

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université De Blida -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Laboratoire de biotechnologie, environnement et santé, Blida.

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de
MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie

Thème

Diagnostic bactériologique des infections urinaires et étude de
l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la menthe verte
« *Mentha spicata* » sur quelques souches isolées.

Réalisé par :

M^{lle}. YKRELEF Roumaïssa

Soutenu le : 11/07/2019

Devant le Jury composé de :

Mme. MEKLAT A.	M.C.A	Univ. de Blida 1	Présidente
Mme. DEBIB A.	M.C.A	Univ. de Blida 1	Examinatrice
Mme. BOKRETA S.	M.A.A.	Univ. de Blida 1	Promotrice

Année Universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Allah le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage pour accomplir ce travail et dépasser toutes les difficultés.

J'exprime toute ma reconnaissance à Mme MEKLAT Atika, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury, et pour le temps qu'elle a bien voulu consacré pour ce mémoire.

Je remercie Mme DEBIB Aicha pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

A ma promotrice Mme Bokreta Soumeya qui a fournie des efforts énormes par ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de m'apporter tout au long de ce travail.

Je remercie également tout le personnel du laboratoire d'hygiène de Blida et le laboratoire de chimie de l'école normale supérieure, plus particulièrement à Mr TEFAHID et Mr FERHAT.A pour leurs assistance et de m'avoir guidé lors de la réalisation de ce travail.

J'exprime ma gratitude aux enseignants de l'université de Saad Dahlab de Blida 1, qui ont assurés notre formation durant ces cinq dernières années.

A ma famille, mes amies qui par leurs amour, soutient et encouragement ce travail a pu être accompli.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire, de près ou de loin.

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail à toutes les personnes qui me sont chères :

A mon très cher Papa, décédé trop tôt, avant même de pouvoir lui remercier pour le sacrifice et l'amour qu'il m'a apporté, que ce travail soit le témoignage de mes pensées indéfectibles a ton mémoire.

A celle qui a donnée sens a mon existence, qui m'a soutenue et m'a encouragée durant ces années d'études, vos prières m'ont été d'un grand secours pour mener a bien ce travail.

A mes frères et sœurs, pour leurs encouragement permanents et leurs soutient moral.

A l'homme de ma vie, mon précieux offre du dieu, pour sa patience et de m'avoir tenu la main jusqu'à la dernière ligne de ce mémoire.

A ma meilleure amie Ouassila, mes nièces et mes neveux pour tous les moments sympathiques qu'on passe ensemble.

A ma promotrice madame Soumeya Bokreta, votre gentillesse, votre patience et disponibilité qui ont constituées un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

A toute la promotion de Microbiologie.

A tous ceux qui ont été à mes côtés de près ou de loin.

Résumé

Les infections urinaires constituent un problème majeur de santé publique et un motif fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante. L'objectif de notre étude est d'une part d'étudier le profil bactériologique et la sensibilité aux antibiotiques des bactéries responsables des infections urinaires au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida, et d'autre part de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du *Mentha spicata* sur les souches isolées.

Sur l'ensemble des 151 prélèvements analysés, la prévalence des infections urinaires est de 22.5% (34/151). Nos résultats montrent que l'infection urinaire est plus fréquente chez la femme que l'homme (73.6% vs 26.4%, $p=0.0001$) et elle est moins fréquentes chez les enfants (44.1%) que chez les adultes (55.9%). Les tests bactériologiques ont révélé que sur 34 souches isolées responsables d'infection urinaire 28 étaient des *Enterobacteriaceae* soit une fréquence de 82.3%. Les principaux germes isolés ont été *Escherichia coli* (58.8%), *Proteus mirabilis* (14.7%), *Staphylococcus aureus* (11.8%), *Serratia marcescens* (8.8%) et *Pseudomonas aeruginosa* (5.9%).

La gentamicine, l'aztreonam, l'amoxicilline + acide clavulanique, Cefalexine et Cefotaxime ont été les antibiotiques les plus actifs sur les différentes souches bactériennes isolées. En revanche, le profil de résistance de ces souches bactériennes a montré que le niveau de résistance aux antibiotiques devient plus élevé pour certains d'entre eux, notamment l'ampicilline, l'amoxicilline et la ticarcilline + acide clavulanique.

Nos résultats montrent que l'huile essentielle de *Mentha spicata* possède une activité antibactérienne moyenne vis-à-vis de toutes les souches testées dont le diamètre des zones d'inhibition oscille entre 10 et 18 mm. Le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu avec *S. aureus* et *P. mirabilis* (18 mm) et le plus faible avec *P. aeruginosa* (10 mm). Les concentrations minimales inhibitrices obtenues de l'HE de *M. spicata* varient de 0,25 à 0,5 ($\mu\text{l/ml}$) pour les bactéries testées.

Mots clés : Infection urinaire ; Bactéries; Antibiogramme; *Mentha spicata*, Huile essentielle, Activité antibactérienne.

Abstract

Urinary tract infections are a major public health problem and a frequent reason for consultation and medical prescription in routine practice. The objective of our study is firstly to study the bacteriological profile and the antibiotic sensitivity of the bacteria responsible for urinary infections at Blida's hygiene laboratory, and secondly to evaluate the antibacterial activity of the essential oil of *Mentha spicata* on the isolated strains.

Of the 151 urine samples tested, the prevalence of urinary tract infections is 22.5% (34/151). Our results show that urinary tract infection is more common in women than in men (73.6% vs. 26.4%, $p = 0.0001$) and is less common in children (44.1%) than in adults (55.9%). Bacteriological tests revealed that out of 34 isolated strains responsible for urinary tract infection 28 were *Enterobacteriaceae* with a frequency of 82.3%. The main isolated germs were *Escherichia coli* (58.8%), *Proteus mirabilis* (14.7%), *Staphylococcus aureus* (11.8%), *Serratia marcescens* (8.8%) and *Pseudomonas aeruginosa* (5.9%).

Gentamicin, aztreonam, amoxicillin + clavulanic acid, cefalexin and cefotaxime were the most active antibiotics on the different bacterial strains isolated. However, the resistance profile of these bacterial strains has shown that the level of antibiotic resistance becomes higher for some of them, especially for ampicillin, amoxicillin and ticarcillin + clavulanic acid.

Our results show that the essential oil of *Mentha spicata* exhibited moderate level of antibacterial activity against all strains tested, the diameter of the zones of inhibition were between 10 and 18 mm. The highest inhibition diameter is obtained with *S. aureus* and *P. mirabilis* (18 mm) and the lowest with *P. aeruginosa* (10 mm). The minimal inhibitory concentrations obtained from *M. spicata* EO range from 0.25 to 0.5 ($\mu\text{l/ml}$) for the bacteria tested.

Keywords: Urinary infection; bacteria; antibiogram; *Mentha spicata*, essential oil, antibacterial activity.

الملخص

تعد التهابات المسالك البولية مشكلة رئيسية للصحة العامة، وسببا متكررا للفحص و الوصف الطبي في الممارسة الروتينية. الهدف من دراستنا هو ، من ناحية ، دراسة المظهر البكتريولوجي وحساسية البكتيريا المسؤولة عن الالتهابات البولية للمضادات الحيوية على مستوى مخبر النظافة في البلدة ، ومن ناحية أخرى لتسليط الضوء على النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي من النعناع على السلالات المعزولة.

من بين 151 عينة التي تم اختبارها ، بلغ معدل انتشار التهابات المسالك البولية 22.5% (151/34). تظهر نتائجنا أن عدوى المسالك البولية أكثر شيوعاً لدى النساء منها عند الرجال (73.6% مقابل 26.4% ، ع = 0.0001) وأقل شيوعاً عند الأطفال (44.1%) عنها عند البالغين (55.9%). وكشفت الاختبارات البكتريولوجية أن 34 من السلالات المعزولة المسؤولة عن التهاب المسالك البولية 28 كانت معوية بنسبة 82.3%. حيث تمثلت الجراثيم المنعزلة في

Escherichia coli (%58.8), *Proteus mirabilis* (%14.7), *Staphylococcus aureus* (%11.8),
Serratia marcescens (%8.8) et *Pseudomonas aeruginosa* (%5.9)

كانت الجنتاميسين ، والأزيترونام ، وأموكسيسيلين + حمض كلافولانيك ، وسيفالكسين ، وسيفوتاكسيم المضادات الحيوية الأكثر نشاطاً على البكتيرية المعزولة. من ناحية أخرى ، أظهرت دراسة مقاومة هذه السلالات البكتيرية أن مستوى مقاومة المضادات الحيوية يصبح أعلى بالنسبة لبعضها ، خاصة بالنسبة للأمبيسيلين ، الأموكسيسيلين ، وحامض تيكارسيلين + كلافولانيك.

تظهر نتائجنا أن الزيت الأساسي لديه نشاط متوسط مضاد للبكتيريا فيما يتعلق بجميع السلالات التي تم اختبارها ، حيث تراوحت نسبة قطر تثبيط نمو البكتيريا بين 10 و 18 ملم.

و قدر القطر الأكبر (18م) *S. aureus* et *P. mirabilis*

و الأصغر (10م) *P. aeruginosa*

تراوحت نسب التراكيز الأدنى للزيت الأساسي ما بين 0,25 و 0,5 (ميكروليتر / مليلتر) للبكتيريا التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية: التهاب المسالك البولية ، البكتيريا ، اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية ، النعناع ، زيت أساسي ، نشاط مضاد للجراثيم.

Liste des figures

Figure 01 : Anatomie de l'appareil urinaire.....	03
Figure 02 : Facteurs d'uropathogénicité chez <i>Escherichia coli</i>	08
Figure 03 : <i>Mentha spicata L</i>	11
Figure 04 : Fleur de <i>Mentha spicata L</i>	12
Figure 05 : Schéma du montage de l'hydrodistillation.....	16
Figure 06 : Schéma d'un dispositif d'entraînement à la vapeur.....	17
Figure 07 : Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles.....	18
Figure 08 : Labstix urinaire.....	22
Figure 09 : Schéma de l'examen cytot bactériologique des urines avec ces différentes étapes	24
Figure 10 : Schéma d'un dispositif Clevenger.....	34
Figure 11 : Illustration de la méthode de l'aromatogramme.....	35
Figure 12 : Taux de prévalence de l'infection urinaire.....	37
Figure 13 : Répartition des cas d'IU selon le sexe.....	38
Figure 14 : Répartition des cas d'IU selon l'âge.....	38
Figure 15 : Les différents aspects macroscopiques de l'urine.....	39
Figure 16 : Répartition des germes identifiés selon la coloration de Gram.....	41
Figure 17 : Répartition des germes identifiés.....	42
Figure 18 : Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i>	43
Figure 19 : Antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i>	44
Figure 20 : Antibiogramme de <i>Serratia marcescens</i>	44
Figure 21 : Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
Figure 22 : Antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figure 23 : Activité antibactérienne « dose-dépendante » de l'HE de <i>Mentha spicata</i> en aromatogramme.....	49

Liste des tableaux

Tableau I : Antibiothérapie empirique et durée totale de l'antibiothérapie.....	10
Tableau II : Taxonomie de <i>Mentha spicata</i> L.....	11
Tableau III : Composition biochimique de <i>Mentha spicata</i> L. Algérienne.....	12
Tableau IV : Paramètres analysés par les bandelettes urinaires et leur temps de lecture.....	23
Tableau V : Caractéristiques de la population de l'étude.....	37
Tableau VI : La leucocyturie et la nitriturie selon les bandelettes urinaires.....	39
Tableau VII : Nombre des éléments indicateurs d'une infection urinaire.....	41
Tableau VIII : Propriétés organoleptiques de l'HE de <i>Mentha spicata</i>	46
Tableau IX : Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> ..	48
Tableau X : Concentration minimales inhibitrices de l'HE de <i>Mentha spicata</i>	49

Liste des abréviations

Afssaps : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

IU : Infection urinaire.

IST : Infection sexuellement transmissible.

BGN : Bactérie à Gram négatif.

CGP : Cocci à Gram positif.

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines.

HE : Huile essentielle.

SPILF : Société de pathologie de langue française.

TSI : Triple Sugar Iron.

VP : Vosges-Proskauer

RM : Rouge de méthyle.

TDA : tryptophane désaminase.

NR : Nitrate réductase.

LDC : Lysine décarboxylase.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ADH : Arginine dihydrolase.

pH : potentiel Hydrogène.

CIT : Citrate de Simmons.

GEL : Gélatinase.

URE : Urée.

IND : Indole tryptophanase.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute.

ATB : Antibiotique.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

AMP : Ampicilline.

AMX : Amoxicilline.

AMC : Amoxicilline + acide clavunonique.

TCC : Ticarcilline + acide clavunonique.

CN : Cefalexine.

CX : Cefoxitine.

CTX : Cefotaxime.

CTR : Ceftriaxone.

CAZ : Ceftazidime.

GEN : Gentamicine.

AT : Aztreonem.

E : Erythromycine.

NOR : Norfloxacin.

VA : Vancomycine.

K : Kanamycine.

C : Chloramphenicol.

TE : Tetracycline.

Sommaire

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.1. Généralités sur les infections urinaires.....	3
I.1.1.Rappel sur l'appareil urinaire.....	3
I.1.2.Définition des infections urinaires.....	4
I.1.3.Epidémiologie.....	4
I.1.4.Physiopathologie d'infections urinaires.....	4
I.1.4.1.Voie ascendante.....	5
I.1.4.2.Voie descendante.....	5
I.1.5.Classification des infections urinaires.....	5
I.1.5.1. Infection urinaire simple.....	5
I.1.5.2.Infection urinaire compliqué.....	5
I.1.6.Types d'infections urinaires.....	6
I.1.6.1.Cystite.....	6
I.1.6.2.Urétrite.....	6
I.1.6.3.Pyélonéphrite.....	6
I.1.6.4.Prostatite.....	7
I.1.7.Facteurs favorisant l'infection urinaire.....	7
I.1.7.1.Facteurs liés à l'hôte.....	7
I.1.7.2.Facteurs liés à la bactérie.....	7
I.1.8.Principaux Agents étiologiques.....	8

I.1.9. Antibiothérapie curative des infections urinaires.....	9
I.2. Monographie de <i>Mentha spicata</i>	10
I.2.1. Généralités.....	10
I.2.2. Systématique.....	11
I.2.3. Description botanique.....	11
I.2.4. Composition chimique.....	12
I.2.5. Utilisation.....	12
I.2.5.1. Usage thérapeutique.....	13
I.2.5.2. Usage dans l'industrie.....	13
I.2.5.3. Usage alimentaire.....	13
I.2.6. Activités biologiques.....	13
I.2.6.1. Activité antimicrobienne.....	13
I.2.6.2. Activité antioxydante.....	14
I.2.6.3. Activité insecticide.....	14
I.3. Généralités sur les huiles essentielles.....	14
I.3.1. Définition.....	14
I.3.2. Composition chimique.....	14
I.3.2.1. Terpènes.....	14
I.3.2.2. Les composés aromatiques.....	15
I.3.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	15
I.3.4. Activité biologique des huiles essentielles.....	17
I.3.5. Activité antimicrobienne et mode d'action.....	18

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	20
II.1.1. Matériel biologie.....	20
II.1.2. Matériel non biologique.....	21
II.2. Méthodes.....	21
II.2.1. Analyse bactériologique des urines.....	21
A. Prélèvement des urines.....	21
B. Chimie des urines.....	21
C. Examen cyto bactériologique des urines.....	23
C.1. Examen macroscopique.....	24

C.2. Examen microscopique.....	24
C.2.1. Examen qualitatif.....	24
C.2.2.Examen quantitatif.....	25
C.3. Examen bactériologique.....	25
C.3.1. Ensemencement des urines.....	25
C.3.2. Identification des souches bactériennes.....	26
C.3.2.1. Etude des caractères morphologiques.....	26
C.3.2.2. Recherche des caractères biochimiques.....	27
C.3.2.3. Galerie Api 20 E.....	31
C.3.2.4. Antibiogramme.....	32
II.2.2. Etude de l'activité antibactérienne de <i>Mentha spicata</i> sur les bactéries isolées.....	33
A. Extraction de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> par hydrodistillation.....	33
B. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle.....	34
C. Calcul du rendement en huile essentielle.....	34
D. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	35
D.1. Technique d'aromatogramme.....	35
D.2. La méthode de dilution en milieu gélosé.....	36

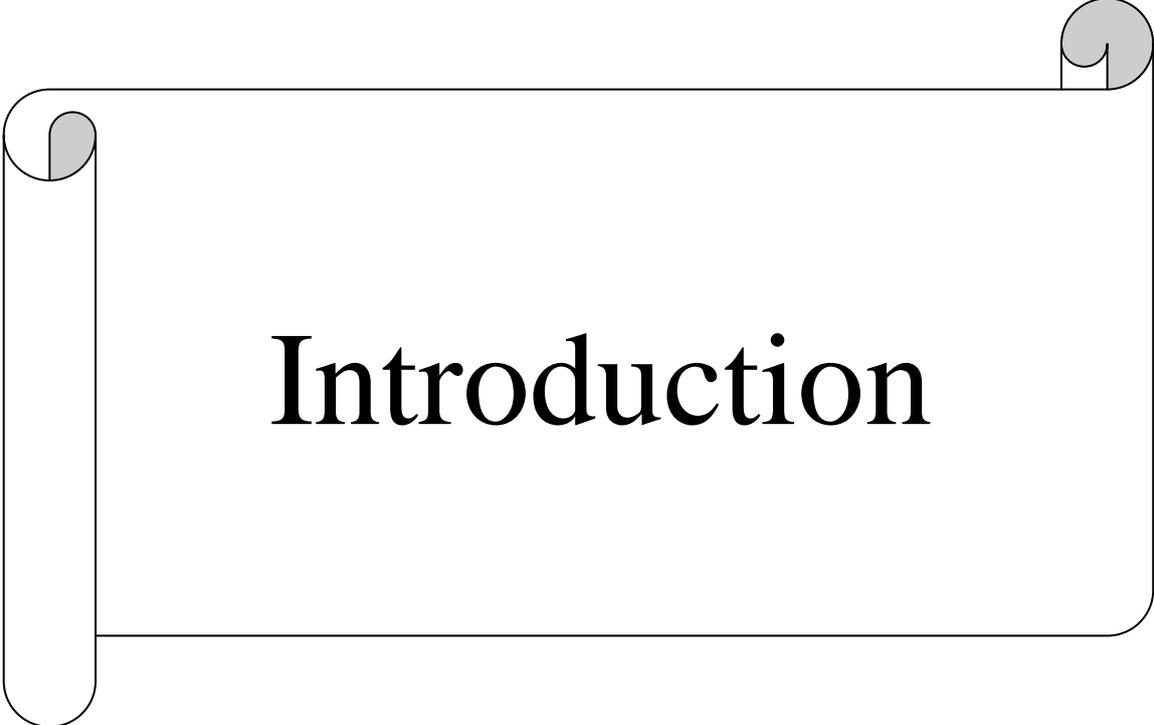
Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Résultats.....	37
III.1.1.Description de la population étudiée.....	37
III.1.2.Caractéristiques des patients atteints d'infection urinaire.....	37
III.1.2.1.Répartition des cas d'infection urinaire selon le sexe.....	38
III.1.2.2.Répartition des cas d'infection urinaire selon l'âge.....	38
III.1.3.Résultats de l'analyse chimique des urines.....	39
III.1.4.Résultats de l'examen cyto bactériologique des urines.....	39

III.1.4.1.Aspect macroscopique des urines.....	39
III.1.4.2.Examen microscopique.....	40
A. A l'état frais.....	40
B. Coloration de Gram.....	41
III.1.4.3.Examen microbiologique.....	41
A. Examen macroscopique d'uroculture.....	41
B. Identification biochimique.....	41
III.1.5.Résultats bactériologiques.....	42
III.1.5.1.Profil bactériologique des infections urinaires.....	42
III.1.5.2. Etude de la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques.....	43
III.1.6. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	46
III.1.6.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	46
III.1.6.2. Rendement de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	46
III.1.6.3. Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	47
III.1.6.4. Résultats de la concentration minimale inhibitrice.....	49
III.2. Discussion.....	50
Conclusion	55

Références bibliographiques

Annexes.



Introduction

Introduction

L'infection urinaire (IU) est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes, tant en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier (**Curns et al., 2005**). Depuis des années, les infections urinaires constituent un vrai problème de santé publique avec une extrême fréquence (environ 150 millions cas par an). Elle vient en deuxième position après les infections respiratoires. Elles se rencontrent chez l'enfant, l'adulte et le vieillard, dans les deux sexes. Elles occupent une place importante parmi les motifs de consultation et de prescription d'antibiotique (**Stamm et Norrby, 2001**).

Les infections urinaires sont causées par la prolifération anormale d'agents infectieux dans le système urinaire (reins, uretères, vessie, l'urètre) (**Kenkouo, 2008**), elles peuvent être asymptomatique de l'urine et symptomatique avec inflammation des structures de l'arbre urinaire (**Kouta, 2009**). L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU) est l'examen clé pour le diagnostic de certitude de l'IU. Il repose sur l'isolement et l'identification des microorganismes responsables et la détermination de la sensibilité ou la résistance de ces germes aux antibiotiques (**Darbas et al., 2007**).

L'infection urinaire est un facteur majeur de résistance aux antibiotiques, car les médicaments antimicrobiens sont souvent prescrits empiriquement (**Larabi et al., 2003 ; Sekhsoukh et al., 2008 ; Bouzenoune et al., 2009**). De plus, au cours des dernières décennies, l'utilisation excessive et parfois inadéquate des antibiotiques à large spectre, a conduit à l'émergence et à la multiplication de bactéries résistantes aux antibiotiques. Or, la résistance bactérienne aux antibiotiques ce qui constitue une menace pour l'avenir entraînant des choix thérapeutiques de plus en plus limités (**Paloazzi et al., 2015**). De ce fait, divers stratégies de recherche ont été mises en œuvre afin de garantir dans le futur la disponibilité d'antibiotiques efficaces (**Islam et al., 2008**).

Parmi les sources prometteuses de molécules bioactives, les plantes médicinales. Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité (**Didier et al., 2011**).

