République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^elle^ BELAIDI SALIHA

Et M^elle^ BELAOUEDJ AHLEM

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité: MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE

THÈME

Effet des extraits de la Menthe Poivrée (Mentha Peperita) chez Staphylococcus aureus responsable des infections uro-génitales.

Soutenu publiquement le 04 /07/2018

DEVANT LE JURY

Président : M. AIT SAADA	**: M.C.A**	**U. Mostaganem**
Encadreur : M^me^ AIT CHAABANE OUIZA	**: M.C.B**	**U. Mostaganem**
Examinateur: M. BEKADA A	**: Professeur**	**C .U. Tissemsilt**
Invité: M^me^ NAAS AWDA	**:Doctorante**	**U.Blida**

Thème realize au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition de Luniversité de Mostaganem.

Année universitaire 2017/2018.

REMERCIMENTS

Avant toute chose, nous remercie « **ALLAH** » qui nous a donné la patience, le courage et la volonté pour achever a bonne terme mémoire de fin d'études de master.

Mes remerciements s'adressent à sur tout ma directrice de thèse, Mme **AIT CHABANE Ouiza** enseignante et Maitre de conférences à la faculté SNV de l'université de Mostaganem, pour ses conseils et ses encouragements continuels, ainsi que pour la très grande patience dont a fait preuve à notre égard, Ont est aussi également très reconnaissantes à son égard pour ses critiques avisées et les discussions que nous avons pu avoir qui ont toujours été une source d'informations et ont beaucoup contribué à nous faire avancer dans nos réflexions.

Je remercie également Monsieur **AIT SAADA** Djamel, docteur à la faculté SNV-univ mosta biologiques de Mostaganem, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury et nous le remercions surtout pour nous avoir permis de réaliser notre travail au sein de son laboratoire.

J'exprime mes respectueux remerciements à Monsieur **BEKADA A**, professeur au centre universitaire de tissemsilt d'avoir acceper d'examiner ce travail.

Un grand merci à tous les ingénieurs exerçant aux laboratoires de Microbiologie et de Biochimie pour leurs soutien, pour son aide précieuse et sa disponibilité, et conseils scientifiques.

Que tous les participants trouvent ici, l'expression de notre sincère gratitude.

DEDICACES

On tient à dédier ce travail à :

- A MON CHERE PERE : **AMER**

Qui ne cesse constamment de m'entourer de son affectation grandissant, de m'enrichir de son expérience, de me prodiguer ses conseil, et qui m'a permis de mieux comprendre la vie.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance infinie pour les énormes sacrifices consentis à mon éducation.

- A MA TRÈS CHER MERE : **YAMINA**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutient et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

- Mes chère parents Merci pour votre aidée et merci pour votre patience qui me poussée vers la sucées vous être toujours le plus important dans ma vie.
- A Mes Chères Grands Parents
- Nos belles familles ainsi que toute la famille de **BELAIDI**
- À tout membre de ma famille c'est un moment de plaisir de dédier cet œuvre.
- A toutes mes coupines : **Ahlem, Hadja** et **Sarra,** pour les bons souvenirs et le beau temps que nous avons passé ensemble, en leur souhaitant le succès et le bonheur dans leurs vie.
- A mes connaissances et à tous qui sont chères à mon cœur
- Une spéciale dédicace à une personne qui a été paternaliste avec nous : Mme **AIT CHABAN Ouiza**. trouvez dans ce modeste travail nos sincères gratitudes et reconnaissance. Ce travail est le vôtre.

DEDICACES

On tient à dédier ce travail à :

- A MON CHERE PERE : **BELKACEM**

Qui ne cesse constamment de m'entourer de son affectation grandissant, de m'enrichir de son expérience, de me prodiguer ses conseil, et qui m'a permis de mieux comprendre la vie.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance infinie pour les énormes sacrifices consentis à mon éducation.

