



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

UNIVERSITY
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
Scientifique

UNIVERSITE ABDEL HAMID IBN BADIS

Département de biologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Effet antimicrobienne des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Staphylococcus aureus* responsable des infections uro-génétale chez la femme

Présenté par : Melle MEGHINI Leila

Melle LAZREUGE Fatima Zohra

Soutenue le : 01 / 07 / 2018

Devant le jury :

Présidente : M. BEKDA .A **Prof.** Univ. Tissemsilt

Encadreur : M. AIT SAADA .D **MCA** Univ. Mostaganem

Examinatrice : M^{me}. AIT CHABANE .O **MCB** Univ. Mostaganem

Invité : M^{me} .NAAS .A **Doctorant** Univ. Blida

Année universitaire : 2018 / 2019

Les Remerciements

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

فَاللّٰهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ كَمَا يَنْبَغِي لِجَلَالِ وَجْهِكَ وَعَظِيمِ سُلْطَانِكَ

*Nous tiens à exprimer toutes nos reconnaissances à Notre encadreur Mr **AIT SAADA D.** pour l'accueil qu'elle ma accordée dans son laboratoire, pour sa générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et de m'avoir fait confiance tout au long de la préparation de ce travail,*

*Nous adressent nos remerciements les plus sincères à Monsieur le Docteur **ARABI ABAD** pour leurs multiples encouragements et leur patience. , merci pour votre soutien et sa précieuse aide à surmonter les difficultés, pour ces conseils et ces orientations*

*Nus exprime nos vifs remerciements à Mme **AIT CHABANE O.**, Maître de conférences pour sa précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister la soutenance.

Nous remercions également les personnels de la bibliothèque de l'ita "Université de Mostaganem " pour leur aide et pour compréhension.

Dédicace

C'est avec tous de mes sentiments que je dédie ce modeste travail à :

A ma très chère papa

*Qui ma quittés mais reste toujours dans mon cœur et que dieu lui accorde sa
miséricorde et lui ouvre les portes de son paradis.*

A ma très chère mère

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré
d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse*

et

*affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de
m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protéger et
te donner la santé, le bonheur et longue vie.*

*A mon trésor **Adda** pour leurs aide, son encouragement et soutiens.*

*A ma sœur **Fatima***

*Un grand respect et amour à vous, vous avez été toujours la pour moi avec vos
mots vos encouragement et vos conseil si précieux Qu'Allah te protège et te
garde pour nous.*

*A mon frère **Hamou**, que j'aime tant Pour leur petit mot et leur soutien.*

Leïla

Dédicace

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour
m'avoir donnée la force et la patience.

Je dédie cette mémoire

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'espère que cette mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mes chers frères : Fethi et Djamel qui ma beaucoup aide dans ma vie

A mes chère belle-sœur : Salima, fatiha ; Nassima pour sa bonté, sa générosité de cœur et son aide si précieuse qui a rendu possible la soutenance de ce mémoire !

Le plus grand merci dédicace à une personne Chère à mon cœur *NORDINE*

A mon binôme Leïla pour tout les souvenirs pendant les années d'études ensemble,
tes plus que une sœur

A Mr Arabi Abad, pour son encouragement, ses conseils et les aides précieux

A ma grande famille, mes amis : Lamai, Khadidja, Djamila, et Meriem,

A tous la promo de Microbiologie appliquée un par un.

Fatima Zohra

Liste des abréviations

- ❖ **ITG** : Infections du tractus génital
- ❖ **IU** : Infections urinaires
- ❖ **PNA** : La pyélonéphrite aiguë
- ❖ **IST** : Infections sexuellement transmissibles
- ❖ **CMB** : Concentration minimale bactéricide
- ❖ **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- ❖ °C : Degré Celsius
- ❖ **DO** : Densité optique
- ❖ **di** : La densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant incubation
- ❖ **df** : La densité optique dans la solution phénoliqueensemencée après incubation
- ❖ **DI** : La densité optique sans extrait de *Thymus vulgaris* avant incubation
- ❖ **S. aureus** : *Staphylococcus aureus*
- ❖ **g** : Gramme
- ❖ **McF** : MacFarland
- ❖ **ml** : Millilitre
- ❖ **MH** : Muller Hinton
- ❖ **S** : Taux de survie du microorganisme en %
- ❖ **UFC** : Unité formant colonie
- ❖ **UV** : Ultra violet
- ❖ **V** : Volume

Liste des Tableau

Tableau 01 : Caractères biochimique de <i>S. aureus</i>	09
Tableau 02 : Taxonomie de <i>thymus vulgaris</i>	15
Tableau 03 : Représente la structure de base des principaux flavonoïdes	16
Tableau 04 : Effet des extraits des <i>Thymus vulgaris</i> prélever de régions Mostaganem et Naama sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Tableau 05 : Effets des extraits de la <i>Thymus vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le taux de croissance (%) de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Tableau 06 : Effets des extraits de la <i>Thymus vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le diamètre d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Tableau 07 : Effets des extraits de la <i>Thymus Vulgaris</i> prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur le taux d'inhibition (%) de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Tableau 08 : Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de <i>Thymus vulgaris</i> chez <i>Stahylococcus aureus</i>	43
Tableau 09 : Type d'inhibition exercé par les extraits de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>S. aureus</i>	44

Liste des figures

Figure 01 : Le tractus génital de la femme	06
Figure 02 : <i>Staphylococcus aureus</i> coloration de Gram (Gram, ×1000).....	07
Figure 03 : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris L</i>	15
Figure 04 : Structure de base des acides benzoïque et cinnamique	19
Figure 05 : Carte géographique montrant les régions de la récolte de l'espèce végétale <i>Thymus vulgaris</i>	21
Figure 06 : Etape d'évaporation sous vide de récupération des extraites de <i>Thym</i>	22
Figure 07 : Procédé de macération par l'eau distillée de poudre de <i>Thymus vulgaris</i>	23
Figure 08 : Méthodes d'extraction des principes actifs de <i>Thymus vulgaris</i>	24
Figure 09 : Concentrations des extraits de <i>Thymus vulgaris</i>	25
Figure 10 : Méthodes de contact direct	26
Figure 11 : Détermination de la concentration minimale bactéricide.....	30
Figure 12 : Méthode de contact direct des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> de Mostaganem chez <i>S. aureus</i>	32
Figure 13 : Méthode de contact direct des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> de Naama chez <i>S. aureus</i>	33
Figure 14 Méthode de contact indirect des extraits de la <i>Thymus vulgaris</i> collectée à Mostaganem chez <i>S. aureus</i>	37
Figure 15 : Méthode de contact indirect des extraits de la <i>Thymus vulgaris</i> collectée à Naama chez <i>S. aureus</i>	38
Figures 16 : Concentrations minimales bactéricides de Les extraites de <i>Thymus vulgaris</i> Mostaganem à chez <i>S. aureus</i>	45
Figures 17 . Concentrations minimales bactéricides des extraites de <i>thymus vulgaris</i> prélevé de Naama chez <i>S. aureus</i>	46

Sommaire

Introduction

Chapitre 01 : Les infections uro-génitale

1- Les infections urinaires	1
1.1 Définition.....	1
1.2 L'origine D'infection	1
1.2.1 Infection endogène.....	1
1.2.2 Infection exogène.....	1
1.2.3 Maladies sous-jacentes et état immunitaire.....	2
1.3 Les différents types des infections urinaires	2
1.3.1 Les infections urinaires basses	2
1.3.2 Les infections urinaires hautes	3
2- Les infections génitales	4
2.1 Définitions	4
2.2 Types d'infections génitales	4
2.2.1 Les infections endogènes	4
2.2.2 Les infections iatrogènes	4
2.2.3 Les infections sexuellement transmissibles (IST).....	4
2.3 Infections du tractus génital chez la femme	5
2.3.1 Infections du tractus génital inférieur	5
2.3.3.1 La vaginite	5
2.3.1.2 Les infections cervicales	5
2.3.2 Les infections du tractus génital supérieur	6

Chapitre 02 : *Staphylococcus aureus*

1- Critères d'identification	7
------------------------------------	---

1.1	Caractères morphologiques	7
1.2	Caractères cultureux	7
1.3	Les caractères biochimiques	8
2-	Habitat.....	8
3-	Transmission	8
4-	Pouvoir pathogène.....	9
4.1	Lésion suppurées	9
4.2	Septicémies et endocardites.....	10
4.3	Manifestation d'origine toxinique	11
5-	Physiopathologie	11
6-	Substances excrétées par <i>S. aureus</i>	11
6.1	Toxines de <i>S. aureus</i>	11
6.1.1	Les hémolysines	11
6.1.2	La leucocidine	12
6.2	Enzymes de <i>S. aureus</i>	12
6.2.1	Coagulase libre	12
6.2.2	Coagulase liée « dumping factor » ou facteur d'affinité pour le fibrinogène	13
6.2.3	Fibrinolysine ou staphylokinase	13
6.2.4	Hyaluronidase	13
6.2.5	Nucléase	13
Chapitre 03 : Les plantes médicinales et aromathérapie		
1-	Terminologie	14
1.1.	Phytothérapie	14
1.2	Plante médicinale	14
1.3	Aromathérapie	14
2-	<i>Thymus vulgaris</i> L.....	14
2.1	Généralités	14
2.2	Description botanique	14
2.3	Classification	15
2.3.1	Place dans la systématique	15
2.3.2	Classification phylogénétique	16

2.4 Distribution géographique	16
2.5 Propriétés du thym	16
2.6 Définition des principes actifs.....	17
2.7 Groupe des principes actifs.....	18
2.7.1 Flavonoïdes.....	18
2.7.2 Polyphénols.....	19
2.7.3 Acides phénoliques.....	19

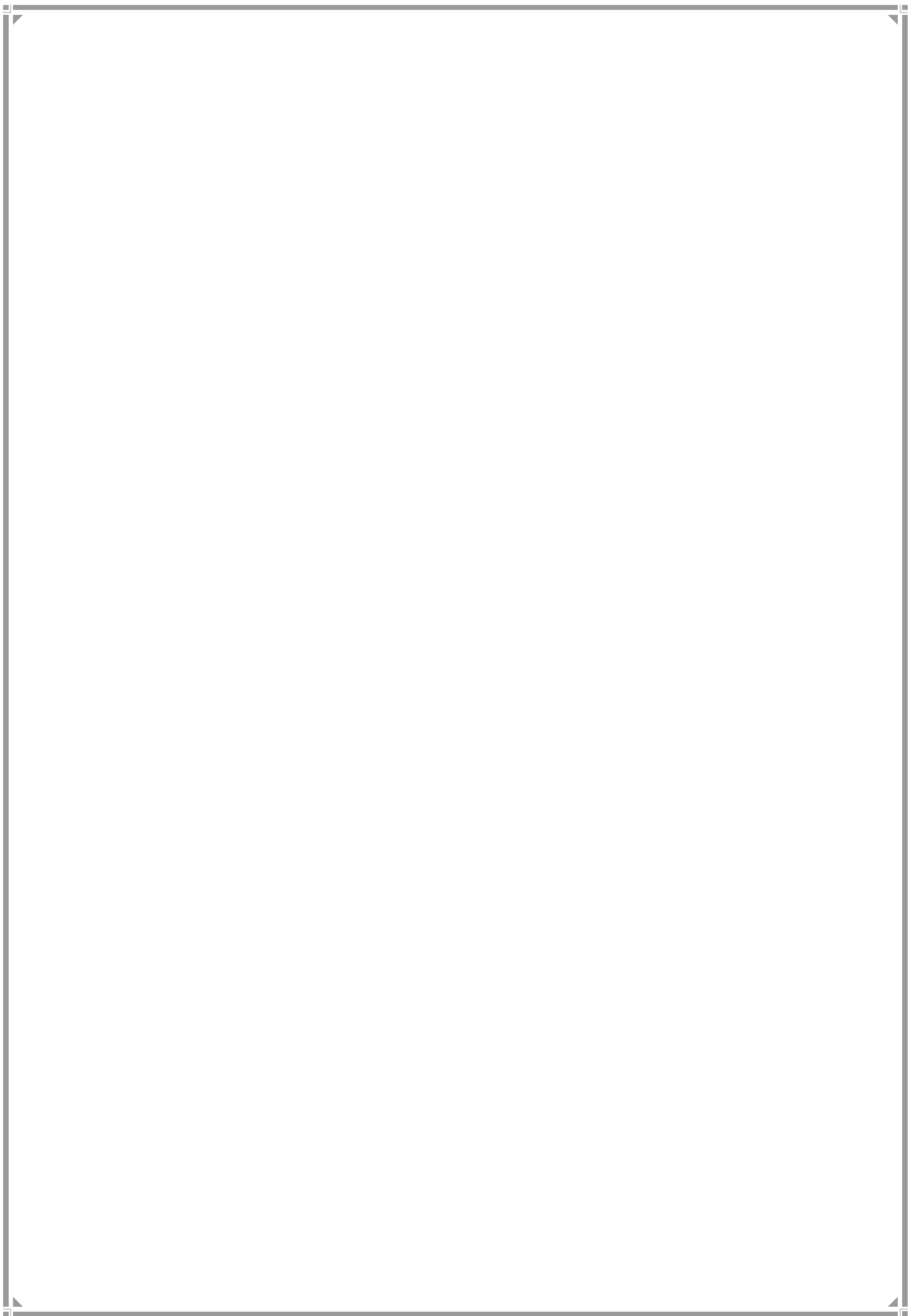
Matériel et méthode

1. Objectif	20
2. Matériel végétal	20
2.1 Critères de sélection de la plante	20
2.2 Source et conservation	20
3. Test de l'activité antimicrobienne.....	21
3.1 La souche microbienne testée.....	21
3.2 Conservation des souches.....	21
4. Milieux de culture.....	21
5. Préparation des extraits.....	22
5.1 Extraction par macération à l'eau.....	22
5.2 Extraction par les solvants organiques à polarité croissante.....	23
6. Méthode de contact direct.....	25
7. Méthode des disques par diffusion sur gélose (Méthode indirect).....	27
7.1 Principe générale.....	27
7.2 Application des disques.....	28
8. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	28
9. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	29

Résultats et discussios

1. Résultat	
1.1 Croissance du germe <i>Staphylococcus aureus</i>	31
1.2 Taux de Croissance du germe S. aureus	31
1.3 Test de diffusion sur disque du germe <i>S. aureus</i>	35
1.4 Taux d'inhibition du germe <i>Staphylococcus aureus</i>	39
1.5 Concentration Minimale inhibitrice (CMI).....	39
1.5.1 Région de Mostaganem.....	39

1.5.2 Région de Naama.....	42
1.6 Concentration minimale bactéricide (CMB).....	42
1.6.1 Région de Mostaganem.....	42
1.6.2 Région de Naama.....	44
1.7. Type d'inhibition.....	44
2. Discussion	47
Conclusion	51
Résumé	56
Références bibliographiques	
Annexes	52



INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Mac et al., 1997**).

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 de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier l'effet antimicrobienne de *Thymus vulgaris*.

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al., 2001**). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source remède en médecine traditionnelle. Cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours de siècles ;

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses.

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologies ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Il résulte que les extraits phénoliques possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux, ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergique (**Bousibia ; 2004**).

Dans ce cadre, ce travail de master a consisté à poursuivre les recherches déjà initiés au sien de l'équipe de recherche affiliée au laboratoire de l'université de Mostaganem et pour l'étude de l'effet antimicrobien des extraits au méthanol, l'hexane, l'éthanol et l'eau de *thymus vulgaris* récolté dans deux région : Mostaganem et Naama sur le germe pathogène : *staphylococcus aureus* .

Chapitre I : Les infections urogénitales

1. Les infections de l'appareil urinaire

1.1 Définition

Les infections urinaires sont un problème économique autant que de santé publique. L'appareil urinaire est normalement stérile, donc on parle d'infection urinaire en présence d'un germe pathogène dans les urines suit à une symptomatologie compatible (**François et al., 2007**). On admet que la bactériurie est positive quand elle est supérieure ou égale à 10^5 (UFC/ml) d'urines mises en culture. Les infections urinaires (IU) peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite,...) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite). Ce sont les infections bactériennes les plus communes chez la femme, elles correspondent à une inflammation associée à une infection de la vessie causée par la prolifération d'agent infectieux dans l'appareil urinaire (**Andreas et Gerber, 2003**).

Les bactéries responsables d'IU sont d'origine digestive. L'IU est plus particulièrement fréquente chez la femme et la jeune fille en raison d'un urètre court, s'ouvrant à la vulve au voisinage du vagin et de l'anus.

L'IU peut être limitée à la vessie (cystite) ou se compliquer d'une atteinte rénale (pyélonéphrite) caractérisée par la survenue de fièvre et de douleurs lombaires. L'atteinte du parenchyme rénal fait toute la gravité potentielle de l'infection urinaire (**François et al., 2007**).

1.2 Origine de l'infection

1.2.1 Infection endogène

Elle est provoquée par la propre flore du malade à partir des germes cutanés (Staphylocoques par exemple) ou muqueuse du périnée, de la peau de l'abdomen ou digestifs (Entérobactéries et Streptocoques) (**Botto, 2003 ; Lentilhac, 2002**).

