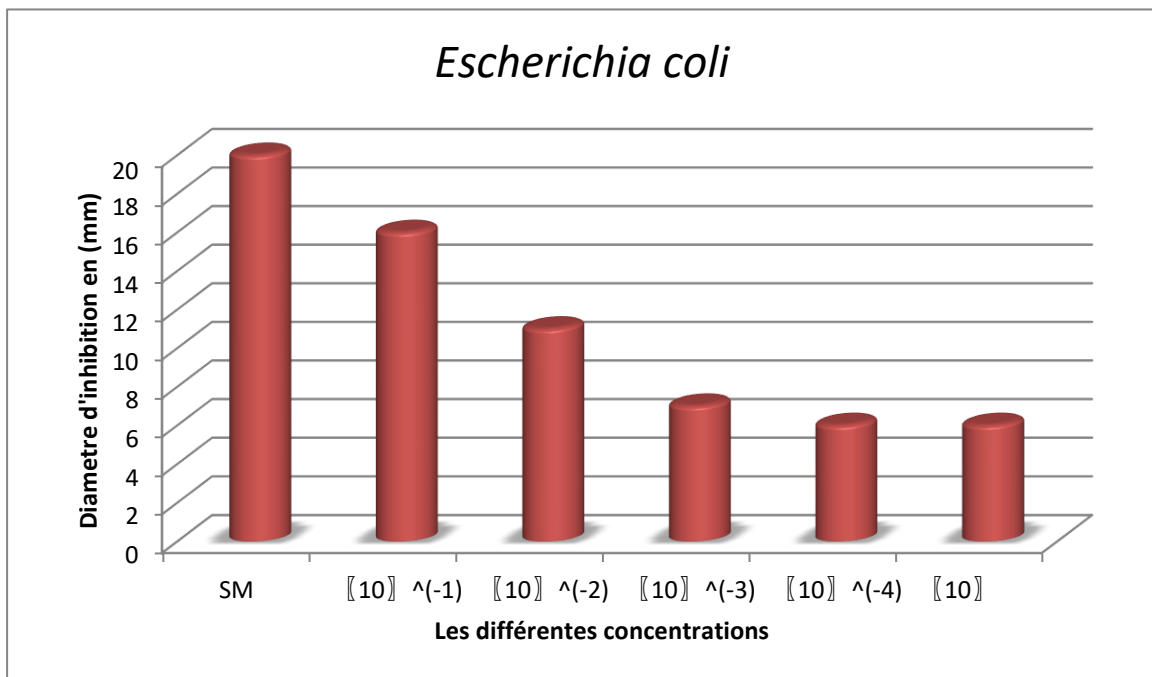
**Tableau 06** : Activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'Artemisia absinthium* vis à vis des souches bactériennes en présence des différentes concentrations

Les dilutions		Diamètre d'inhibition en ( mm )					
		Solution mère	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Souche testé	<i>Staphylococcus aureus</i>	21 mm	21 mm	20 mm	07 mm	06 mm	06 mm
	<i>Escherichia coli</i>	20 mm	16 mm	11 mm	07 mm	06 mm	06 mm

Le teste d'aromatogramme a permis d'illustrer la présence ou l'absence d'une activité antibactérienne.



**Figure 33** : Présentation des résultats d'aromatogramme pour *Staphylococcus aureus*



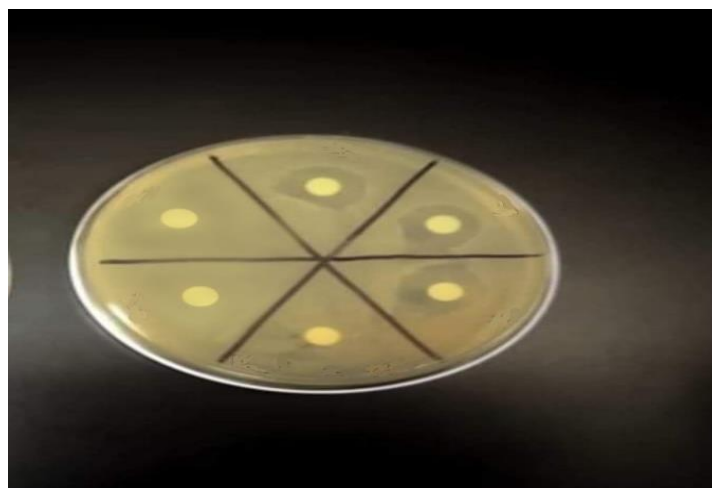
**Figure 34** : Présentation des résultats d'aromatogramme pour *Escherichia coli*

D'après les résultats obtenus on a remarqué que la sensibilité de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* vis à vis de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* augmente avec l'augmentation des doses d'huile utilisé

L'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* a une activité antimicrobienne.