- A MA TRÈS CHER MERE : **HALIMA**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutient et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

- Mes chère parents Merci pour votre aidée et merci pour votre patience qui me poussée vers la sucées vous être toujours le plus important dans ma vie.
- A Mes Chères Grands Parents **BELAOUEDJ TOITI –DJILALI MOKHTER NBIA**
- Nos belles familles ainsi que toute la famille de **BELAOUDJ ET MOKHTER**
- À tout membre de ma famille c'est un moment de plaisir de dédier cet œuvre.
- A toutes mes coupines : **Saliha, Hadja, Sarra** et **Hasna** pour les bons souvenirs et le beau temps que nous avons passé ensemble, en leur souhaitant le succès et le bonheur dans leurs vie.
- A mes connaissances et à tous qui sont chères à mon cœur
- Une spéciale dédicace à une personne qui a été paternaliste avec nous : Mme **AIT CHABAN Ouiza**. trouvez dans ce modeste travail nos sincères gratitudes et reconnaissance. Ce travail est le vôtre.

Table d'Abréviation

ROS	espèces réactives de l'oxygène.
ADN	*Acide Désoxyribose Nucléique*.
ARN	*Acide Ribose Nucléique.*
AW	Activité de water .
ANC	Acide Nalidixique +Colimycine.
ORL	Otite, Sinusite, Phlegmon amygdalien.
PB	Paires de bases.
MRSA	S.*aureus* résistantes à la méthicilline.
ITS	Infection Transmissible Sexuellement.
IGH	Infection Génitale Haute.
PID	Pelvic Inflammatory Disease.

SNAT	Schéma National d'Aménagement du Territoire.
CMI	la concentration minimale inhibitrice **.**
S	Taux de survie du microorganisme en %.
df-di	différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
Df-Di	différence de densité optique sans extraits deMentheavant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
CMB	la concentration minimale bactéricide.
ML	Mole.
G	Guanine.
C	Cytosine.
ARNr	l'acide ribonucléique ribosomique.
ARNr 16s	Séquence de la sous-unité 16s de l'acide ribonucléique.

Table des figures

Figure 1	Menthe poivrée: *Mentha x piperita L*……..	05
Figure 2	Culture de *S. aureus* sur gélose au sang……...	12
Figure 3	Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique…….	13
Figure 4	Aspect caractéristique de *S. aureus* sur milieu Chapman……..	14
Figure 5	Aspect et caractéristique de *S. aureus* sur Baird Parker……	15
Figure 6	Aspect hétérogène d'une souche pure de *Staphylococcus aureus*....	15
Figure 7	Les furoncles, panaris et anthrax …….	18
Figure 8	Facteurs de virulence de *S. aureus*……..	20
Figure 9	Anatomie de l'appareil urinaire……..	26
Figure 10	Appareil génital féminin……...	30
Figure 11	Anatomie fonctionnelle de l'appareil génital féminin……	32
Figure 12	Région de Mostaganem……..	37
Figure 13	Région de Naama……..	38
Figure 14	Le matériel végétal……	39
Figure 15	d'échantillons de 10 g……..	40
Figure 16	Protocole d'extraction…….	41

Figure 17	Macération d'échantillons……..	41
Figure 18	Evaporateur rotatif…….....	42
Figure 19	l'activation de souche *Staphylococcus aureus*……..	43
Figure 20	Méthode de contact direct……..……	44
Figure 21	Méthode des disques par diffusion sur le milieu Muller Hinton…….	45
Figure 22	Concentration minimale inhibitrice(CMI)……..	47
Figure 23	Principales étapes de la détermination de la CMB…….	48
Figure 24	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de la région de Mostaganem sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.……	50
Figure 25	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de région de Naama sur la croissance de *staphylococcus aureus*……..	51
Figure 26	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de région Naama sur diamètre d'inhibition de *staphylococcus aureus*. ……	53
Figure 27	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de région de Mostaganem sur diamètre d'inhibition de *staphylococcus aureus*….	54
Figure 28	La CMB des extraits à hexane de la Monthe Poivrrée collectée à Mostaganem.	57
Figure 29	La CMB des extraits au méthanol de la Menthe de Mostaganem……..	57
Figure 30	La CMB d'éthanol de la région de Mostaganem……...	58
Figure 31	La CMB des extraits aqueux de la Menthe région de Mostaganem……	58