1.2.2 Infection exogène

Elle est provoquée par un germe provenant d'un autre patient de manière directe ou indirecte par l'intermédiaire du matériel de l'environnement, des surfaces ou des mains des soignants. Le facteur exogène correspond à tout élément introduit pour une raison ou une autre dans le patient et qui contribue directement ou indirectement à augmenter le risque

infectieux. Il en est ainsi des pathogènes mis en cause dans les infections nosocomiales (Lentilhac, 2002).

2.3 Maladies sous-jacentes et état immunitaire

- Les diabétiques avec un risque relatif de 2.2 à 2.3 % et cela à cause de la glycosurie qui altère l'activité des polynucléaires, la phagocytose, et de vidange vésicale, ce qui entraîne un déséquilibre favorisant l'infection.
- Les malades souffrant de malnutrition avec risque relatif de 2.4% (Cox, 1998).
- Néphropathie de base (lithiase, reflux, rein, poly kystique, vessie neurogène ou autre obstacles à l'écoulement).
- Durée des symptômes supérieure à une semaine (surtout sous traitement d'antibiotique) (Andreas et Gerber, 2003).
- L'utilisation récente d'antibiotique (Facteur de risque d'UI compliquée par ailleurs) (Bent *et al.*, 2002 ; Little, 2010).

3. Types des infections urinaires

3.1 Les infections urinaires basses

La cystite aigue c'est une pathologie extrêmement fréquente (environ d'une femme sur deux). Elle comprend la colonisation symptomatique de l'urine, de l'urètre de la vessie. Les infections sexuellement transmissibles et les pathogènes génitaux peuvent aussi participer à l'apparition de signes pathologiques mais sont beaucoup plus rares. Les signes comportent des brûlures urinaires, de la pollakiurie et parfois l'hématurie avec absence de fièvre.

Ces infections sont qualifiées de compliquées lorsqu'elles surviennent pendant la grossesse, chez des patients présentant des anomalies structurelles ou fonctionnelles (obstructions, lithiase, cathéter..), chez les patients diabétiques et/ou immunodéprimés (Klemmer *et al.*, 2011).

L'infection d'appareil urinaire bas est fréquente chez la femme (6 à 10 % des fillettes et des jeunes femmes ont une bactériurie). Ce taux augmente avec l'âge pour atteindre 20% chez la femme adulte et de 25 à 50 % chez la femme de plus de 24 ans. Ainsi, une femme sur trois aura une infection urinaire avant l'âge de 24 ans, de 40 à 50 % auront une infection au cours de leur vie et 20 à 30 % d'entre elles ayant eu un premier épisode, récidiveront dans les 3 à 4 mois. Chez le sujet âgé, tout concourt au risque d'infection urinaire, et des estimations prudentes avancent que dans la population de plus de 65 ans et vivant à domicile, 25 % des

femmes présentent une bactériurie asymptomatique. En institution, le taux est de 25 à 50 % chez les résidentes sans sonde à demeure et 100 % des porteurs de sonde à demeure en sont affligés. L'infection urinaire est habituellement liée à *Escherichia coli*, mais bien d'autres germes peuvent être rencontrés (*Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*).

Les infections dites « simples » sont l'exclusivité de la femme entre 15 et 65 ans. Elles surviennent alors chez des femmes en bonne santé, sans facteur de risque, de type anatomique ou fonctionnel (Lobel et Claude, 2007).

Les infections dites « compliquées » sont liées aux facteurs de risque qui s'y associent, bien plus qu'à la façon dont elles se manifestent : malfaçon de l'appareil urinaire (reflux ou méga-uretère), lithiases urinaires, obstacle et résidu vésical, vessie neurologique, sondage, manoeuvre endoscopique ou hospitalisation récente ; l'hôte lui-même est en cause lorsqu'il est l'objet d'une immunodéficience, un traitement corticoïde à long terme, un diabète ou qu'il s'agisse d'une femme âgée débilitee et institutionnalisée. Dans ce cas, l'infection urinaire est volontiers récidivante d'autant que le facteur sous-jacent ne peut être éliminé. Les germes en cause sont plus souvent des *Enterococci*, *Staphylococcus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les infections nosocomiales ou acquises lors de l'hospitalisation sont toujours dites « compliquées » et comptent pour 40 % de toutes les infections acquises lors des séjours hospitaliers. Les patientes alitées, porteuses d'une sonde à demeure, celles qui ont subi des manoeuvres endoscopiques ou des interventions sur l'appareil urinaire, des séjours hospitaliers prolongés des femmes âgées (Lobel et Claude, 2007).

3.2 Les infections urinaires hautes

La pyélonéphrite elle se manifeste par la fièvre, des douleurs lombaires, de la sensibilité à l'angle costo-vertébral, de la leucocytose, de la pyurie avec des cylindres leucocytaires dans des cas sans complications survenant chez les jeunes femmes et répondant habituellement favorablement au traitement (Drais et al., 2012).

La définition de la pyélonéphrite aiguë (PNA) reste difficile. Si l'on considère qu'il s'agit « d'un état inflammatoire d'origine infectieuse, atteignant le rein par voie canalaire plus souvent qu'hématogène, responsable d'une ischémie localisée du rein » deux approches sont possibles : la considérer comme une infection sévère atteignant le parenchyme rénal et nécessitant un bilan bactériologique, une imagerie pour confirmer le diagnostic, ou au contraire la rapporter à une infection urinaire classique au diagnostic et au traitement simplifié après un bilan limité. Toutes les pyélonéphrites aiguës sont évoquées devant un tableau clinique associant fièvre, lombalgies et urines troubles, mais la prise en charge est différente

selon la PNA «simple » ou « compliquée », c'est-à-dire sans ou avec facteurs de risque. Dans le premier cas, la patiente peut être traitée à domicile ; en cas de PNA compliquée, l'hospitalisation est de rigueur (**Lobel et Claude, 2007**).

2. Les infections génitales

2.1 Définitions

Les infections du tractus génital sont de plus en plus reconnues comme de graves problèmes de santé à l'échelle mondiale dont les répercussions se font ressentir chez les femmes, les hommes, leur famille et les communautés. Ces infections peuvent avoir de graves conséquences : la stérilité, la grossesse extra-utérine, les douleurs pelviennes chroniques, les fausses couches et le risque accru de transmission du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (**Busza et Hawkest, 2002**).

2.2 Types d'infections génitales

Les infections du tractus génital (ITG) se rapportent à trois différents types d'infections:

2.2.1 Les infections endogènes

Sont probablement les ITG les plus courantes à travers le monde. Elles sont le résultat d'une croissance excessive d'organismes qui sont normalement présents dans le vagin. La vaginose bactérienne et la candidose figurent parmi les infections endogènes. Ces infections se soignent bien et se guérissent facilement (**Busza e Hawkest, 2002**).

2.2.2 Les infections iatrogènes

Se présentent quand la cause de l'infection (une bactérie ou autre micro-organisme) est introduite dans le tractus génital à la suite d'une procédure médicale telle que la régulation menstruelle, l'avortement provoqué, l'insertion d'un dispositif intra-utérin (DIU) ou encore pendant l'accouchement. Cela est parfois dû à des instruments chirurgicaux qui n'ont pas été correctement stérilisés ou encore à une infection déjà présente dans la partie inférieure du tractus génital qui est introduite dans les parties supérieures par le biais du col (**Busza et Hawkest, 2002**).

2.2.3 Les infections sexuellement transmissibles (IST)

Sont causées par des virus, des bactéries ou des micro-organismes parasites qui sont transmis lors des rapports sexuels avec un(e) partenaire infecté(e). Il y a environ 30 différentes infections sexuellement transmissibles qui ont été identifiées. Certaines d'entre elles peuvent être traitées facilement, mais tel n'est pas le cas pour un grand nombre de ces

infections. Le VIH, virus responsable du sida, est probablement la maladie sexuellement transmissible la plus grave car elle mène inévitablement à la mort. Les IST affectent aussi bien les hommes que les femmes et peuvent être transmises des mères aux bébés pendant la grossesse ou l'accouchement col (Busza et Hawkest, 2002).

2.3 Infections du tractus génital chez la femme

Les infections de l'utérus, des trompes de Fallope et des ovaires sont appelées du tractus génital supérieur (infections hautes), les infections dans la zone de vulve, du vagin et col sont appelées infections du tractus génital inférieur (infections basses) ces trois types d'infections sont rencontrés dans tractus génital inférieur ou supérieur comme représente la figure 01.

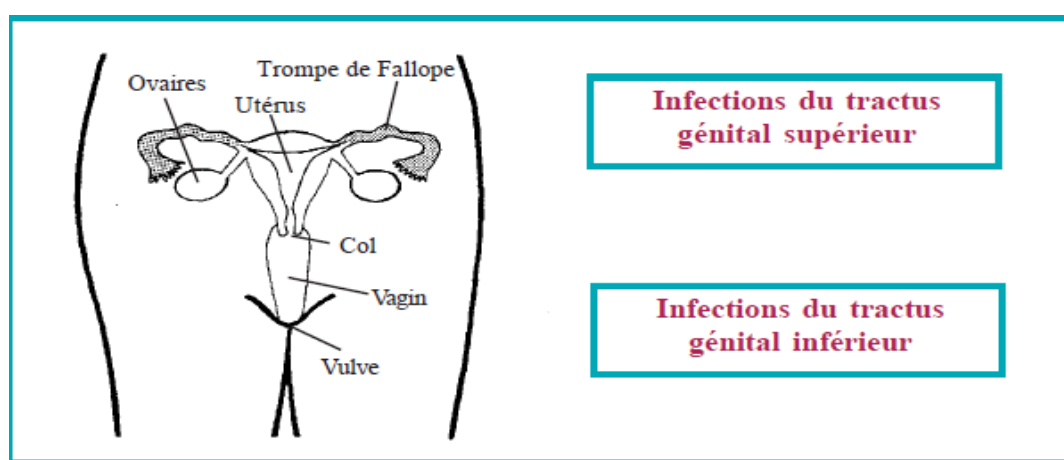


Figure 01: Le tractus génital de la femme (Busza et Hawkest, 2002).

2.3.1 Infections du tractus génital inférieur

2.3.1.1 La vaginite

Il s'agit d'une ITG qui affecte les parties génitales externes et le tractus génital inférieur chez les femmes. Couramment appelée vulvo-vaginite ou simplement vaginite, c'est une inflammation de la vulve et/ou du vagin. Parfois douloureuse, elle occasionne des démangeaisons. La vaginite est causée le plus souvent par des infections endogènes telles que la candidose (levure, muguet) ou la vaginose bactérienne. Toutefois certaines infections sexuellement transmissibles telles que la trichomonase peuvent également avoir les mêmes signes et symptômes

2.3.1.2 Les infections cervicales

Divers pathogènes peuvent être responsables des infections du col, notamment des infections sexuellement transmissibles telles que la gonorrhée et l'infection à chlamydia. Les

infections du col sont jugées d'une plus grande gravité que la vaginite car elles entraînent le plus souvent des infections du tractus génital supérieur dont les conséquences sont graves. Elles sont également plus difficiles à détecter et elles sont souvent asymptomatiques.

2.3.2 Les infections du tractus génital supérieur

La migration des infections vers le tractus génital supérieur, à savoir l'utérus, les trompes de Fallope et les ovaires, comporte des conséquences nettement plus graves que les infections du tractus génital inférieur. Les infections du tractus génital supérieur sont souvent dues à une complication venant des infections inférieures, surtout celles transmises sexuellement. L'inflammation pelvienne (IP) ou salpingite aiguë est une des conséquences les plus graves de la gonorrhée ou de la chlamydie. Elles peuvent entraîner des douleurs abdominales chroniques, une grossesse extra-utérine, des irrégularités du cycle menstruel et la stérilité comme conséquence de lésions cicatricielles des trompes de Fallope.

La grossesse extra-utérine, avec le risque de décès qu'elle entraîne, est une complication particulièrement grave. En effet, elle exige des interventions d'urgence qui ne sont pas toujours disponibles dans des contextes où les ressources sont modiques.

Les infections iatrogènes sont causées par l'introduction de bactéries dans le milieu normalement stérile de l'utérus par le biais de procédures médicales telles que l'insertion du DIU. Elles peuvent également entraîner des infections graves du tractus génital supérieur avec d'éventuels risques de décès (**Aurélié, 2010**).

Chapitre II : Données générales *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

1. Critères d'identification

1.1 Caractères morphologiques

Bactérie à Gram positif, c'est une cocci de forme arrondie, qui se présente sous la forme d'amas ayant la forme de grappes de raisin, sont immobiles et asporulés. *Staphylococcus aureus* (Staphylocoque doré) elle doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies, tient une place très important dans les infections communautaires et nosocomiales (**Nauciel et Vildé, 2005**).

La majorité des souches de *S. aureus* sont capsulées, mais elles peuvent perdre leurs capsules après cultures (**Le loir et al., 2010**).

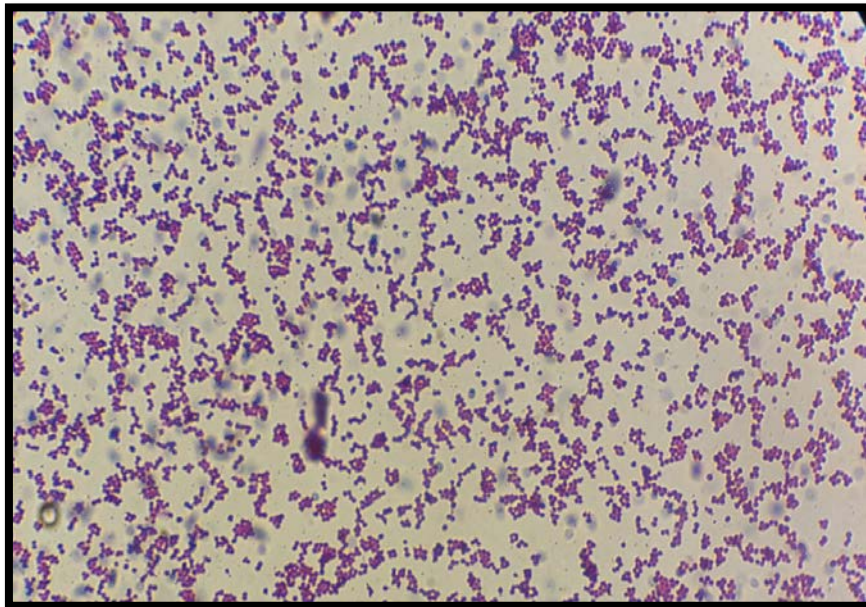


Figure 02. *Staphylococcus aureus* observé au microscope électronique à transmission ($\times 100$)

1.2 Caractères cultureux

S. aureus se cultive facilement sur les milieux usuels (elle présente et bonne croissance en 18-24 h à 37 °C) et aussi sur les milieux riches en NaCl. (**Nauciel et Vildé, 2005**). Ce caractère est parfois mis en profit dans l'utilisation de milieux sélectif (milieu Chapman à 7.5 % de NaCl) pour les isolements de cette bactérie. Elle possède une coagulase (Enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de Staphylocoques.

Le pH optimal de croissance est de 7,0 à 7,5. Il existe, des variants exigeants en facteurs de croissance : tel que la thiamine et l'acide panthoténique (**Berche et al,1989**).

Sur gélose ordinaire, les colonies de *S. aureus* sont lisses, rondes, d'un diamètre de 2 à 3 mm, lisse, rondies, bombées, coloré (jaune-orange). En gélose profonde, la croissance est observée sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif. En bouillon, la culture de *S. aureus* forme un trouble uniforme abondant (**Le loir et al., 2010**).

1.3 Caractères biochimiques

De nombreuses études ont permis de dresser le profil métabolique (tableau 01) pour *S. aureus*.

Cette bactérie a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est catalase positive à la différence des bactéries du genre *Streptococcus* qui n'ont pas de métabolisme aérobie. Il est toutefois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à la différence des microcoques. Il est habituellement capable de fermenter le mannitol, ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de Chapman. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture (**Le loir et al., 2010**).

2 Habitat

S. aureus est une bactérie très répandue chez l'homme, est une partie de la flore normale du corps humain. Il peut être trouvé sur la peau et dans les muqueuses comme le nez (**Franchère et Avril, 2002**).

Chez l'homme, environ un tiers des sujet sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et des zones cutanées humides (périnée, aisselles) (**Nauciel et Vildé. 2010**).

3 Transmission

Ces bactéries se transmettent par contact direct avec une personne infectée, par l'utilisation d'un objet contaminé, ou par inhalation de gouttelettes infectées dispersées dans l'air par les éternuements ou la toux (**Franchère et Avril, 2002**).

Tableau 01 : Caractères biochimique de *S. aureus* (Le loir *et al.*, 2010).