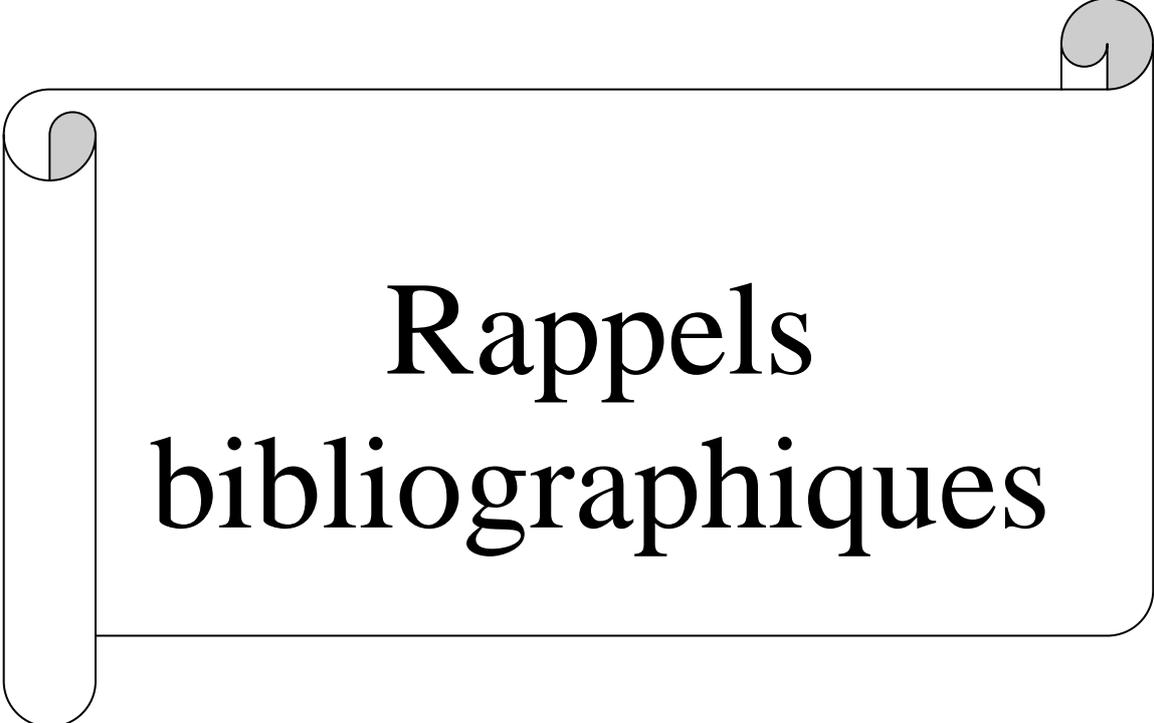
Ainsi, les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Mebarki, 2010**). Elles font l'objet de multiples études (**Boukhatem et al., 2014 ; Bardaweel et al., 2017 ; Dhifi et al., 2016 ; Jantapan et**

al., 2017 ; Horváth et Koščová., 2017 ; Guimarães *et al.*, 2014 ; Pereira *et al.*, 2019) pour leur éventuelle utilisation comme alternative dans le traitement des maladies infectieuses.

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques des plantes aromatiques. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques (Bérubé-Gagnon, 2006). C'est pourquoi, dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à étudier *Mentha spicata*, une plante très fréquemment employée dans le pourtour méditerranéen.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est orienté vers :

- L'isolement et l'identification des souches bactériennes responsables des infections urinaires au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida.
- La détermination du profil de la sensibilité des différentes souches isolées vis-à-vis divers antibiotiques.
- L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les souches isolées.



Rappels bibliographiques

I.1. GENERALITES SUR LES INFECTIONS URINAIRES

I.1.1. Rappel sur l'appareil urinaire

L'anatomie du système urinaire est très simple. Cet organe est constitué des reins, des uretères, de la vessie, de l'urètre et de l'orifice urinaire (**Figure 01**). Les reins filtrent et épurent le sang pour fabriquer l'urine qui s'écoule via les uretères dans la vessie (**Lacombe, 2005**).

La principale fonction de l'appareil urinaire est la fabrication et l'élimination de l'urine afin de permettre l'évacuation des déchets de l'organisme, tel que l'urée et la créatinine, et le maintien de l'équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique du corps. Comme il possède également des fonctions endocrines qui participent à la régulation de la pression artérielle par la sécrétion d'une hormone appelée la rénine angiotensine. La stimulation de la fabrication des globules rouges par la sécrétion d'une hormone spécifique c'est l'érythropoïétine. Une autre fonction, c'est la métabolisation des os par l'activation de la vitamine D, qui intervient dans la régulation du métabolisme phosphocalcique en favorisant l'absorption intestinale du calcium et du phosphore (**Lacombe, 2005**).

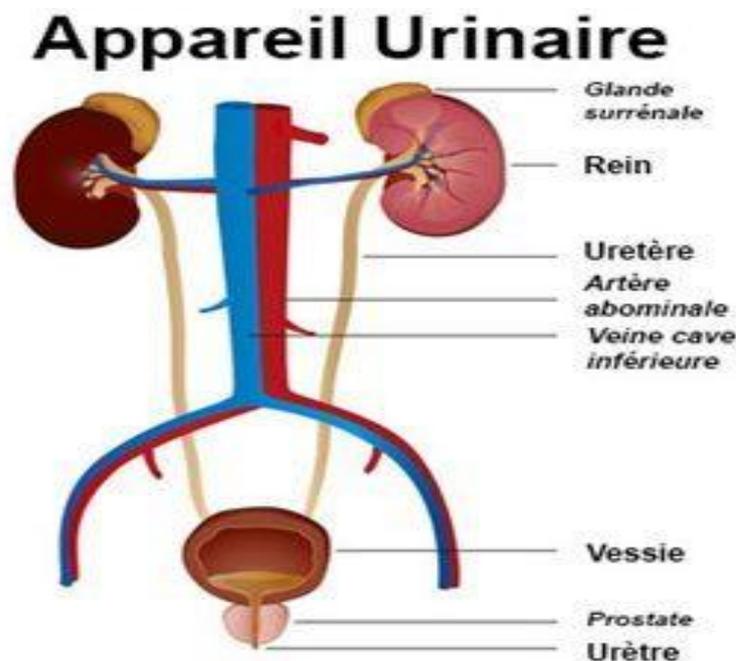


Figure 01 : Anatomie de l'appareil urinaire (**Nicole, 2006**)

Les voies urinaires sont le foyer le plus fréquent des infections, comparées aux autres sites d'infections hospitalières ou non. Ces Infections peuvent se produire des les premiers jours de la vie jusqu'à l'âge avance (**Abalikumwe, 2004**).

I.1.2. Définition des infections urinaires

L'infection urinaire est définie par une multiplication microbienne au sein des voies urinaires, associée à une réaction inflammatoire locale. Les bactéries et les cellules de l'inflammation se retrouvent dans les urines qui sont normalement stériles et témoignent alors d'un processus infectieux (**François et al., 2013**).

Elle peut être localisée dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite,) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite) (**François et al., 2013**). Elle peut être aigue ou chronique, elle peut aussi être asymptomatique et ne se manifester que par une bactériurie. Les symptômes peuvent être la fièvre, la dysurie, les douleurs lombaires etc. (**Abalikumwe, 2004**). On admet que la bactériurie est positive quand elle est supérieure ou égale à 10^5 CFU/ml d'urines mises en culture (**Lobel et Soussy, 2007**); leucocytes à plus de 10^3 leucocytes/ml (**Belarmain, 2011**).

I.1.3. Epidémiologie

L'infection urinaire est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes. En milieu hospitalier, elle représente la deuxième infection en importance après les infections respiratoires (**Stamm et Norrby, 2001**). La survenu d'une infection urinaire varie en fonction de l'âge et du sexe. De façon générale et toutes catégories d'âges confondues, les femmes sont plus à risque de développer une infection urinaire et plus particulièrement les jeunes femmes sexuellement actives (**Thirion et Williamson, 2003**). Chez l'homme, la fréquence augmente après la cinquantaine (en termes de pathologie prostatique) (**Bouguenec, 2003**). Chez la population pédiatrique, elle est plus fréquente chez les garçons au-dessous de l'âge de 3 mois et plus fréquente chez les filles au-dessus de l'âge de 1 an. 1/3 des cas d'infection urinaire chez l'enfant est liée à une malformation des voies urinaires (**Afssaps, 2007 ; Mohammedi, 2013**).

I.1.4. Physiopathologie d'infections urinaires

L'infection urinaire peut se produire selon deux modalités physiopathologiques : l'infection par voie ascendante et l'infection par voie descendante (**Lobel et al., 2007**).

I.1.4.1. Voie ascendante

La pénétration des germes se fait le plus souvent par voie ascendante canalaire. L'urètre, bien que colonisée par une flore multiple, est le premier obstacle à l'inoculation des bactéries intra-vésicale. Les germes le plus souvent saprophytes vont donc remonter jusque dans la vessie puis dans le haut appareil urinaire du fait de la baisse des défenses de l'hôte et de la présence de facteurs favorisants. On distingue les infections urinaires spontanées à partir de la flore périnéale et les infections iatrogènes liées à la pose de sonde urinaire ou à un examen endovésicale (Alan, 2015).

I.1.4.2. Voie descendante (hématogène)

C'est la plus rare. Elle concerne essentiellement des états pathologiques particuliers : septicémie, bactériémie. La voie hématogène est limitée à certaines bactéries : les staphylocoques, les salmonelles et les candidas (Anglaret et Mortier, 2003).

Dans la plupart des cas, l'infection urinaire (IU) se fait par voie ascendante. Les facteurs favorisants sont les suivants : mauvaise hygiène périnéale, urètre féminin court, phimosis, infection prépuçiale, présence d'oxyures etc. Une stase urinaire provoquée par des mictions rares ou incomplètes peut transformer une contamination bactérienne transitoire en une infection bactérienne vraie. Les bactéries responsables d'IU font partie de la flore fécale normale, la colonisation péri-urétrale apparaissant comme une étape nécessaire à la survenue de l'infection (Belarmain, 2011).

I.1.5. Classification des infections urinaires

On peut classer les infections urinaires en deux classes :

I.1.5.1. Infection urinaire simple

Ce type d'infection urinaire est identifié chez un patient qui ne présente pas des facteurs de risque, un individu normal n'ayant aucune maladie associée, aucune anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire (Afssaps, 2008).

I.1.5.2. Infection urinaire compliqué

Il s'agit d'une infection urinaire survenant chez un patient ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe (Afssaps, 2008). Elle touche surtout les femmes enceintes, les patients récemment opérés, les personnes

atteintes d'infection nosocomiale, du diabète, d'immunosuppression et d'insuffisance rénale (**Mondor, 2004**).

I.1.6. Types d'infections urinaires

Selon la localisation de l'infection, on distingue quatre types d'infections urinaires :

I.1.6.1. Cystite

Une cystite est une inflammation aiguë ou chronique de la vessie. Elle se caractérise par des brûlures mictionnelles, d'une pollakiurie (augmentation de la fréquence des urines), d'une dysurie et d'urine trouble (**Debré *et al.*, 1992 ; Anglaret et Mortier. 2003**). La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli*, qui sont nombreuses aux environs de l'anus. Les bactéries passent de la région vulvaire à la vessie en remontant l'urètre. Tout ce qui gêne la vidange de la vessie augmente le risque de cystite (**Kenkouo, 2008**).

I.1.6.2. Urétrite

L'urétrite touche uniquement l'urètre. Il s'agit d'une Infection Sexuellement Transmissible (IST) principalement masculine (**Bally et Troillet, 2008**). Elle se manifeste par des brûlures mictionnelles avec dysurie, un prurit et un écoulement urétral. Différents agents infectieux peuvent être en cause, les plus communs sont la *Chlamydia* et le *Gonocoque*. (**Kenkouo, 2008**)

I.1.6.3. Pyélonéphrite

La pyélonéphrite est une infection bactérienne des voies urinaires hautes et du parenchyme rénal, touchant donc le bassinet (pyélite) et le parenchyme rénal (néphrite), compliquant ou s'associant à une infection des voies urinaires basses (**Drai *et al.*, 2012**). La contamination des voies urinaires se fait par voie ascendante à partir des flores digestive, génitale et cutanée. Les germes les plus fréquemment rencontrés sont des BGN types entérobactéries, *Escherichia coli* en tête (**Audenet et Bruyere, 2014**).

La pyélonéphrite s'accompagne généralement de fièvre avec des frissons, des douleurs lombaires souvent unilatérale, des douleurs abdominales et d'urine trouble (**Kenkouo, 2008 ; Anglaret et Mortier. 2003**).

I.1.6.4. Prostatite

La prostatite est une infection aigüe ou chronique de la prostate. Elle est fréquente affectant les hommes de tout âge, avec une fréquence particulière chez les jeunes adultes (**Wainsten, 2012**). Elle entraîne de la fièvre, des brûlures mictionnelles avec une pollakiurie et une impériosité, d'une dysurie, et des douleurs pelviennes (**Smith, 2011**). La plupart des prostatites bactériennes aiguës sont occasionnées par une infection urétrale ascendante. Un reflux d'urine dans les canaux prostatiques et éjaculateurs permet ensuite l'entrée de microorganismes dans la prostate (**Smith, 2011**).

I.1.7. Facteurs favorisant l'infection urinaire

La pathogenèse des infections urinaires s'explique par différents facteurs relatifs à l'hôte et aux agents infectieux (**Regnault, 2002**).

I.1.7.1. Facteurs liés à l'hôte : (**Lobel et Soussy, 2007 ; Bamba, 2003 ; Anglaret et Mortier, 2003**).

- **Âge avancé** : Sont incriminées l'incontinence, les dysfonctionnements mictionnels et le sondage urinaire.
- **Sexe féminin** : L'urètre féminin est court (3-4 centimètres) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale ; par opposition, l'urètre masculin est long de 20 centimètres environ et est moins exposé aux infections.
- **Facteurs anatomiques** : L'anomalie anatomiques ou fonctionnelles de l'appareil urinaire (tumeurs, lithiase, reflux vésico-urétéral, diverticules vésicaux), le phénomène de stase urinaire.
- **Facteurs comportementaux** : Mauvaise hygiène périnéale, Rapports sexuels fréquents et récents, mictions peu nombreuses, boissons insuffisantes.
- **Facteurs liés au terrain** : Diabète (présence de glucose dans l'urine), Sondage urinaire, Infections gynécologiques, Constipation, Insuffisance rénale, Immunodépression, Ménopause.

I.1.7.2. Facteur liés à la bactérie

Le pouvoir pathogène d'une bactérie est sa capacité à provoquer des troubles chez un hôte. Il dépend de son pouvoir invasif (capacité à se multiplier), et de son pouvoir toxicogène

(capacité à produire des toxines). Certaines souches sont plus virulentes que d'autres car elles adhèrent plus fortement à la muqueuse urothéliale et ne sont pas chassées par le flux urinaire (Laville et Xavier, 2003).

Dans les infections urinaires causées par les souches d'*E.coli*, qui ont des caractéristiques spécifiques qui contribuent à leur Pathogénicité, ces bactéries ont une affinité élevée pour les cellules uroépithéliales liée à la présence des protéines filamenteuses appelées fimbriae, ou pili (Figure 02) (Belarmain, 2011).

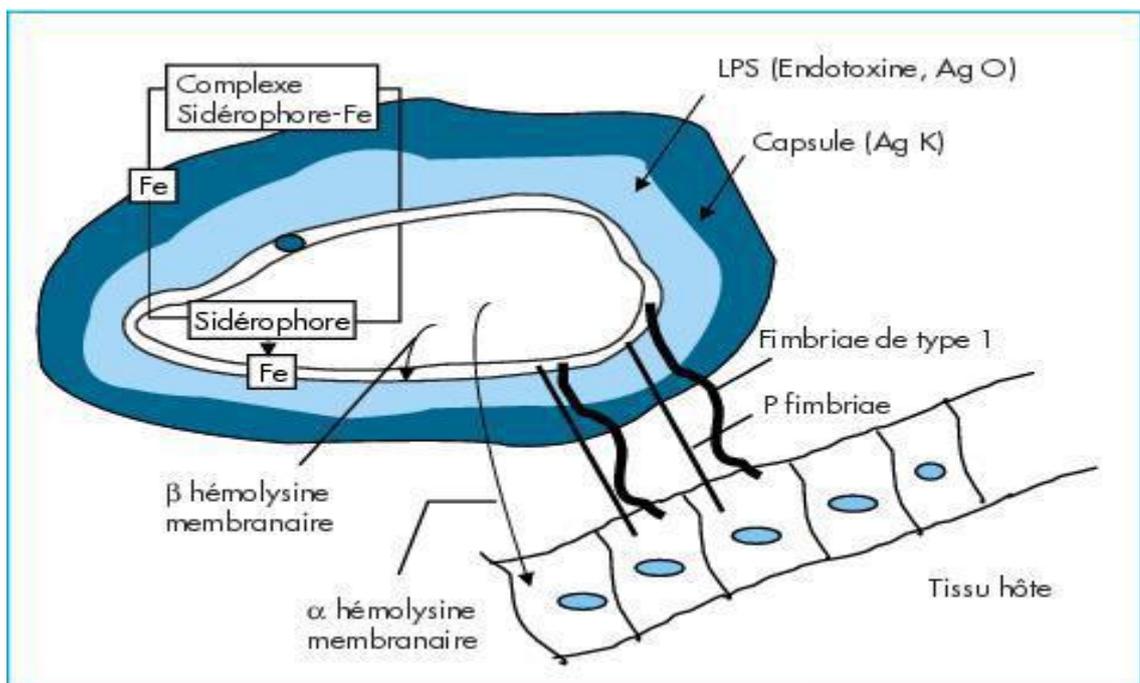


Figure 02 : Facteurs d'uro-pathogénicité chez *Escherichia coli*. (Mariani, 2014)

I.1.8. Principaux Agents étiologiques

De nombreux micro-organismes peuvent infecter les voies urinaires, mais les plus rencontrés dans les urines infectées sont :

Les bacilles à Gram négatif (BGN) : *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* et *Klebsiella pneumoniae*.

Les Cocci à Gram positif (CGP) : staphylocoques (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*), streptocoques (*Streptococcus spp*), mais aussi certains entérocoques (*Enterococcus faecalis*).

Levures : principalement *Candida spp*.

Dans les infections urinaires simples ou compliquées, *Escherichia coli* représente la bactérie la plus souvent isolée quel que soit l'âge et le sexe du patient (Yombi et Marot,

2015). Dans l'infection urinaire simple, *E. Coli* représente 80 % à 90 % des germes alors que, dans l'infection urinaire compliquée, il reste à 50 % mais avec l'apparition d'autres germes (**Yombi et marot, 2015**). *Proteus mirabilis* arrive en deuxième position avec 5 à 10 % des cas, puis on trouve de façon plus rare les germes suivants : *Klebsielles* (4 à 8 %), *Entérocoque* (2 à 4 %), *Pyocyanique*, *Staphylocoque*, *Citobacter* (**Belarmain, 2011**).

I.1.9. Antibiothérapie curative des infections urinaires

Le traitement de l'infection urinaire repose essentiellement sur l'antibiothérapie afin de renforcer la capacité de l'hôte pour se défendre contre les microorganismes pathogènes (**Micoud et Bosseray, 1993**).

Les infections urinaires d'origine bactérienne se traitent facilement et rapidement à l'aide d'antibiotiques. Les antibiotiques se distinguent par leur spectre (espèces de bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif) (**Abalikumwe, 2004**). Le **Tableau I** représente le traitement des cystites, pyélonéphrites et prostatites ainsi que les principaux germes et la durée du traitement recommandé (**Yombi et Marot, 2015**).

Tableau I : Antibiothérapie empirique et durée totale de l'antibiothérapie (Yombi et Marot, 2015)

Site d'IU	Contexte clinique	Flore	Antibiothérapie Empirique	Durée
Cystite	Simple	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>S.saprophyticus</i>)	Nitrofurantoïne 100mg 2x/j	5J
			Fosfomycine 3g (jeune fille et moins de 3 épisodes / an)	1J
	Complicquée	<i>E. coli</i> , <i>Klebs</i> spp. , <i>Proteus</i> spp. , (<i>Pyo</i>), <i>Entérobacter</i> spp.	Cefuroxime po. 500mg 3x/j	7J
	Chez la Femme enceinte		Augmentin po 500mg 3x/j	7J
Pyélonéphrite	P. simple	<i>Enterobacteriaceae</i>	Ciprofloxacine* 500mg 2x/j ou Cefuroxime iv 1,5g 3x/j (48h iv, relais selon Ab gramme)	7J
	P. compliqué	<i>E.coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., (<i>Pyo</i> <i>Entérocooccus</i> spp.)	Cefuroxime iv 1,5g 3x/j	14J
			Ceftriaxone iv 2g 1x/j	14J
	P. femme enceinte	<i>Enterobacteriaceae</i>	Augmentin iv/po 2g/500mg 3x/j ou Cefuroxime iv 1,5g 3x/j	14J
Prostatite		<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Entérocooccus</i> spp.)	Ceftriaxone 2g 1x/j ou Ciprofloxacine 500mg 2x/j	14 21J

I.2. Monographie de *Mentha spicata*

I.2.1. Généralités

Mentha spicata L. est une plante aromatique vivace appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Son nom vernaculaire en arabe « Naànaa », en anglais « spearmint » (**Zekri,**

2016), et en français « menthe verte ». Elle pousse spontanément dans les zones tempérées et elle est cultivée partout dans le monde (Laggoune et al., 2016).



Figure 03 : *Mentha spicata* L (1).

I.2.2. Systématique

Menthe (*Mentha*) désigne un genre de dicotylédones gamétopétales de l'ordre des *lamiales* et de la famille des *Lamiacées*. Le **Tableau II** représente la systématique de *Mentha spicata* L.

Tableau II: Taxonomie de *Mentha spicata* L. (Cronquist, 1981)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha spicata</i>

I.2.3. Description botanique

C'est une plante herbacée vivace stolonifère de 60 cm à 1 m de haut. Elle se caractérise par une tige carrée verte à grisâtre, ses feuilles sont lancéolées à bord en dent de

scie, disposées de façon opposée, sessile, glabres ou velues, possédant une odeur très aromatique de 5 à 9 cm de longueur et de 1.5 à 3 cm de largeur (Sennoussi, 2015). Ses fleurs sont de couleur rose ou blanche en épis minces et tubulaires à 4 lobes, et un fruit tétrakène à 4 graines (Bensabah et al., 2013).



Figure 04 : Fleur de *Mentha spicata* L (2).

I.2.4. Composition chimique

Le **Tableau III** montre la composition chimique de *Mentha spicata* L. Algérienne.

Tableau III: Composition biochimique de *Mentha spicata* L. Algérienne (Brahmi et al., 2016).