Figure 32	La CMB des extraits à l'hexane de la Menthe de Naama……..	59
Figure 33	La CMB de méthanol de la région de Naama……..	59
Figure 34	La CMB des extraits à éthanol de la Menthe de Naama……...	60
Figure 35	La CMB des extraits aqueux de la Menthe de Naama…….	60

Liste des tableaux

Tableau 01	Les principales classes de composés phénoliques…….	08
Tableau 02	Caractères principaux des *staphylocoques*……....	13
Tableau 03	Caractères distinctifs de *S. aureus*…….	15
Tableau04	Facteurs de pathogénicité (virulence)…….....	19
Tableau 05	Caractères généraux de l'urine saine et d'une urine contaminée……...	25
Tableau 06	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de *Staphylococcus aureus* (UFC/ml)……	61
Tableau 07	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les diamètres d'inhibitions (mm) chez *Staphylococcus aureus*…….	62
Tableau 08	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur taux de croissance (%) chez *Staphylococcus aureus*…….	63
Tableau 09	Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les taux d'inhibition (%) chez *Staphylococcus aureus*…….	64
Tableau 10	Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait *de Menthe ˙Poivrée* chez *Staphylococcus aureus*……	65
Tableau 11	Action inhibitrice des extraits de la *Menthe Poivrée* chez *Staphylococcus aureus*…….	66

Table des matières

Remerciements……..	
Dédicace……	
Liste des abréviation……	
Liste des figure……..	
Liste des tableux……..	
Résumé……..	
Introduction……..	01

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur la menthe poivrée	
1. Généralités sur la menthe poivrée……	03
2.La phyto-aromathérapie……	03
3. La menthe poivrée ……..	04
3.1. Étymologie……	04
3.2. Définition …….	04
3.3. Usage…….	05
3.4. La description botanique……..	05
3.5. Classification ……	06
3.6. Composition……..	06
3.7. La polyphénole……..	07
3.8. Nature et diversité des composés phénoliques……	07
4. Propriété ……..	08

4.1. Activité anti-oxydante……..	08
4.2. Activité antimicrobienne ……..	08
4.3. Activité antifongique…….	09
Chapitre 2 : Généralités sur Staphylococcus aureus	
1. Introduction……	10
2. Le genre Staphylococcus……..	10
2.1. Historique …….	10
2.2. Caractères bactériologiques ……..	11
2.3. Isolement……..	13
2.4. Taxonomie ……	16
2.5. Habitat et transmission……..	16
2.6. Position taxonomique et classification……..	17
3. L'espèce Staphylococcus aureus: agent pathogène……..	17
3.1. Facteurs de pathogénicité (virulence)……..	18
3.2. Causes favorisant l'infection…….	20
4. Génétique de S. aureus ……	21
4.1. Génome…….	21
5. Résistance aux antibiotiques des S. aureus……..	21
Chapitre 3 : Les infections uro-génitales chez la femme	
1. Historique …….	22
2. Les infections urinaires……	23
2.1. La flore microbienne normale du corps humain……..	23
2.2. Généralité……..	24

2.2.1. Définition……..	24
2.2.2. Caractères physicochimiques de l'urine…….	24
2.2.3. La différence entre urine normal et contaminé……..	24
2.3. Appareil urinaire……...	24
2.3.1. Définition……..	24
2.3.2. Composition de l'appareil urinaire…….....	25
2.3.2.1. Reins …….	25
2.3.2.2. Uretères……...	26
2.3.2.3. Vessie……..	26
2.3.2.4. Urètre……...	27
2.4. Epidémiologie……...	27
2.4.1. Infections urinaires…….	27
2.4.2. Définition……..	27
2.4.3. Facteurs de risques des infections urinaires……..	27
2.4.4. Pourquoi les femmes sont-elles plus vulnérables aux infections urinaires que les hommes?.....	27
2.4.5. Signes possibles d'infection urinaire…….	28
2.4.6. Types d'infections urinaires…….....	28
2.4.6.1. La cystite…….	28
2.4.6.2. L'urétrite…….	28
2.4.6.3. La pyélonéphrite……..	29
2.5. Examens complémentaires urinaires…….	29
2.5.1. Test rapide indirect qualitatif par bandelette urinaire (stick)	29
2.5.2. Sédiment urinaire	29