Caractères	<i>S. aureus</i>	Caractères	<i>S. aureus</i>
Pigmentation de la colonie	+	Production d'acétoïne	+
Croissance anaérobies	+	Hydrolyse de l'esculine	-
Croissance aérobie	+	Réduction du nitrate	+
Staphylocoagulase	+	Résistance à la Novobiocine	-
Thermonucléase	+	Production d'acide (en aérobie) à partir de :	
Hémolyse	+	D-Tréhalose	+
Catalase	+	D-Mannitol	+
Oxydase modifiée	-	D-Mannose	+
Phosphatase alcaline	+	D-Turanose	+
Pyrrolidonyl arylamidase	-	D-Xylose	-
Ornithine décarboxylase	-	D-Cellobiose	-
Uréase	D	L-Arabinose	-
β -Glucosidase	+	Maltose	+
β -Glucuronidase	-	Saccharose	+
β -Galactosidase	-	N-Acetylglucosamine	+
Arginine dihydrolase	+	Raffinose	+

Symboles ; +, concerne 90% ou plus des souches ; -, concerne 90% ou plus des souches sont négatives ; d, concerne 11 à 89% des souches sont positives

4 Pouvoir pathogène

4.1 Lésion suppurées

Les infections plus fréquentes sont cutanées et sous-cutanées. *S. aureus* peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes. L'infection superficielle se traduit par un impétigo, un onyxis ou une folliculite. L'infection profonde est représentée par des abcès intra-folliculaires de toute la gaine du poil appelés furoncles, ou par des infections des canaux des glandes sudoripares (hidrosadénites). L'anthrax est un conglomérat de furoncles et la staphylococcie maligne de la face en est une localisation particulièrement grave. Furonculose et hidrosadénite peuvent être récidivantes. Ces récidives sont parfois liées à des facteurs déclenchant : diabète, surmenage... On observe aussi des infections cutanées

associées à la présence de cathéters ainsi que des psoriasis ou des eczémas surinfectés par *S. aureus*, mais sans signes cliniques d'infection (Avril *et al.*, 1992).

S. aureus tient également une place dominante dans les infections osseuses primitives (ostéomyélite) ou post-chirurgicales, ainsi que dans les arthrites suppurées.

Des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez le nourrisson et chez les malades sous ventilation assistée, elles peuvent parfois se compliquer de pleurésie purulente (Nauciel et Vildé. 2010).

4.2 Septicémies et endocardites

Les lésions suppuratives peuvent se compliquer provoquent une septicémie. Une forme particulière est la Staphylococcie maligne de la face. A l'origine d'un furoncle de la lèvre ou de la narine qui se complique d'une thrombophlébite suppurée. Les toxicomanes utilisant la voie intraveineuse peuvent présenter des septicémies souvent accompagnées d'une endocardite du cœur droit. En milieu hospitalier, les septicémies à *S. aureus* représentent une proportion importante des septicémies d'origine nosocomiale. La porte d'entrée est souvent un cathéter intra-vasculaire. Toutefois certaines septicémies surviennent sans porte d'entrée apparente (Avril *et al.*, 1992).

Staphylococcies urogénitales : les pyélonéphrites à staphylocoques sont assez fréquentes ; *S. aureus* peut aussi entraîner la formation d'abcès isolés du rein ou des phlegmons périnéphrétiques (Avril *et al.*, 1992).

Les septicémies à *S. aureus* se compliquent volontiers de métastases septiques notamment au niveau du poumon et de l'appareil ostéo-articulaire, plus rarement au niveau de l'appareil urinaire ou du système nerveux central (Nauciel et Vildé. 2010).

4.3 Manifestation d'origine toxinique

S. aureus est responsable d'intoxications alimentaires à incubation courte (quelques heures). Elles sont dues à l'ingestion d'entérotoxines (A et E préformées dans l'aliment), résistant aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur (Avril *et al.*, 1992).

L'infection à *S. aureus* est parfois à l'origine d'un syndrome dit de choc toxique staphylococcique. Ce syndrome associe une fièvre élevée, un rash scarlatiniforme, de la diarrhée et une hypotension accompagnée de signes de défaillance poly-viscérale. Il entraîne une certaine mortalité. Il peut s'observer dans deux circonstances ; dans la première, le

syndrome survient pendant les règles chez des femmes utilisant des tampons hyper-absorbants.

Dans la seconde, il s'agit de sujets de l'un ou l'autre sexe présentant une suppuration localisée à *S. aureus*. Dans certains cas infection staphylococcique peut s'accompagner d'une éruption scarlatiniforme sans état de choc associé.

L'infection cutanée à *S. aureus* peut se traduire chez le nouveau-né par une dermite exfoliative (maladie de Ritter) et chez le nourrisson par un syndrome sévère du à un décollement étendu de la couche superficielle de l'épiderme (aspect de peau ébouillantée) (Nauciel et Vildé. 2010).

5 Physiopathologie

S. aureus peut devenir pathogène à la suite de diverses circonstances :

_ Pénétration du germe dans l'organisme, le plus souvent après rupture de la barrière cutanée (blessures, interventions chirurgicales, brûlures, dermatoses, injections, cathéters,...) ou au niveau d'un follicule pileux.

_ Rupture de l'équilibre hôte-bactérie à la suite de circonstances favorisant l'infection : virose (grippe, rougeole), antibiothérapie sélectionnant une souche de *S.aureus*, déficits immunitaires, diabète, alcoolisme...

Il s'ensuit une multiplication bactérienne avec production d'enzymes et de toxines correspondant à l'expression de la virulence du germe.

En raison de ses nombreuses toxines et enzymes, *S. aureus* détruit les cellules de l'organisme et produit du pus. Il est ainsi le type même du germe pyogène (Avril *et al.*, 1992).

6. Substances excrétées par *S. aureus*

Elles sont particulièrement nombreuses chez *S. aureus*.

6.1 Toxines de *S. aureus*

6.1.1 Les hémolysines

_ L'alpha-hémolysine ou alpha-toxine staphylococcique elle est de nature protéique, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants. Elle semble s'insérer dans la membrane cytoplasmique des cellules-cibles et permet le passage de molécules de petite taille.

_ La bêta-hémolysine thermolabile. Elle agit comme une sphingomyélinase de type C et donne une hémolyse accrue en présence de souches de *Streptococcus agalactiae*.

_ La gamma-hémolysine : Elle comporte deux facteurs I et II agissant en synergie. Ceux-ci sont antigéniques et le cholestérol inhibe leur action. Le mode d'action moléculaire de cette toxine reste inconnu.

_ La delta-hémolysine : Elle contient des acides aminés hydrophobes et hydrophiles et agit comme un détergent sur les membranes (Avril *et al.*, 1992).

6.1.2 La leucocidine

La leucocidine de Panton Valentine détruit très spécifiquement les polynucléaires et les macrophages de l'homme et du lapin. Il existe 6 variétés d'entérotoxine ayant des spécificités immunologiques différentes (désignées par les lettres A à F) mais possédant les mêmes activités biologiques. Ces toxines particulières, TSST-1 (Toxic shock syndrome toxin), est impliquée dans la majorité des cas syndrome de choc toxique staphylococcique.

Enfin l'exfoliatine (dont il existe deux variétés A et B) est responsable du décollement intra-épidermique observé au cours de l'impétigo bulleux et du syndrome de peau ébouillantée. Les entérotoxines, la TSST et l'exfoliatine font partie du groupe de toxines appelées superantigènes, en raison de leur capacité à interagir à la fois avec le récepteur spécifique des lymphocytes T et les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité. Cette interaction entraîne la libération de cytokines pro-inflammatoires qui jouent probablement un rôle important perméabilité capillaire (Nauciel et Vildé. 2010).

6.2 Enzymes de *S. aureus*

Ces enzymes ont un intérêt pathogénique et/ou diagnostique important.

6.2.1 Coagulase libre

S. aureus est capable d'excréter une protéine provoquant la coagulation du plasma humain ou de lapin « coagulase libre ». Un staphylocoque produisant cette toxine sera identifié comme *S. aureus*. La formation du coagulum ne nécessite pas la présence de calcium, elle n'est pas activée par le fibrinogène purifié, mais a besoin d'une globuline voisine de la prothrombine (coagulase reacting-factor). Cette coagulase est antigénique (7 groupes antigéniques) et entraîne l'apparition d'anticorps inhibant l'activité biologique. Elle joue un rôle dans la formation de thrombophlébites suppurées et inhiberait la phagocytose (Avril *et al.*, 1992).

6.2.2 Coagulase liée « dumping factor » ou facteur d'affinité pour le fibrinogène

A côté de la coagulase « libre », on reconnaît une coagulase insoluble, « liée » à la surface des germes et également appelée « dumping factor ». Elle se lie au fibrinogène et est

responsable de l'agrégation sur lame des staphylocoques en présence de sérum ; ce facteur d'affinité pour le fibrinogène peut être mis en évidence par contact de la souche à étudier avec des hématies de mouton ou des particules de latex recouvertes de fibrinogène ; une agglutination apparaissant en quelques secondes est trouvée chez 98 % des souches de *S. aureus*. Ce « dumping factor » ne dégrade pas le fibrinogène en fibrine (**Le Loir et al. 2010**).

6.2.3 Fibrinolysine ou staphylokinase

Cette enzyme est un activateur du plasminogène (action semblable à celle de la streptokinase), agissant sur le plasma humain et de lapin. Cette substance thermolabile est antigénique, elle dissout les caillots et pourrait jouer un rôle dans la formation d'embols septiques (**Avril et al., 1992**).

6.2.4 Hyaluronidase

Cette enzyme thermolabile hydrolyse l'acide hyaluronique, elle fluidifie la substance fondamentale du tissu conjonctif et peut être recherchée par viscosimétrie (**Avril et al., 1992**).

6.2.5 Nucléase

La nucléase (DNase) de *S.aureus* (ou thermonucléase) est thermostable, alors que celle des autres espèces bactériennes est thermolabile (**Avril et al., 1992**).

Chapitre III : Les plantes médicinales et aromatiques

1. Phytothérapie

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

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par l'être humain. Ils continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Zeghad, 2010).

2. *Thymus vulgaris* L.

2.1. Généralités

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des lamiacées, l'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L. localement connu « zaatar ». Le nom thym proviendrait aussi bien du latin que du grec :

- ✓ Thymus : « parfumer » (latin).
- ✓ Thumus : « courage » (grec) (Zeghad, 2010).

2.2 Description botanique

Thymus vulgaris, est un sous arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique de 7-30 cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert grisâtre (**figure 03**). Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques, ces tiges ligneuses et très rameuses sont regroupées en touffe ou en buisson très dense. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court et blanchâtres à leur face inférieure. Ses fleurs sont presque roses ou blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures. Le limbe du calice est bilabié, un peu bossu. La corolle de taille variable, un peu plus longue que le calice mais la partie tubulaire de la corolle ne dépasse pas celle du calice,

les étamines sont incluses. La période de la floraison commence en mai-début de juin (Eberhard *et al.*, 2010)

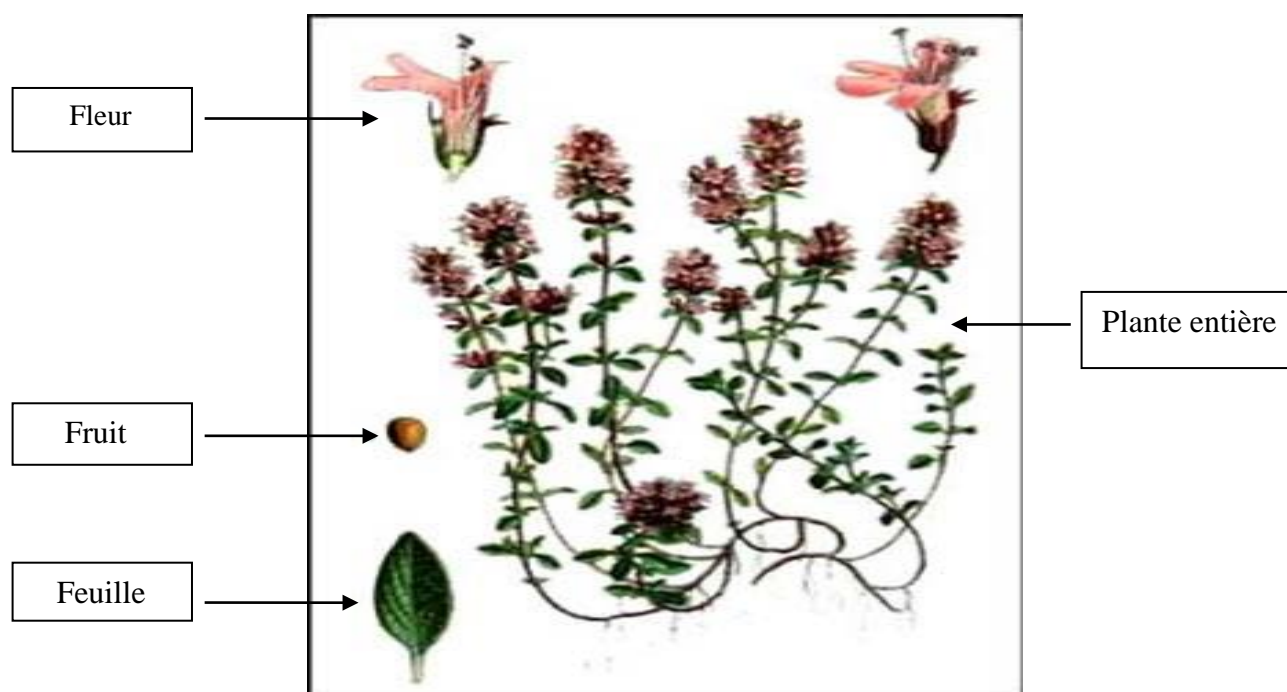


Figure 03 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L.

2.3 Classification

2.3.1 Place dans la systématique:

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Morales, 2002) synthétisée dans le Tableau 02.

Tableau 02 : Taxonomie de *thymus vulgaris* D'après (Zeghad, 2010).

Règne	Plante
Sous règne	Trancheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asterdae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Thymus
Espèce	Thymus vulgaris

2.3.2 Classification phylogénétique

La classification phylogénétique de *Thymus vulgaris* est la suivant :

- ✓ Ordre : Lamiales
- ✓ Famille : Lamiaceae

2.4 Distribution géographique

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes et aussi autochtone du sud d'Europe. Plus précisément, le thym commun préfère un sol légèrement acide, bien drainé et rocailleux (calcaire), en plein soleil et au sec, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais. La capacité de cette plante à résister à de très forte chaleur provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et s'évapore-la journée ; c'est par cette action que la chaleur sera consommée (Morales, 2002).

2.5 Propriétés du thym : les principaux critères et utilisation de *Thymus vulgaris* se résumes comme :

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Propriétés vermifuges et vermicide.
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose).
- Propriétés anthelminthique.
- Propriétés antioxydants en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thynnus thynnus* durant leur stockage (Blot et Gouillier, 2012).

2.6 Définition des principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Pelt,

1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou sèches, nous pouvons citer comme des parties utilisées ; les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiel à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (**Sarnimanchado et Veronique, 2006**).

Les principes actifs sont des composés phénoliques, des terpènes stéroïdes et des composés azotés dont :

- les alcaloïdes ;
- Les acides phénoliques (acide caféique, acide rosmarinique) ;
- Les flavonoïdes (hespéridine, eriotrécine, narirutine, lutéoline) ;
- Les polyphénols (tatin) (**Morales, 2002**) ;

2.7 Groupes des principes actifs

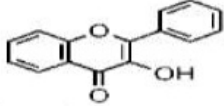
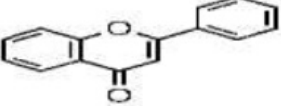
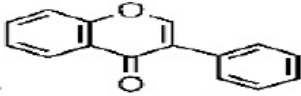
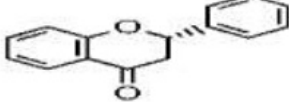
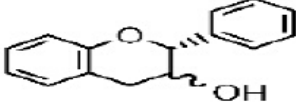
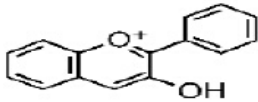
2.7.1 Flavonoïdes

Terme en latin ; flavus= jaune. Ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**Wichtl et Anton, 2009**).

Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant un ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (**Heller et Forkmann, 1993**).

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (**Wichtl et Anton, 2009**). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Iserin et al, 2001**).

Tableau n°3: Représente la structure de base des principaux flavonoïdes (**Harborne et Williams, 2000**).

Sous classe	Structure
Flavonoles	
Flavones	
Isoflavones	
Flavanones	
Flavan-3-ol	
Anthocyanes	

2.7.2 Polyphénols

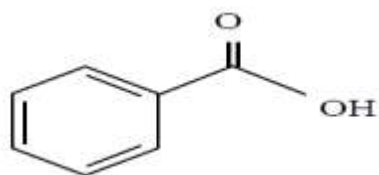
Les poly-phénols ou les composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficiels, ils sont des composés photochimiques poly-hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénolique, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (**Sarni-Manchado et Veronique, 2006**).

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phyto-pathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (**Sarni-manchado et Veronique, 2006**).