Les huiles essentielles
Carvone , limonene, 1.8-cineole, β -Caryophyllene germacrene D.
Composés phénoliques
Acide 4-hydroxy benzoïque, Acide caféique, Acide α -coumarique, Acide chlorogénique et Acide rosmarinique.
Flavonoïdes
Rutine, Naringenine, Luteoline, Diosmine, Kaempferole et Diosmetine
Autre composés
Esters méthilique d'acide gras, Triglycéride, Squalène, Stigmastérol, Sitostérol, Acide oléanolique, Ursolique et Pomolique, Caroténoïdes, Alcaloïde, Saponine.

I.2.5. Utilisation

Depuis l'antiquité, la menthe verte a été utilisée dans diverses applications en tant que plante médicinale et aromatique (Brahmi et al., 2012).

I.2.5.1. Usage thérapeutique

Mentha spicata L est la plus ancienne herbe médicinale (**Nanekarani et al., 2012**). Grâce à ses propriétés thérapeutiques (antifongique, antivirale, antimicrobienne, insecticide, antioxydante...), les feuilles de cette plante ont été utilisées traditionnellement pour le traitement de plusieurs maladies : rhume, spasmes, crampes, troubles digestives, fièvre, maux de tête, bronchite, nausée, rhumatisme, troubles gastro-intestinaux, douleurs des dents. (**Soysal, 2005 ; Brahmi et al., 2012**).

I.2.5.2. Usage dans l'industrie

L'huile essentielle (HE) de la menthe verte est utilisée comme un arôme dans les dentifrices, les produits d'hygiène buccale, les chewing-gums, les savons, la parfumerie, les détergents, les répulsifs et les pesticides pour divers insectes (**Soysal, 2005**).

I.2.5.3. Usage alimentaire

Elle est utilisée comme aromate dans les thés, les boissons, les plats froids, les salades de fruits ou de légumes et même comme un conservateur de la viande fraîche (**Kanatt et al 2007**).

I.2.6. Activités biologiques

Divers études ont montré que *Mentha spicata L* possède plusieurs activités biologiques, grâce à leur richesse en composés phénoliques et en huiles essentielles (**Bagheri et al., 2014 ; Abootalebian, 2016 ; Alaei et al., 2016**).

I.2.6.1. Activité antimicrobienne

Plusieurs études ont démontrées que l'huile essentielle de *Mentha spicata* possède une activité antimicrobienne contre des microorganismes pathogènes y compris des Gram positive, Gram négative et fongiques. Cette activité est attribuée à la présence de carvone en concentration élevé, mais comme les huiles essentielles contiennent plusieurs composants, leurs activités antimicrobiennes sont plutôt en raison d'effets additifs, synergiques ou antagonistes des constituants individuels (**Knobloch et al., 1989 ; Baratta et al., 1998 ; Bardaweel et al., 2018**).

I.2.6.2. Activité antioxydante

Il a été rapporté que la menthe verte possède une activité antioxydante en raison de la présence d'acides phénoliques, de flavonoïdes, de carvone et d'acide ascorbique dans les feuilles (**Guimaraes et al., 2011**). Selon **Scherer et al., (2013)**, la menthe verte peut devenir une forme alternative d'antioxydants synthétiques ayant des effets néfastes.

I.2.6.3. Activité insecticide

Teixeira et al. (2014) ont montré que l'huile essentielle des feuilles de *Mentha spicata* L est considérée comme une source alternative pour la gestion des insectes.

I.3. Généralités sur les huiles essentielles

I.3.1. Définition

L'huile essentielle (HE) est définie comme étant la fraction odorante volatile issue de métabolites secondaires. Il s'agit d'un concentré de nombreuses molécules synthétisées par les plantes pour se défendre contre les agressions de l'environnement, aussi bien contre les agents physiques (l'ardeur du soleil notamment) que contre les agents biologique (bactéries, virus, champignons, insectes, vers...) (**Lopez-Romero et al., 2015**).

Ces huiles peuvent être stockées dans divers organes ; fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou grains (carvi). Les HE doivent leur nom à ce qu'elles sont très réfringentes, hydrophobes et lipophiles. Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Par contre, elles sont solubles dans les solvants des lipides (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) et, à l'inverse des glycérides, dans l'alcool (**El kalamouni C., 2010**).

I.3.2. Composition chimique

Les HE sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive à deux principaux groupes : le groupe de terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Anton et Lobstein, 2005**).

I.3.2.1. Terpènes

Les terpènes sont les composants les plus abondants dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**). Ils sont subdivisés en deux classes : les mono et les sesquiterpènes.

- **Les monoterpènes (C₁₀H₁₆)**

Ce sont les plus simples constituants de terpènes, ils constituent 90% d'huiles essentielle totale par rapport aux sesquiterpènes (**Bakkali et al., 2008**). Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (p-cymène) ou bicycliques (pinène, sabinène). Cette variation structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, bornéol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvones), esters (Acétate de cédryle) et éthers (1,8-cinéole) (**Bruneton, 1999**).

- **Les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄)**

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules. Ils sont souvent représentés en faible quantité dans les huiles essentielles. (**Bruneton, 1999**).

I.3.2.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des dérivés de phenylpropane (C₆- C₃) et sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ils peuvent contenir des aldéhydes, des alcools, des phénols, des dérivés méthoxy et des dérivés dioxyméthylène (**Bakkali et al., 2008**). Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HE (**Kunle et al., 2003**).

I.3.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles

La première mention enregistrée des techniques et des méthodes utilisées pour produire des huiles essentielles est censé être celui d'Ibn al-Baitar (1188-1248) (**Firenzuoli et al., 2014**). Plusieurs procédés d'extractions sont connus et utilisées à ce jour, dont l'expression à froid, l'extraction par solvant organique volatil, l'extraction à l'eau surchauffée, l'extraction à CO₂ supercritique, par micro-ondes, par ultrasons, par l'entraînement à la vapeur d'eau et par l'hydrodistillation (**Mebarki, 2010 ; Reyes-Jurado et al., 2015 ; Ouis, 2015**).

➤ Hydrodistillation

C'est l'un des procédés le plus simple et le plus ancien (**Benteaud, 2011 ; Guinoiseau, 2010**). Les échantillons séchés à l'air sont broyés, puis soumis à une hydrodistillation pendant trois heures en utilisant un appareil de type Clevenger (**Bruneton, 2009**). La solution obtenue circule dans un serpentín où elle se condense en refroidissant. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle reste en surface. On obtient ainsi deux phase non miscibles que l'on peut séparer par décantation : les huiles essentielles et les eaux aromatiques (ou hydrolats)

chargées des parties ; hydrosolubles des essences distillées. Afin d'éliminer toute l'eau, les huiles extraites sont traitées avec du sulfate de sodium anhydre, puis filtré et conservé à l'obscurité à 4 °c (Mebarki, 2010) (Figure 05).

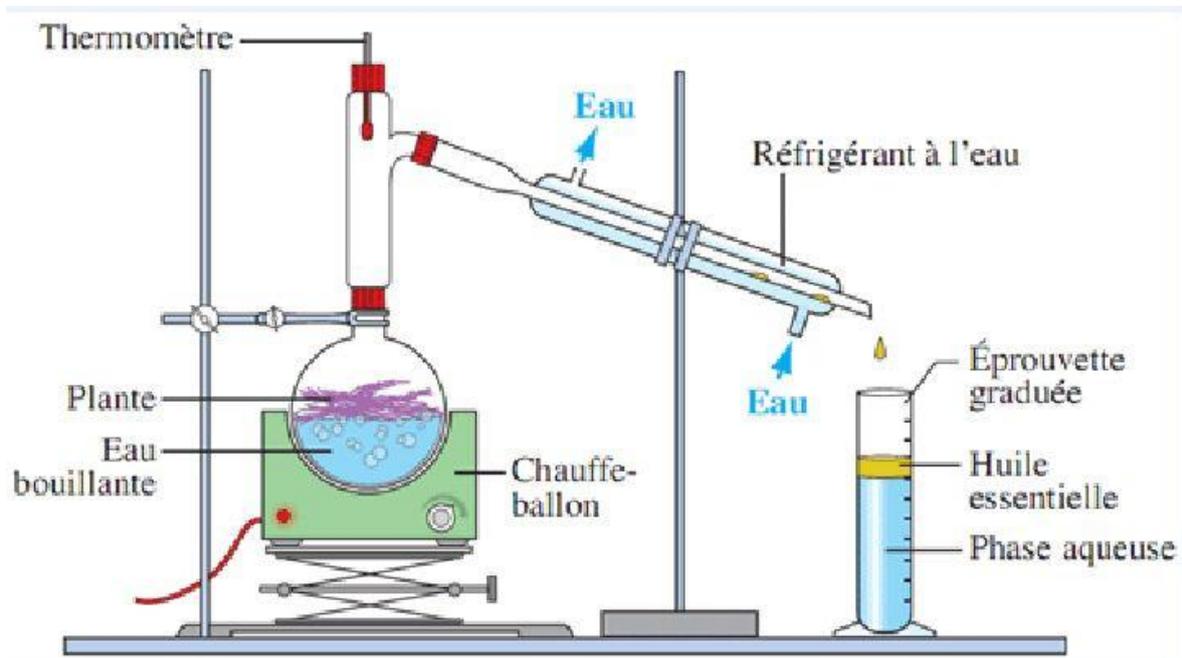


Figure 05 : Schéma du montage de l'hydrodistillation. (Lucchesi, 2005)

➤ **Entraînement à la vapeur**

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé (Lucchesi, 2005).

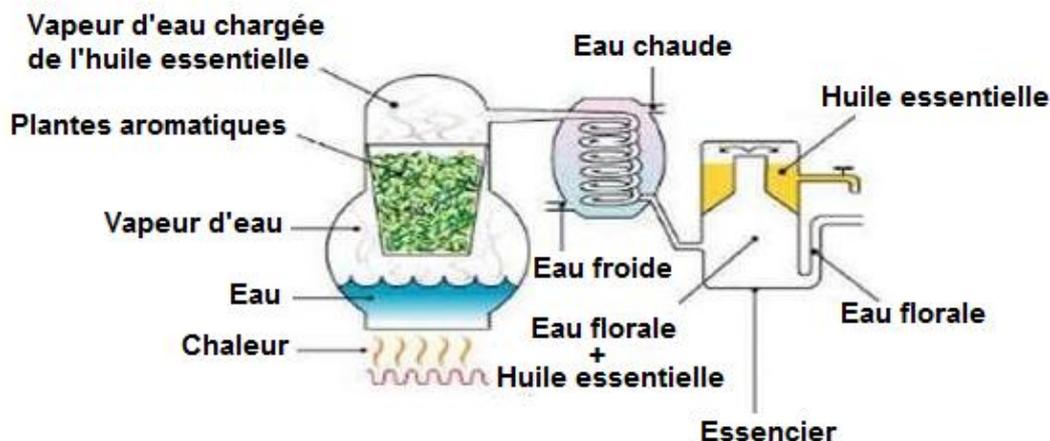


Figure 06 : Schéma d'un dispositif d'entraînement à la vapeur. (Boutamani, 2013)

➤ Hydrodistillation par micro-onde

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (Lahlou, 2004 ; Lucchesi et al., 2004 ; Chemat et al., 2013).

➤ Extraction par solvants

Elle est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool (Brian, 1995).

I.3.4. Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont couramment utilisées en parfumerie, dans l'industrie cosmétique, la pharmacie et l'agroalimentaire. Ils peuvent être utilisés comme naturels alternatives aux préparations synthétiques, ils ont été largement utilisés comme bactéricide, virucide, fongicide, antiparasitaire, insecticides et autre propriétés médicinales telles que

analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antispasmodique etc... (Lopez-Romero *et al.*, 2015).

I.3.5. Activité antimicrobienne et mode d'action

Compte tenu du nombre de différents groupes de composés chimiques présents dans les HE, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuée à un mécanisme spécifique mais qu'il y ait plusieurs cibles dans la cellule (Goetz et Ghedira, 2012). Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées dans la **figure 07**.

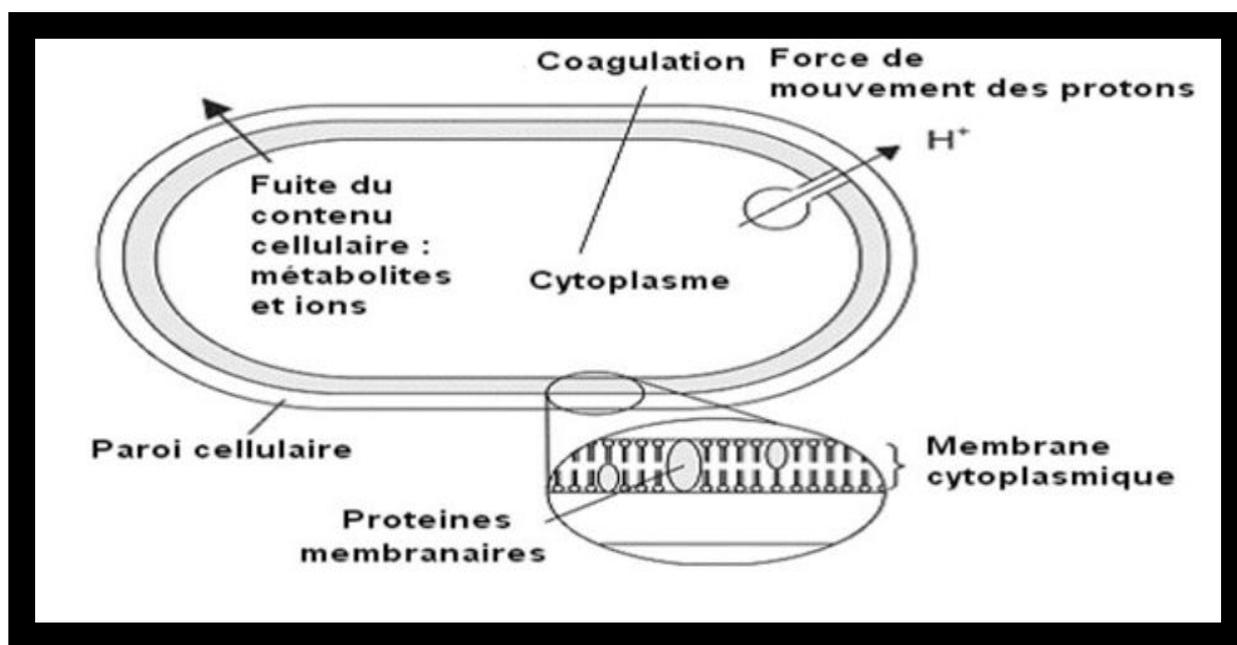


Figure 07 : Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles (Goets et Ghedira, 2012)

Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont:

- L'altération de la paroi cellulaire et des protéines membranaires
- La dégradation de la membrane cytoplasmique
- La fuite du contenu cellulaire
- La coagulation du cytoplasme
- L'épuisement de la force de mouvement des protons (Boukhatem *et al.*, 2014)

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Il dépend aussi du type de microorganismes ; en général, les Gram - sont plus résistantes que les bactéries Gram + grâce à la structure de leur membrane externe (**Burt, 2004**).



Matériel et méthodes

II. Matériel et Méthodes

Notre étude a été réalisée durant la période allant du 06 Février au 09 Mai 2019, au niveau des laboratoires suivants :

- Laboratoire de chimie de l'Ecole Normal Supérieure de Kouba où nous avons fait l'extraction de l'huile essentielle de *Mentha spicata*.
- Laboratoire d'hygiène de Blida dans le but d'isoler, d'identifier et tester la sensibilité des bactéries responsables des infections urinaires, ainsi que d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les souches isolées.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

❖ Prélèvements

Cette étude porte sur 151 prélèvements d'urines parvenus au laboratoire d'hygiène de Blida. Le prélèvement des urines doit être convenablement effectué et doit être acheminé vers le laboratoire le plus tôt possible.

❖ Matériel végétal

Notre étude a porté sur une espèce de plante de la famille des *Lamiaceae* qui est *Mentha spicata*. *Mentha spicata* L a été récolté en Mars 2018 de la région de Hammam Melouane, wilaya de Blida. Les feuilles de *Mentha spicata* fraîchement collectées ont été séchées et conservées à l'ombre dans un endroit aéré.

L'huile essentielle du *Mentha spicata* L a été extraite à partir des feuilles sèches de la menthe par hydrodistillation, dans un appareil de type Clevenger. Ensuite, Elle a été conservée dans des flacons en verre enveloppés de papier aluminium à une température de 4°C et à l'abri de l'air et de la lumière pendant toute la durée de notre travail pour éviter d'éventuels phénomènes d'oxydation ou de contamination.

❖ Souches bactériennes étudiées

L'évaluation de l'activité antibactérienne de *Mentha spicata* L est testée sur 5 souches isolées à partir des infections urinaires:

4 souches Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*.

1 souche Gram positif : *Staphylococcus aureus*.

II.1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique représenté par les verreries, les réactifs, milieux de culture, appareillages et disques d'antibiotiques est illustré dans l'**annexe 01**.

II.2. Méthodes

II.2.1. Analyse bactériologique des urines

A. Prélèvement des urines

Le prélèvement est le premier point critique susceptible d'influer sur le résultat de l'ECBU du fait de la présence d'une colonisation de l'urètre et des voies génitales externes par une flore commensale. Il peut se dérouler au laboratoire ou à domicile, l'essentiel étant de bien expliquer aux patients les conditions à respecter.

Les prélèvements sont réalisés de préférence sur la première urine du matin. La méthode habituelle recommandée consiste à récupérer de manière aseptique l'urine de milieu de jet, après un lavage hygiénique des mains et une toilette locale des organes génitaux externes. Les urines sont recueillies dans des pots stériles, puis acheminés vers le laboratoire en moins de 2 heures ou bien les urines sont conservées au réfrigérateur (à + 4C°) dans la glace jusqu'au transport (**Caquet, 2010**).

Au laboratoire, les échantillons reçus sont soigneusement étiquetés. Chaque étiquette doit contenir le nom et prénom du patient, le numéro d'ordre, la date, l'heure et l'âge.

B. Chimie des urines (Les bandelettes réactives)

L'analyse d'urine réalisée par les bandelettes urinaires (**Figure 08**) permet d'orienter le diagnostic d'IU. Il s'agit d'une languette comportant plusieurs carrés de papier buvard imprégnés de réactifs changeant de couleur en fonction de la présence de certains composants dans l'urine.

Ces bandelettes réactives détectent : Le leucocyte estérase qui témoigne la présence de leucocytes dans l'urine avec un seuil de sensibilité de 10^4 leucocytes/ml ; les nitrites qui témoignent la présence de bactérie capables de transformer les nitrates en nitrites, essentiellement les entérobactéries, le pH urinaire, les protéines qui révèlent un dysfonctionnement rénal et le glucose.



Figure 08: Labstix urinaire (Photo originale).

- **Mode d'emploi**

La bandelette doit être trempée dans l'urine fraîchement émise, dans un récipient propre mais pas nécessairement stérile. On laisse agir tout en respectant le temps de lecture nécessaire pour chaque paramètre (**Tableau IV**).

- **Lecture de bandelette et interprétation des résultats**

La lecture de bandelette se base sur le changement de couleur que chaque test va exprimer, en comparant la couleur des tests de bandelette avec l'échelle colorimétrique des tests présentés sur labstix.

- Une bandelette est considérée comme négative si on ne détecte ni leucocyturie ni nitrites. Correctement réalisée, elle permet d'exclure une infection urinaire avec une excellente probabilité.
- Une bandelette est considérée comme positive si on détecte une leucocyturie et/ou des nitrites (**SPILF, 2002**).

Tableau IV : Paramètres analysés par les bandelettes urinaires et leur temps de lecture.

Paramètre	Son abréviation	Temps de lecture
Leucocyte	Leu	120 s
Nitrite	Nit	60 s
Urobilinogène	Uro	60 s
Protéine	Pro	60 s
pH	pH	60 s
Sang	Blo	60 s
Densité	SG	45 s
Cétone	Ket	40 s
Bilirubine	Bil	30 s
Glucose	Glu	30 s

C. Examen cyto bactériologique des urines ECBU

Le diagnostic de certitude de l'infection urinaire se base sur l'examen cyto bactériologique des urines. Il a pour but d'isoler et de révéler la présence des germes responsables de cette infection, de les identifier et de déterminer leur sensibilité ou leur résistance aux antibiotiques. ECBU comprend l'examen qualitatif, semi-quantitatif et quantitatif des éléments figurés (cellules, cylindres, cristaux) associés à l'examen microbiologique comprenant obligatoirement un examen direct, une numération des microorganismes, une identification bactériologique et un antibiogramme en cas de positivité (**Janssens, 2015**). Donc, chaque prélèvement urinaire fait l'objet d'un ECBU de routine comportant les étapes montrées dans le schéma représenté sur **la figure 09**.

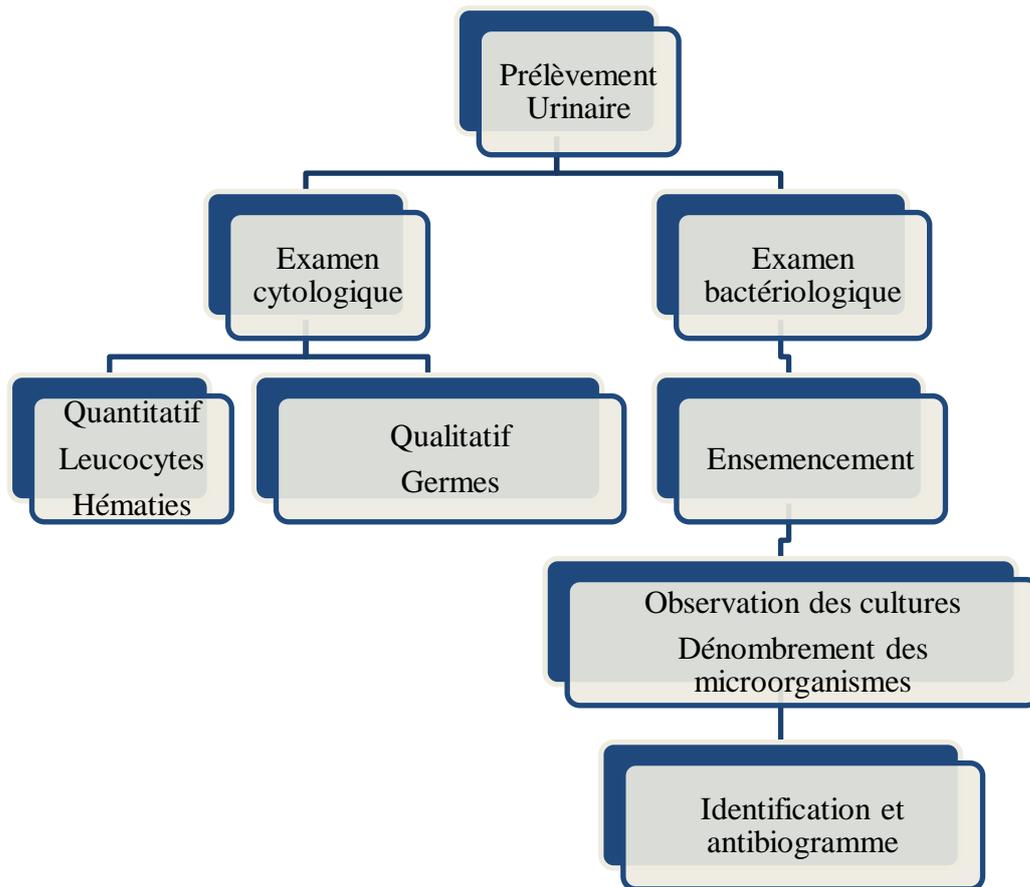


Figure 09 : Schéma de l'examen cytobactériologique des urines avec ses différentes étapes.