**Figure 35** : Résultat de l'aromatogramme pour *Staphylococcus aureus*



**Figure 36** : Résultat de l'aromatogramme pour *Escherichia coli*

Les Figures montrent que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* présente une sensibilité vis à vis de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* avec des zones d'inhibition de 06 à 21 mm de diamètre, pour *Staphylococcus aureus* et de 06 à 20 mm pour *Escherichia coli*.

### V.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

L'huile essentielles d'*Artemisia absinthium* inhibe le croissance des souches bactériennes utilisée dans cette étude. Afin de mesurer son potentiel d'inhibition on a procédé à des testes de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

**Tableau 07** : Evaluation de CMI de l'HE d'*Artemisia absinthium*

Souche bactérienne	CMI ( $\mu\text{l}.\text{ml}^{-1}$ )
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.62
<i>Escherichia coli</i>	15.62

Les résultats obtenus font apparaitre les microorganismes les plus résistances a l'HE par 15.62  $\mu\text{L}/\text{ml}$  pour *Staphylococcus aureus* et aussi 15.62  $\mu\text{L}/\text{ml}$  pour *Escherichia coli*



**Figure 37** : Résultat de l'évaluation de CMI de l'HE *d'Artemisia absinthium* pour *Staphylococcus aureus*



**Figure 38** : Résultat de l'évaluation de CMI de l'HE *d'Artemisia absinthium* pour *Escherichia coli*

### V.3.3. Détermination de la CMB

**Tableau 08** : Evaluation de CMB de l'HE d'*Artemisia absinthium*

Souche bactérienne	CMB ( $\mu\text{l}.\text{ml}^{-1}$ )
<i>Staphylococcus aureus</i>	250
<i>Escherichia coli</i>	125



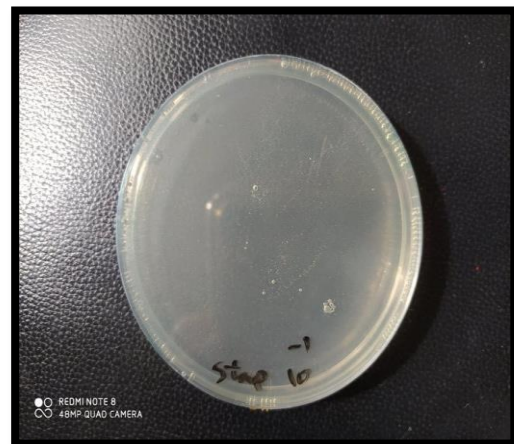
**Figure 39** : Présence de *Escherichia coli* dans le tube témoin



**Figure 40** : Présence de *Staphylococcus aureus* dans le tube témoin



**Figure 41** : Absence de *Escherichia coli* dans le tube 250  $\mu\text{L}/\text{ml}$



**Figure 42** : Absence de *Staphylococcus aureus* dans le tube 250  $\mu\text{L}/\text{ml}$



**Figure 43** : Absence de *Escherichia coli* dans le tube 125  $\mu$ L/ml



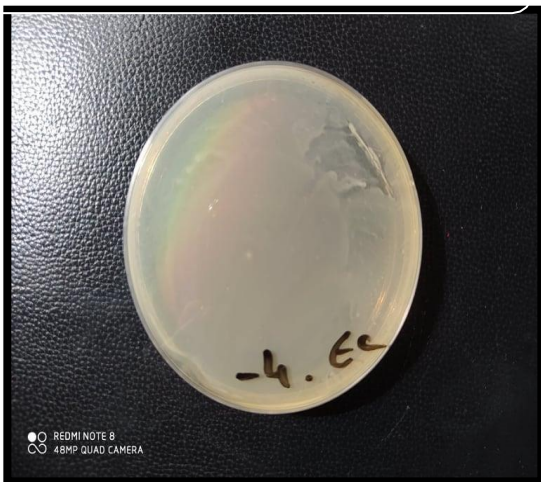
**Figure 44** : Présence de *Staphylococcus aureus* dans le tube 125  $\mu$ L/ml



**Figure 45** : Présence de *Escherichia coli* dans le tube 62.5  $\mu$ L/ml



**Figure 46** : Présence de *Staphylococcus aureus* dans le tube 62.5  $\mu$ L/ml



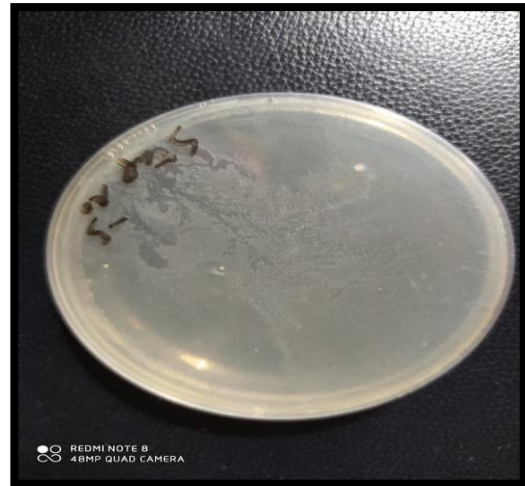
**Figure 47** : Présence de *Escherichia coli* dans le tube 31.25  $\mu$ L/ml