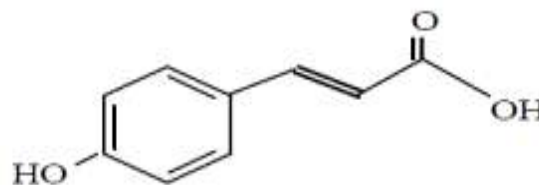
2.7.3 Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et

liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Wichtl et Anton, 2009). Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Iserin et al, 2001).



Acide benzoïque



Acide cinnamique

Figure 04: Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 2009).

1. Objectifs

Nous nous sommes proposés d'essayer de connaître le comportement *in vitro* de l'un des germes le plus responsables de maladies urogénitales à savoir *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels que les polyphénols, les flavanoides et bien d'autres composés bioactifs contenues dans une plante médicinale autochtone poussant à l'état sauvage dans certaines régions du pays et très largement utilisée en médecine traditionnelle par la population à savoir le Thym (*Thymus vulgaris*).

D'une façon générale les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 2 points essentiels :

1- Procéder à une extraction par macération des principaux composés bioactifs de la plante par usage de solvants à polarités croissantes dont: L'hexane, le méthanol, l'éthanol et l'eau.

2- Suivre les effets antimicrobiens des extraits aux solvants à différentes polarités de la plante médicinale test (*Thymus vulgaris*) sur le germe spécifique de référence (*Staphylococcus aureus*) reconnue comme étant le plus responsable des infections urogénitales chez les femmes.

2. Matériel végétal

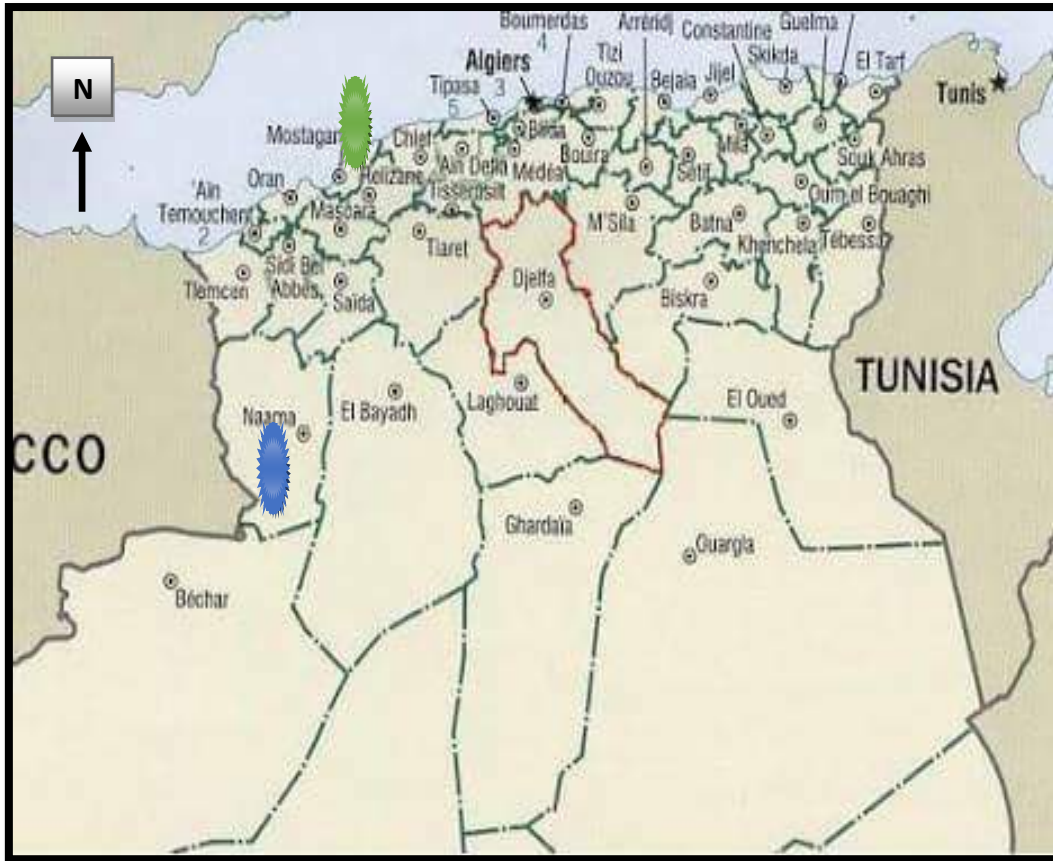
2.1. Critères de sélection de la plante

Afin d'isoler des nouvelles substances de plantes et de trouver de ce fait de nouvelles voies d'applications tant dans les domaines de la pharmacie afin de rendre la stratégie d'isolement le plus efficace, il convient de sélectionner avec soin la plante à étudier.

Les informations de terrain recueillies auprès des populations et l'usage empirique des différentes préparations traditionnelles ont retenu notre attention pour la sélection de *Thymus vulgaris*.

2.2. Source et conservation

La plante a été récoltée de deux régions de l'Algérie, Mostaganem et Naama (**Figure 05**), elle a été prélevée le mois de mars 2018. L'espèce a été triée, séparée et séchée à l'ombre dans un endroit bien aérée ; ensuite broyée et les parties végétales ; et conservée jusqu'à leurs utilisations.



 : Mostaganem

 : Naama

Figure 05. Carte géographique montrant les régions de la récolte de l'espèce végétale *Thymus vulgaris* .

3. Test de l'activité antimicrobienne

3.1. La souche microbiennes testée

La bactérie qui a été testé pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits *Thymus vulgaris* est *Staphylococcus aureus* « souche de référence ATCC33862 référence de laboratoire ».

Une pré-culture de souche microbienne est réalisées afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée au standard 0,5 MCFarland avec un spectrophotomètre ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ ml pour dont la densité est à une longueur d'onde $\lambda = 625\text{nm}$ (DO= 0,08 à 0,1).

3.2. Conservation des souches

La souche est conservée à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

3.3. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes ;
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de la plante ;
- Bouillon de Mueller Hinton ;
- Bouillon nutritif ;
- La gélose Chapman pour l'isolement et l'entretien de *Staphylococcus* et l'étude de sa sensibilité aux extraits.

4. Préparation des extraits

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans la plante testée on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par (Sultana *et al.*, 2009). Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération, et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide (rota-vapeur) (Figure 06).



Figure 06. Etape d'évaporation sous vide de récupération des extraits de *Thymus vulgaris*.

4.1. Extraction par macération à l'eau

La poudre de la plante (50g) est mise à macérer dans l'eau distillée (500 ml) pendant 6 heures sous agitation à la température ambiante. Après décantation du mélange, l'extrait hydrique est récupéré par filtration sur papier Wattman. Le résidu est ensuite concentré par

évaporation rotative dans un Rota vapeur (**Figure07**). Le filtrat est ensuite récupéré dans des flacons et conservé à 4 °C jusqu'à leur utilisation.

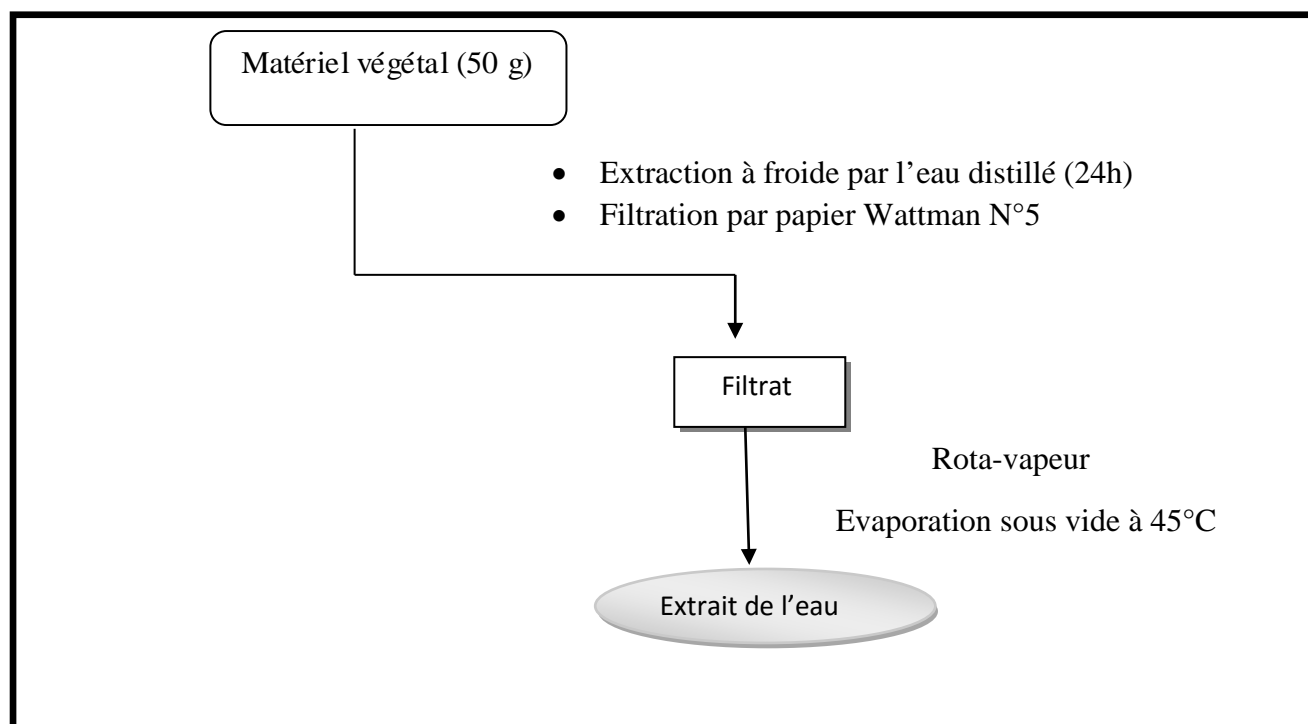


Figure07. Procédé de macération par l'eau distillée de poudre de *Thymus vulgaris*.

4.2. Extraction par les solvants organiques à polarité croissante

L'extraction est effectuée par épuisement successive du matériel végétal, en utilisant trois solvants à polarité croissante hexane, méthanol et éthanol, méthode décrite par (**Biallo et al. 2004**). La quantité de la solution aqueuse (80/20, solvant / eau, v / v) doit être appropriée à la quantité de matière végétale, dont nous disposons (dans notre cas, 400 ml de solvant et 100 ml de l'eau distille stérile pour 50 g de poudre de *Thymus vulgaris*). L'extraction est effectuée sous agitation continue et à température ambiante durant 06 heures. Après filtration, le résidu est ensuite concentré par évaporation rotative dans un Rota vapeur (**Figure 08**).

La série d'extraction permet d'obtenir quatre extraits bruts : un extrait aqueux et trois extraits organique : extrait à l'hexane, extrait au méthanol et extrait à l'éthanol. Ils sont conservés à 4°C jusqu'à utilisations.

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés, seront enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement, (**Figure 09**).

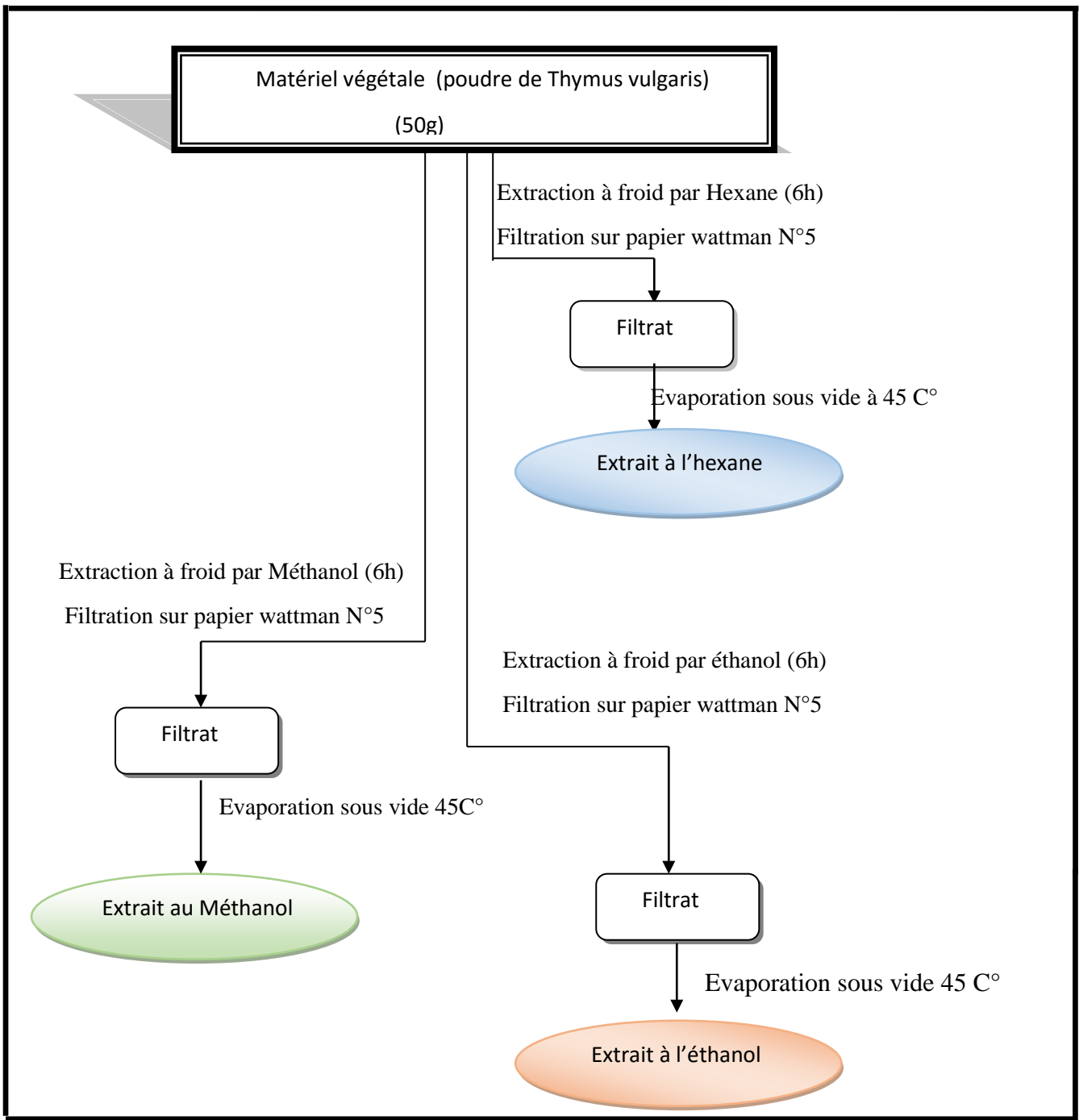


Figure 08. Méthodes d'extraction des principes actifs de *Thymus vulgaris*

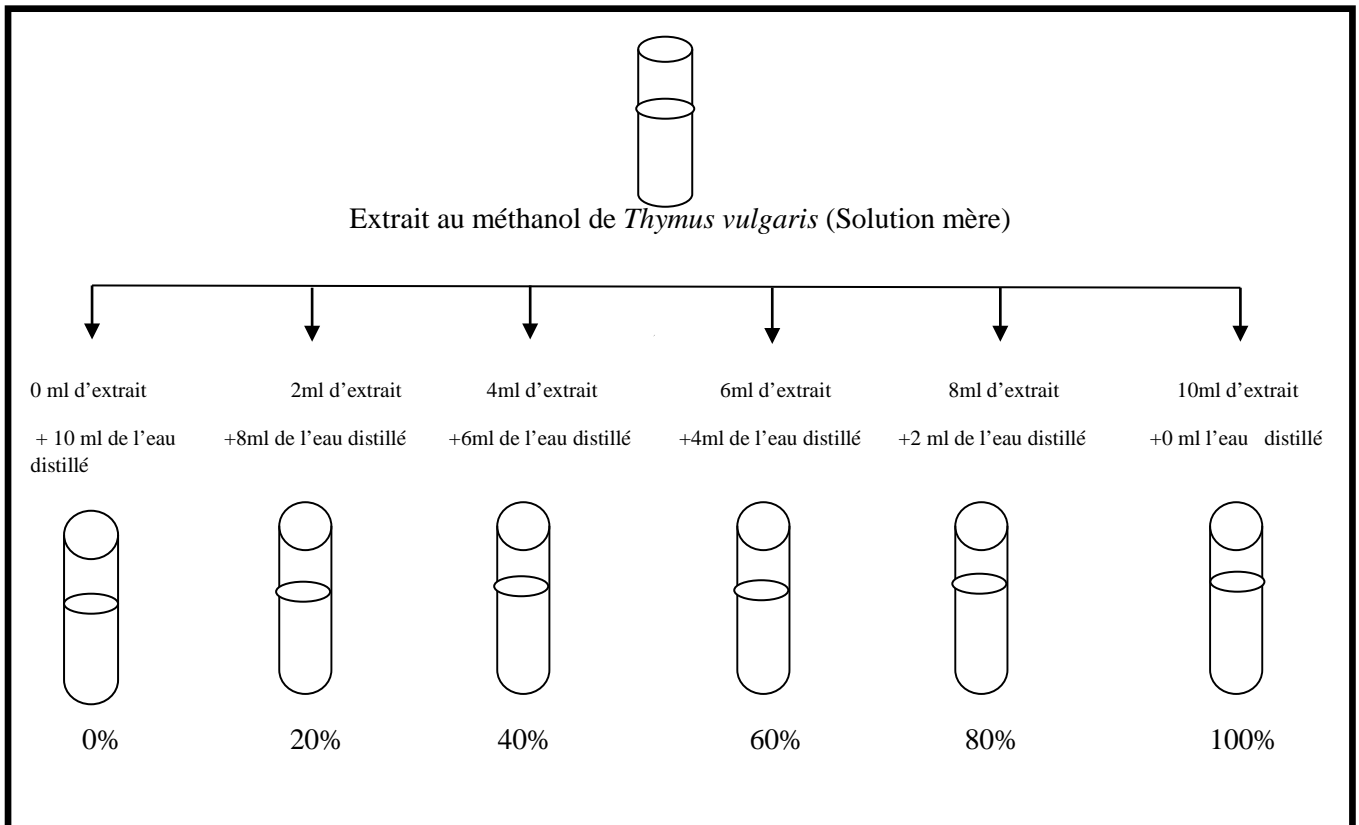


Figure 09. Concentrations des extraits de *Thymus vulgaris*.