2.5.3. Culture d'urine	29
3. Les infections génitales	29
3.1. Vaginites : Généralités	30
3.1.1. Le vagin	30
3.2. Les infections vaginales	31
3.2.1. Définition	31
3.2.2. Écosystème vaginal	31
3.3. Diagnostiquer une infection génitale de la femme	32
3.3.1. Les Différents Types D'infection Génitales Chez La Femme	32
3.3.1.1. Infections Génitales Hautes Chez La Femme (Pelvic Inflammatory Disease –Pid)	32
3.3.1.2. Symptomatologie/ Diagnostic	32
3.3.2. Diagnostiquer une infection génitale basse	33
3.3.2.1. L'infection est souvent peu symptomatique, révélée par une complication (infection haute)	33
3.3.2.2. L'aspect de l'écoulement est parfois évocateur d'une étiologie précise	33
3.3.2.3. L'examen au spéculum : inflammation vaginale et de l'endocol	33
3.3.2.3. Prélèvement microbiologique impératif à la recherche de pyogènes et de C.trachomatis	33
3.4. Différencier infection génitale haute et basse	33
3.5. Leucorrhées	33
3.5.1. Les leucorrhées physiologiques proviennent	33
3.6. Conduite de l'examen d'une femme consultant pour des leucorrhées anormales	34
3.6.1. Interrogatoire	34
3.6.2. Examen clinique	35

Parti 02 : Matériel et méthodes	
1. Objectifs:……	36
2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal ……	36
2.1. Région de Mostaganem…….	37
2.1.1. Climat de Mostaganem……..	38
2.2. Région de Naama……	38
2.2.1. Climat…….	39
3 .Le matériel végétal……...	39
4. Extraction des composés bioactifs aux solvants à différentes polarités……...	39
4.1. Evaporation sous vide par l'Evaporateur rotatif……...	42
5. Etude des effets antimicrobiens des extraits de menthe……...	43
5-1- Activation des inocula microbiens……...	43
5.2. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)……..	43
5.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose……..	45
5.4. Concentration minimale inhibitrice : CMI…….....	46
5.5. Concentration minimale bactéricide (CMB)…… ……..	47
6. Traitement statistique……	49
Partie O3 : Résultats et Discussion	
1. Résultats……...	50
1.1. Croissance du germe staphylococcus aureus……	50
1.2. Test de diffusion sur disque……..	52
1.3. Taux de croissance……	55
1.4. Taux d'inhibition……...	55

1. 5 Concentration minimale inhibitrice (CMI)……..	56
1.6. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama su la CMB……	56
1.6.1. La CMB de la région de Mostaganem……..	57
1.6.1.a.Hexane……	57
1.6.1b. Méthanol…… ……..	57
1.6.1c. Ethanol…….....	58
1.6.1d. L'extrait aqueux……	58
1.6. 2. La CMB de Naama…….....	59
1.6.2.a. Hexane……..	59
1.6.2.b. Méthanol……..	59
1.6.2.c. Ethanol…….....	60
1.6.2.d. L'extrait aqueux……...	60
1.7.Type d'inhibition…….....	60
Discussion ……...	61
Conclusion……	74
Références bibliographique	
Annexes	

Résumé

L'étude expérimentale est consacrée à l'évaluation des effets antimicrobiens des extrait aux solvants à différentes polarités (hexane, méthanol, éthanol et à l'eau) de la *Menthe Poivrée* (*Mentha x Pepirita*) récoltée dans deux régions du pays (Mostaganem et Naama) sur le germe spécifique de références (*Staphylococcus aureus)* responsables d'infections urogénitales chez la femme telles.

Les extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de région de Mostaganem ont engendré des faibles activités antimicrobiennes chez *S.aureus* (croissance microbienne, diamètres des zones d'inhibition, taux de croissance et taux d'inhibition) par rapport à l'extrait de la *Menth*e *poivrée* récoltée à Naama.