**Figure 48** : Présence de *Staphylococcus aureus* dans le tube 31.25  $\mu$ L/ml



**Figure 49** : Présence de *Escherichia coli* dans le tube 15.62  $\mu$ L/ml



**Figure 50** : Présence de *Staphylococcus aureus* dans le tube 15.62  $\mu$ L/ml



**Figure 51** : Présence de *Escherichia coli* dans le tube 7.8  $\mu$ L/ml



**Figure 52** : Présence de *Staphylococcus aureus* dans le tube 7.8  $\mu$ L/ml

Ces figures illustrent la CMB pour les deux souches étudiées. Les résultats obtenus font apparaître les microorganismes les plus résistants à l'HE représenté par 250  $\mu$ L/ml pour *Staphylococcus aureus* et 150  $\mu$ L/ml pour *Escherichia coli*

# Discussions

## V.4. Discussion

Le résultat obtenu sur le rendement de l'HE *d'Artemisia absinthium* par la technique d'hydrodistillation a donné un rendement de 0.55 % d'huile essentielle

Dans une étude sur le même genre :

- **En Algérie** : (Bouchenak et al., 2018) ont constaté que le rendement moyen en huiles essentielles *d'Artemisia absinthium* (récolté a Tipaza/Algérie ) étaient 0.5 %

- **En Afrique** : (DERWICH et al.,2009 ) au Maroc a obtenu un rendement de 0.5% à 0.57%.

- **International** : ( Lopes et al.,2008 ) au Canada a obtenu un rendement de 0.5% à 0.57%.

Le rendement de HE estimé par ( WEISS et THIEME VERLAG,2001 ) et ( SCHULZ et al.,2004 ) , il a été remarqué que le rendement varient respectivement de 0.25 % a 0.5 % et de 0.3 % a 0.5 % en HE .

Notre résultat est similaire a celui estimé par ( Lopes et al.,2008 ) au Canada et par (DERWICH et al.,2009 ) au Maroc elle a été évaluée respectivement à 0.5% et à 0.57%.

Nos résultat sont inférieur à ceux obtenus par (ORHAN et al., 2010) et par (REZAEINODHI et KHANGHOLI 2008) . le premier auteur a estimé la teneur en HE de cette espèce cueillie en Algérie ( Sétif ) à environ 1.5 %., le deuxième auteur a déterminer un rendement de 1.3% ( Iran ) . et 1.39 % pour l'absinthe récolté en Ethiopie ( Tariku et al.,2011) . Ces résultats représentent presque le triple de ce qu'on a obtenu en teneur .

Les variations des rendements peuvent être attribuées non seulement à l'origine géographique de la plante, mais également aux nombreux facteurs comme : stade de croissance, conditions pédoclimatiques, l'état de fraîcheur du végétal, etc... (Bruneton, 1999)

La densité de HE *d'Artemisia absinthium* est de 0.0011g/ml ce parametre est lié a la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype, le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction ( Tensher et al., 2005)

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'Artemisia absinthium* vis à vis *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* a été évaluée selon trois méthodes : Test d'aromatogramme, test de CMI et CMB

*Staphylococcus aureus* a montré une sensibilité avec des zones d'inhibition allant de 20 mm jusqu'à 21 mm , *Escherichia coli* a montré une sensibilité avec des zones d'inhibition allant de 11 mm jusqu'à 20 mm

D'après les résultats obtenus nous remarquons que les bactéries sont plus sensibles à L'HE

Nos résultats sont comparables aux résultats de (**Sura baykan et al.,2012** ) et ( **Wendakoon c et al.,1995** ) qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'absinthe qui a montré la présence des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

Les valeurs de CMI obtenu ont montré que l'HE possède un pouvoir inhibiteur important sur les bactéries (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) avec un CMI de 15.62 µL/ml. dont la concentration minimale inhibitrice est  $10^{-5}$  qui est révéle capable d'inhiber une croissance visible à l'œil nu .

Le rapport CMB/CMI permet de déterminer le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle lorsque c rapport est inférieur ou égale à 4 on dit que l'extrait est bactéricide et lorsqu' 'il est supérieur à 4 l'extrait est qualifié bactériostatique (**Joubert et al.,1958**)

Le rapport des souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* montre que l'huile essentielles étudiée est bactériostatique

# Conclusion

## Conclusion et perspectives

Le présent travail vise à valoriser une plante médicinale et aromatique très répandue dans le monde et en Algérie connue sous le nom d'absinthe. Notre étude a porté sur l'extraction de l'huile essentielle de cette plante ainsi que leur activité antimicrobienne in Vitro.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation à l'échelle de laboratoire. L'étude nous a permis d'obtenir un rendement de 0.55 % pour une quantité de 100 gr de matière végétale sèche.