5. Méthode de contact direct

Une colonie issue d'une culture jeune de *Staphylococcus aureus* « souche de référence » activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique de Chapman ont été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de cette dernière solution qui constitue l'inoculum bactérien, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant à 10^{-4} ont été effectuées. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait des plantes testés dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (**Figure 10**).

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés en triple essais (03 boites de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu Chapman. La lecture du nombre de colonies développé à été effectuée après incubation des boites de pétri à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

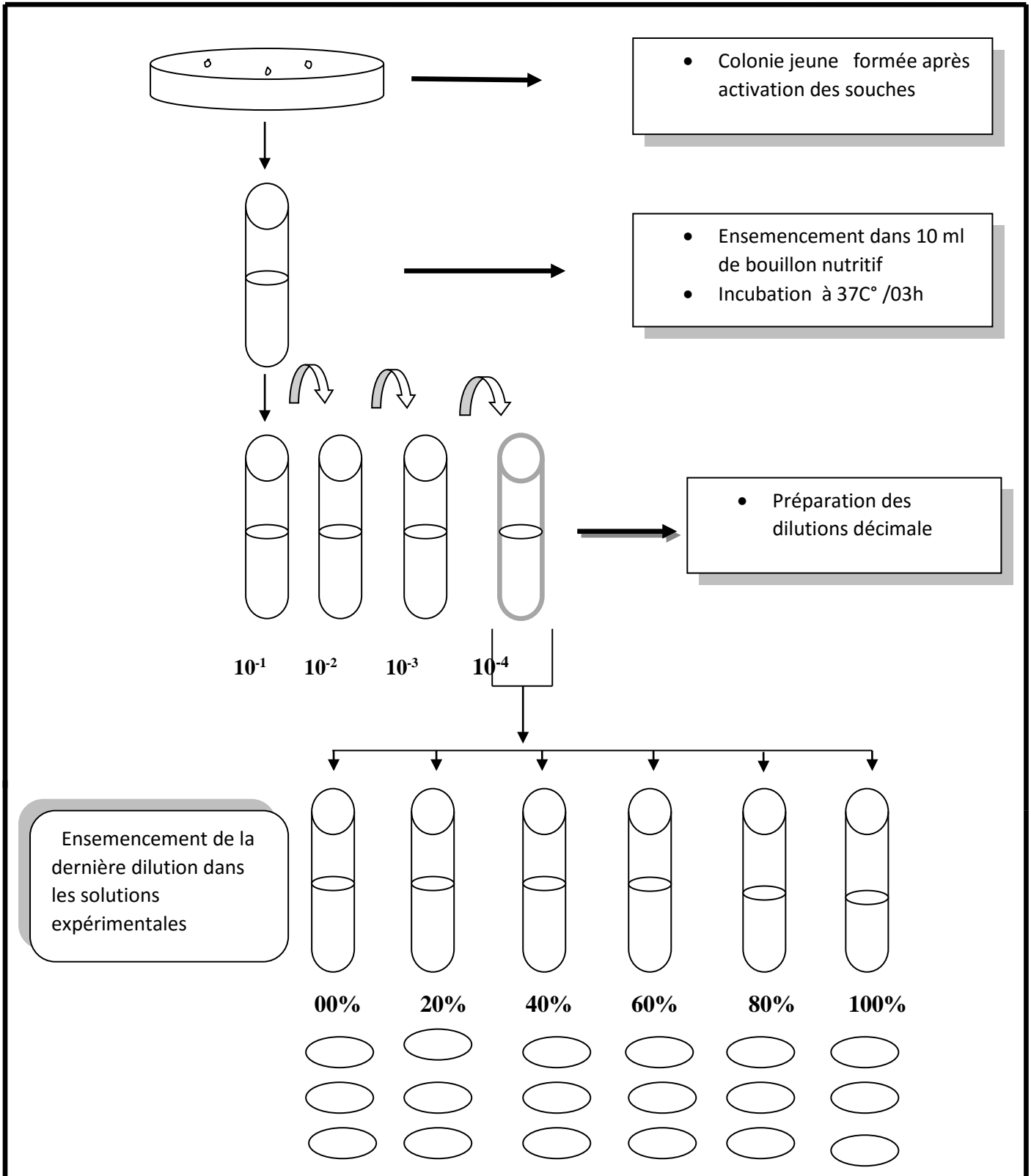


Figure 10. Méthodes de contact direct

6. Méthode des disques par diffusion sur gélose (Méthode indirect)

6.1. Principe générale

Pour réaliser la méthode de disque, la culture bactérienne est effectuée à la surface d'une gélose de Mueller-Hinton. Des disques préimprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique (Ampicilline) diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits (**Joffin et Leyral., 2014**).

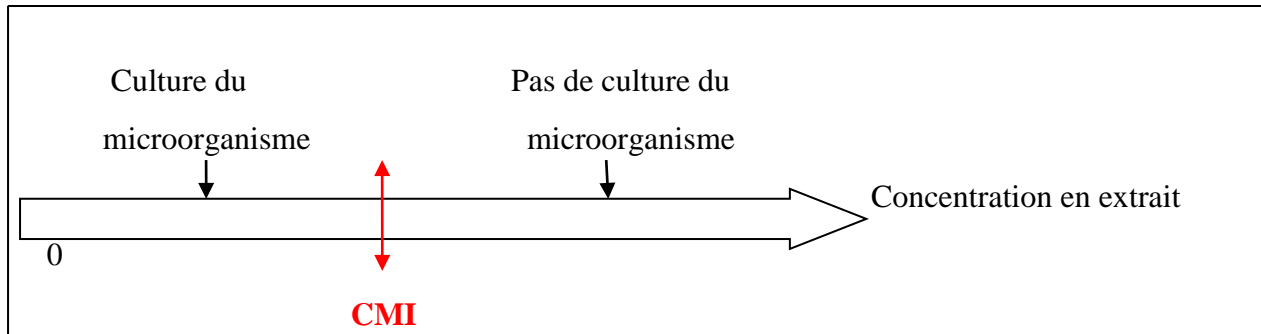
6.2. Application des disques

- Les disques seront confectionnés à partir de papier (Wattman n° 5), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.
- Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque concentration d'extrait obtenu selon le solvant utilisé.
- Déposer à la surface des boîtes les disques imbibés et les disques d'antibiotique choisis (Gentamycine) en appuyant légèrement à l'aide de la pince stérilisée ; on doit veiller à ne pas chauffer les disques par la pince flambée.
- Un disque appliqué ne peut être déplacé, les différents disques doivent être distants d'environ 30 mm, la boîte peut et doit être retournée sans problème. Tous les essais sont effectués à trois reprises.

7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la concentration de l'antibiotique la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne n'est plus visible (pas de croissance de la population ; 100% de survivant).

La mesure de CMI dans notre cas permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'extrait de *Thymus vulgaris*. La CMI est le paramètre le plus utilisé car sa mesure est relativement simple. On peut la représenter ainsi :



Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits de la matière végétale de la plante expérimentale (*Thymus vulgaris*) obtenus par extraction aux différents solvants qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice vis à vis l'espèce microbienne étudiée : *Staphylococcus aureus*.

Ainsi, une colonie jeune de souche de référence de l'espèce *Staphylococcus aureus*, seront prélevées à l'aide d'une anse à platine et activés séparément dans 10 ml de bouillon nutritif pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum seront introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

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

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

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

$$S = \frac{d_f - d_i}{D_f - D_i} \times 100.$$

- ❖ S : Taux de survie du microorganisme en %.
- ❖ $D_f - d_i$: différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
- ❖ $D_f - D_i$: différence de densité optique sans extraits de Thym avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (**Kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007**).

8. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la concentration de l'antibiotique la plus faible permettant d'atteindre un taux de survie égal à 0,01%, soit 1 survivant pour 10000 bactériesensemencées ; La concentration minimale bactéricide d'une espèce de germe étudié représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (**Moroh et al., 2008**).

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum de *Staphylococcus aureus*) à été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum (préparé comme préalablement lors de la mesure de la CMI), également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB (**Figure 11**).

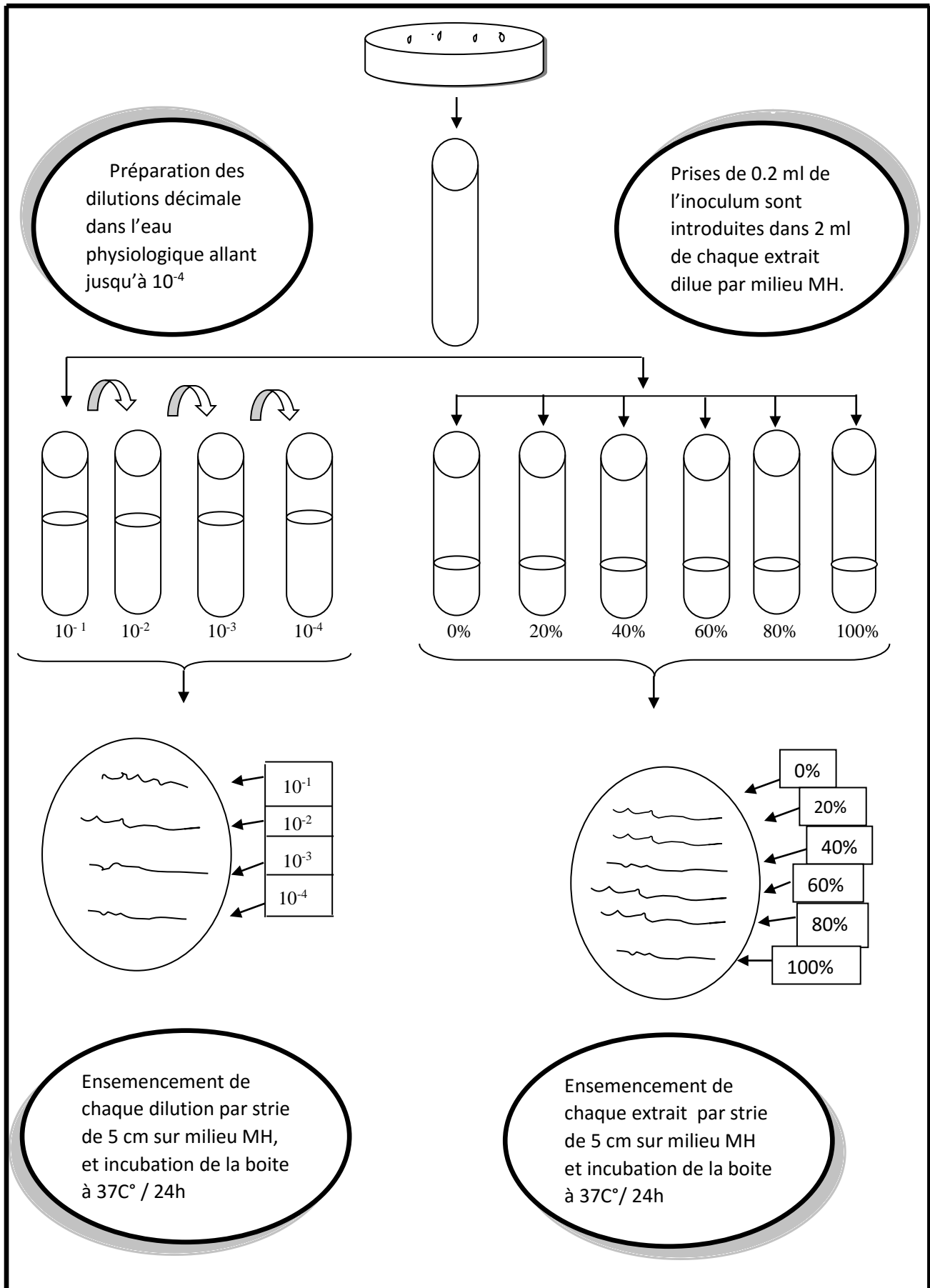


Figure 11. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

1. Résultats

1.1. Croissance du germe *Staphylococcus aureus*

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de la *Thymus vulgaris* prélevée des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* sont illustrés dans les (**Figures 12 et 13**).

Les extraits, à l'hexane, au méthanol et à l'éthanol de *Thymus vulgaris* prélevée de Mostaganem ont engendré une croissance stable et faible par rapport à l'extrait aqueux de la plante (**P>0,05**); 156.10^5 vs 156.10^5 , vs 156.10^5 vs 160.10^5 UFC/ml respectivement.

En revanche, les extraits à l'hexane au méthanol et l'éthanol de Naama ont présenté aussi une croissance microbienne et faible, par rapport à l'extrait à l'eau (**P>0,05**); (156.10^5 vs 156.10^5 , vs 156.10^5 vs 160.10^5 UFC/mL) respectivement.

Des résultats de la prolifération microbienne avec les extraits des solvants (hexane, méthanol et éthanol) de la région Mostaganem et Naama sont stables et identiques.

Pour les extraits à l'eau, les deux régions ont présentées les mêmes valeurs de croissance microbiennes (160.10^5 UFC/ml) en moyenne.

Apparemment, varié l'élévation de la concentration aux extraits de la plante de Mostaganem de (20,40 et à 60%), le nombre du germe *S. aureus* connaît un abaissement notable (**p<0.01**) à ($44,7.10^4$, $266,7.10^3$ et à $166,67 .10^2$ UFC/ ml) successivement par rapport au témoin qui a enregistré le nombre de germe le plus élevé (93.10^6 UFC/ml). A partir du taux d'extrait supérieurs ou égaux 80%, la croissance de *S. aureus* est totalement inhibée.

Concernant la plante récolté à Naama, les extraits préparés à 20, 40 et 60% ont présenté un nombre de germe *S. aureus*; (60.10^4 vs 175.10^3 vs $41,67.10^3$ UFC/ml) très faible (**p<0,01**) par rapport au témoin qui présenté le nombre le plus élevé (93.10^6 UFC/ml). Taux d'extraits supérieurs ou égaux à 80%, la croissance de *S. aureus* est totalement inhibée. (**Tableau04**).

1.2. Taux de Croissance du germe *S. aureus*

Les extraits aux solvants de *Thymus vulgaris* prélevé à Mostaganem et à Naama ont dévoilé des taux de croissances d'environ 16%, en moyenne de l'espèce étudiée *Staphylococcus aureus*, ces taux restent inférieurs (**p<0,01**) à ceux des extraits à l'eau ; 17%, en moyenne.