Tous les extraits possèdent une inhibition de type bactéricide, sauf pour les extraits à l'hexane de la région de Naama qui ont montré une inhibition de type bactéristatistique.

Mots clés : *Menthe poivrée, staphylococcus aureus*, extrait, solvant, activité antimicrobienne.

Abstract

The experimental study is devoted to the evaluation of the antimicrobial effects of pepper mint extracts (hexane, methanol, ethanol and water) of Peppermint (*Mentha x Pepirita*) harvested in two regions of the country (Mostaganem and Naama) on the specific germ of references (*Staphylococcus aureus*) recognized as being the most responsible for urogenital infections in women such.

Peppermint extracts from the Mostaganem region produced low antimicrobial activity in *S.aureus* (microbial growth, inhibition zone diameters, growth rate, and inhibition rate) compared to mint extract. peppery harvested in Naama.

All extracts have bactericidal inhibition except for the hexane extracts of the Naama region which showed bacteriostatic inhibition.

Key words: peppermint, staphylococcus aureus, extract, solvent, antimicrobial activity.

Introduction

Introduction

La résistance aux antibiotiques est un phénomène biologique que la médecine aura du mal à faire disparaître. Il y a quelques décennies, plusieurs maladies semblaient maîtrisées grâce à l'utilisation des antibiotiques. Les progrès scientifiques et technologiques laissaient même croire à une possible éradication de nombreuses pathologies. La résistance développée de plus en plus par les microorganismes et l'émergence régulière de nouveaux agents infectieux ont démenti ce pronostic optimiste ***(Alekshun et Levy, 2007)***.

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 microbiologie ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Il résulte que, les extraits phénoliques possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux de ***(Freeman et Carel, 2006)***, ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

Actuellement, de nombreux médicaments utilisés sont extraits de plantes. Environ 25% des produits pharmaceutiques renferment des préparations à base de plantes ***(Duke ,1993).***

On à la *Menthe poivrée* d'innombrables vertus antibactériennes, antidouleur, anti inflammatoire ….etc. qui ont été vérifiés scientifiquement. Ces effet sont dus à la présence de certains composés bioactifs tels que l'eugénol, l'acide caféique et l'acide rosmarinique ***(Arumugan et al., 2009).***

Ceci nous a conduit à poser la question suivante : « est-ce que la *Menthe Poivrée* récoltée dans deux régions les plus contrastées du pays l'une humide (Mostaganem) et l'autre aride (Naama) pouvant avoir des effets antimicrobiennes différents vis-à-vis du germe pathogène *staphylococcus aureus* de nombreuse infections (infections urinaires,infection vagénales, malades nosocomiel……ect)*? »****(Cherrat et Espina ; 2014), (Moreno et Bello ; 2002).***

Pour cela, nous nous somme proposé d'essayer de connaître le comportement *in vitro* du certains germes responsables de maladies urogénitales (*Staphylococcus aureus,*) vs-à-vis des inhibiteurs de croissance tels les polyphénols de la *Menthe Poivrée* extraits par la méthode de macération.

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 *Menthe Poivrée* par usage de solvants à polarités croissantes dont: Hexane, Méthanol, Ethanol et Eau.

2. Suivre les effets antimicrobiens des extraits aux solvants à différentes polarités de la *Menthe Poivrée* sur le germe spécifique de références reconnues comme étant les plus responsables d'infections urogénitales chez l'Homme dont *Staphylococcus aureus*.

L'effet antimicrobien des extraits phénoliques de la *Menthe Poivrée* a été étudié principalement par deux méthodes d'approches : la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de contact direct.

Le manuscrit objet de l'étude comporte trois parties :

- ✓ Une première partie bibliographique attrait sur la *Menthe Poivrée, staphylococcus aureus* et l'infection uro-génitale.
- ✓ Une seconde partie concerne la description du matériel et les méthodes appliquées dans l'approche expérimentale en vue d'étudier les effets antimicrobiens des polyphénols de la *Menthe Poivrée* prélevée des deux régions (Mostaganem et Naama) sur *Staphylococcus aureus.*
- ✓ Enfin, une dernière partie consacrée à la critique et à la discution des résultats obtenus au terme du travail expérimental entrepris au laboratoire.