Les tests d'activités antimicrobiennes effectués sur l'huile essentielle d'absinthe, ont montré que l'huile essentielle avait des actions de sensibilités inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ces résultats présentent un intérêt concernant l'huile essentielle pour des applications phytosanitaires, comme des procédés de lutte biologique basés sur des substances naturelles afin d'éradiquer les infections d'origine fongique et bactérienne et les utilisations biologiques

Le test d'aromatogramme *Artemisia absinthium* en présence de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* nous a permis de tester plusieurs concentrations.

Les résultats obtenus ont montré une bonne activité antibactérienne de l'huile vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Nos résultats sur l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Sont confirmés par les diamètres d'inhibition à différentes concentrations de l'huile et par des valeurs de la CMI et CMB qui se traduit la capacité de l'huile à d'inhiber la croissance de ce type de bactérie et de combattre son effet.

D'après notre résultat des tests CMI et CMB les plus grandes valeurs d'inhibition sont pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. CMI ( 15.62  $\mu.l.ml^{-1}$ ) et CMB *Staphylococcus aureus* (250  $\mu.l.ml^{-1}$ ) et CMB *Escherichia coli* (125  $\mu.l.ml^{-1}$ )

Ces résultats satisfaisants peuvent nous permettent de continuer à faire d'autre étude in vivo l'ensemble de ces résultats obtenu in vitro constituent qu'une première étape de recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Afin d'avoir une vue plus approfondie

sur les activités intéressantes nous encourage à caractériser les molécules responsables de ces activités par des méthodes chromatographiques. Il serait aussi intéressant d'explorer les activités antioxydante, antifongique, .. etc. de l'huile essentielle de cette plante.

# Référence bibliographiques

## Référence bibliographique

- ❖ **Afssaps. (2008).** Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. *Recommandations de bonne pratique/Médecine et maladie infectieuse.* 203-252.
- ❖ **Ahmad F. A, (1995):** plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe, l'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe. Institution arabe pour les études et publication, p: 2-22.
- ❖ **Ait Miloud K. (2011).** Infections urinaires : expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialistes de Rabat. Thèse de docteur en pharmacie, faculté de médecine et de pharmacie. Université Mohammed V, Rabat, 138 p
- ❖ **Akli B ; M. (2009).** Néphrologie. Ed office des publications universitaires, pp : 29-50. *AKOS.* 7 (2) : 1-6.
- ❖ **Aninch J, Tanagho E. Smith** 12<sup>ème</sup> édition (1991), 207-218.
- ❖ **Anonyme, (1999).** L'ABC des plantes : Guide pratique de la phytothérapie. Marseille : Romart-édition.
- ❖ **Bahourun T, Grzssier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Vasseur J, Cazin M, Cazin J.M, Pinaks M, (1997).** Oxygen species scavenging activity of phenolic preparation. *Arzneimittel- Forschung /Drug Research.* 46 (11), 1086-1089.
- ❖ **Barkely T M, Brouillet L, Strother J L,** « Flora of North America –Asteraceae », Oxford University Press, New York., 2006.
- ❖ **Bassi S. (2013).** Antibiothérapie des infections urinaires du patient médullo lésé
- ❖ **Benayad N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V-Agdal, Maroc, 61.
- ❖ **Berton H. (2001)** Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles. Editions De Borée (Clermont-Ferrand), France : 288
- ❖ **BLAGOJEVIĆ P, RADULOVIĆ N, PALIĆ R, STOJANOVIĆ G.** Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J Agric Food Chem.* 1 juin 2006;54(13):4780-9
- ❖ **Bonacorsi S. (2007).** Examen cytobactériologique des urines (ECBU). *In : Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.* Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson, Paris, 180-183 p.
- ❖ **Bora, K., Sharma, A., (2011).** Evaluation of antioxidant and free-radical scavenging potential of *Artemisia absinthium* L. *Pharmaceut Biol,* 49 (12): 1216-1223. Doi : 10.3109/13880209.2011.578142.
- ❖ **Bouchenak, F., Deghaichia, H., Lamgharibi, A., Benrbiha, F., (2018).** Evaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une Asteracea *Artemisia absinthium* L.. *Agrobiologia,* 8 (1) : 886-895. ISSN : 2170-1652
- ❖ **Boulard G, Ravussin F, (1992) :** Prévention de l'infection urinaire nosocomiale au cours de sondage vésicale. *Ann Fr Anest-Reanim,* 11, 720-723.