C.1. Examen macroscopique

Cet examen permet de noter à l'œil nu s'il y a des modifications des caractères physiques de l'urine : l'aspect (limpide ou trouble), la couleur (jaune pâle, ambrée, hématurique ou colorée par les médicaments), l'odeur (nauséabonde) et la présence de sédiments (blanchâtre pour les phosphates, rouge brique pour l'acide urique, et rose pour l'urate).

C.2. Examen microscopique

L'examen microscopique des urines est un examen direct qui permet d'observer et de dénombrer les éléments présents dans l'urine : les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales, les cellules rénales, les cylindres, les cristaux, les bactéries et les levures.

C.2.1. Examen qualitatif

C'est un test à l'état frais qui permet de distinguer les éléments présents dans l'urine.

- **Mode opératoire**

Après l'homogénéisation de l'urine, on dépose une goutte de l'échantillon au centre d'une lame et on l'étale pour agrandir la zone d'observation, puis on recouvre la lame avec une lamelle et on passe à l'observation sous un microscope optique à l'objectif x40.

C.2.2. Examen quantitatif

C'est un test de dénombrement des éléments urinaires contenus dans un volume donné de l'urine.

- **Mode opératoire**

Cet examen est réalisé par deux méthodes :

- **Dénombrement par champs**

On dépose une goutte d'urine homogénéisée entre lame et lamelle, puis on dénombre par microscope (objectif x40) les leucocytes, les hématies et les bactéries par champs microscopique. La numération se fait de façon semi quantitatif et non précise.

- **Dénombrement sur une cellule à numération**

On homogénéise l'urine, puis on dépose une goutte de l'urine entre cellule de Malassez et lamelle, on laisse reposer pour que les cellules sédimentent sur le quadrillage de la lame de Malassaz, après on effectue le comptage des leucocytes et des hématies sous microscope à l'objectif x40. La numération est exprimée par mm³.

C.3. Examen bactériologique (Mise en culture)

La culture des urines est l'étape clé du diagnostic des IU. Elle permet d'isoler la (les) bactérie(s) en cause, de l'identifier, de quantifier la bactériurie et de réaliser l'antibiogramme par la suite. Elle se fait par ensemencement d'un volume connu d'urine sur des milieux gélosés en boîte de Pétri.

C.3.1. Ensemencement des urines

L'ensemencement doit être réalisé sur des milieux permettant la culture des bactéries les plus fréquemment rencontrées dans les IU.

- Gélose nutritive : elle convient à la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières.
- Gélose Hektoen : elle convient à la culture des BGN.
- Gélose Chapman : elle convient à la culture des *Staphylococcaceae*.

- **Mode opératoire**

L'ensemencement est réalisé par la méthode d'épuisement à l'aide de l'anse calibrée. On dépose 10µl d'urine homogénéisée sur la boîte à l'aide d'une anse stérile, ensuite on ensemence du point de dépôt jusqu'au milieu de la boîte par une strie centrale, puis par des stries horizontales. Une fois terminé, on incube les boîtes à 37°C pendant 24 heures.

C.3.2. Identification des souches bactériennes

L'identification bactérienne repose sur l'étude des caractères morphologiques des colonies obtenues accomplie par l'étude des caractères biochimiques spécifiques à chaque famille de germe.

C.3.2.1. Etude des caractères morphologiques**✓ Etude macroscopique**

L'étude macroscopique des colonies permet d'observer et de décrire plusieurs caractères :

La forme : ronde, irrégulière, en étoile, envahissante.

Le relief : plat, bombé.

Le contour : régulier, irrégulier.

La couleur : la pigmentation.

L'aspect : lisse, rugueuse.

✓ Etude microscopique**• Examen à l'état frais**

L'examen à l'état frais consiste sur l'observation microscopique des bactéries vivantes, il permet de mettre en évidence la mobilité et le mode d'assemblages des bactéries.

-Mode opératoire

On dépose une goutte d'eau distillé sur une lame stérilisée, ensuite on prélève une colonie isolée et on l'étale sur la lame, puis on couvre avec une lamelle et on observe sous microscope à l'objectif x40.

• Examen après coloration de Gram

La coloration de Gram est une étape essentielle dans l'identification bactérienne, elle permet de classer les bactéries en deux groupes (bactérie à Gram positif et bactérie à Gram négatif), de visualiser facilement leurs formes et leurs mode de groupement. Les bactéries à Gram positif deviennent violettes après la coloration tandis que les bactéries à Gram négatif apparaissent en rose.

-Mode opératoire

- On réalise d'abord un frottis sur une lame et on le fixe à la chaleur par quelques passages dans la flamme du bec bunsen.
- On dépose quelques gouttes du violet de gentiane sur le frottis fixé, on laisse agir pendant 1 minute puis on rince avec l'eau.
- On couvre le frottis avec lugol pendant 1 minute, puis on rince.

- On effectue une décoloration avec l'alcool pendant 30 seconds au maximum, ensuite on rince avec l'eau.
- On réalise une contre coloration avec de la Fuschine durant 30 secondes à 1 minute, après on rince.
- On laisse la lame sécher à l'air libre ou bien en utilisant de papier filtre.
- On observe le frottis au microscope à l'objectif x100 après avoir ajouter de l'huile à immersion.

C.3.2.2. Recherche des caractères biochimiques (Galerie classique)

Après isolement des bactéries, nous avons réalisé la galerie classique pour permettre en évidence les caractères biochimiques de ces bactéries.

a) Identification des Staphylococcaceae

Les souches à Gram positif isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase).

- **Recherche de la catalase**

Le catalase est une enzyme présente chez la plupart des aérobies strict et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage. Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram positif, il permet de différencier entre les *staphylococcaceae* et les *Streptococcaceae*.

Technique :

On dépose sur une lame deux gouttes d'eau oxygénée (H₂O₂) à chaque extrémité, puis à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, on ajoute une colonie bactérienne isolée à une goutte et la deuxième goutte servira de témoins.

Lecture : Dégagement immédiate des bulles d'O₂ indique la présence de catalase.

- **Recherche de la coagulase**

La coagulase libre est présente chez *Staphylococcus aureus*. La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification.

Technique :

On dépose une colonie dans 0.5 ml d'un bouillon d'enrichissement et on lui ajoute 0.5 ml du sérum humain. La lecture s'effectue après 24 heures d'incubation

Lecture : La réaction est considérée comme positive lorsque le plasma est coagulé, donc le fibrinogène a été transformé en fibrine.

b) Identification des bactéries à Gram négatif

L'identification des souches à Gram négatif (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*) a porté sur une série de tests biochimiques. Les tests biochimiques ayant servi à l'identification sont :

- **Test de fermentation de trois sucres**

Le milieu de culture TSI (Triple Sugar Iron), est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des *Enterobacteriaceae*. C'est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations de : glucose, lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz. Le rouge de phénol est l'indicateur colorant virant du rouge au jaune pour un résultat positif. Le noircissement du culot indique la présence de H₂S.

Technique :

Ensemencer la surface inclinée du milieu TSI par des stries et le culot par piqûre centrale, à l'aide d'une pipette boutonnée. Visser partiellement la capsule afin de permettre les échanges gazeux. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture :

-Aucun sucre dégradé : pente et culot rouge.

-Fermentation du glucose seulement : culot jaune et pente rouge.

-Fermentation du glucose et un des deux autres sucres (lactose ou saccharose) : culot et pente jaune.

-Présence de bulles et le déplacement du milieu vers le haut signifie qu'il y a production du gaz et la production d'H₂S se traduit par un précipité noir.

- **Milieu citrate de Simmons**

Certaines *Enterobacteriaceae* sont capables d'assimiler le citrate de Sodium comme seule source de carbone et d'énergie et la recherche de cette propriété se fait avec le milieu de Simmons au Citrate de Sodium. Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate.

Technique :

La pente est ensemencée par une série de strie longitudinale, réalisé à l'anse, a partir d'une suspension de la culture solide en eau distillé stérile. Incuber à 37°C pendant 24 heures. Le bouchon n'est pas vissé à fond, afin de permettre les échanges gazeux (en particulier l'élimination du dioxyde de carbone).

Lecture :

Le virage de couleur de vert au bleu se traduit par l'utilisation du substrat comme source de carbone (Citrates positive).

- **Recherche de voie de fermentation du glucose**

Le milieu Clark et Lubs (milieu RM-VP) permet de rechercher les voies fermentaires du glucose et de différencier la fermentation des acides mixtes et la fermentation butanediolique chez les *Enterobacteriaceae*. Deux tubes de ce milieu sont ensemencés puis incubés à 37°C pendant 24 heures.

- **Réaction du rouge de méthyle (test RM)**

C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentative des acides mixtes. Après avoir ajouté quelques gouttes de réactif rouge de méthyle au premier tube de Clark et Lubs. Ces acides mixtes font virer le réactif au rouge (RM+) et dans le cas contraire, il vire au jaune (RM-).

- **Réaction de Voges-Proskauer (test VP)**

C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane – 2, 3 – diol. Elle permet de mettre en évidence l'acétoïne ou (3 – hydroxybutanone), parce que Le butane – 2, 3 – diol ne peut pas être mis en évidence facilement. Après avoir ajouté quelques gouttes de réactifs VPI et de VPII au deuxième tube de Clark et Lubs, mettre le tube dans une position inclinée. La lecture se fait après 5 minutes :

- Apparition d'un anneau rouge : VP (+).

-Absence d'un anneau rouge : VP (-).

- **Milieu urée-indole**

Ce milieu de culture permet en 24 h de réaliser trois tests biochimiques qui permettent l'identification de nombreux germes bactériens. Ces trois tests sont : Le test uréase, le test TDA, et le test indole.

- **Recherche de l'uréase**

L'urée est un composé organique qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase. En présence de cette enzyme, les bactéries uréolytiques peuvent décomposer l'urée en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique.

Technique :

Le milieu urée-indole est inoculé avec quelques gouttes de la suspension bactérienne après l'avoir préparé dans de l'eau physiologique. Ensuite, incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture :

- Changement de coloration de milieu de jaune au rose indique que l'Uréase (+).
- Absence de virage de couleur indique que l'Uréase (-).

➤ Recherche de l'indole

Certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole, de l'acide pyruvique et de l'ammoniac. Après addition du réactif de Kovacs, Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, et forme un composé coloré en rouge.

➤ Test TDA

Par contre certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à l'enzyme tryptophanedésaminase (Test TDA) et cette dernière conduit à la désamination de cet acide aminé en produisant l'ammoniac et l'acide indole – 3 pyruvique. Ce dernier est révélé par l'apparition d'une couleur brune en présence de perchlorure de fer.

• Milieu mannitol-mobilité

Ce milieu permet de rechercher simultanément la mobilité, et l'utilisation du mannitol. Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autres du mannitol, du rouge de phénol comme indicateur du pH.

Technique :

Le milieu estensemencé par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur stérile chargée en suspension bactérienne déjà préparée, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

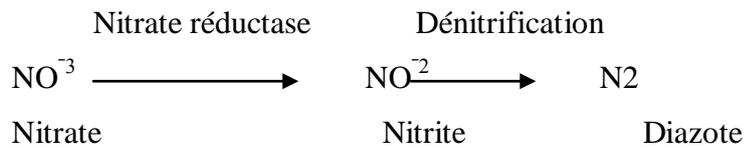
Lecture :

Lorsque l'indicateur passe du rouge au jaune ce qui correspond à l'acidification du milieu, le mannitol a été utilisé (+). Le caractère mobile est défini dans ce milieu par un trouble qui envahissant toute la largeur de la gélose de part et d'autres de la piqure centrale, alors qu'une bactérie immobile ne se développe que le long de la piqure centrale.

• Recherche de la nitrate-réductase

Principe : Toutes les *Enterobacteriaceae* possèdent une nitrate réductase à l'exception des souches mutantes. Cette enzyme catalyse la réaction de réduction des nitrates en nitrites dont

leur mise en évidence est réalisée en utilisant le réactif de Griess. Parfois, certaines bactéries peuvent poursuivre cette réduction, jusqu'à une dénitrification selon :



Lecture :

-Réaction de Griess positive (NR+) : coloration en rouge ou rose

-Si la réaction est négative, ajouter une quantité de poudre de Zinc (réaction de Zobell), agiter et attendre 5 min : la coloration rouge, signifie qu'il y a réduction de NO_3^- en NO_2^- , donc la bactérie est (NR-). L'absence de coloration indique l'absence de NO_3^- , ce qui veut dire que la réduction a dépassé le stade NO_2^- et que la bactérie est NR+.

- **Recherche de décarboxylase**

La recherche des décarboxylases de l'ornithine, de la lysine, et de l'arginine forment trois tests biochimiques utiles dans le diagnostic différentiel des entérobactéries. Ces trois tests peuvent être réalisés sur les bouillons « LDC- ODC- ADH » qui sont appelés les milieux de Moëller et qui permettent de montrer la présence des décarboxylases et dihydrolase bactériennes par la mise en évidence de l'acidification du milieu et sa réalcalinisation.

Technique :

Le test est réalisé dans 4 tubes différents : le premier constitue le témoin. Les autres tubes contiennent l'un des trois acides aminés suivant : Arginine, Lysine ou Ornithine. Après ensemencement, quelques gouttes d'huile de vaseline sont ajoutées dans chaque tube et le tout sera incubé à 37°C pendant 24h.

Lecture :

- Virage de couleur de témoin de violet au jaune et le tube d'acide aminé reste violet : décarboxylase positive.
- Le témoin devient jaune et le tube d'acide aminé jaune : décarboxylase négative.

C.3.2.3. Galerie Api 20 E

Le système Api 20E est une version miniaturisée et standardisée des tests biochimiques conventionnels pour l'identification rapide et précise des bactéries. La galerie Api 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période

d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélées par l'addition de réactifs.

- **Préparation de l'inoculum**

On prélève une colonie bien isolée sur milieu gélosé d'une culture jeune (18 à 24 heures), et on la dépose dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile pour réaliser une suspension bactérienne de 0,5 Mc Farland en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

- **Préparation de la galerie**

On verse quelques gouttes d'eau distillé stérile dans le fond de la boîte d'incubation pour créer une atmosphère humide. La galerie est déposée dans la boîte d'incubation après l'inscription de la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

- **Inoculation de la galerie**

-On introduit la suspension bactérienne dans les tubules de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur tout en évitant la formation des bulles au fond des tubes :

-Pour les tests encadrés CIT, VP, GEL, on remplit les tubules et les cupules.

-Pour les autres tests on ne remplit que les tubulee.

-Pour les tests soulignés ADH, ODC, LDC, H₂S, URE, on remplit les cupules avec de l'huile de vaseline pour créer une anaérobiose.

-On couvre la boîte d'incubation avec son couvercle et on l'incube à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture de la galerie**

Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture présenté dans l'**annexe 04**, en ajoutant une goutte de chacun des réactifs suivants :

- Test IND : Kovacs
- Test VP : VP1 et VP2
- Test NIT : NIT₁ et NIT₂

L'identification des bactéries est réalisée à l'aide du logiciel d'identification.

C.3.2.4. Antibiogramme

Principe : L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène, isolée d'un patient. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes préconisées par le **CLSI** (Clinical Laboratory Standards Institute) recommandées par l'**OMS** et agréées par de nombreux pays, cité par **Rahal et al., 2014**.

Technique :✓ **Préparation de l'inoculum**

On prélève 2 à 3 colonies bien isolées et identiques à partir d'une culture jeune, On les introduit dans 10ml d'eau physiologique stérile. L'inoculum bactérien doit être employé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

✓ **Ensemencement**

- On plonge un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne puis on élimine l'excès en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
- On ensemence les boîtes contenant le milieu gélosé Mueller Hinton par des stries serrées, on répète l'ensemencement 3 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, puis on passe l'écouvillon sur les bords de la boîte.
- On dépose les disques d'antibiotique à la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince flambée en respectant une certaine distance entre deux disques. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- On laisse les boîtes 10 minutes à température ambiante pour permettre la prédiffusion des antibiotiques.
- On incube les boîtes pendant 24 heures à 37°C.

Lecture :

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, en comparant ces résultats aux valeurs critiques figurant dans **Annexe 03**. Cela permet de classer les bactéries en sensible, intermédiaire ou résistante.

II.2.2. Etude de l'activité antibactérienne de *Mentha spicata* sur les bactéries isolées**A. Extraction de l'huile essentielle de *Mentha spicata* par hydrodistillation**

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée, par hydrodistillation (Lucchesi, 2005), dans un appareil de type clevenger (**Figure 10**).

❖ **Principe**

La méthode consiste à mettre le matériel végétal dans un ballon en verre rempli d'eau, puis de l'apporter à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. L'HE chargée dans les vapeurs se condense dans un réfrigérant puis se sépare de l'eau par différence de densité.

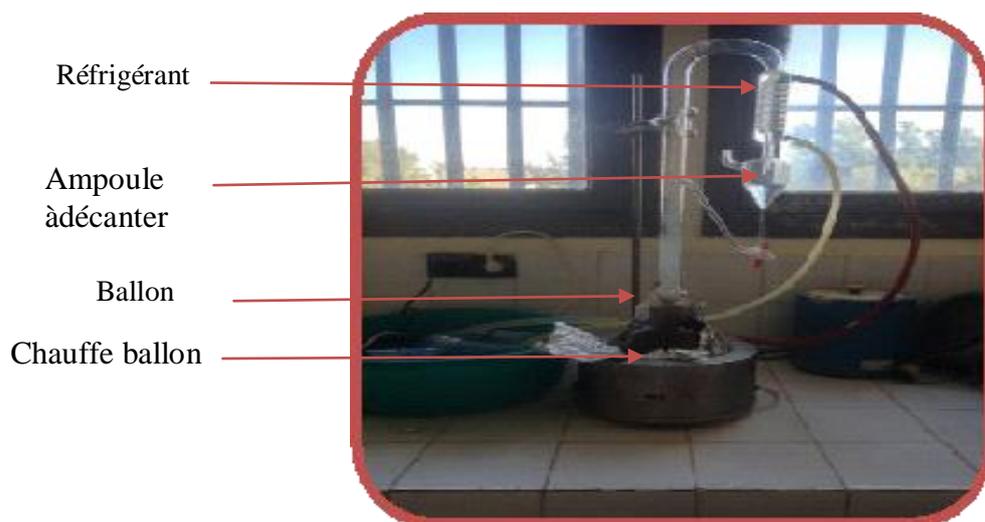


Figure 10: Schéma d'un dispositif Clevenger (**Originale**)

❖ Technique

- On introduit 150g de matière végétale dans un ballon en verre de 2L.
- On ajoute 1000ml d'eau distillé au ballon et on le chauffe à l'aide d'une chauffe ballon.
- Après 1 heure d'extraction, on laisse le mélange obtenu au repos à une température basse pendant quelques minutes.
- Le refroidissement du mélange conduit à l'apparition de deux phases non miscibles : l'huile essentielle se retrouverait en surface et l'eau glacé en dessous. L'HE est ainsi récupéré puis conservé dans petits flacon en verre à une température basse 4°C.

B. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

Chaque HE est caractérisée par ces caractères organoleptiques telles que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur.

C. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en l'huile essentielle est défini par le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{M'}{M} \times 100$$

R : rendement en huile essentielle en %.

M' : masse de l'huile essentielle obtenue en g.

M : masse de la matière végétale utilisée en g.

D. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

Pour évaluer l'activité antibactérienne de l'HE de *Mentha spicata*, deux méthodes ont été employées : la méthode d'aromatogramme et la méthode de dilution en milieu gélosé.

D.1. Technique d'aromatogramme (diffusion en milieu solide)

La technique d'aromatogramme ou diffusion en milieu solide est une technique qualitative permettant de déterminer l'effet antibactérien de l'huile essentielle sur les bactéries (**Figure11**). Elle repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Le protocole appliqué dans cette étude est celui qui a été proposé par **Boukhatem et al., (2014)**.

Technique :

- On ensemence les boîtes par la suspension bactérienne de 0,5 McFarland.
- On dépose les disques de 9 mm de diamètre imprégnés préalablement par 3 doses croissantes de l'HE à la surface de milieu gélosé (20, 40 et 60 μ l par disque).
- On laisse les boîtes à température ambiante pendant 30 minutes pour que l'huile essentielle puisse diffuser.
- On incube les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24h.
- A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm (y compris le diamètre du disque de 9 mm).
- Afin de mener une étude comparative du pouvoir antibactérien entre l'huile essentielle utilisé et des produits de références, des disques d'ATB ont été utilisés comme témoins positifs.

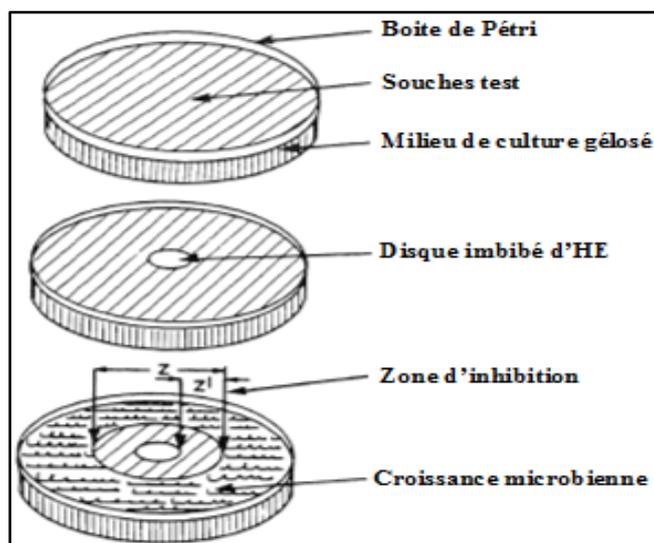


Figure 11: Illustration de la méthode de l'aromatogramme (**Zaika, 1988**).