Chapitre 1 : Généralités sur la Menthe Poivrée

Chapitre I : Généralités sur la *Menthe Poivrée*

1. Introduction

Une plante est dite médicinale, lorsque «au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses». Elle peut être Retenue par la Pharmacopée, mais celle-ci peut aussi retenir des plantes qui, bien que non médicinales, sont utiles à la Pharmacie ***(Bruneton ,1999).***

Dans cette gamme élargie, plusieurs espèces médicinales ne sont que médicinales, et beaucoup d'autres espèces ne sont pas que médicinales. La thérapie par les plantes s'enracine dans le passé de l'humanité ce qui rend difficile l'établissement d'une liste exhaustive ne comprenant que les plantes proprement dites médicinales.

L'intérêt thérapeutique des plantes médicinales est dû à la présence d'une catégorie de molécules synthétisées par la plante, considérées comme étant, pratiquement, sans rôle spécifique pour le développement de la plante ***(Braz ,1999).***

Ces molécules appelées métabolites secondaires, sont classées selon leur structure chimique en trois grandes familles : les composées *phénoliques*, les *isoprénoides* et les composés *azotés (**Sauad et all, 2010).***

Parmi ces molécules, plusieurs ont des propriétés médicamenteuses très intéressantes comme les *alcaloïdes*, les *flavonoïdes*, les *saponosides* et les *tanins **(Elmtili et Ben, 2010).***

A travers des siècles passés, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent la principale, voir l'unique source de remède. Un grand nombre de plante médicinales et aromatiques et des plantes épices cultivées ou spontanées possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent application dans divers domaines dont en *médecine, pharmacie, cosmétologie* et en *agriculture*. Cependant, l'évaluation des effets biologiques de ces plantes que certains ont des utilisations thérapeutiques présente actuellement une tache très intéressante ***(Telidji ,2015).***

2. Le phyto-aromathérapie :

Issue des traditions thérapeutiques des plus antiques civilisations aux plus modernes, la Phyto-aromathérapie est en fait fille de la médecine éternelle, celle des plantes et de la nature. Celle-là même dont certains se moquent, en nommant ces médications remèdes de 'bonne

femme", ignorant certainement que leurs *sarcasmes* n'en sont pas, puisque ce terme est la déformation phonétique du latin *"bonne fame",* signifiant bonne réputation.

La *Phyto-aromathérapie* ne prétend pas pour autant se substituer à la médecine classique; bien que par un usage guidé elle ne se propose pas seulement d'apporter un mieux-être mais de soulager ces maux de tous les jours qui nous empêchent d'avoir une vie pleinement harmonieuse.

Les plantes que vous utilisez doivent être absolument naturelles, et de préférence en l'état le plus simple possible sans traitement particulier. La forme poudre totale est à préférer. Pour établir ce guide nous nous sommes basés sur les plantes les plus couramment utilisées et les plus efficaces. Il faut s'assurer que les plantes n'ont subi aucune transformation chimique, ni subi une quelconque irradiation ***(Cécile, 2006).***

3. La menthe poivrée :

3.1. Étymologie :

Le mot *menthe* vient du latin *mentha,* qui derive lui-meme du *grec μίνθη / Mínthê ou μίνθα / míntha,* du nom de *Minthe* qui dans la mythologie *grecque* etait une *nymphe* que *Persephone* a *metamorphose* en cette plante (Elle est chez *Oppien* fille du *Cocyte,* un des cinq fleuves des Enfers). *Aimee d'Hades,* elle est delaissee par le dieu lorsque celui-ci enleve Persephone ; elle n'a alors de cesse de se lamenter et de denigrer sa rivale, ce qui lui vaut d'etre pietinee et changee en *menthe* par *Demeter, mere* de *Persephone* ***(Eccles et al., 1990).***

3.2. Définition :

La *Menthe poivrée* (*Mentha piperita L.*) appartient à la famille des *Labiateae* et est originaire des régions méditerranéennes. Il est largement cultivé dans le monde et est une *Menthe hybride,* un croisement entre la *Menthe aquatique* et la *Menthe verte* .La plante, indigène à *l'Europe,* est maintenant répandue dans la culture dans toutes les régions du monde. Il est parfois trouvé sauvage avec ses espèces parentes.