- ❖ **Bourry C, (2013).**Prise En Charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie THESE Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, THESE 2013/TOU3/2076.
- ❖ **Bourry C, (2013).**Prise En Charge des douleurs articulaires par aromathérapie
- ❖ **Boyrie , F.R.( 2014)** créer son jardin . Mondala , Les plantes medicinales ( p93) .Dangles.
- ❖ **Bréchet AC, Huttner A, François A, Brandstater H, (2013)** : Infection urinaire service, de medecine de premier recours, HuH, et service de maladies infectieusesHuG.
- ❖ **Bresse G. (1968).** Morphologie et physiologie animale. Ed. Librairie Larousse,
- ❖ **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales .3éme ED.Tec et Doc, Paris. 464-498p.
- ❖ **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales, Tec et Doc, Paris, 1119.
- ❖ **busser, C.e ( 2005;2012)** . dico santé des plantes des vosges médecine et traditions populaires p: 46 .la Nuée bleue / DNA strasbourg
- ❖ **Caillet, Lacroix. (2009).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en science appliquées a l'alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier.
- ❖ **Capuzzo, A ,Maffei , M. E ., & Occhipinti , A.(2013).** supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances Molecules,18(6),7194-7238
- ❖ **Chafai N. (2008).** Les infections urinaires à l'hôpital Militaire Avicenne deMarrakech. Thèse de doctorat, faculté de médecine et de pharmacie. UniversitéMohamed V, Rabat, 160 p.
- ❖ **Chami. (2005).** Oregano and clove essential oil induce surface.
- ❖ **Champtier D. (2001),** Infection de l'appareil urinaire :Impact internat Janvier,1998 :139-141-18.
- ❖ **Chantale P ;Jil C.**servier medical, 14TExamens14T 14TUro-néphro14T19T,19T 2016 Récap. IDE : Fourni par 14TBlogger14T
- ❖ **Chartier E.**Infections urinaires (Généralités).Med-Line, 2ème édition, 2001,31-36.
- ❖ **CHIALVA F, LIDDLE P, DOGLIA G.** Chemotaxonomy of wormwood (Artemisia absinthum L.). Z Für Lebensm-Unters Forsch. 1 sept 1983;176(5):363-6. Classification Pharmacological biochemical Effects and Therapeutic Potential, Indian Journal of Pharmacology.33, 2-16. clinique, M.Sc, pharm D. BCPS,Vol 36, N°5, p1-10
- ❖ **Conférence de consensus co-organisée par la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et l'Association Française d'Urologie (AFU)** ; infections urinaires nosocomiales ; Paris : institut pasteur ; Novembre 2002.
- ❖ **Cothelineau X, Volloncién G, (2000).**Troubles urinaire de l'adulte. Masson, Paris.
- ❖ **Daniel J.G. Thinion. David Williamson,(2003)** les infection urinaire, une approche
- ❖ **Danièle , F,(2015).** Ma bible des huiles essentielles . Paris : leduc
- ❖ **Dayan F., Cantrell C.L., et Duke S.O. (2009).** Natural products in crop protection. Bioorganic & medicinal chemistry, 17(12), 4022-4034.

- ❖ **De Billerbeck K.V.G., Roques C., Vanière P., et Marquier P. (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène*, 10(3), 248-251. de l'infirmière – Urologie/Néohrologie. 2<sup>ème</sup> Ed. Malonie, France, 127 p.
- ❖ **Decaux,I, (2002)** phytothérapie : mode d'emploi. 6-7
- ❖ **Delmas V, Bremond G, Douard R, Dupont S, Latremouille C, Pirro N, Yiou R.2008.**Ed Elsevier Masson. 62 rue Camille-Desmoulins 92442 Issy-les-Moulineaux Cedex. P: 229.
- ❖ **Derbé B, Saighi D (2004).** Urologie. Paris : P 94-97
- ❖ **Derwiche E., Benziane Z and Boukir A. (2009).** Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* species : *Artemisia Herba-Alba*, *Artemisia Absinthium* and *Artemisia Pontica* (Morocco) *EJEAF Che*, 8 (11):1202 – 1211. diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales, Paris, 356 p.
- ❖ **Douham S, Nil R, (2012) :** les infections urinaires, l'examen cytobactériologique des urines.
- ❖ **Dracke R, Wayne V, Adam W, Mitchel.** 2006, *grays anatomie pour les étudiants*. P: 417.
- ❖ **Drusano G.L. (1991).** Human pharmacodynamics of beta-lactams, aminoglycosides, and their combinations. *Scand J Infect Dis*. 74: 48-235.
- ❖ **Duarte M.C.T., Fingueira G.M., Sartoratto., Rehder V.L.G and Delarmelina C.(2005).** Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 305-311.
- ❖ **DuraffourdC,(1997).** *Traité de phytothérapie clinique* Masson. Paris :27.
- ❖ **Eilenberg E. (2005).** Analyse terminologique de définitions données à l'infection nosocomiale et proposition d'une définition. *Méd Inter*. 26 : 572-577.
- ❖ **Eline, 2008,** *biologie humaine*. 8<sup>ème</sup> édition. Canada, p 7-544-
- ❖ **Elqaj M, Ahami A, et Belghyti D, (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc
- ❖ **Emeline A (2015).** Les infections urinaires communautaires bactériennes : évaluation des connaissances de l'équipe officinale et des conseils apportés aux patients. Thèse de doctorat ESscience en pharmacie, université de Lorraine : P 7,11, 12.
- ❖ **Erowid.** The debate about wormwood and thujone psychoactivity [Internet]. The vaults of Erowid. 2008 [cité 8 avr 2019]. Disponible sur: [https://erowid.org/plants/wormwood/wormwood\\_article1.shtml](https://erowid.org/plants/wormwood/wormwood_article1.shtml) Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora* . *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *comptes rendus chimie* 7(10),1039-1042.
- ❖ **Farnsworth N. R, Akerele O, Bingel A S, Soejarto D D. et Guo Z, (1986) :** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de L'organisation mondiale de la santé*, 64 (2) : 159-164. flavonoïdes fondamclin, pharmacol des publications universitaires.p6.