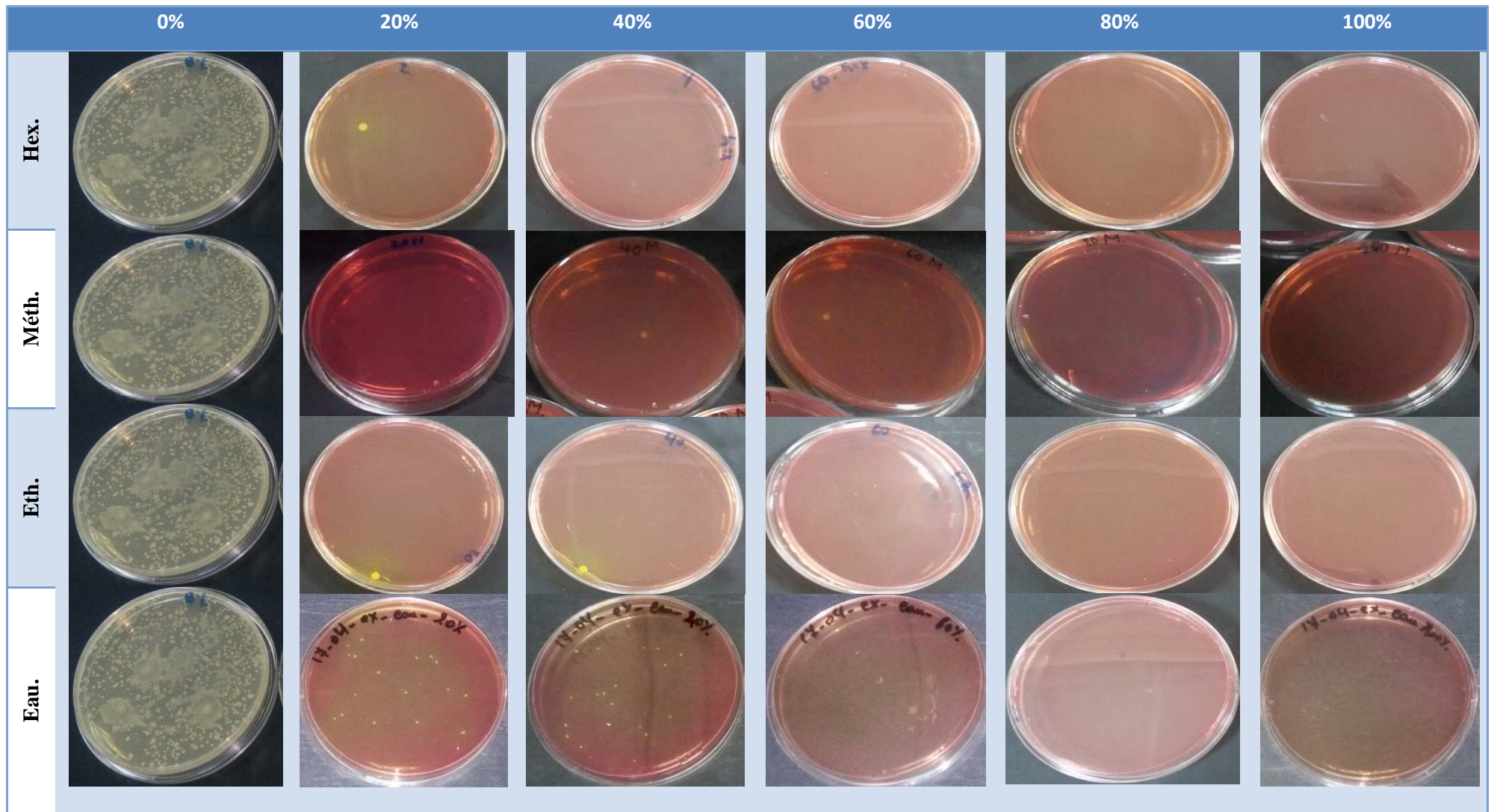


Figure 12. Méthode de contact direct des extraits de *Thymus vulgaris* de Mostaganem chez *S. aureus*.

Figure 13. Méthode de contact direct des extraits de *Thymus vulgaris* de Naama chez *S. aureus*.

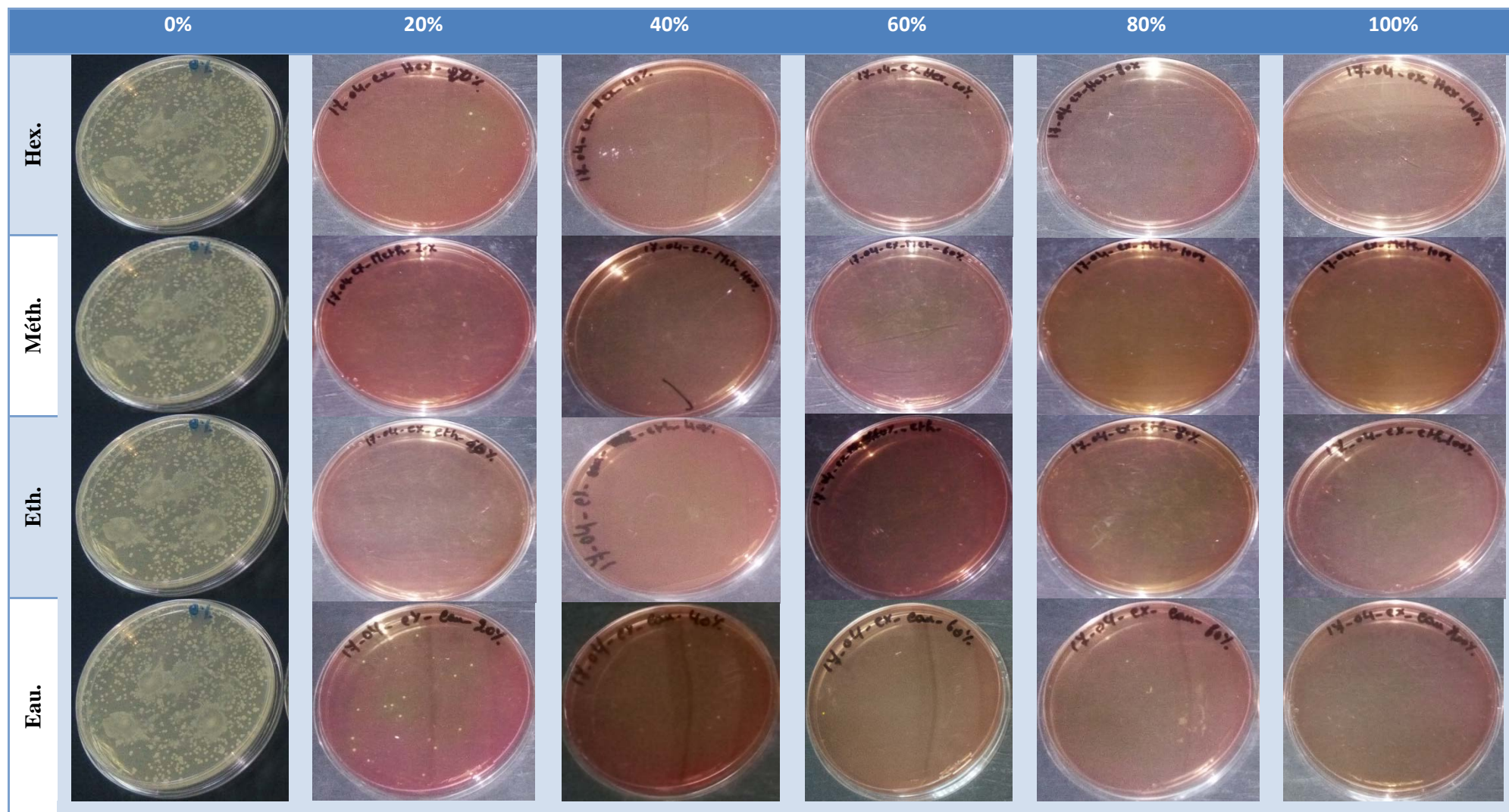


Tableau04. Effets des extraits de la *Thymus vulgaris* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de *Staphylococcus aureus*

		<i>Facteurs</i>		Int.des facteurs (F₁×F₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)
		Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0%	20%	40%	60%	80%	100%			
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	93.10 ^{6a}	93.10 ^{6a}	93.10 ^{6a}	93.10 ^{6a}	156.10 ⁵	156.10 ⁵	156.10 ⁵	160.10 ⁵	93.10 ^{6a}	44,7.10 ^{4b}	266,7.10 ^{3b}	166,67.10 ^{2b}	00 ^b	00 ^b	P>0,05	p<0,01 **	P<0,01 **	
		20%	100.10 ^{3b}	00 ^b	100.10 ^{3b}	156.10 ^{3b}														
		40%	00 ^b	00 ^b	33.10 ^{5b}	103.10 ^{4b}														
		60%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	66.10 ^{3b}														
		80%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b														
		100%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b														
Naama	Concentrations des Extraits	0%	93.10 ^{6a}	93.10 ^{6a}	93.10 ^{6a}	93.10 ^{6a}	156.10 ⁵	156.10 ⁵	156.10 ⁵	160.10 ⁵	93.10 ^{6a}	60.10 ^{4b}	175.10 ^{3b}	41,67.10 ^{3b}	00 ^b	00 ^b	P>0,05	p<0,01 **	p<0,01 **	
		20%	166.10 ^{3b}	00 ^b	200.10 ^{3b}	203.10 ^{4b}														
		40%	66.10 ^{3b}	00 ^b	33.10 ^{3b}	60.10 ^{4b}														
		60%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	166.10 ^{3b}														
		80%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b														
		100%	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b														

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes. F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extrait, F₂ : facteur étudié concentration de l'extrait ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions. ; Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol ; Ns : effet non significative du facteur étudié ; Int. (F₁x F₂) : interaction de deux facteurs étudié.

Apparemment, l'élévation de la concentration aux extraits de Mostaganem de (20,40 et à 60%), à été accompagné d'un abaissement notables ($p<0.01$) de (0,471 à 0,285 et à 0,018 UFC/ ml) successivement du taux par rapport au témoin qui a enregistré un taux de croissance le plus élevé (100UFC/ml).

Au-delà de 80 et 100% d'extraits le taux de la croissance microbienne est totalement inhibé.

Concernant les extraits de *Thymus vulgaris* de Naama préparés à 20, 40 et 60%, Le taux de croissance commence de *S. aureus* a diminuer remarquablement ($p<0.01$); 0,676, 0,187 et 0,018 UFC/ ml par rapport à témoin 100 UFC/ml et devient stable à 60% d'extrait (0,044 UFC/ml).

Le taux de croissance est diminué totalement à 80% et 100 d'extrait (**Tableau 5**).

1.3. Test de diffusion sur disque du germe *S. aureus*

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* prélevé des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) sur le diamètre d'inhibition chez de *S. aureus* sur disque sont figurés dans les (**Figures 14 et 15**).

L'extrait à l'hexane de la *Thymus vulgaris* prélevée de Mostaganem a engendré un diamètre d'inhibition plus élevé par rapport aux autres extraits préparés aux différents solvants (méthanol, éthanol et eau) ($p<0,01$); 22,417 vs 20,306 vs 20,75 vs 19,806 mm respectivement.

En revanche, l'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* de Naama a présenté le meilleur résultat ($p<0,01$) de diamètre d'inhibition microbienne (29,028 mm), par comparaison aux extraits à l'hexane, méthanol et l'éthanol de la même région (20,028 vs 26,917 vs 27,194 mm).

L'ampicilline a accusé des diamètres d'inhibitions les plus élevés par comparaison aux autres extraits de *Thymus vulgaris*, 59,5 mm en moyenne contre des valeurs qui ont varié solvants de 9 à 27 mm, en moyenne.

Toutefois, en fonction de la concentration variable de 20 à 100% des extraits de Thym les diamètres d'inhibitions du germe *S. aureus* ont varié d'une manière proportionnelle ($P<0,01$), avec des valeurs qui ont augmenté de 9,91 à 16,08 mm dans les extraits de Mostaganem et de 12,91 à plus de 27mm dans ceux de Naama respectivement (**Tableau 6**).

Tableau 05. Effets des extraits de la *Thymus vulgaris* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les taux de croissance (%) de *Staphylococcus aureus*

		Facteurs	Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)
		Solvants	Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0%	20%	40%	60%	80%	100%			
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	16,684 ^b	16,667 ^b	16,69 ^b	17,141 ^a	100 ^a	0,471 ^b	0,285 ^c	0,018 ^d	00 ^d	00 ^d	p<0.01 **	p<0.01 **	p<0.01 **
		20%	0,106 ^d	00 ^e	0,105 ^d	1,673 ^b													
		40%	00 ^e	00 ^e	0,035 ^{de}	1,104 ^c													
		60%	00 ^e	00 ^e	00 ^e	0,071 ^{de}													
		80%	00 ^e	00 ^e	00 ^e	00 ^e													
		100%	00 ^e	00 ^e	00 ^e	00 ^e													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	16,708 ^b	16,667 ^b	16,708 ^b	17,189 ^a	100 ^a	0,676 ^b	0,187 ^c	0,044 ^d	00 ^d	00 ^d	p<0.01 **	p<0.01 **	p<0.01 **
		20%	0,177 ^d	00 ^d	0,212 ^d	2,315 ^b													
		40%	0,071 ^d	00 ^d	0,035 ^d	0,641 ^c													
		60%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	0,177 ^d													
		80%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	00 ^d													
		100%	00 ^d	00 ^d	00 ^d	00 ^d													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes. F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extrait, F₂ : facteur étudié concentration de l'extrait ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions. ; Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol ; Ns : effet non significative du facteur étudié ; Int. (F₁×F₂) : interaction de deux facteurs étudiés.

Figure 14. Méthode de contact indirect des extraits de la *Thymus vulgaris* collectée à Mostaganem chez *S. aureus*.

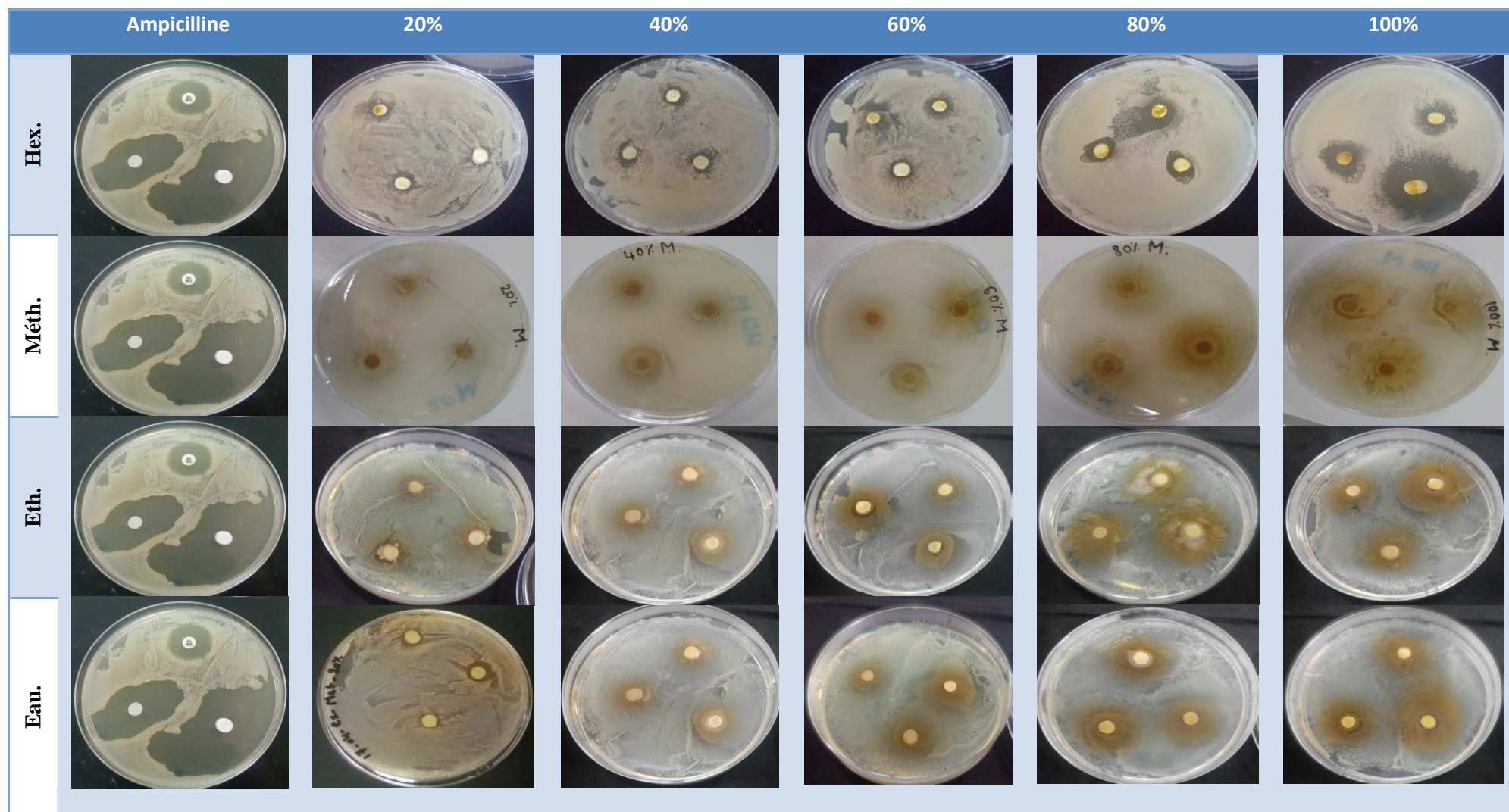
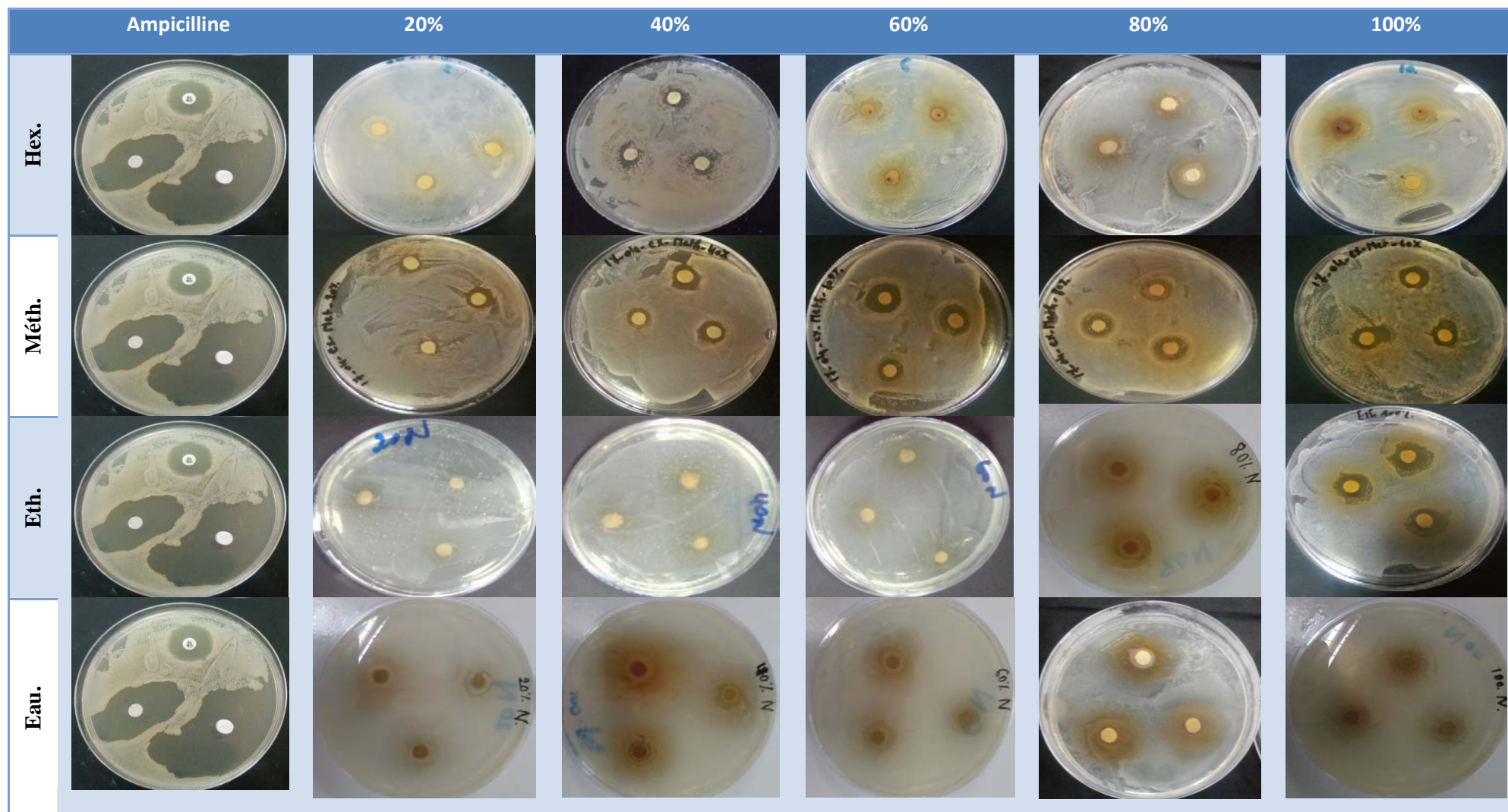