D.2. La méthode de dilution en milieu gélosé

La dilution en milieu gélosé est une technique quantitative permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Il s'agit d'effectuer une série de dilutions de l'huile essentielle dans le milieu gélosé solide en utilisant du tween 80.

Technique :

-200ml de Muller Hinton est liquéfié au bain marie, puis refroidis à température ambiante.

-1ml de tween 80 est additionné au flacon contenant le milieu MH liquéfié.

-Les dilutions de l'HE de 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,06%, 0,03% sont préparé comme suit :

- Dans un premier flacon, 1ml d'HE est dilué dans 50ml de milieu MH additionné de tween80, ce qui donne une dilution de 2%.
- Dans un deuxième flacon, 25ml de premier flacon est ajusté avec 25 ml de milieu, c'est la dilution de 1%.
- La préparation des dilutions est procédé de la même manière jusqu'à l'obtention de la dilution de 0.03%.
- Les dilutions sont ensuite coulé dans des boites de Pétri numérotées avec le nombre de dilution convenable.

-Après solidification des milieux de culture et préparation des suspensions bactériennes, l'ensemencement est réalisé en déposant un spot de 5 μ l de la suspension bactérienne à l'aide d'une micropipette.

-Des boites témoin positif contenant le milieu MH avec Tween80 sont préparées.

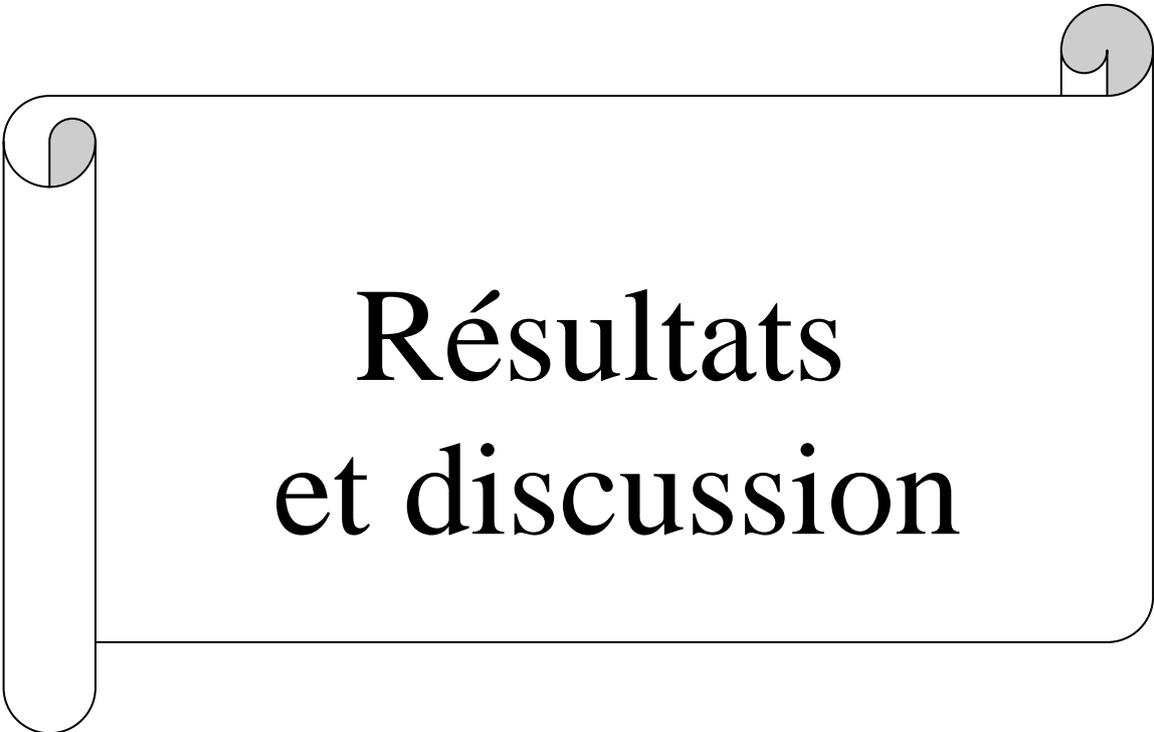
-Incubation des boites à 37°C pendant 24h.

La lecture :

La détermination de la CMI se fait visuellement, elle correspond à la plus faible concentration de l'HE pour laquelle aucune croissance microbienne n'est visible à l'œil nue.

II.2.3. Analyses statistiques :

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS version 17.00. L'analyse descriptive a été réalisée grâce aux calculs de proportion pour les variables qualitative (pourcentage) des moyennes et des écarts types pour les variables quantitatives. Les différentes comparaisons de fréquence a été faite à l'aide du test Khi-deux (X^2), la valeur $P < 0,05$ a été considéré comme significative.



Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Description de la population étudiée

Cent cinquante et un (151) patients ont été inclus pendant la période de l'étude. La population cible était constituée de 97 personnes de sexe féminin (64.2%) et 54 personnes de sexe masculin (35.8%). Le sexe ratio femme/homme était de 1.8. Notre population était majoritairement composée d'adultes (74.2%) et de 25.8% d'enfants (**Tableau V**).

Tableau V : Caractéristiques de la population de l'étude

Caractéristiques	Effectif (N = 151)	Fréquence (%)
Sexe		
Homme	54	35.8
Femme	97	64.2
Âge		
Enfant	39	25.8
Adulte	112	74.2

III.1.2. Caractéristiques des patients atteints d'infection urinaire

Parmi les 151 patients inclus dans notre étude, 34 ont présenté une infection urinaire confirmée par l'examen direct et la culture, soit un taux de prévalence de 22.5%. Alors que 108 ECBU étaient négatifs (71.5%) et seulement 9 étaient contaminés (6%) (**Figure 12**).

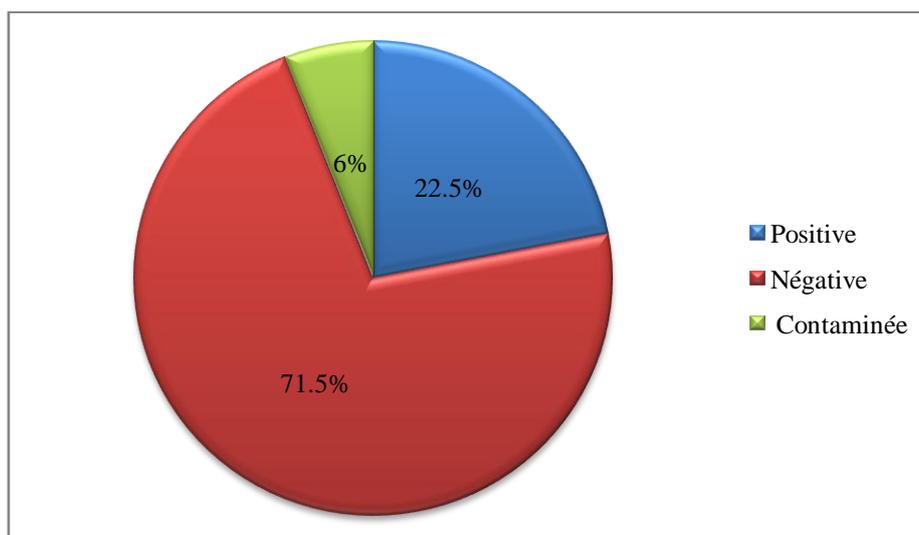


Figure 12 : Taux de prévalence de l'infection urinaire

III.1.2.1. Répartition des cas d'infection urinaire selon le sexe

La **figure 13** représente la fréquence des IU selon le sexe. On note une prédominance du sexe féminin par rapport au sexe masculin avec 73.6 % soit 25 malades contre 26.4 % soit 9 malades respectivement. Cette prédominance féminine est statistiquement significative ($X^2=1.8$, $p = 0,0001$).

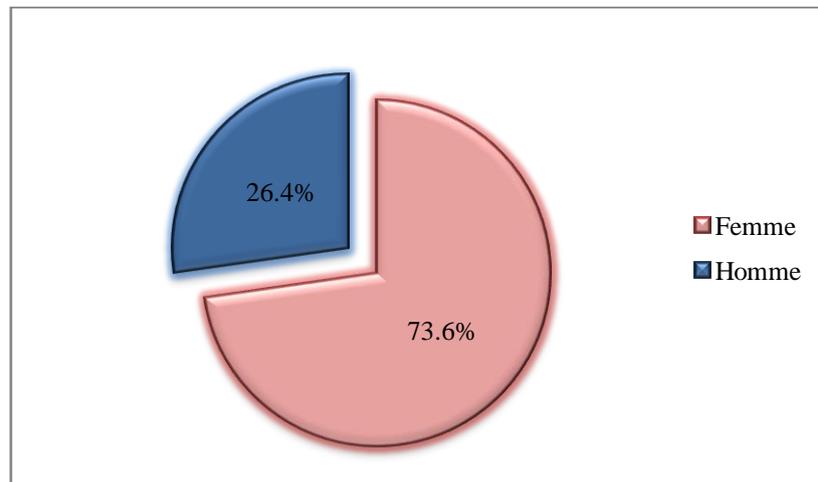


Figure 13: Répartition des cas d'IU selon le sexe.

III.1.2.2. Répartition des cas d'infection urinaire selon l'âge

La répartition des IU selon l'âge montre que les infections du tractus urinaire sont moins fréquentes chez les enfants (44.1%) que chez les adultes (55.9%) (**Figure 14**). Cette étude démontre qu'il existe un lien statistiquement significatif entre la présence d'infection urinaire et l'âge ($X^2= 8.1$, $p=0.017$).

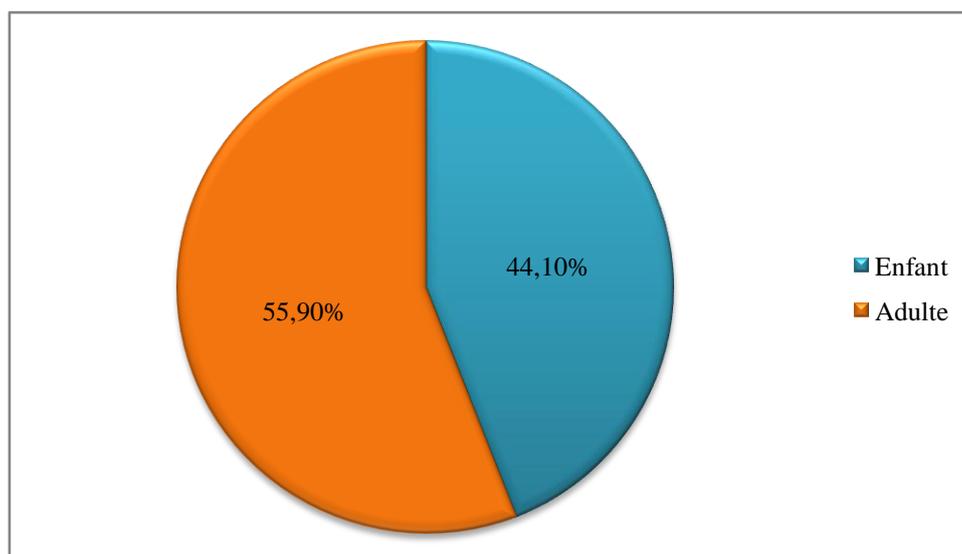


Figure 14: Répartition des cas d'IU selon l'âge.

III.1.3. Résultats de l'analyse chimique des urines (Bandelettes urinaires)

Les résultats des bandelettes urinaires sont enregistrés dans le tableau suivant :

Tableau VI : La leucocyturie et la nitriturie selon les bandelettes urinaires

Bandelette urinaire	Présence	Absence
Leucocyte	39 (25,8 %)	112 (74,2%)
Nitrite	15 (9,9 %)	136 (90,1%)

III.1.4. Résultats de l'examen cyto bactériologique des urines

III.1.4.1. Aspect macroscopique des urines

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur l'ensemble des échantillons analysés, 3 types d'aspect macroscopique de l'urine ont été observés : claire, trouble et rouge (**Figure 15**).

Une urine claire est un signe de bonne santé, elle est due à une bonne hydratation du patient ; en revanche, le caractère trouble d'une urine peut être un signe d'une infection ou un signe bénin provoqué suite à un régime alimentaire riche en phosphates.

Pour l'aspect sanglant de l'urine (urine rouge), il révèle généralement la présence du sang dans l'urine, comme elle peut être due à une alimentation riche en pigment rouge (ex : Betteraves) ou suite à la prise de certains médicaments.



Figure 15: Les différents aspects macroscopiques de l'urine (**Photo originale**).

III.1.4.2. Examen microscopique

A. A l'état frais

- **Examen qualitatif**

L'analyse cytologique à l'état frais à l'aide du microscope optique nous a permis d'observer et confirmer la présence ou l'absence de :

-Leucocytes : en cas d'infection urinaire, les leucocytes sont très souvent rencontrés en grand nombre, car la multiplication bactérienne s'accompagne d'une levée des défenses immunitaires.

- Hématies : une forte hématurie peut même être repéré à l'œil nu. Les traumatismes, les calculs, les cystites hématuriques, la tuberculose, les tumeurs de l'appareil urinaire, les troubles de la coagulation (à la suite par exemple de traitements anticoagulants) peuvent en être à l'origine.

- La présence des cellules épithéliales et des cristaux dans l'urine ne représente pas des significations pathologiques, cependant il est nécessaire de les prendre en considération s'ils s'avèrent importants.

- Bactéries : la présence des bactéries dans les urines ne signifie pas une présence d'IU, car ça peut être dû soit à une contamination de l'échantillon urinaire ou bien à la présence de la flore résidante.

L'absence de leucocytes et de germes suggère que l'échantillon est négatif. L'infection urinaire se traduit par une leucocyturie très importante liée à la multiplication bactérienne. Toutefois, au cours de cet examen il s'est avéré que dans certains cas il est possible d'observer un nombre élevé de leucocytes en l'absence de bactéries due à un traitement aux antibiotiques pris avant d'effectuer l'examen ; il convient également d'observer un taux de leucocyte très faible associé à une présence significative de bactéries notamment chez les personnes immunodéprimés.

- **Examen quantitatif (dénombrement)**

La détection sous microscope des leucocytes et des germes ne signifie pas forcément une infection, il faut que le nombre de ces éléments atteigne un seuil critique (**Tableau VII**).

Tableau VII: Nombre des éléments indicateurs d'une infection urinaire.

À l'état Physiologique		À l'état Physiopathologique	
Leucocyturie N/ml	Bactériurie N/ml	Leucocyturie N/ml	Bactériurie N/ml
<10 ⁴	<10 ³	>10 ⁴	>10 ³
Urine normal non infectée		Urine infecté	

B. Coloration de Gram

L'observation microscopique de la coloration de Gram a permis d'identifier 11,8% de cocci à Gram positif et 88,2 % de bactéries à Gram négatif (**Figure 16**).

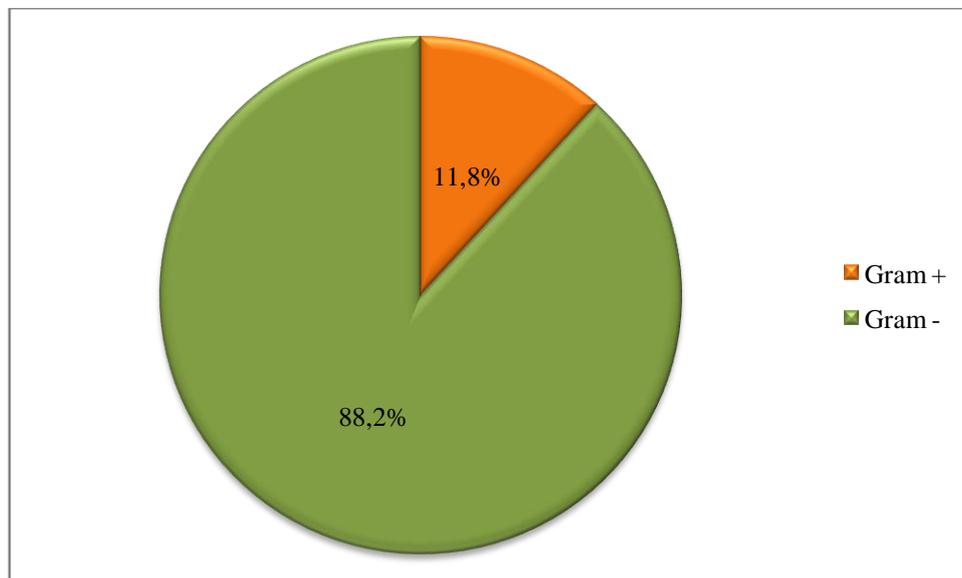


Figure 16: Répartition des germes identifiés selon la coloration de Gram.

III.1.4.3. Examen microbiologique

A. Examen macroscopique d'uroculture

Après 24h d'incubation à 37°C, les caractères morphologiques des colonies ont été notés. Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau VII Annexe 05**.

B. Identification biochimique

- **Galerie classique**

L'identification bactérienne a été complétée par des tests biochimiques plus précis dont les résultats obtenus sont mentionnés dans le **tableau VIII Annexe 05**.

- **Galerie Api 20 E**

En outre, l'identification des entérobactéries par le système Api 20 E a montrée que les souches testées répondent aux profils numériques spécifique à : *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens* (**Annexe 05**).

- **Tests d'orientation**

Les résultats des tests supplémentaires d'orientation (test de catalase et test de coagulase) sont illustré dans le **tableau IX Annexe 05**.

III.1.5. Résultats bactériologiques

III.1.5.1. Profil bactériologique des infections urinaires

Dans l'ensemble des cultures positives, nous avons isolé et identifié 34 germes. D'après les résultats obtenus, on remarque que le Gram - est la catégorie majoritaire causale de l'infection urinaire avec un pourcentage de 88.2 %, elle est dominée par les *Enterobacteriaceae* 82.3% contre 11.8 % des bactéries Gram + qui sont représentés principalement par les *Staphylococcaceae*.

Escherichia coli était l'espèce la plus fréquente, retrouvé chez 58.8% des patients (n = 20). Les quatre principales autres bactéries retrouvées dans les urines de notre population étaient *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, et *Pseudomonas aeruginosa* respectivement chez 14.7%, 11.8%, 8.8% et 5,9% des patients. **Le Figure 17** décrit la répartition de ces principaux germes.

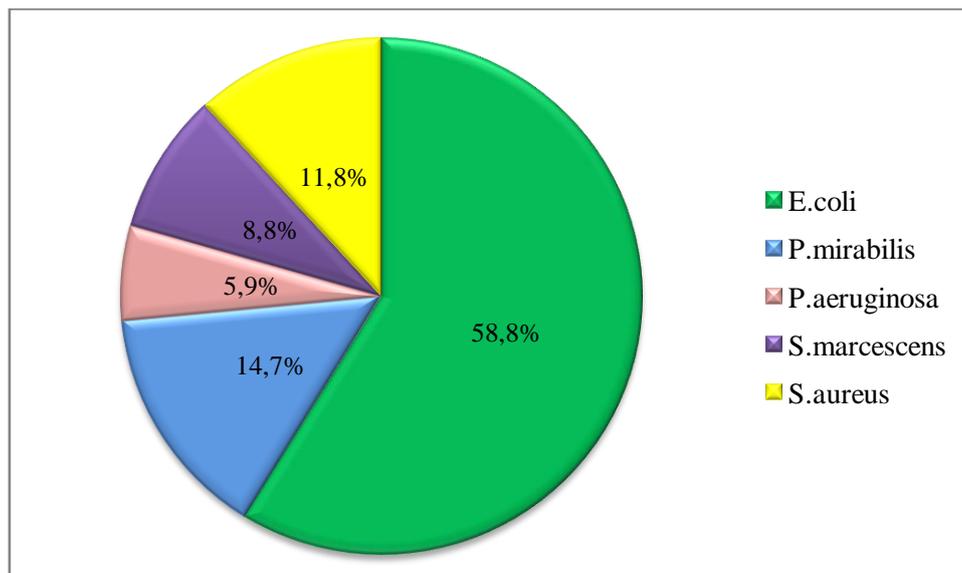


Figure 17 : Répartition des germes identifiés.

III.1.5.2. Etude de la sensibilité de bactéries isolées aux antibiotiques

L'antibiogramme réalisé au cours de cette étude a été effectué sur chaque souche isolée, afin de déterminer sa sensibilité et sa résistance vis-à-vis de divers antibiotiques. Les diamètres des zones d'inhibition mesurés ont été comparés aux diamètres critiques conformément aux normes EUCAST (2012).

- **Profil de Sensibilité des souches d'*Escherichia coli***

Pour les 20 souches d'*Escherichia coli*, l'antibiogramme a montré une résistance élevée à l'Ampicilline (90%), Ticarcilline+Acide clavulonique (70%) et l'Amoxicilline (65%). Par contre, ces souches sont totalement sensibles à la Gentamicine et l'Aztreonam. On a aussi noté une sensibilité significative vis-à-vis Amoxicilline +Acide clavulonique (90%), Ceftriaxone (90%), Ceftazidime (90%), Cefotaxime (80%), Cefalexine (75%) et Cefoxitine (75%) (**Figure 18**).

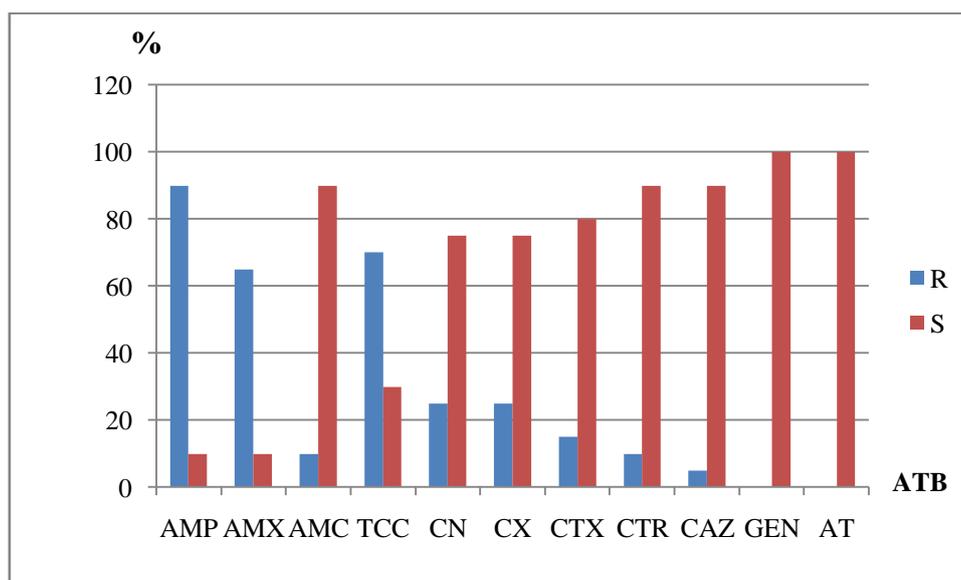


Figure 18: Antibiogramme d'*Escherichia coli*.