- ❖ **Flèche C., 2012**, Décodage biologique immunité, hématologie, andrologie et urologie ; le Souffle d'Or ISBN 978 2 84058 434 6.
- ❖ **Gahbiche S, (2009)**. Certificat Thalassothérapie, La Phytothérapie, Ecole Supérieure Des Sciences Et Techniques De La Santé De Sousse.
- ❖ **Gavazzi G., et Krause KH., (2002)**. Ageing and infection. *Lancet Infect Dis.* 2 :
- ❖ **Gonthier R., 2000**, Infection de sujet âge gériatrie, 25 :95-103, Paris.
- ❖ **Goud, B.J., Swamy, B.C., (2015)**. A review on history, controversy, traditional use, ethnobotany. Phytochemistry and pharmacology of *Artemisia absinthium* L.inn. International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences 4:77-107. www.garph.co.uk.
- ❖ **Gougous A, 2005**. Physiologie des reins et des liquides corporels. Ed Multi mondes ; pp : 67-69.
- ❖ **Guibert J. (1992)**. Infections urinaires de la ménopause. *L'Euribiologiste.* 26 : 37-9.
- ❖ **Guinoiseau E. (2010)**. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse de Doctorat, Université de Corse, 114.
- ❖ **Gurib-Fakim A, (2006)**. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of Tomorrow, Molecular Aspects of Medicine 27, 1-93.
- ❖ **GUIGNARD. J. LOUIS. P.M**, Abrégé de botanique, ..5ème Edition. 1983.
- ❖ **Iserin P, Masson M et Restellin J. P, (2007)**. Larousse des plantes médicinales, Identification, préparation, Soins, Larousse, PP14
- ❖ **Iserin, (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales ( Identification, préparation , soins ) Paris Larousse Ed 2001 :p66
- ❖ **Isman M.B. (2000)**. Plant essential oils for pest ans disease management. Crop protection, 19(8), 603-608.
- ❖ **Joly B. et Reynaud A. (2002)**. Entérobactéries : Systématique et méthodes de
- ❖ **K. Ghédira et P. Goetz**, « *Artemisia absinthium* L. : absinthe (Asteraceae) », Phytothérapie, vol. 14, no 2, p. 125-129, avr. 2016.
- ❖ **Kanko, C., Sawaliho B.E.H., Kone S., Koukoua, G & N'Guessan, Y.T (2004)**
- ❖ **Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J. et Chaumont J.P.(2004)**. Activités antimicrobienne d'huile essentielle de trios *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germe pathogène d'animaux de compagnie. Ann. Méd. Vét. 148 : 202-206
- ❖ **Joubert TL., Chambon P., Gattefosse M., 1958**. Détermination du pouvoir bactériostatique et bactéricide des essences pures et mélanges ; Bull. Tech. Gatte. 56 : 7-16
- ❖ **Kurita, Koike. (1982)**. Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. Agric. Biol. Chem., p 46-159-165.
- ❖ **Lachenmeier, D.W., (2010)**. Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) A curious plant with both neurotoxic and neuroprotective properties, Journal of Ethnopharmacology, 131(1): 224-227. Doi : 10.1016/j.jep.2010.05.062
- ❖ **Lacombre M. (2005)**. Précis d'anatomie et de physiologie humaine. 28ème Ed.