La menthe poivrée a été décrite pour la première fois en 1753 par *Carolus Linnaeus* à partir de spécimens recueillis en *Angleterre*; il l'a traité comme une espèce, mais il est maintenant universellement accepté d'être un hybride ***(Moghtader ,2003).***

3.3. Usage :

La *menthe* occupe une place privilégiée dans la phytothérapie, elle était cultivée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales. La tradition lui attribue des propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et des propriétés digestives, utilisée pour soulager, les coliques, nausées, diarrhée. La *Menthe* par leur odeur et leur activité et richesse en composées bioactives, ont une place particulière dans l'ensemble des produits aromatiques.

Grâce à certaines propriétés spécifiques, les besoins en produits extraits des *Menthes* sont multiples. En usage local, les médicaments à base de *Menthe* sont utilisés comme adoucissant et comme protecteur (contre les *crevasses* et les piqûres d'insectes); utilisé également pour l'hygiène buccale et comme antalgique ***(Telidji , 2015).***

3.4. La description botanique :

La plante végète avec moins de vigueur, s'élève moins haut; ses feuilles sont plus rares et plus petites (**Figure. 1**) ***(François ; 2012).***

Il est communément connu sous les noms de : *Menthe Poivrée*[i], *Menthe Brandy*, *Menthe Gandy, Menthe d'agneau, Menthe Baume, Vilayati Pudina* ou *Paparaminta* et *appartient* à la famille *Lamiaceae* ***(Eccles, 1994).***

Figure 1.*Menthe poivrée(Mentha x piperita) L.* ***(Aflatuni; 2005).***

3.5. Classification :

La *Menthe Poivrée* est l'hybride stérile issu du croisement *M. aquatica L. x M. spicata L.Mentha x piperita L*. est une *menthe vivace* à tiges dressées, tétragones, rameuses au sommet. Les feuilles sont d'un vert intense. Elles sont ovales, oblongues ou lancéolées. Les fleurs sont d'un rose violacé, en glomérules plus ou moins nombreux, disposés eux-mêmes en épis terminaux, cylindriques-oblongs. Le calice est glabre ainsi que la corolle et les étamines sont saillantes ***(Punit, 2014).***

C'est un ingrédient important de plusieurs formulations utilisées dans la gestion des troubles gastro-intestinaux et cutanés. On pense qu'il s'agit d'un hybride naturel entre *M.spicata* et la *plante aquatique M. aquatica,* cette dernière mordant elle-même un hybride de *M.longifolia* et de *M.rotundifolia,* de sorte que *M. piperita* est un hybride triple hybride.

La plante est une herbe forte, vivace et glabre, de 30 à 90 cm de hauteur. Les tiges de squre sont généralement rougeâtre-violet et lisse. Les feuilles sont courtes de 2,5 à 5 cm de long, oblongues-ovales et dentées ***(Fleming , 1998).***

La classification de la *Monthe Poivrée* est comme suit :

Règne : *Plantae ;*

Division :*Magnoliophyta ;*

Classe :*Magnoliopsida ;*

Ordre :*Lamiales ;*

Famille :*Lamiaceae ;*

Genre :*Mentha ;*

Espèce :*Mentha piperita.*

3.6. Composition :

La *Menthe poivrée* est riche en acide phénolique (7%) : acide rosmarinique et dérivés de l'acide caféique. Elle contient une très forte proportion de flavonoïdes et des tanins.

3.7. Las polyphénoles :

Les *polyphénoles,* également dénommés composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règnes végétale. Cette appellation générique dé signe une veste ensemble de substances aux structures variés qu'il est difficile de définir simplement .L'élément structural de base est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther méthyliques, ester, sucre……).

En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols, ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Pour éviter toute équivoque, nous avons donc préféré utiliser dans cet ouvrage la désignation générale « composés phénoliques » qui concernent à la foi les mono- di- et polyphénoles dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques.