- **Profil de Sensibilité des souches de *Proteus mirabilis***

Les souches de *Proteus mirabilis* (n=5) ont montrés une résistance élevée à l'Ampicilline (80%), Ticarcilline+Acide clavulonique (80%) et l'Amoxicilline (80%). En revanche, ces souches sont totalement sensibles à la Gentamicine, Cefalexine, Cefoxitine et Cefotaxime. Nous avons noté aussi une sensibilité élevée (80%) pour l'Amoxicilline +Acide clavulonique, Ceftriaxone, Ceftazidime et l'Aztreonam (**Figure 19**).

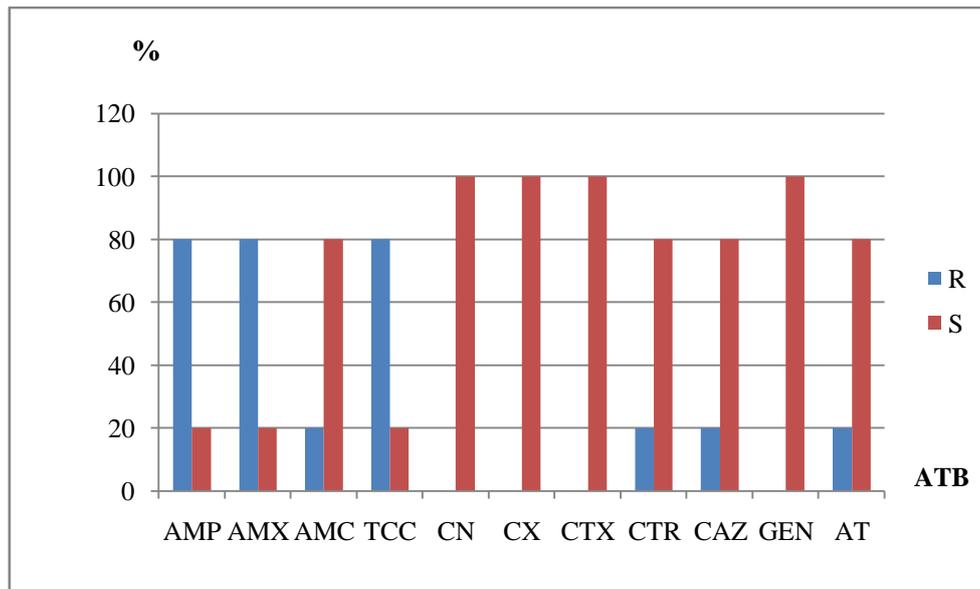


Figure 19: Antibiogramme de *Proteus mirabilis*.

- **Profil de Sensibilité des souches de *Serratia marcescens***

Nous avons enregistré une résistance totale (100%) des trois souches de *Serratia marcescens* vis-à-vis Ampicilline, Amoxicilline, Ticarcilline + acide clavulanique. Par contre, une sensibilité totale a été notée pour le reste des ATB testés : Amoxicilline + acide clavulanique, Céfalexine, Cefoxitine, Cefotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime, Gentamicine et l’Aztreonam (**Figure 20**).

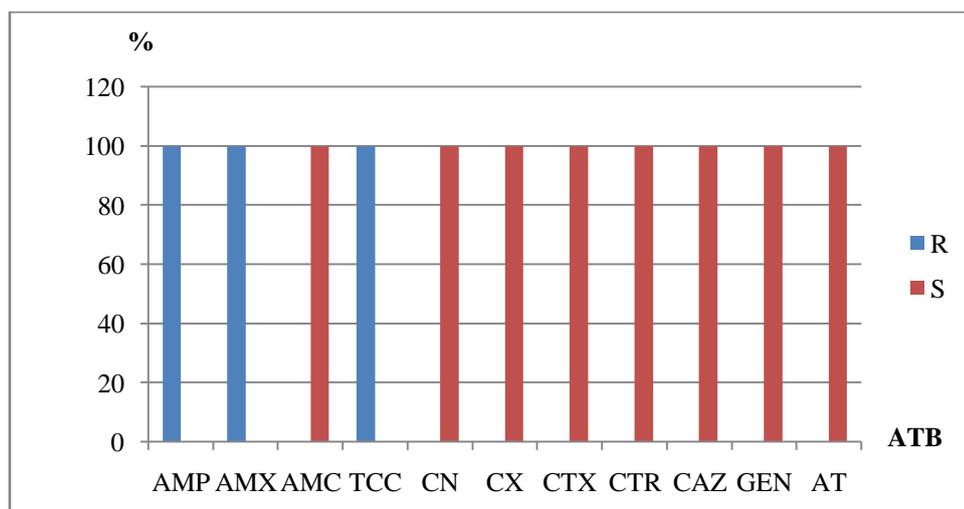


Figure 20 : Antibiogramme de *Serratia marcescens*.

- **Profil de Sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa***

Les deux souches isolées de *Pseudomonas* sont totalement sensibles à Ceftazidime et Gentamicine. Une des deux souches était sensible vis-à-vis l'association Ticarcilline + acide clavulanique et Aztreonam, alors que l'autre souche était résistante à ces deux ATB

(Figure 21).

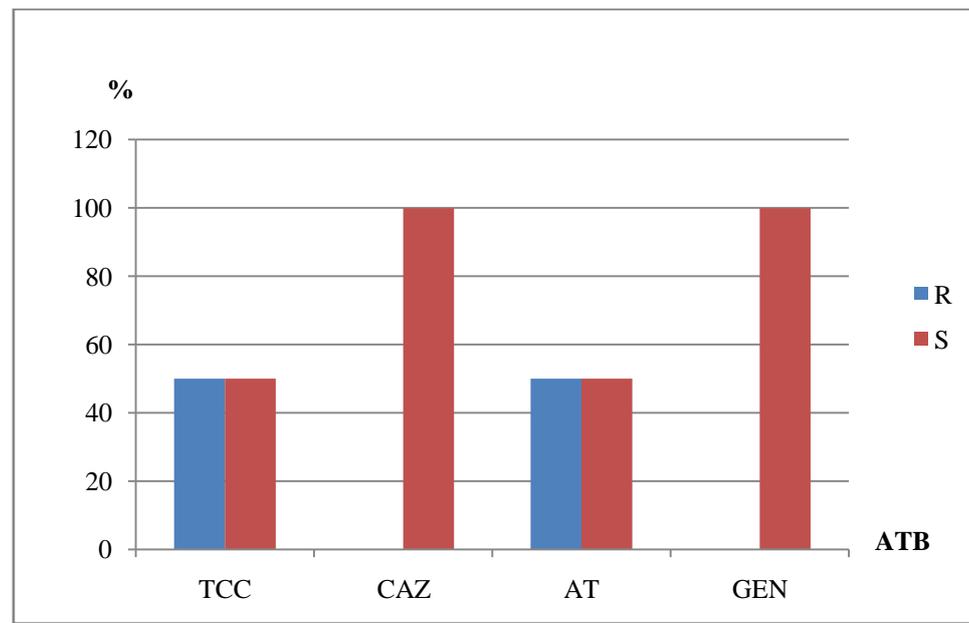


Figure 21 : Antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Profil de Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus***

L'analyse du niveau de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* a montré une résistance élevée au Cefoxitine (75%). Tandis qu'une sensibilité forte a été notée pour le reste des ATB testés : Gentamicine (100%), Norfloxacin (100%), Vancomycine (100%), Chloramphenicol (100%) et Erythromycine (75%). Une résistance aux Kanamycine et Tetracycline a été observé dans 50% des cas (Figure 22).

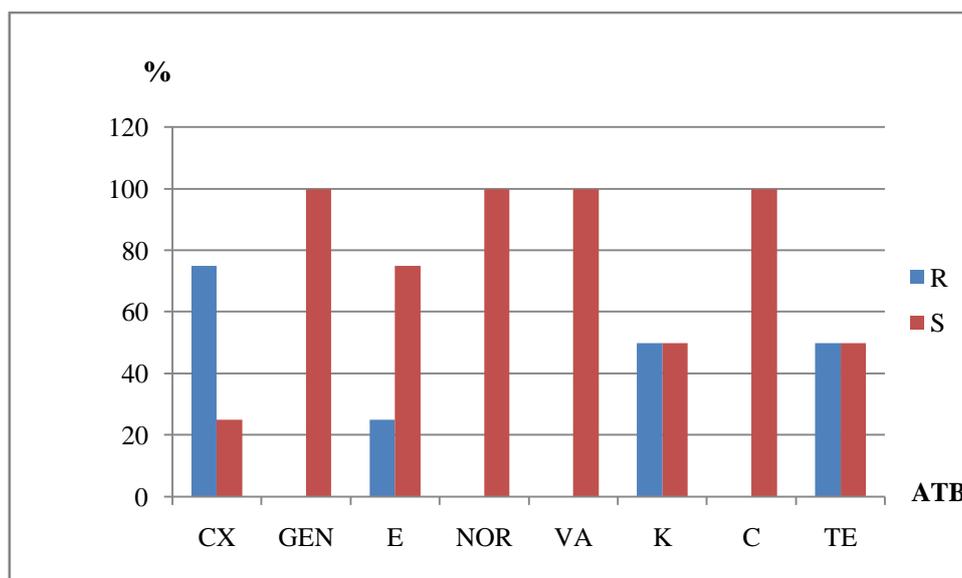


Figure 22 : Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.

III.1.6. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle de *M. spicata*

III.1.6.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *M. spicata*

Les propriétés organoleptiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Les paramètres organoleptiques de notre HE du Menthe sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR** (Tableau IX).

Tableau VIII: Propriétés organoleptiques de l'HE de *M. spicata*

Caractéristiques organoleptiques	Notre étude	AFNOR
Aspect	Liquide	Liquide
Couleur	Jaune clair	Jaune clair
Odeur	Forte et caractéristique de la menthe verte.	Forte odeur et caractéristique de la menthe

III.1.6.2. Rendement de l'huile essentielle de *M.spicata*

Le rendement en huile essentielle est calculé à partir du volume de l'huile essentielle par rapport au poids sec du matériel végétale utilisée dans l'hydrodistillation. Ce rendement est de l'ordre de **1.07%**.

III.1.6.3. Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

L'activité antibactérienne de l'HE de *Mentha spicata*, est évaluée par la méthode de diffusion du disque (aromatogramme) sur 4 souches Gram négatif et 1 souche Gram positif, isolées cliniquement des ECBU. Pour ce test, 3 doses croissantes en HE ont été utilisées (20, 40 et 60 μ L /disque) pour apprécier l'action « Dose-Dépendante » de l'HE de menthe. La sensibilité des différentes souches vis-à-vis HE étudiée est déterminé selon le diamètre d'inhibition observé. Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau X**.

Tableau IX: Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

Bactéries	Aromatogramme			Antibiogramme
	Quantité HE (µL/disque)			
	20µl	40µl	60µl	Disques d'antibiotiques (ATB)
DZI pour les bactéries à Gram -				
<i>Escherichia coli</i>	15	16	16	AMP=R ; AMX= R ; AMC=19 ; TCC=R ; CN=19 ; CX= 20 ; CTX=27 ; CTR= 28 ; CAZ= 23 ; GEN=16.
<i>Proteus mirabilis</i>	14	16	18	AMP=R ; AMX=R ; AMC=19 ; TCC=R ; CN=19 ; CX=21 ; CTX=30 ; CTR=34 ; CAZ=28 ; GEN=16.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	11	TCC=R ; CAZ=16 ; AT=R ; GEN=28.011
<i>Serratia marcescens</i>	13	14	14	AMP=R ; AMX=R ; AMC=20 ; TCC=R ; CN=21 ; CX=23 ; CTX=26 ; CTR=30 ; CAZ=24 ; GEN=17
DZI pour les bactéries à Gram +				
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	18	18	CX=26 ; GEN=30 ;E=27 NOR=20 ; VA=21 ; K =R

(-) Aucune zone d'inhibition ; R : Résistant ; HE : Huile Essentielle ; DZI : Diamètre des Zones d'Inhibition en mm (Diamètre du disque, 9 mm, a été inclus dans le calcul de la DZI).

Nous avons observés une sensibilité des 5 germes par rapport à HE de *M. spicata* au niveau de différentes charges (20, 40, 60 μ l) qui va de 10 à 18 mm (**Figure 23**).

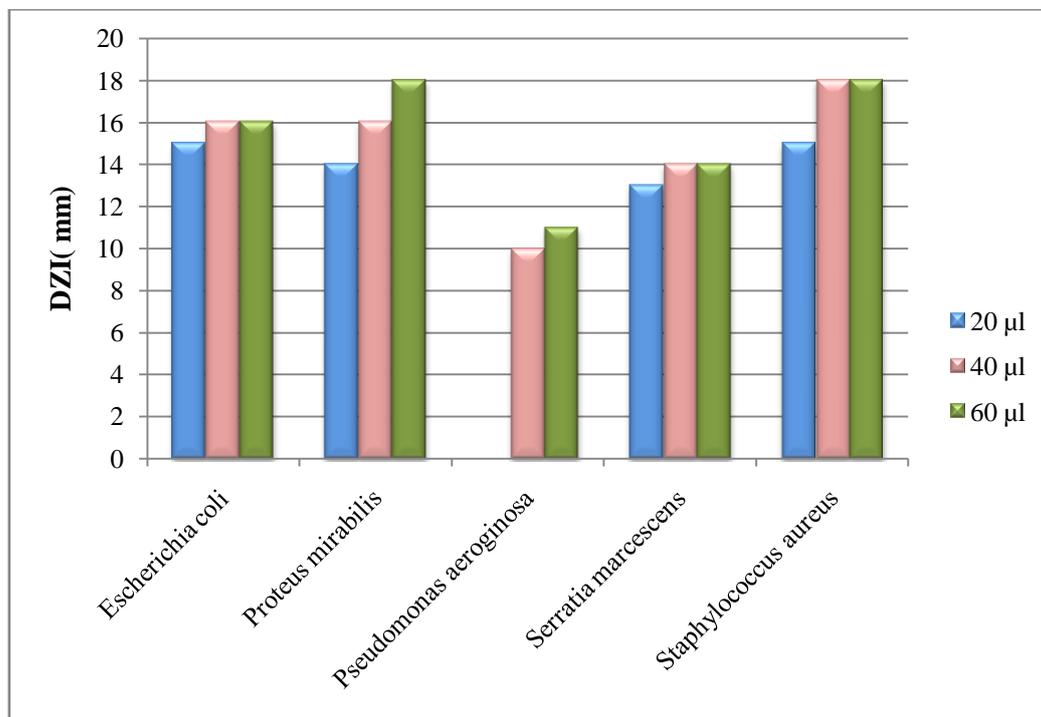


Figure 23 : Activité antibactérienne « dose-dépendante » de l'HE de *Mentha spicata* en aromatoigramme.

III.1.6.4. Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La gamme de dilution en HE utilisée lors de cette étude varie entre 2% et 0.03%. Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) obtenus sont représentés par le tableau ci-dessous.

Tableau X: Concentrations minimales inhibitrices de l'HE de *Mentha spicata*

Souche bactérienne	CMI (μ l /ml)
<i>Escherichia coli</i>	0.25
<i>Proteus mirabilis</i>	0.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Serratia marcescens</i>	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.25

III.2. Discussion

Les infections urinaires sont un motif très fréquent de consultation et de prescription d'antibiotique en médecine générale (**Aymeric et al., 2016**). Le diagnostic de certitude d'une IU repose sur la réalisation d'un examen cyto bactériologique des urines (**Abalikumwe, 2004**).

Dans notre étude qui a été réalisé au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida sur une période de 3 mois. Sur un total correspondant à 151 ECBU, 34 répondaient aux critères d'infection urinaire, soit 22,5% de positivité. Ce taux se rapproche de celui trouvé par **Raka et al., (2004)** 25,8% et un peu plus élevé que celui trouvé par **Hailaji et al., (2016)** notant 18,4%. Par contre ce taux est supérieure à celui obtenu par **Romli et al., (2011)** et **Lahlou et al., (2009)** où le pourcentage de positivité était 12,2% et 11% respectivement. Cette différence de taux de prévalence peut être expliquée par l'inégalité de la taille de la population étudiée.

Les résultats de notre étude indiquent que les infections urinaires surviennent plus souvent chez le sexe féminin que chez le sexe masculin (73,6% vs 26,4%), soit un sexe ratio F/H de 2,8. Cette prédominance féminine est en concordance avec les résultats rapportés par plusieurs autres études : **Larabi et al., (2003)** ; **Sekhsokh et al., (2007)** ; **Lahlou et al.,(2009)** ; **Moutachakir et al., (2014)** ; **Ramilitiana et al., (2014)** et **Hailaji et al., (2016)**. Elle pourrait s'expliquer par :

- l'anatomie de l'appareil génital chez la femme qui favorise l'IU. Elle a un urètre très court, facilite l'accès de bactéries à la vessie. La proximité entre l'anus et le méat urinaire facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant de rectum. En outre, l'homme a un appareil génital bien protégé ; l'urètre est plus long.
- les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices (**MAUROY et al., 1996**).
- après la ménopause, les IU peuvent être plus fréquentes à cause de l'absence de certaines hormones.
- l'usage d'un diaphragme et de spermicides comme moyens contraceptif augmentent le risque d'IU (**BERTHELEMY, 2014**).
- la fréquence des rapports sexuels qui favorisent l'ouverture du méat urétral favorisant ainsi l'accès des germes à la vessie.

Nos résultats montrent que les IU sont plus fréquentes chez les adultes (55.9%) que chez les enfants (44.1%). En effet, la fréquence des infections de tractus urinaire augmente avec l'âge et dépend de plusieurs facteurs : l'augmentation avec l'âge des troubles de la motricité vésicale (effet des médicaments, alitement...), la déshydratation, le défaut d'hygiène et la baisse des défenses immunitaires. Globalement, l'appareil urinaire est pauvre en cellules immunocompétentes (**Barrier, 2014**).

Dans notre étude, le profil bactériologique des infections urinaires était largement dominé par les *Enterobacteriaceae* 82,3% et majoritairement par *Escherichia coli* 58,8%. Ce résultat est proche de celui obtenu par **Romli et al., (2011)** au Maroc qui ont révélé que les *Enterobacteriaceae* ont été isolées dans 81% des cas dont *Escherichia coli* 54%, et **Rahal et al., (2016)** en Algérie qui confirment la prédominance d'*Escherichia coli*. D'autres études menées par **Larabi et al., (2003)**, **Sekhsokh et al., (2007)**, **Ramilitiana et al., (2014)** et **Hailaji et al., (2016)** ont aussi rapportées la prédominance des *Enterobacteriaceae* (88%, 85%, 78,4%, 92,2% respectivement).

La prédominance d'*Escherichia coli* s'explique par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer de l'intestin vers le tractus urinaires. Par ailleurs, *E-coli* exprime une multitude de facteurs de virulence qui lui permettent de coloniser le tractus urinaire et de persister face aux mécanismes de défenses de l'hôte. Ces facteurs peuvent être divisés en deux catégories : les facteurs de virulence associés à la surface de la cellule bactérienne (flagelle, fimbriae, pili, antigène K capsulaire) et les facteurs de virulences qui sont sécrétés et exportés sur le site d'action (toxines, système d'acquisition de fer) (**Bien et al., 2012**).

Les autres bactéries retrouvées étaient *Proteus mirabilis* (14,7%), *Staphylococcus aureus* (11,8%), *Serratia marcescens* (8,8%) et *Pseudomonas aeruginosa* (5,9%). Cette répartition est supérieure à celle retrouvée dans l'étude de **Hailaji et al., (2016)** qui retrouveraient une répartition de 5,7% de staphylococcus aureus, 1,9% de *Proteus mirabilis*, 1,6% de *Pseudomonas aeruginosa* et aucune isolat de *Serratia marcescens*. En effet, La physiopathologie ascendante de l'infection urinaire ainsi que les facteurs spécifiques d'uropathogénicité permettent à ces bactéries de se lier à l'épithélium urinaire. Parmi les caractères de virulence des souches isolées, on cite :

- *Proteus mirabilis*, la présence d'adhésines mannose résistantes est surtout observée pour les souches isolées de pyélonéphrites (**Riegel, 2002**). D'autres facteurs de pathogénicité peuvent être mis en évidence : augmentation de pH chez *Proteus* qui

possèdent une uréase très active qui transforme l'urée en ammoniac. Il y a la possibilité de dépôt de calculs phosphoammoniacomagnésien sur la paroi vésicale.

(Riegel, 2002)

- *Staphylococcus aureus* adhère directement par ses composés pariétaux.
- *Pseudomonas aeruginosa* : cette espèce produit de :
 - L'exotoxine A à des quantités variables d'une souche à une autre et dépend de la concentration en fer du milieu. Elle provoque un oedème et une nécrose tissulaire.
 - L'élastase et l'exo-enzyme S qui sont produites par la majorité des souches provoquent les mêmes effets mais en moindre intensité.

E.coli est un germe qui est naturellement sensible à de très nombreux antibiotiques. L'émergence puis la diffusion de différents mécanismes de résistance acquise au sein de cette espèce limitent maintenant les indications d'un certain nombre d'antibiotiques de première intention. Selon nos résultats de l'antibiogramme, nous avons observé les souches d'*E.coli* montrent une résistance assez importante à l'Ampicilline, la Ticarcilline+Acide clavulonique et l'Amoxicilline. Ces résultats sont proches à ceux de **Gonsu Kamga et al., (2014)** notant une résistance élevée vis-à-vis l'Amoxicilline et la Ticarcilline + Acide clavulonique. De son côté, **Chiheb, (2002)** a constaté une résistance de l'*E.coli* à l'Amoxicilline (64%). Cette résistance d'*E.coli* à l'Amoxicilline peut être expliquée par l'utilisation abusive et incontrôlée de ce type d'antibiotique avec ou sans avis d'un médecin. La résistance des souches à la Ticarcilline + Acide clavulonique pourrait s'expliquer par une baisse de l'activité de l'inhibiteur des beta-lactamases, résultante d'une hyperproduction de pénicillinases, ou de l'inactivation de l'inhibiteur lui-même.