- ❖ **Lahlou M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research*, 18(6), 435-448.
- ❖ **Larousse des plantes médicinales, 2011**
- ❖ **Lamamra M. (2007).** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire de magister en sciences biologiques. 8-17 p.
- ❖ **LAMARTI A, SADKI I, BADO A, DEFFIEUX G.** Obtention par culture in vitro de clones d'Absinthe, *Artemisia absinthium* L., dénués de thuyone. *Bull Société Pharm Bordx.* 1996;(135):25-43. Lammare, France, 395 p. Lammare, France, 421 p.
- ❖ **Leduc C. Coonishish J, H. c,(2006)** Plantes used by Cree nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for treatment of diabetes. A novel approach in quantitative ethnobotany, 105, 55-63
- ❖ **Lee et al, (2003).** Tissue injury reactive oxygen's peroxides and the protective effect of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol*. 17(6):611-616.
- ❖ **Leila K, (2005).** Université de Sfax Institut Supérieur de Biotechnologie de Santé
- ❖ **Leroy H. et Tattevin P. (2012).** Infections urinaires. *EMC - Traité Médecine*
- ❖ **Liu, T., Wu, H., Wu, H., & Zhang, J. (2019).** Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) as a promising nematocidal and antifungal agent: Chemical composition, comparison of extraction techniques and bioassay-guided isolation. *Industrial Crops and Products*, 133: 295-303. Doi: 10.1016/j.indcrop.2019.03.039.
- ❖ **Lobel B. et Soussy C. (2007).** Les infections urinaires. Ed. Springer, Paris, 238 p.
- ❖ **Lopes-Lutz D., Alviano D.S., Alviano C.S. and Kolodziejczyk P.P. (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*; 69 (8) :1732-1738. Lyon, 132 p.
- ❖ **Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M. A., Ansaroudi, F., Nabavi, S.F., Nabavi, S. M., (2009).** Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *African Journal of Biotechnology*, 8 (24): 7170-7175. Doi : 10.5897/AJB09.753.
- ❖ **Mapola G. (2003).** Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E.citriodora* acclimaté à Point-Noire (Congo-Brazzaville). Mémoire de diplôme d'étude approfondie en chimie et technologie alimentaire. Université Marien Ngouabi. 5-9p.
- ❖ **Marrhich B (2008).** Les antibiotiques utilisés dans les infections urinaires. thèse de doctorat ES science en pharmacie, université Cheikh Anta Diop de Dakar : p 2425
- ❖ **Martine Butreau-Lemaire et Botto Henry, (1999).** Infections urinaires nosocomiales, *Progrès en Urologie* (1997), 7, 674-682.
- ❖ **Meyrier A, (1998).** Maladies rénales de l'adulte. Edition Berti, Bailliére, Paris. Caron F. Diagnostic bactériologique et antibiothérapie des infections urinaires. *La Rev du Prat*, 53, 2003, 222-30.
- ❖ **Misra, K Dhillon, G S., Brar, S K., & Verma M. (2014).** Antioxidants. In *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals* (pp 117-138). Springer New York

- ❖ **MOUAKITE N.** Étude de 3 plantes à huile essentielle contenant de la thuyone: absinthe, sauge, thuya [Thèse d'exercice]. [France]: Université de Caen. UFR des sciences pharmaceutiques; 1986
- ❖ **Nadia Z, (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale). Université Mentouri Constantine.
- ❖ **Nadia Z, (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale). Université Mentouri Constantine.
- ❖ **Narayana K.R, Reddy M.S, Chaluvadi M.R, Krischna D.R, (2001).** Bioflavonoid.
- ❖ **Newman et al, (2000).** La grande Encyclopédie du Maroc : Flore et végétation 10<sup>ème</sup> Journée Internationales HE, Digne- Les Bains 5-6-7 Sept. PP 28.
- ❖ **Nguyen S.H. et Bourouina R. (2008).** Manuel d'anatomie et de physiologie. Ed.
- ❖ **Nguyen, H. T., Radácsi, P., Gosztola, B., & Németh, É. Z., (2018).** Effects of temperature and light intensity on morphological and phytochemical characters and antioxidant potential of wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 79: 1-7. Doi: 10.1016/j.bse.2018.03.005.
- ❖ **Nguyen, H.T., Németh, Z.É., (2016).** Sources of variability of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(4): 143-150. Doi: 10.1016/j.jarmap.2016.07.005.
- ❖ **Omar A. R, Mohamed El haykle M, (1993).** plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installations connaissances D'Alexandrie, p: 13-134. ou cebro-lese : impact d'une démarche qualité sur les pratiques professionnelles.
- ❖ **P. et Cornud F. (2012).** Imagerie des infections urinaires basses. *Journal de Radiologie Diagnostique et interventionnelle*. 93: 530-538. Paris, 1056 p. phytothérapie THESE Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, THESE
- ❖ **Pierre Lieutaghi,(1996).**Le Livre Des Bonnes Herbes Actes Sur 517p
- ❖ **Pierre M., Lis .M (2007)** Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463
- ❖ **Pourcine F. (2010).** Néphrologie. Ed. Vernazobres, Slovénie, 126 p.
- ❖ **Prudhomme C., Jeanmougin C. et Geldreich M.A. (2010).** Mémento de stage
- ❖ **Raynal, (2016).** Les défenses de l'organisme mettent en jeu des processus variés se déroulant au niveau cellulaires et basés sur les molécules portées à la surface des cellules.
- ❖ **Rozzi N.L., Phippen , W ., Simon , J.E., & Singh, R.K.(2002)** supercritical fluid extraction of essential oil components from lemon-scented botanicals *LWT-Food science and technology* ,35(4) , 319-324
- ❖ **Schull A., Monzani K., Bour L., Barry-Delongchamps., Beuvon F., Legmann Sebe P., Traxer O., Lechevallier E. et Saussine C. (2008).** Anatomie morphologique

de la voie excrétrice supérieure intrarénale: considérations anatomiques appliquées à l'endo-urologie. *Progrès en urologie*. 18: 837-840.