Figure 15. Méthode de contact indirect des extraits de la *Thymus vulgaris* collectée à Naama chez *S. aureus*.



1.4. Taux d'inhibition du germe *Staphylococcus aureus*

Les extraits à l'hexane, au méthanol et à l'éthanol de la *Thymus vulgaris* collecté à Mostaganem à enregistré des taux d'inhibition très élevé, par rapport à l'extrait à aqueux de (**p< 0,01**); 37,675 vs, 34,123 vs 34,868 vs 33,286 (%) respectivement.

Par contre, les extraits aux solvants (l'hexane, méthanol et 'éthanol) de Naama ont présenté des taux d'inhibitions microbien stables (45,424 vs 45,234 45,696 mm), par rapport à l'extrait à l'eau qui à présente le meilleur résultat (48,879 mm).

Le meilleur résultat du taux d'inhibition microbienne est observé avec l'extrait à l'hexane de Mostaganem et avec l'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* prévenant de la région de Naama (**p<0,05**); 37,675 vs 48,879mm respectivement.

Apparemment, l'élévation de la concentration des extraits de Mostaganem de (20, à 40%) s'est traduit par une nette baisse (**p<0,01**) de taux d'inhibition du germe; de (16,663 à 20,584 mm). Au-delà de 40%, à 60, 80 et 100% d'extraits le taux d'inhibition microbienne augment sensiblement (**p<0,01**) et varié e de 20,584 à 21,705 à 23,946 mm et à 27,03 mm successivement.

Concernant le *Thymus vulgaris* de Naama, les résultats montrent que le diamètre de la zone d'inhibition et d'autant plus remarquable que la solution est plus concentrée en extrait de plante. Le taux d'inhibition le plus faible (**p<0.01**) est réalisé avec un taux d'extrait de 20,40 et 60%; 21,846 vs 27,73 vs 37,666 mm, respectivement. A 80 et 100% d'extraits les taux d'inhibitions restent stables et très élevés (**p<0,01**), 43,834 vs 46,775 mm en moyenne (**Tableau07**).

1.5 Concentration Minimale inhibitrice (CMI)

1.5.1 Région de Mostaganem

A travers la mesure de la turbidité, il apparait que le taux de survie de germe *Staphylococcus aureus* s'annule déjà dans la solution d'extrait à l'hexane et à l'eau de thym a 20, 60% respectivement ; ceci après 24 heures de cultures. Ces concentrations sont donc des concentrations minimales inhibitrices chez l'espèce étudiée.

De plus, le taux de survie du germe étudié après 24heures d'incubation en présence de l'extrait au méthanol et à l'éthanol de thym à une concentration de 40% est nulle; ces concentration sont donc aussi les concentrations minimales inhibitrices du germe testé.

Tableau 06. Effets des extraits de la *Thymus vulgaris* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les diamètres d'inhibition s chez *Staphylococcus aureus*

		Facteurs		Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)					F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)
		Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	Amp	20%	40%	60%	80%			
Mostaganem	Concentrations des Extraits	Ampicilline	59,5 ±1,323	59,5 ±1,323	59,5 ±1,323	59,5 ±1,323	22,417 ^a ±1,933	20,306 ^b ±1,404	20,75 ^b ±1,485	19,806 ^b ±2,163	59,5 ^a ±1,128	9,917 ^d ±1,67	12,25 ^c ±1,255	12,917 ^c ±2,629	14,25 ^c ±1,985	16,083 ^b ±1,723	**	**	NS
		20%	11,667 ±1,155	10,333 ±2,082	9,333 ±2,082	8,333 ±2,309													
		40%	16,667 ±1,528	9 ±1,732	12 ±1	11,333 ±1,528													
		60%	13,667 ±3,055	13 ±2	12,333 ±1,528	12,667 ±4,726													
		80%	16 ±3,606	13,667 ±1,155	13,333 ±0,577	14 ±2,646													
		100%	17 ±2	16,333 ±1,528	18 ±3	13 ±1													
Naama	Concentrations des Extraits	Ampicilline	59,5 ^a ±1,323	59,5 ^a ±1,323	59,5 ^a ±1,323	59,5 ^a ±1,323	20,028 ^b ±1,511	26,917 ^b ±1,818	27,194 ^b ±2,788	29,028 ^a ±1,431	59,5 ^a ±1,128	12,917 ^e ±1,706	16,5 ^d ±1,477	22,417 ^c ±3,275	26,083 ^b ±2	27,833 ^b ±1,651	*	**	**
		20%	12,333 ±1,528	12,667 ±2,887	15 ^g ±1,732	11,667 ±1,528													
		40%	16 ^g ±1	17,667 ^{fg} ±3,055	18,667 ^{efg} ±1,155	13,667 ^g ±0,577													
		60%	22 ^{def} ±2,646	22,333 ^{def} ±2,309	21,667 ^{def} ±6,028	23,667 ^{def} ±3,215													
		80%	26 ^{cd} ±2,646	23,333 ^{def} ±0,577	24,667 ^{de} ±3,786	30,333 ^c ±0,577													
		100%	26,333 ^{cd} ±0,577	26 ^{cd} ±1,732	23,667 ^{def} ±3,055	35,333 ^b ±1,528													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes. F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extrait, F₂ : facteur étudié concentration de l'extrait ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions. ; Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol ; Ns : effet non significative du facteur étudié ; Int. (F₁×F₂) : interaction de deux facteurs étudié.

Tableau 07. Effets des extraits de la *Thymus vulgaris* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les taux d'inhibitions (%) chez *Staphylococcus aureus*

	Facteurs	Int. des facteurs (F ₁ ×F ₂) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F ₁	F ₂	Int. (F ₁ ×F ₂)	
		Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	Amp	20%	40%	60%				80%
Mostaganem	Concentration des Extraits	Ampicilline	100	100	100	100	37,675 ^a	34,123 ^b	34,868 ^b	33,286 ^b	100 ^a	16,663 ^d	20,584 ^c	21,705 ^c	23,946 ^c	27,029 ^b	p<0.01 **	p<0.01 **	P>0,05 NS
		20%	19,607	17,36	15,68	14,005													
		40%	28,01	15,12	20,16	19,047													
		60%	22,969	21,843	20,72	21,288													
		80%	26,89	22,963	22,4	23,529													
		100%	28,571	27,45	30,25	21,846													
Naama	Concentrations des Extraits	Ampicilline	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	45,424 ^b	45,234 ^b	45,696 ^b	48,879 ^a	100 ^a	21,846 ^e	27,73 ^d	37,666 ^c	43,834 ^b	46,775 ^b	p<0.05*	p<0.01 **	p<0.01 **
		20%	20,728	21,283	25,203 ^g	20,168													
		40%	26,89 ^g	29,69 ^{fg}	31,37 ^{efg}	22,969 ^g													
		60%	36,974 ^{def}	37,53 ^{def}	36,383 ^{def}	39,775 ^{de}													
		80%	43,697 ^{cd}	39,21 ^{de}	41,45 ^d	50,98 ^c													
		100%	44,257 ^{cd}	43,69 ^{cd}	39,77 ^{de}	59,383 ^b													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes. F₁ : facteur étudiée type de solvant d'extrait, F₂ : facteur étudié concentration de l'extrait ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, cetc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions. ; Hex : hexane ; Méth : méthanol ; Eth : éthanol ; Ns : effet non significative du facteur étudié ; Int. (F₁×F₂) : interaction de deux facteurs étudié.

1.5.2 Région de Naama

A travers la mesure de la turbidité, il apparait que le taux de survie de *S. aureus* s'annule déjà dans la solution d'extrait hexane de thym préparé à 60% ceci après 24 heures de cultures ; cette concentration est donc la concentration minimale inhibitrice du germe.

La concentration minimale inhibitrice de l'extrait à l'eau de thym vis-à-vis de *S. aureus* est obtenue à un niveau de dilution de 80%.

En fin, le taux de survie du germe étudié est nulle après 24 heures d'incubation en présence des extraits au méthanol et à l'éthanol de thym préparés à des concentrations de 20 et 40% respectivement ; ces concentrations sont donc les concentrations minimales inhibitrices du germe microbienne (**Tableau 08**).

1.6 Concentration minimale bactéricide (CMB)

1.6.1 Région de Mostaganem

La figure 0 représente d'une part (à la droite) le nombre de germes développés après 24 heures d'incubation à 37°C des différentes dilutions de l'inoculum de *S. aureus* allant de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ; et d'autre part des différentes solutions d'extraits à l'hexane méthanol, éthanol et l'eau préparées à 00, 20, 40, 60, 80, 100% et ayant servi à la détermination de la CMB après 24 heures.

Le premier tube expérimental dont le nombre de germes présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspond donc à la CMB (**Figure 16**).

La CMB du germe *S. aureus* a été obtenue avec les extraits :

- Au méthanol concentré à 60% ;
 - A l'éthanol concentré à 40% ;
 - A l'hexane concentré à 20% ;
 - Et à l'eau concentré à 80% .

Tableau 08. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de *Thymus vulgaris* chez *Stahylococcus aureus*.

Région	Solvants	Concentration d'extraits bioactif de <i>Thymus vulgaris</i>						
		Paramètres	Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
Mostaganem	Hexane	df	0.404	0.157	0.266	0.202	0.198	0.160
		di	0.05	0.291	0.271	0.266	0.280	0.298
		df-di	0.354	-0.134	-0.011	-0.058	-0.082	-0.038
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI	20%					
		df	0,937	1,345	0,229	0,160	0,052	0,006
	Méthanol	di	0,0439	0,836	0,302	0,230	0,110	0,010
		df-di	0,893	0,509	-0,073	-0,07	-0,058	-0,004
		S%	100	56,99	0	0	0	0
		CMI	40%					
		df	0.404	0.277	0.230	0.202	0.002	0.005
	Ethanol	di	0.05	0.176	0.160	0.266	0.005	0.071
		df-di	0.354	0.101	-0.07	-0.064	-0.003	-0.066
		S%	100	28	0	0	0	0
		CMI	40%					
		df	0.404	0.164	0.177	0.230	0.015	0.007
	Eau	di	0.05	0.021	0.054	0.016	0.029	0.022
		df-di	0.354	0.143	0.123	-0.007	-0.014	-0.015
		S%	100	40.39	34.74	0	0	0
		CMI	60%					
df		0.843	0.137	0.181	0.015	0.007	0.004	
NAAMA	HEXA	di	0.008	0.014	0.019	0.029	0.045	0.022
		df-di	0.835	0.123	0.162	-0.014	-0.038	-0.002
		S%	100	14.73	19.40	0	0	0
		CMI	60%					
		df	0.008	0,269	0,355	0,138	0,086	0,04
	Méthanol	di	0.843	0,592	0,399	0,987	0,105	0,157
		df-di	0.835	-0,323	-0,044	-0,049	-0,019	-0,117
		S%	100	0	0	0	0	0
		CMI	20%					
		df	0.843	0.836	0.302	0.230	0.110	0.010
	Ethanol	di	0.008	1.345	0.229	0.160	0.052	0.006
		df-di	0.835	0.509	-0.73	-0.07	-0.058	-0.004
		S%	100	56.99	0	0	0	0
		CMI	40%					
		df	0.843	0.071	0.049	0.04	0.018	0.001
	Eau	di	0.008	0.01	0.023	0.024	0.024	0.025
		df-di	0.835	0.061	0.026	0.026	-0.006	-0.024
		S%	100	7.3	3.11	1.9	0	0
		CMI	80%					

di : densité optique initiale avant l'incubation ; df : densité optique finale après incubation ; S : Taux de survie ; CMI : concentration minimale inhibitrice.

1.6.2 Région de Naama

Concernant, la *Thymus vulgaris* collecté de la région de Naama, les CMB de ces extraits préparés selon les différentes polarités de solvants ont été obtenues comme suite (**Figure 17**).

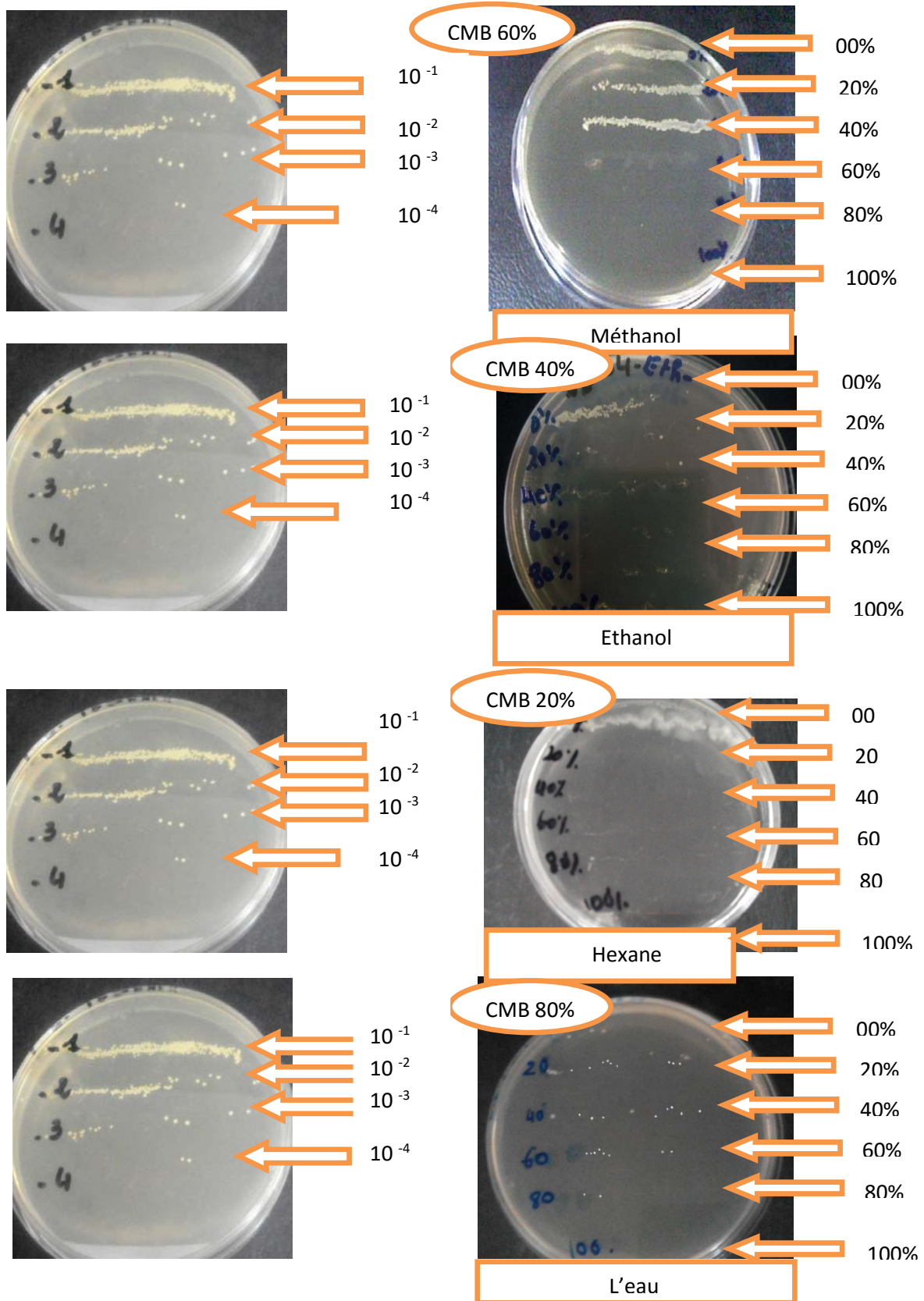
- Avec l'extrait au méthanol concentré à 20% ;
 - Avec l'extrait éthanol préparé à 40% ;
 - Avec 60% l'extrait à l'hexane 60% ;
 - Et avec l'extrait pur aqueux 100%.