Les céphalosporines (Céfalexine, Céfoxitine, Céfotaxime, Céftriaxone et Céftriaxone), les aminosides (Gentamicine) et les monobactames (Aztreonam) conservent en revanche une excellente activité sur *E. coli*.

Les *P. mirabilis* isolées ont été aussi sensibles aux céphalosporines (Céfalexine, Céfoxitine, Céfotaxime et Céftriaxone), aminosides (Gentamicine) et aux monobactames (Aztreonam). Par contre, 80% des souches étaient résistantes à l'Amoxicilline et l'association Ticarcilline + Acide clavulonique. Ces résultats sont proches de ceux de **Mahamt et al., (2006)** pour l'Amoxicilline et l'association Ticarcilline + Acide clavulonique.

Nous avons enregistré pour les trois souches de *Serratia marcescens* une sensibilité totale pour les Céphalosporines, les Monobactames, les Aminosides et l'Amoxicilline+Acide clavunalique. Cependant, ces souches étaient totalement résistantes pour l'Ampicilline, l'Amoxicilline et la Ticarcilline + Acide clavunalique. La résistance à l'ampicilline et l'Amoxicilline est due à une résistance naturelle de l'espèce à ces molécules (**Rahal et al., 2014**).

Les *S. aureus* ont été sensibles aux Aminosides (Gentamicine), Fluoroquinolones (Norfloxacin), Glycopeptides (Vancomycine), Macrolides (Erythromycine) et Phenicoles (Chloramphenicol). Par contre les souches ont montré une résistance assez importante avec la la Céfoxitine (75%). La céfoxitine était utilisée pour la détection des souches résistantes à l'oxacilline médiée par le gène *mecA*, les souches *mecA* (+) doivent être reportées OXA R, ces souches sont résistantes à toutes les β -lactamines.

Les plantes aromatiques sont connues pour leurs propriétés médicinales depuis l'antiquité. De nos jours on s'intéresse de plus en plus à leurs propriétés biologiques, qui peuvent être attribuées en partie à leurs huiles essentielles. Pendant la période de stage au sein du laboratoire de chimie de l'Ecole Normal Supérieure de Kouba, nous avons effectués l'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles sèches de *Mentha spicata*. Ce processus nous a permis de constater les caractéristiques organoleptique de l'HE de *M.spicata* qui étaient en concordance avec ceux rapporté par les normes d'AFNOR.

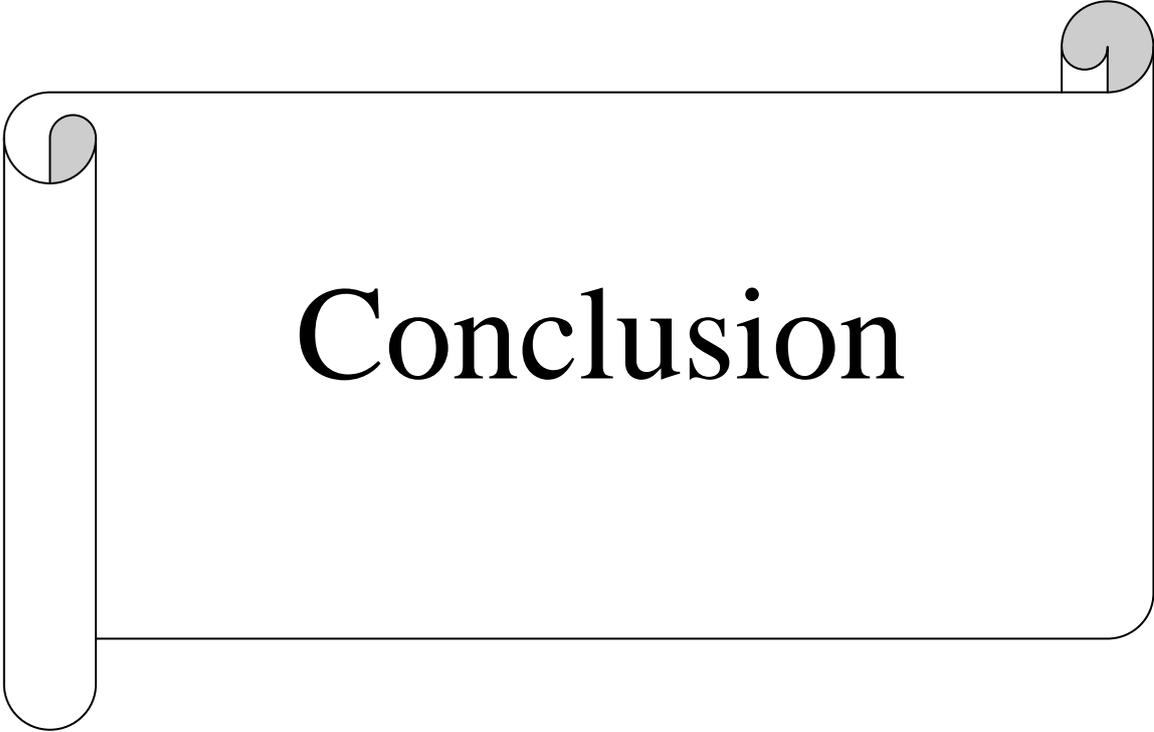
Nous avons obtenu un rendement en huile essentielle de 1.07%. Ce pourcentage est proche à celui rapporté par **Senoussi et al., (2015)** en Tunisie (1,1%) et à celui de Chine (0,8 %) (**Zhao et al., 2013**). Cependant, ce rendement est inférieur à celui rapporté par **Laggoune et al., (2016)** qui est de 2,1%. Cette variation peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante, mais aussi pourrait être attribuée aux origines génétiques ayant évolué en raison des différences géographiques, environnementales et également à la période de la cueillette de la matière végétale (**Zhao et al., 2013**).

L'huile essentielle de *M. spicata* a présenté une activité inhibitrice moyenne vis-à-vis de toutes les souches testées dont le diamètre des zones d'inhibition oscille entre 10 et 18 mm. Le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu avec *S. aureus* et *P. mirabilis* (18 mm) et le plus faible avec *P. aeruginosa* (10 mm). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Zaidi et al., (2015)** où *S. aureus* est sensible avec une ZI de 21 mm alors que *E.coli* et *P. mirabilis* sont sensibles avec une ZI de 12 mm et 14 mm respectivement. De plus, **Shahbazi,**

(2015) a révélé que l'huile essentielle de *M. spicata* présentait un effet antibactérien modéré contre *S. aureus* (ZI = 10mm) et *E.coli* (ZI = 12mm).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *M. spicata* pourrait être attribuée à la présence de la carvone et de limonène. Il a été rapporté que la carvone est l'un des agents antimicrobiens les plus efficaces de diverses plantes (Znini *et al.*, 2011). L'HE *M. spicata* possède un spectre d'activité sur les bactéries G positif et sur les G négatif. Il est très difficile de faire de telle généralisation, que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif car chaque huile essentielle est unique dans sa composition et chaque bactérie diffère considérablement en structure et en fonctionnalité y compris en pouvoir pathogène (Elgayyarv *et al.*, 2001).

Les résultats de la CMI ont montré que la valeur 0,25% était la concentration minimale inhibitrice adéquate pour les souches d'*Escherichia coli*, *Serratia marcescens* et *Staphylococcus aureus*. Ce résultat est similaire au résultat obtenu par Horvath et Koscova (2017) qui ont rapporté que 0,25% était la concentration qui inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*. Nos résultats se rapproche aussi aux résultats trouvé par Hussain *et al.* (2010) qui ont notés une valeur de 0.21% pour *E.coli* et 0,07% pour *S.aureus*. Une autre étude effectuée par Mahboubi et Haghi (2008) a noté que 0,5 était la valeur adéquate de CMI pour *E.coli* et *S.aureus*.



Conclusion

Conclusion

Notre travail a permis d'une part : d'identifier les différentes espèces bactériennes incriminées dans l'IU, et d'établir leur profil de sensibilité vis-à-vis les antibiotiques couramment utilisé dans le laboratoire d'hygiène de Blida, et d'autre part l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de *Mentha spicata* sur les souches isolées.

A la lumière des résultats obtenus, il en sort que :

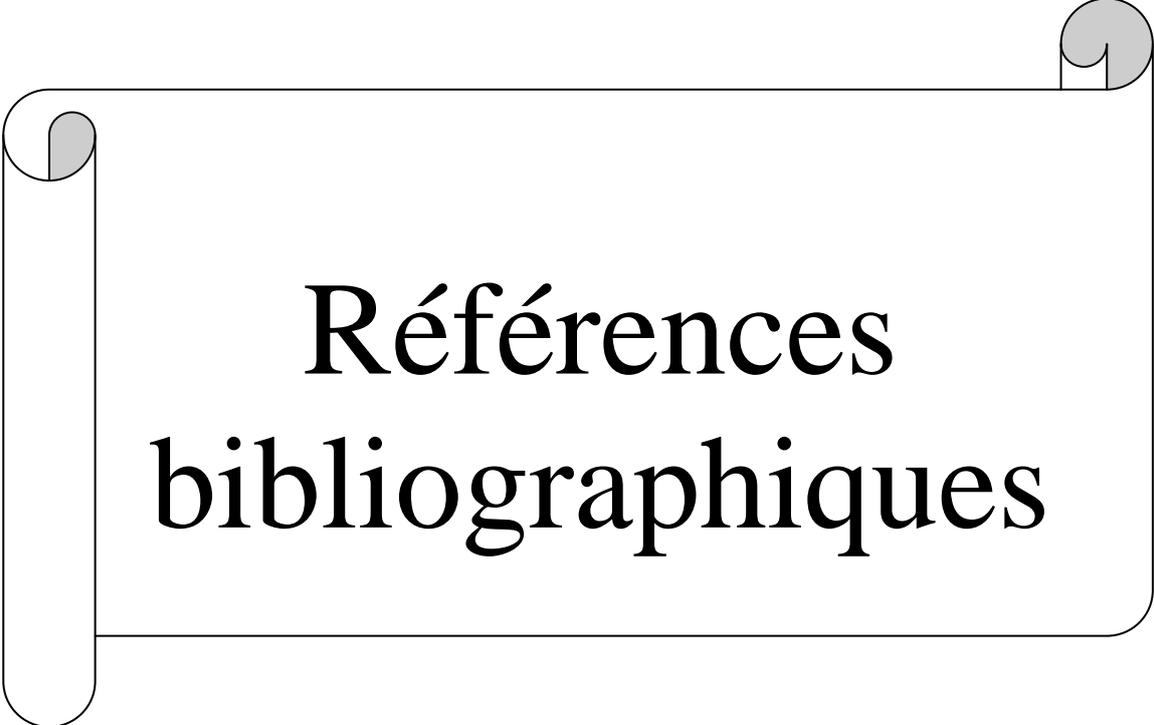
- La prévalence des infections urinaires était de 22.5%. Elle était plus importante chez les femmes que chez les hommes (73.6% vs 26.4%, $p=0.0001$) et les adultes étaient les plus exposés aux ces infections (55.9%).
- L'épidémiologie bactérienne des infections urinaires reste toujours dominée par les *Enterobacteriaceae* (82.3%). Les bactéries isolées ont été pour la plupart des bacilles à Gram négatif dont *E. coli* en chef de file par une fréquence de 58.8% suivie par *mirabilis*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les cocci à Gram positif sont principalement représentées par *Staphylococcus aureus*.
- L'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches isolées a montré que les Céphalosporines, les Monobactames et les aminosides étaient les antibiotiques les plus efficaces sur les différentes souches bactériennes isolées. En revanche, le niveau de résistance aux antibiotiques devient plus élevé pour certains ATB notamment l'ampicilline, l'amoxicilline et l'association ticarcilline + acide clavulanique.
- L'huile essentielle de *Mentha spicata* possède une activité antibactérienne modérée vis-à-vis de toutes les souches testées dont le diamètre des zones d'inhibition oscille entre 10 et 18 mm. Les concentrations minimales inhibitrices obtenues varient de 0.25 à 0.5 ($\mu\text{l/ml}$) pour les bactéries testées.

En conclusion, une meilleure identification des facteurs favorisant l'infection urinaire et leur prévention pourrait permettre de réduire d'une façon significative le taux de ces infections, car la prévention demeure le meilleur moyen de lutte. De même, la prescription à grande échelle et parfois inappropriée des antibiotiques a entraîné la sélection des souches résistantes, d'où l'intérêt d'orienter les recherches vers les plantes médicinales ayant une activité biologique potentielle.

RECOMMANDATIONS

A la fin de cette étude, nous souhaitons faire passer quelques recommandations :

- Des consignes de prélèvements doivent être transmises fidèlement aux patients, afin de minimiser les contaminations qui perturbent les résultats de l'ECBU et causent des problèmes dans le diagnostic.
- Sensibiliser la population à éviter l'automédication des antibiotiques qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes.
- Mettre en place un mécanisme de surveillance de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
- Refaire le plus souvent possible des études similaires pour suivre l'évolution des niveaux et des mécanismes de résistance des bactéries.
- Boire l'eau à des quantités suffisantes pour prévenir une éventuelle constipation qui est un facteur favorisant la stase urinaire.
- Une toilette intime correcte des organes génitaux vers l'anus (pour les femmes surtout).
- Eviter de retenir un besoin d'uriner : avoir des mictions régulières et complètes.
- Réguler le transit intestinal : lutter contre la diarrhée ou la constipation.
- Avoir une bonne hygiène intime quotidienne avec un savon adapté.
- Préférer des sous-vêtements en coton, pas trop serrés.
- Eviter les spermicides et l'utilisation d'un diaphragme en cas d'IU récidivante.
- Traiter les lésions gynécologiques.
- Eviter le plus possible d'utiliser des produits cosmétique (déodorants intime, huiles ou des mousses) (**Barrier Letertre, 2014**).
- Le jus de canneberge est une option intéressante en prévention des rechutes car il inhibe l'adhésion des bactéries aux parois des voies urinaires (**Flatz et al., 2013**).



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abootalebian M., Keramat J., Kadivar M., Ahmadi F. and Abdinian M.

2016. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Science*, 61. P: 175-179.

Alaee S., Rezaee S., Ziaei, G. 2005. Evaluation of the Effects of *Mentha Spicata* Extract on *In-Vitro* Maturation of Mouse Oocytes. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, 2(2). P : 200-203.

Anton R., Lobstein A. 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc., Paris. P : 522.

AFNOR. 2000. Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris. P : 661-663.

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. 2007. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant, Saint-Denis Cedex. P : 143-147.

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. 2008. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte ; Recommandations de bonne pratique médecine et maladies infectieuses 38s. P : 203-252.

Alan E. 2015. Les infections urinaires communautaires bactériennes : évaluation des connaissances de l'équipe officinale et des conseils apportés aux patients, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lorraine, Paris, France. P : 11-12.

Anglaret X., Mortier E. 2003. Maladies infectieuses, 3ème édition, nouveau programme inclus, collection Med-line, Éditeur Estem. P : 109-110.

Audenet. F., Bruyère. F. 2014. Infections urinaires de l'enfant et de l'adulte -Leucocyturie-, Thèse de Doctorat en médecine, Université Médicale Virtuelle Francophone, France. P : 292-294

Bakkali F., Averbek S., Averbek D., Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology* 46. P : 447-449.

Bally. F., Troillet. N. 2008. Urétrite, Sion, Institut Central des Hôpitaux Valaisans (ICHV), Vol. 10 No 3. P : 02.

Bamba M. 2003. Contribution à l'étude de l'infection urinaire au cours de la grossesse : étude prospective du 1er janvier 2001 au 31 août 2001 au service de gynécologie obstétrique du CHU de Treichville. Thèse Med .Abidjan.

- Bagheri S., Ebrahimi M. A., Davazdahemami S., Moghadam, J. M. 2014.** Terpenoids and Phenolic Compounds Production of Mint Genotypes in Response to Mycorrhizal Bio-Elicitors. *Technical Journal of Engineering and Applied L.* P : 339-348.
- Baratta M. T., Dorman H. J. D., Deans S. G., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Ruberto, G. 1998.** Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol 13, N°4. P : 235–244.
- Barrier Letertre C. 2014.** Infections urinaires chez les personnes âgées, Thèse de Docteur en Pharmacie, Université Angers, Rennes.
- Belarmain M. M. 2011.** Prise en charge des infections urinaires chez les enfants de 0 à 10 ans, Thèse de Doctorat en médecine, Université de Kisangani, Kongo. P : 21.
- Bensabah F., Houbairi S., Essahli M., Lamiri A., Naja J. 2013.** Chemical Composition and Inhibitory Effect of the Essential Oil from *Mentha spicata* Irrigated by Wastewater on the Corrosion of Aluminum in 1 Molar Hydrochloric Acid. *Port. Electrochim. Acta.* 31. P : 195–206.
- Berthélémy S. 2014.** Une patiente souffrant d'une infection urinaire, Masson, France, Actualités pharmaceutiques, 2014, N° 536. P : 41-44.
- Bérubé G. 2006.** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Thèse de mémoire de maîtrise. Université du Québec à Chicoutimi.
- Bien J., Sokolova O., Bozko P. 2012.** Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. P : 2-4.
- Boukhatem M.N., Saidi A., Fehrat M.A., Kameli A., Tchoketch Kebir H. 2014.** Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine.* P : 5-9.
- Boutamani M. 2013.** Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée ; Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger - Master domaine chimie du médicament.
- Brahmi F., Adjaoud A., Marongiu B., Procedda S., Piras A., Falconieri D., Yalaouni-Guellal D., Elsebai M. F., Madani K. and Chiban M. 2016.** Chemical composition and *in vitro* antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Hudsgrowing in Algeria. *Industrial Crops and Products.* P : 10.

Brahmi F., Madani K., Dahmoune F., Rahmani T., Bousbaa K., Oukmanou S., Chibane M. 2012. Optimisation of Solvent Extraction of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata L.*). *Pharmacognosy Communications*, 2. P : 72-86.

Brian M.L. 1995. The isolation of aromatic materials from plant products. R.J. Reynolds Tobacco Company. Winston-Salem (USA).P : 57-148.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales. P : 483-560.

Bruneton J. 2009 . Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd., revue et augmentée, Tec et Doc. éditions médicales internationales, Paris. P : 1288.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*. Vol 94.N°3.P : 239-240.

Caquet R. 2010. 250 examens de laboratoire, Prescription et interprétation. 11ème édition. Elsevier Masson. P : 130.

Chemat F., Abert-Vian M., Fernandez X. 2013. Microwave-assisted extraction of essential oils and aromas. In *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*. Springer US. P : 53-68.

Chiheb A. 2002. Les infections urinaires, Maroc, la Fédération Nationale des Associations des Médecins Généralistes Privés du Maroc, Vol 116. P : 15 :42.

Darbas H., Marchandin H., Bourgeois N. et Sylvie M-C. 2007. Diagnostic et suivi des infections urinaires le bon usage de l'examen cyto bactériologique des urines. Faculté de Montpellier – Nîmes. P : 4-5.

Debre B., Teyssier P., Evard P. Dufour B. 1992. Urologie. Edition Masson. P : 149-177.

Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., Mnif W. 2016. Essential oils' Chemical characterization and investigation of some biological activities : critical review. *Medicines*. P : 1-2.

Drai J., Bessedé T., Patard J.J. 2012. Prise en charge des pyélonéphrites aiguës, Masson, Paris, Progrès en urologie, Vol 22. P : 871-875.

Elgayyarv M., Draugon F., Golden D., Mount J. 2001. Antibacterial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms .J. *Food protects* 64. P : 1019-1024.

El-kalamouni. 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extrait de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat en sciences, discipline : Sciences des agroressources. Université de Toulouse. P : 76-98.

Firenzuoli F., Jaitak V., Horvath G., Bassolé I.H.N., Setzer W.N., Gori L. 2014. Essential oils: new perspectives in human health and wellness *J. Evid Based Complement. Altern. Med.*

- Flatz A., Clerc O., Peytremann-Bridevaux I., Burnand B., PeytremannBridevaux I. Rège Walther M. 2013.** La canneberge : un remède naturel pour prévenir les infections urinaires , Rev Med Suisse, Suisse, Vol 9. P : 1280.
- François A., Brandstätter H., Bréchet A.C., Huttner A. 2013.**Infections urinaires, Service de médecine de premier recours. Genève. P : 7-10.
- Goetz P., Ghedira K. 2012.** Phytothérapie anti-infectieuse.Rosmarinus officinalis (Lamiaceae): Romarin. P : 11-193-194-340-342.
- Gonsu Kamga H., Nzengang R., Toukam M., Sando Z., Koulla Shiro S. 2014 .** Phenotypes de resistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaounde (Cameroun). African Journal of Pathology and Microbiology. P : 2-4.
- Guimaraes A.S., Carmo F.B., Pauletti R.B., Seyffert N., Ribeiro D., Lage A. P., Heinemann M.B., Miyoshi A., Azevedo V., Gouveia A.M.G.2011.** Caseous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control. The IIOAB Journal, v.2. P : 33-43.
- Guinoiseau E. 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action.thèse de doctorat en sciences, discipline : Biochimie et biologie moléculaire.Universite de Corse-Pasquale Paoli .Faculté des sciences et techniques. P : 48.
- Hailaji N-S-M., Ouled Salem M.L., Ghaber S.M.2016.** La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott — Mauritanie. Progrès en urologie, 26. P : 348.
- Hussain A.I., Anwar F., Shahid M. 2010 a.** Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata L.*) from Pakistan. Journal of Essential Oil Research. 22 (1). P : 78-84.
- Horváth P., Koščová J. 2017.** In vitro antibacterial activity of Mentha essential oils against *Staphylococcus aureus*. Folia veterinaria, 61, 3. P : 71.
- Islam A., Mazumder U.K., Gupta M ., Ghosal S. 2008.** Synergistic Effects of Geraniin and Rutin in the Antioxidant Properties of Major Lignans in Phyllanthus amarus. Pharmacologyonline 3. P : 1025.
- Jantapan K., Poapolathepa A., Imsilp K., Poapolathep S ., Tanhan P., Kumagai S., Jermnak U.2017.** Inhibitory Effects of Thai Essential Oils on Potentially Aflatoxicogenic *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. Biocontrol Science.Vol 22.N°1. P : 31-40.
- Kanatt ,S. R., Chander, R., Sharma, A. 2007.** Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata L.*) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*, 100. P : 451–458.
- Kenkouo G.A. 2008.** Etude bactériologique des infections urinaires au centre pasteur de

Cameroun, Mémoire de magistère, Institut Sous-regional de Statistique et d'Economie Appliquée(ISSEA), Cameroun. P : 11-14.

Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H., Weis N., 1989. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. *Journal of essential oil research*. Vol 1. N°3. P :119-128.

Kunle O.O., Ibrahim Y. E., Emeje M. O., Shaba S. ;Kunle Y. 2003. Extraction, Physicochemical and Compaction Properties of Tacca Starch - a Potential Pharmaceutical Excipient. *Starch - Stärke*, 55(7). P : 319–325.

Lacombe M. 2005. Précis d'anatomie et de physiologie humaine. 28ème édition.

Laggoune S., Öztürk M., Erol E., Duru M. E., Abaza I., Kabouche A., Kabouche Z. 2016. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Mentha spicata L.* from Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7 (11). P : 4205-4213.

Lahlou M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*, 18(6). P : 435-448.

Lahlou Amine I., Chegri M., L'kassmi H. 2009. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. *Antibiotiques*. Vol 11, N°2. P :92.

Larabi K., Masmoudi A., Fendri C.2003. Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis :à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses*.Vol 33. P : 351.

Laville M., Xavier M. 2003. Soins infirmiers aux personnes atteintes d'affections néphrologiques et urologiques. 3eme édition ; Edition Masson. Paris. P : 113- 115.

Lobel B., Soussy C. 2007. Livre des infections urinaires – Paris. P : 82.

Lopez-Romero JC., Gonzalez-Rios H., Borges A., Simoes M. 2015. Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015. P :1–9. DOI 10.1155/2015/795435.

Lucchesi M.E. 2005 , Extraction sans solvant assisté par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles , thèse de doctorat en Sciences, discipline : Chimie. Université de la réunion. Faculté des Sciences et Technologie.P : 16.

Lucchesi M. E., Chemat F., & Smadja J. 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2). P : 323-327.

- Mahamt A., Lavigne J-P., Bouziges N., Daures J-P., Sotto A. 2006.** Profils de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999 à 2005 au CHU de Nîmes. *Pathologie Biologie* 54. P : 458-460.
- Mahboubi M., Hadhi G.** Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology* 119 :2. P : 327.
- Mauroy B., Beuscart C., Biserte J., Colombeau P., Cortesse A., Delmas V., Fendler J-P, Mangin P., Mouton Tostain. Y., J.1996.** L'infection urinaire chez la femme enceinte », Roubaix, France, *Progrès en Urologie*, 6. P : 607-622.
- Mariani-Kurkdjian. P. 2004.** Médecine thérapeutique/ Pédiatrie », Paris, *Physiopathologie des infections urinaires* .Vol 7, N°3. P : 167.
- Mebarki N. 2010.** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Magister en Genie des procedes chimiques et pharmaceutiques. Université M'hamed Bougara Boumerdes. Faculté des hydrocarbures et de la chimie. P : 14-15.
- Meyer A., Gueudet T., Hansmann Y., Andrès E.2016.** L'antibiothérapie des infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : enquête auprès de médecins généraliste. Vol 22, N°1. P : 19-27.
- Micoud M., Bosseray A.1993.** Choix d'un Antibiotique . EMC - Maladies infectieuses : 1-0 [Article 8-006-D- 10], éditeur Elsevier Masson.
- Mohammedi S. 2013.** L'infection urinaire chez l'enfant : Méfiez-vous des complication-santé-MAG-vol 15. P : 10-11.
- Mondor H. 2004.** Les infections urinaires hautes et basses, parasitologie. France.
- Moutachakir M., Chinbo M., Elkhoudri N., Soraa N.2014.** La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. P : 3.
- Nanekarani S., Goodarzi M., Heidari M. 2012.** The Effect of Different Levels of Spearmint (*Mentha Spicata*) Extract on Immune System and Blood Parameters of Broiler Chickens. *APCBEE Procedia*, 4. P : 135 – 139.
- Nicole M. 2006.** Anatomie, physiologie, Biologie. Ed. Maloine, Paris. P : 445.
- Ouis N. 2015.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. thèse de doctorat en sciences, discipline : chimie organique. université d'Oran1. Faculté des sciences exactes et appliquées. P :7-8.
- Ramilitiana B., Rakotoarivelo R-A., Razafimahefa S-H., Vololontiana D., Randrianarison A., Randria MJD., Randriamarobia WFH.2014.** Prévalence de la

résistance des bactéries aux antibiotiques dans les infections urinaires de l'adulte en milieu hospitalier à Antananarivo. Médecine d'Afrique noire. P : 515.

Rahal K., Tali maamar H., Missoum M-F-K., Ammari H., Benslimani A., Aboun H. 2014. Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale. Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN). P : 20.

Rahal K., Tali maamar H., Missoum M-F-K., Ammari H., Benslimani A., Aboun H. 2016. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN). P : 100-103.

Raka L., Mulliqi-Osmani G., Berisha L., Begolli L., Omeragiq S., Parsons L., Salfinger M., Jaka A., Kurti A., Jakupi X. 2004. Etiology and susceptibility of urinary tract isolates in Kosovo. International Journal of Antimicrobial Agents, 23. P : 4.

Regnault J-P . 2002. Eléments de microbiologie et d'immunologie. Edition Décarie, Canada. P : 341-342.

Reyes-Jurado F, Franco A, Palou E, Ramirez-Corona N. 2014. Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. Reviews, 7(3). P : 275-297.

Riegel P. 2003. Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales, Strasbourg, France, Médecine et Maladies Infectieuses, Vol 33, Supplément 4. P : 193-310.

Romli A., Derfoufi O., Chbouki O., Hajjan Z., Zouhdi M. 2011. Les entérobactéries BLSE des infections urinaires: épidémiologie et résistance. Maroc médical. Vol 33. N°1. P : 13-14.

Schererr., Fumiere L., Coimbra M., Lopes M J-D., Siliva A-G. 2013; Antioxidant and antibacterial activities and composition of Brazilian spearmint (*Mentha spicata* L.) Industrial Crops and Products 50. P : 408– 413.

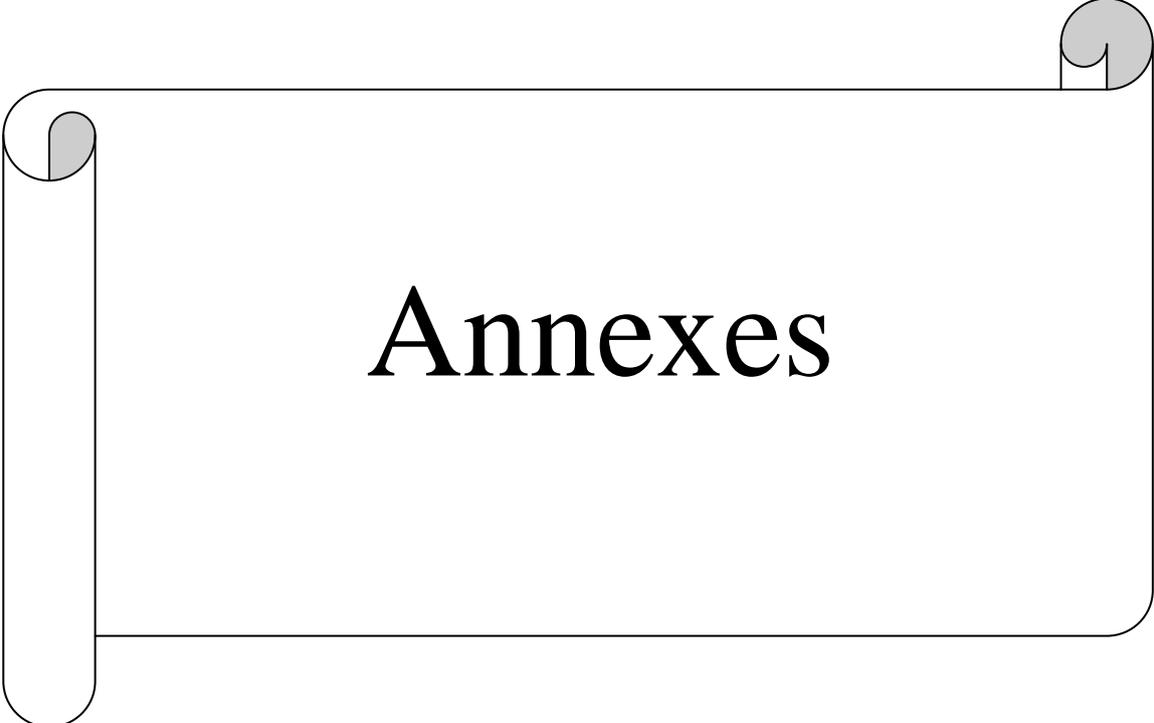
Sekhsoh Y., Chadli M., El hamzaoui S-A. 2007. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et maladies infectieuses. Vol 38. N°6. P : 325.

Shahbazi Y. 2015: Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. Journal of Pathogens. P : 1-5.

Smith P. 2011. La prostatite diagnostic et antibiothérapie en première ligne, Québec, Le Médecin du Québec, Vol 46, N°7. P : 26-27.

Snoussi M., Noumi E., Traelsi N., Flamini G., Papetti A., Defeo V ., 2015 ; *Mentha spicata* Essential Oil : Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. Strains ., Laboratoire de Biotechnologie de l'Olivier, Centre de Biotechnologie de Borj Cédria, , Tunisia. P : 1440

- Société de pathologie de langue française. 2015.** Diagnostique et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. P :10
- Soysal Y. 2005.** Mathematical Modeling and Evaluation of Microwave drying Kinetics of mint (*Mentha spicata L.*). *Journal of Applied Sciences*, 5(7). P : 1266-1274.
- Teixeira M. L., Cardoso M. D. G., Figueiredo A. C. S., Moraes J. C., Assis F. A., Andrade J., Nelson D. L., Souza Gomes M., Souza J. A., Albuquerque L. R. M. 2014.** Essential Oils from *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata L.*: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. *American Journal of Plant Sciences*, 5. P : 1181-1190.
- Thirion D-J.G et Williamson D. 2003.** Les infections urinaires : une approche clinique, Montréal, Québec, Pharmactuel, Vol. 36 No 5. P : 246-247.
- Wainsten J-P. 2012.** La Larousse Médical. Edition Larousse ; Paris Cedex 06.
- Yombi. J-C., Marot. J-C. 2015.** Le bon usage des antibiotiques en médecine générale : Focus sur les infections respiratoires et urinaires chez l'adulte, Bruxelles, louvain med, 134 (7). P : 363- 371.
- Zaidi S., Dahiya P. 2015 .** *In vitro* antimicrobial activity, phytochemical analysis and total phenolic content of essential oil from *Mentha spicata* and *Mentha piperita* International Food Research Journal 22(6): 2440-2445. P : 2441-2442.
- Zekri N., Elazzouzi H., Driouche A., Satrallah A., Belghiti M. A., Zair, T. 2016.** Effect of Geographic Locations on Chemical Composition of *M. Spicata L.* Essential oils from Moroccan Middle-Atlas. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (4). P : 146-150.
- Zhao D., Xu W., Yanga G., Husainib A., Wua W. 2013 .** Variation of essential oil of *Mentha haplocalyx* Briq and *Mentha spicata L.* from China, *Industrial Crops and Products* 42. P: 251– 260.
- Znini M., Bouklah L., Majidi S., Kharchouf A., Aouniti A., Bouyanzer B., Hammouti J., Costa S., Al Deyab S. 2011 .** Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid, *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 6, N°3. P : 691–704.
- Site internet :**
1. <https://www.rustica.fr/articles-jardin/bien-etre-naturel-menthe-verte,2387.html>, consulté le 22 Avril 2019.
 2. <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/60/menthe>, consulté le 22 Avril 2019.



Annexes

Annexe 01

Tableau I: Représentation de matériel non biologique utilisé

Matériel utilisé	
Outils communs	Gants stériles Gels désinfectants Seringues Anse de platine Pipette pasteur Pince Boîte de Pétri Flacons stériles Compressees stériles Papier absorbant Eau physiologique stérile Ecouvillon Huile de vaseline Huile d'immersion
Outils spécialisés	Bandelette réactive Disque d'antibiotique Galerie API 20 E
Réactifs	Reactif de kovacs Reactif de VP Reactif de RM
Appareillages	Etuve Autoclave Réfrigérateur Microscope optique Agitateur Bec bunsen

	Portoir Clevenger Bain marie
--	------------------------------------

Annexe 02

Tableau II: Composition de milieux de culture

Milieu de culture	composition	quantité
Gélose nutritive	Extrait de viande	01g/l
	Extrait de levure	02g/l
	Peptone	05g/l
	Chlorure de sodium	05g/l
	Gélose	15g/l
	pH	7,4
Milieu Mueller Hinton	Infusion de la viande de Bœuf	300ml
	Hydrolysate de caséine	17,5g
	Amidon	1,5g
	Agar	17g
Gélose Chapman	Extrait de viande	1g
	Chlorure de Sodium	75g
	Peptone	11g
	Agar	15g
	Mannitol	10g
	Rouge de phénol	0,025g
	pH	7,4
Gélose Hektoen	Protéose-peptone	12g/l
	Extrait de levure	3g/l
	Lactose	12g/l
	Saccharose	12g/l
	Salicine	2g/l
	Citrate de fer III et d'ammonium	1,5g/l
	reveleurd'H ₂ S	
	Sels biliaires	9g/l
	Fuchsine acide	0,1g/l

	Bleu de bromothymol	0,065g/l
	Chlorure de sodium	5g/l
	Agar	14g/l
	pH	7,6

Annexe 03

Tableau III: Liste des antibiotiques utilisés pour les entérobactéries.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Diamètre critiques (mm)	
				S≥	R<
β-Lactamines	Ampicilline	AMP	10	14	14
	Amoxicilline	AMX	20	19	19
	Amoxicilline+Acide clavunonique	AMC	20/10	19	19
	Ticarcilline+Acide clavunonique	TCC	75/10	23	20
	Céfalexine	CN	30	14	14
	Céfoxitine	CX	30	19	15
	Céfotaxime	CTX	5	20	17
	Céftriaxone	CTR	30	25	22
	Ceftazidime	CAZ	10	22	19
	Aztréonam	AT	30	26	21
	Aminosides	Gentamicine	GEN	10	17

Tableau IV: Liste des antibiotiques utilisés pour *Pseudomonas spp.*

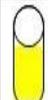
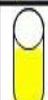
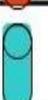
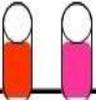
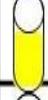
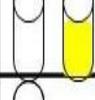
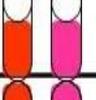
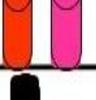
Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Diamètre critiques (mm)	
				S≥	R<
β-Lactamines	Ticarcilline+Acide clavunonique	TCC	75/10	18	18
	Ceftazidime	CAZ	10	16	16
	Aztréonam	AT	30	25	22
Aminosides	Gentamicine	GEN	10	15	15

Tableau V: Liste des antibiotiques utilisés pour *Staphylococcus spp.*

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Diamètre critiques (mm)	
				S≥	R<
β-Lactamines	Céfoxitine	CX	30	22	22
Aminosides	Gentamicine	GEN	10	18	18
	Kanamycine	K	30	18	18
Fluoroquinolones	Norfloxacin	NOR	10	17	
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30		
Macrolide	Erythromycine	E	15	21	18
Tétracycline	Tétracycline	TE	30	22	19
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30	18	18

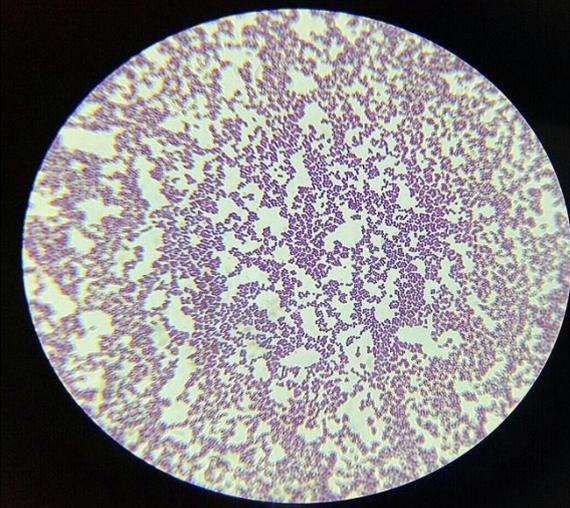
Annexe 04

Tableau VI: Lecture et interprétation de la galerie API 20 E

Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte		
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		
GEL	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

Annexe 05

Résultat de l'observation microscopique.

	
<p>Observation microscopique des hématies à l'état frais</p>	<p>Observation des cocci Gram positif après la coloration de Gram</p>

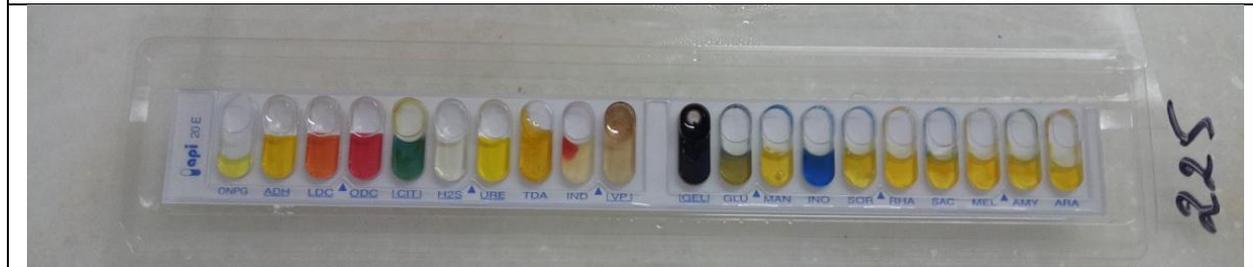
Résultat de l'observation macroscopique des colonies.

	
<p>Observation macroscopique des colonies d'Escherichia coli sur GN</p>	<p>Observation macroscopique des colonies d'Escherichia coli sur Hektoen</p>

Résultat de L'identification des caractères biochimiques par la galerie API 20 E.



Galerie API d'*Escherichia coli*



Galerie API de *Serratia marcescens*.



Galerie API de *Proteus mirabilis*.

Tableau VII : Résultats et interprétation des caractères cultureux des souches isolées.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Sur GN	Les colonies sont lisses, rondes, à contour régulier et blanchâtres.	Les colonies sont rondes, petites, montrant des vagues successives avec une odeur désagréable.	Les colonies sont petites, légèrement bombé au centre, à contour irrégulier, pigmentées en vert.	Les colonies sont bombées, transparentes, à contour régulier.	Les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes et opaques.
Sur milieu sélectif	Colonies saumon	Colonies bleu-vert à centre noir		Colonies saumon	Colonies jaune doré

Tableau VIII : Résultats de la galerie classique de certaines souches isolées.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Mannitol mobilité	+	+	+
Citrate de Simmons	-	-	+
Clark et Lubs	VP : - RM : +	VP : + RM : +	VP : + RM : -
Urée Indole	Uréase : - Indole : +	Uréase : + Indole : -	Uréase :- Indole :-
TSI	Lactose : + Saccharose : + Glucose : + Gaz : + H ₂ S : -	Lactose : - Saccharose : + Glucose : + Gaz : + H ₂ S : +	Lactose : + Saccharose : + Glucose : + Gaz : - H ₂ S : -
LDC	+	-	+
ODC	-	+	+
ADH	-	-	-

Tableau IX: Résultats et interprétation des tests d'orientations.

Test	Résultats	Interprétations	
Test de catalase	+	Présence d'une enzyme catalase	Souche catalase positif : <i>Staphylococcus</i> .
Test de coagulase	+	Présence d'une enzyme coagulase	Souche coagulase positif : <i>Staphylococcus aureus</i> .

Résultat de l'étude de l'activité antibactérienne de l'HE.



Récupération de l'HE après l'extraction



20µl

40µl

60µl

Evaluation de l'effet antibactérien de *Staphylococcus aureus* par la méthode d'aromatogramme

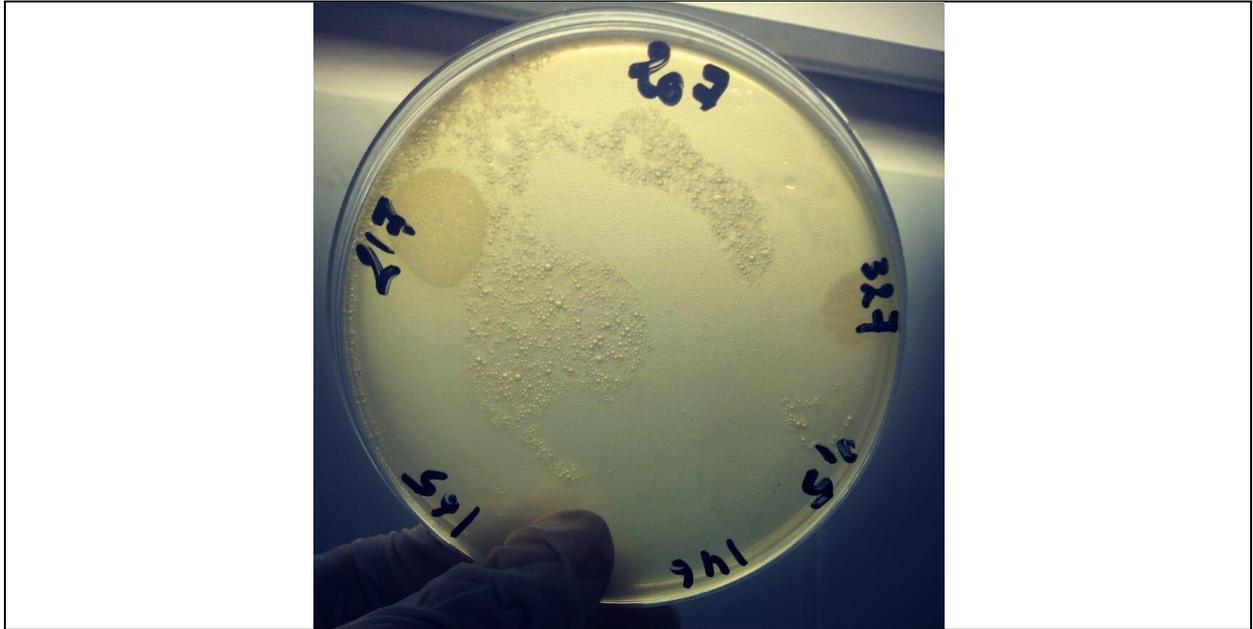


20µl

40µl

60µl

Evaluation de l'effet antibactérien d'*Escherichia coli* par la méthode d'aromatogramme.



207 :*Escherichia coli*, 217 :*Proteus mirabilis*, 165 : *Serratia marcescens*, 146 :*Staphylococcus aureus*, 327 : *Pseudomonas aeruginosa*

CMI à 0,5%