- ❖ **Selles C. (2012)**. Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans  $H_2SO_4$  0.5M. Thèse de doctorat en sciences physiques. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 30-45p.
- ❖ **Seven Mice SARL**; Médecine et santé anatomie du corps humain illustration et explication ; 2008.
- ❖ **Sofowera A. (2010)** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris: 384
- ❖ **Suetens C, Morales I, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Lepape A, Gastmeier P, Schmit JC, Valinteliene R, Fabry J.** European surveillance of ICU acquired infections (HELICS-ICU): methods and main results. *J Hosp Infect* 2007; 65 Suppl 2:171-3.
- ❖ **Svoboda K.P, Hampson J. B, (1999)**. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department SAC Auchincruive, Ayr Scotland, UK, KA6 5HW.
- ❖ **Tariku, Y., Hymete, A., Hailu, A., Rohloff, J. (2011)**. In vitro Evaluation of Antileishmanial Activity and Toxicity of Essential Oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho*. *Chemistry & Biodiversity*, 8(4) : 614-623. Doi : 10.1002/cbdv.201000331.
- ❖ **Tariq, K., Chishti, M., Ahmad, F., Shawl, A., (2008)**. Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* L. against ovine nematodes. *Veterinary Parasitology*, 160 (2009) : 83-88. Doi : 10.1016/j.vetpar.2008.10.084.
- ❖ **Tattevin P., 2003**, maladies infectieuses, Ellipses Edition Marketing S.A, ISBN : 2-7298-1497-3. Thèse de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie. Université. Claude Bernard,
- ❖ **Traore Y. N. (2012)**. Etude des lithiases de l'appareil urinaire dans le service d'urologie du CHU du point « G » : A propos de 100 cas. Thèse de docteur en médecine, faculté de médecine et d'odontostomatologie. Université des Sciences, des Techniques et des Technologie, Bamako, 125 p.
- ❖ **Valnet J. (2000)**. Aromathérapie. Ed. Maloine S. A. alteration of *saccharomyces cerevisiae*. *Phytother. Res.* 19(5), 405-
- ❖ **Verdrager, J, (1978)**. Ces médicaments qui nous viennent des plantes : ou les plantes médicinales dans les traitements modernes. Paris Maloine S.A éditeur ; pp : 12-15.
- ❖ **Wild Wood C.** l'aromathérapie les bienfaits des HE en quotidien Paris, Ed 1996 : p12,15,19.
- ❖ **Zamahoun C. (2005)**. Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire – Hubert Koutoukou Maga (C.N.H.U.H.K.M.) de Cotonou (A propos de 231 souches bactériennes isolées du 1er Avril au 31 Juillet

2004).Thèse de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, médecine et d'odontostomatologie.Université. Bamako, Mali, 107p.

**Site web :**(01) [https://www.viamichelin.fr/web/Cartes-plans/Carte\\_plan-Ras\\_El\\_Ma-Sidi\\_Bel\\_Abbes-Algerie](https://www.viamichelin.fr/web/Cartes-plans/Carte_plan-Ras_El_Ma-Sidi_Bel_Abbes-Algerie)

123RF. (2005). Récupéré sur 123RF:  
[https://fr.123rf.com/photo\\_61091253\\_d%C3%A9finir-des-%C3%A9pices-des-herbes-et-des-plantes-officinale-ic%C3%B4nes-plantes-m%C3%A9dicinales-les-plantes-m%C3%A9dicinales-des-.html?fbclid=IwAR1w5i5eQOmEM1M0G-FCJ3Bamkg6ssl4UzbMhHccUcw6TGeAuvdY7geo](https://fr.123rf.com/photo_61091253_d%C3%A9finir-des-%C3%A9pices-des-herbes-et-des-plantes-officinale-ic%C3%B4nes-plantes-m%C3%A9dicinales-les-plantes-m%C3%A9dicinales-des-.html?fbclid=IwAR1w5i5eQOmEM1M0G-FCJ3Bamkg6ssl4UzbMhHccUcw6TGeAuvdY7geo)

# Annexe

## Annexe 01 : Milieux de culture

### 1. Milieu de Chapman

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	1 g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....	10 g
Chlorure de sodium.....	75 g
Mannitol.....	10 g
Agar.....	15 g
Rouge de phénol.....	0,025 g

pH=7,6

**Préparation** : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

### 2. Milieu Hektoen

Protéase-peptone .....	12,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Lactose.....	12,0 g
Saccharose.....	12,0 g
Salicine.....	2,0 g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5 g
Sels biliaire.....	9,0 g
Fuschine acide.....	0,1 g
Bleu de bromothymole.....	0,065 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Agar.....	13,0 g

pH = 7.5

### 3. Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17.5 g
Amidon de maïs.....	1.5 g
Agar.....	10.0 g

pH= 7.4

**Préparation** : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15min.