1.7. Type d'inhibition

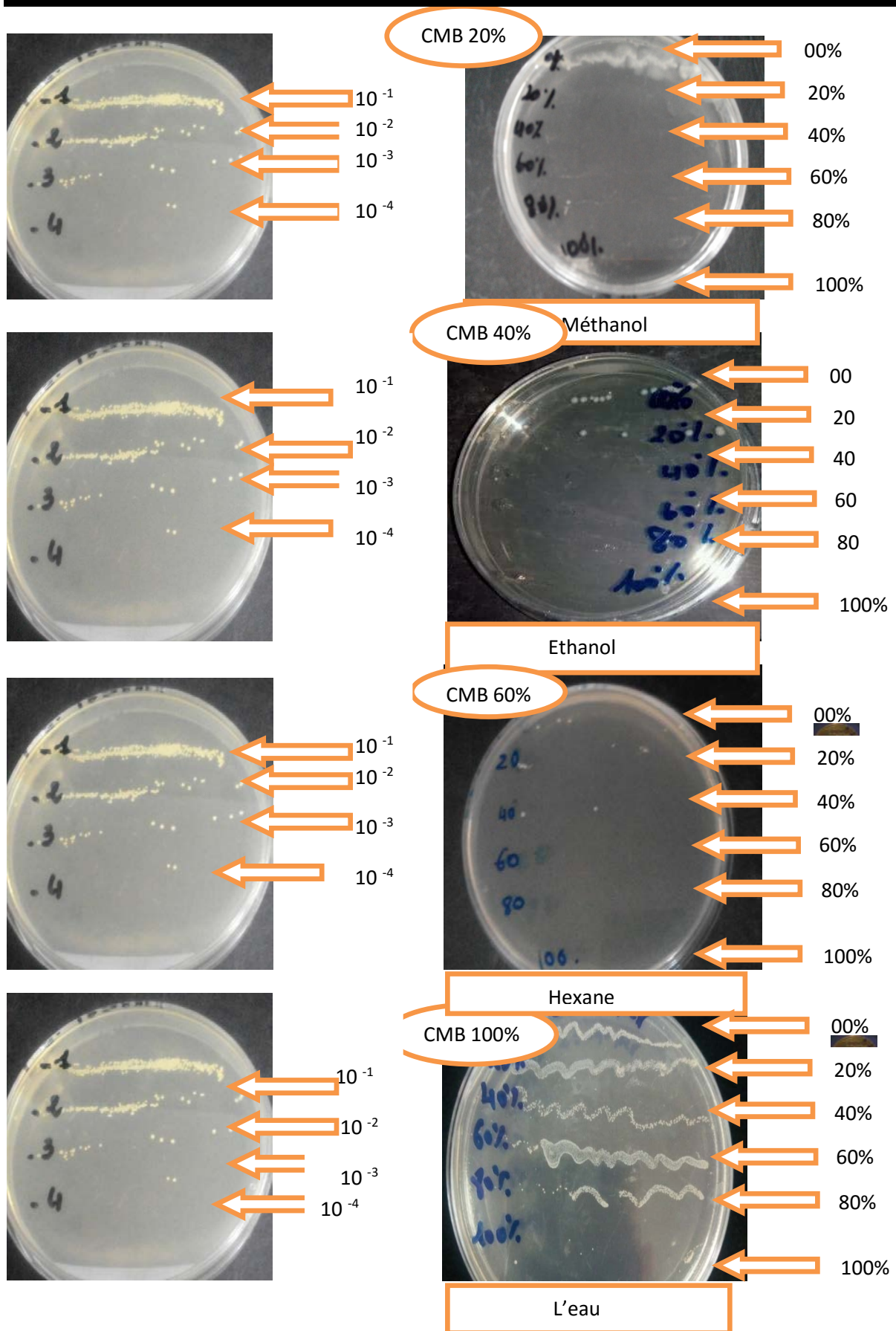
Les extraits au *Thymus vulgaris* prélevés des deux régions de l'étude et obtenus selon l'usage des différents solvants polaires ont exercé des effets antimicrobiens de type bactéricide vis-à-vis de la croissance de germe pathogène *Staphylococcus aureus* (**Tableau 09**).

Tableau 09. Type d'inhibition exercé par les extraits de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *S. aureus*

	Solvants	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
Mostaganem	Hexane	20%	20%	1	Bactéricide
	Méthanol	40%	60%	1.5	Bactéricide
	Ethanol	40%	40%	1	Bactéricide
	Eaux	60%	80%	1.33	Bactéricide
Naama	Hexanes	60%	60%	1	Bactéricide
	Méthanol	20%	20%	1	Bactéricide
	Ethanol	40%	40%	1	Bactéricide
	Eaux	80%	100%	1.25	Bactéricide
Normes	<ul style="list-style-type: none"> • D'après (Olivier 2007) CMB/ CMI ≤ 2(Effet bactéricide) CMB/ CMI >2(effet bactériostatique) • D'après (Marmonier 1990) CMB/ CMI ≤ 4(Effet bactéricide) CMB/ CMI > 4(effet bactéristatique) 				



Figures 16. Concentrations minimales bactéricides de Les extraites de *Thymus vulgaris* Mostaganem à chez *S. aureus*.



Figures 17. Concentrations minimales bactéricides des extraits de thymus vulgaris prélevé de Naama chez *S. aureus*.

2. Discussion

La plante *Thymus vulgaris* est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées, et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnel comme un remède antibactérien (**Yakhlef et al., 2011**).

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement au témoin (eau distillée stérile 0%) tous les extraits ont réagi positivement car le nombre de *Staphylococcus aureus* diminuent significativement ($p < 0,01$), avec l'augmentation de la concentration (de 20 à 60%) presque pour tout les extrait aux déférent solvants de *Thymus vulgaris* pour les deux régions. La croissance de germe a été complètement achevée à 80% d'extrait de la plante.

Ces réponses résultent certainement du fait que les extrait aqueux à l'hexane, au méthanol, à l'éthanol et au l'eau renferment de multiples composés bioactifs antimicrobiens recensés par plusieurs auteurs (**Ettayebi et al., 2000 ; Ultee et al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006**). Dans le *Thymus vulgaris* dont les huiles essentielles, flavonoides, polyphénols, thymol...etc.) Et qui semblent inhiber à de fortes concentrations de 80 et 100% (extrait pur) totalement la croissance de *S. aureus*.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition de la croissance bactérienne suit à leur adsorption sur les membranes cellulaires, à l'inhibition des enzymes hydrolytique ou d'autres interaction avec les effecteurs ou substrats et ions métalliques pour inactivés les adésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**).

D'après **Cox et al. (2000)** l'activité antibactérienne de l'extrait d'une plante aromatique est liée au profil chimique de ses constituants. La variation de la composition chimique

explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits de la même plante collectée dans deux régions contrastées l'une aride et l'autre sous humide.

En effet, **Garda et al., (2011)**, ont démontré que la nature antimicrobienne des composés bioactifs du thym est en rapport avec leur fort contenu phénolique en particulier en thymol et carvacrol. Ils ont prouvé que plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les extraits sont efficaces, ce qui explique la sensibilité de la souche étudiée qui augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait de la plante, qui peut causer même à de faibles doses l'endommager de la paroi bactérienne, et qui peuvent aussi franchir la paroi microbienne sans détruire mais agir au niveau de l'ADN en inhibant sa transcription et peuvent enfin inactiver certains enzymes impliqués directement ou indirectement dans la prolifération microbienne (**Mukendi, 2011**).

Dans le cas où les éléments cytoplasmiques relégués sont indispensables à la survie de la bactérie ou si la perte de matériel est trop importante, cela entraîne la mort cellulaire. À ce propos, il est bien établi que l'efficacité thérapeutique de thym est utilisée en cas de fatigue générale, comme anti-infectieuse et pour le traitement de l'asthme et pour les infections urogénitales chez les femmes (**Cowan, 1999**).

D'après (**Yakhlef et al., 2011**) *Candida albicans*, levure responsable de mycoses chez l'homme, est la plus sensible aux extraits d'éther de pétrole et au dichlorométhane de *Thymus vulgaris*. Par contre, les souches de *Pseudomonas aeruginosa* se révèlent les plus résistantes ; cela est lié à leur grande capacité à développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens. Par ailleurs la méthode des disques a enregistré des résultats d'inhibition de *S. aureus* presque similaires pour les extraits à l'hexane, au méthanol, à l'éthanol et l'eau pour les deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) ; mais ces valeurs moins faibles par rapport à l'antibiotique (Ampiciline).

Plusieurs auteurs ont confirmé que *Staphylococcus aureus* est plus sensible aux extraits de *Thymus vulgaris* que les autres souches bactériennes à Gram négatif (Yakhlef et al., 2011).

Apparemment, l'activité inhibitrice des solutions préparées à 100% de l'extrait de thym pour tous les solvants sont moins faibles que celle de l'ampicilline considéré comme étant un antibiotique à large spectre antimicrobienne (Oliver, 2007).

Ainsi, nos résultats montrent que les extraits bioactifs préparés surtout à des concentrations sévères manifestent une activité antibactérienne certaine sur la croissance in vitro de *Staphylococcus aureus* selon une relation dose-réponse. Cela nous permet de déterminer les différents paramètres antibactériens de l'extrait contre l'espèce étudiée à savoir la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

L'analyse de la CMI et la CMB et d'après (Oliver, 2007) étant donné que le rapport CMB/CMI est inférieur ou égale à 2, les extraits de thym récoltés dans les régions Naama de Mostaganem- Algérie exercent donc un effet de type bactéricide vis-à-vis du germe étudié. (Marmoier, 1990), rapporte d'autre part que lorsque le rapport CMI/CMB d'une substance antibactérienne est inférieur ou égale à 4 ceci suppose qu'elle présente un effet bactéricide ; alors que si le rapport est supérieur à 4 elle présente plutôt un effet bactériostatique. Ainsi d'une façon globale, les extraits expérimentaux semblent exercer un effet bactéricide très intéressant vis-à-vis de l'espèce étudiée.

Plusieurs études ayant pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certains extraits de *Thymus vulgaris*, ont été rapportées par de nombreux auteurs (Bruneton, 1999 ; Bouhdid, 2006) qui confirment bien que, les extraits de la plante riches en composés bioactifs (polyphénols- alcaloïdes- huiles essentielles et en bien d'autres composés) sont très inhibiteurs vis-à-vis de la souche testée ; *Staphylococcus aureus*.

CONCLUSION

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus de *Thymus vulgaris* contiennent une variété de composés phénoliques ayant un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antimicrobiennes.

L'étude à montrée que le degré d'inhibition dépend de la concentration utilisée d'extrait. Ainsi, plus la concentration est importante plus l'effet inhibiteur de ces bactéries sont remarquables.

Par ailleurs, notre étude à montré que les composés bioactifs du *Thym* extrait de la plante par usage des solvants (hexane, méthanol et éthanol) et l'eau, exercent un effet de type bactéricide sur la bactérie testée *S. aureus* pour les deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama).

L'ensemble de nos résultats obtenus sur la mise en évidence de l'activité antibactérienne d'extrait de *Thymus vulgaris* vis-à-vis de la souche testée (*S. aureus*) ne consiste qu'une première ébauche dans la recherche de substances naturelles biologiquement active. Cependant, pour la suite de ce travail, des essais complémentaires seront nécessaires et apporteront sans doute plus de confirmation à nos résultats qui doivent surtout se focaliser sur l'étude de la variabilité de composition chimique de la plante, puisqu'elle est étroitement liée surtout à des facteurs écologiques (espèce et sous espèce, l'âge du plant, la période et lieu de récolte,...), afin d'estimer l'activité biologique intéressante des plantes aromatiques sur le plan qualitatif et quantitatif.

Annexe

• Préparation d'agar Mueller Hinton

C'est un milieu nutritif conservé à 2–8°C. Utilisé pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques par des tests de diffusion. La gélose est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard, la composition de ce milieu est :

- Infusât de viande.....02.0g /l
- Hydrolysant de caséine.....17.5g/l
- Amidon1.5g /l
- Extrait de levure..... 01g/l
- Agar –agar13g/l
- Eau distillée1000ml
- pH = 7.4

Autoclavage 120°C, 20min

• Préparation bouillon de Muller Hinton

Ce milieu est proposé en 1941 pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides elle se compose de :

- Infusât de viande 02.0g/l
- Hydrolysât de caséine..... 17.5g/l
- Amidon.....01.5g/l
- Extrait de levure..... 01g/l
- Eau distillée.....1000ml
- pH = 7.4

Autoclavage 120°C, 20min

- **Préparation de bouillon nutritif**

- Extrait de viande..... 02g/l
- Extrait de levure..... 05g/l
- Peptone10g/l
- Chlorure de sodium..... 05g/l
- pH = 7.4

Autoclavage 120°C, 20min

- **Préparation de gélose nutritive**

- Extrait de viande 01g
- Extrait de levure 02g
- Peptone05g
- Chlorure de sodium05g
- Agar-agar 15g
- pH= 7.4

Autoclavage 120°C, 20min

- **Préparation de l'eau physiologique**

L'eau physiologique à 0.9 pour cent est un diluant isotopique utilisé pour les dilutions ou la réalisation de suspensions bactérienne, il se compose de :

- Chlorure de sodium 8.5g
- Peptone 0.5g
- Eau distillée1000ml
- pH =7

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes

- **Préparation de gélose Chapman**

- Peptone 10g
- Extrait de viande.....1 g
- Chlorure de sodium..... 75g
- Mannitol10g
- Rouge de phénol0.025g
- Agar-agar15g
- pH = 7.4

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes

Les appareils et matériels utilisés sont :

- Balance
- Tubes à essaie
- Bain marie à 45°C
- Four Pasteur
- Bec benzène
- Etuve, type à 37°C
- Broyeur
- Agitateur magnétique
- Agitateur- plaque chauffante
- pH mètre
- Pipette pasteur
- Biotex Pétri
- Papier filtre wattman N°5
- Anse à platine
- Ecouillons
- Pompe à vide
- Spectrophotomètre UV-Visible
- Autoclave : est un appareil qui produit une vapeur d'eau saturée à une température d'au moins 120°C afin d'assurer la destruction complexe des microorganismes. C'est la stérilisation en chaleur humide à l'autoclave ou autoclavage.
- Disque d'antibiotique « ampicilline »



Ph mètre



Spectrophotomètre UV- Visible



Isolement de *S. aureus* sur milieu Chapman



50g de thym broyée

Résumé

Ce travail a porté sur l'étude de l'effet antimicrobienne des extraits aux solvants à différentes polarités (hexane, méthanol, éthanol et l'eau), de *Thymus vulgaris* récoltée dans deux régions Mostaganem et Naama sur la croissance du germe *Staphylococcus aureus* impliquée dans les infections uro-génitale.

L'extraction des composés bioactifs a été effectuée à partir de la partie aérienne de la plante. Les extraits obtenus ont été dilués à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. Les mesures et contrôles ont été réalisés en triples essais et ont concerné la méthode de contact direct, la méthode de diffusion sur disque, la CMI et la CMB.

Avec un taux de croissance qui recule et des diamètres d'inhibition qui deviennent de plus en plus importants en augmentant la concentration de l'extrait de thym, on a pu démontrer l'effet inhibiteur de ce dernier sur le germe étudié qui est en relation avec la concentration en composé bioactifs dans les extraits de *Thym* prélevé des deux régions de l'étude ; Mostaganem et Naama.

Par ailleurs, l'étude a montré que les composés bioactifs du *Thym* extrait de la plante par usage des solvants à différentes polarités (hexane, méthanol et éthanol) et à l'eau, exercent un effet de type bactéricide vis-à-vis de *S. aureus*.

Mots clés : *Thymus vulgaris* ; *Staphylococcus aureus* ; extrait ; activité antimicrobienne ; effet inhibiteur.