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir:

1-Dans certains aspects de la physiologie de la plante (régulation de la croissance, interaction moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasitaires…)

2-Critères de qualité (couleur, qualités nutritionnelles)

3-La protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes.

3.8. Nature et diversité des composés phénoliques :

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux ***(Macheix et al., 1990)*** . Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**Tableau.1)**, qui se différent d'abord par la complexité du squelette de base, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, méthylation…), en fin par la liaison possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides , protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques….) ***(Goudji ; 2016).***

Tableau1. Les principales classes de composés phénoliques.

Squelette carboné	Classe	Exemple
C_6	Phénol simple	Catéchol
C_6-C_1	Acide hydroxybenzoiques	*p*-Hydrxybenzoique
C_6-C_3	Acides hydroxycinnimiques	Acide caféique, féruliques
C_6-C_4	Naphtoquinones	Juglone
C_6-C_2-C_6	Stilbènes	Resvératrol
C^6-C_3-C_6	Flavonoïdes	
$(C_6$-$C_3)_2$	Lignanes	Pinorésinol
$(C_6$-$C_3)_n$	Lignines	
$(C_{15})_n$	Tannins	

(Harborne , 1989 et Macheix , 1990)

Les tanins ont une propriété astringente qui régule la sécrétion de sébum, resserre les pores et affine le grain de peau pour unifier le teint. La présence d'autres anti-oxydants, tels que les flavonoïdes (eriocitrine) et les acides hydroxycinnamiques (acide rosmarinique), participe au maintien de l'hydratation et tonifie la peau. Cette action tonifiante est renforcée par la présence de vitamine C. Enfin, l'ensemble de la composition des feuilles de menthe procure à l'extrait une propriété rafraîchissante ***(Jacques et al., 2005)***

4. Propriété :

4.1. Activité anti-oxydante :

La production excessive de *ROS* a tendance à initier la chaîne réactions qui entraînent irréversibles changements chimiques dans les protéines, les lipides et *ADN* (***Wijeratne et al., 2005),*** ces réactions délétères peuvent entraîner un dysfonctionnement cellulaire et une cytotoxicité. Ainsi, l'évidence croissante suggère que beaucoup de maladies chroniques humaines, telles que le cancer, maladie cardiovasculaire et les troubles neurodégénératifs sont les résultats des dommages oxydatifs par *ROS* ***(Barchan et al . ,2014).***

4.2. Activité antimicrobienne :

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des extraits, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaires ***(Kokate et Varma , 1970).***

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des extraits sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron, la coagulation du contenu protéique des cellules, et l'inhibition de la décarboxylation des acides aminés. Les extraits peuvent inhiber aussi la synthèse d'*ADN*, *ARN*, des protéines et des polysaccharides. Le mode d'action des extraits dépond en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs (***Bakkali et al ., 2014).***

4.3. Activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les plantes médicinales et leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires ***(Desam et al . , 2017).***

Les extraits les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques sont obtenue surtaut des plantes suivantes (*Menthe*, *Thym*, *Lavande*, *Romarin*…) et ceci etant donnée leurs grande richesse en composés phénoliques ***(Gow et all ; 2017).***

Chapitre 2 : Généralités sur Staphylococcus aureus

Chapitre II : Généralités sur Staphylococcus aureus

1. Introduction :

Le *staphylocoque doré*, alias *Staphylococcus aureus* ***(Michel et Yves, 2010)***, sont des bactéries *pyogènes*, fréquemment rencontrées ***(Laurence ,2010).*** Ils peuvent provoquer des abcès locaux presque à n'importe quel endroit de l'organisme, depuis la peau (boutons) jusqu' à la moelle osseuse (ostéomyélite). Ils sont parfois responsables de maladies plus spécifiques comme l'endocardite ***(Schaechter et al ., 1999*).**

S.aureus est une bactérie pathogène :

- Par virulence ; elle fabrique des protéines de surface et des enzymes dont la coagulase libre et la thermonucléase.
- Par toxinogénèse ; elle produit diverses toxines ***(Camille, 2014).***

S.aureus est une source constante d'infections, parfois mortelles, qui accompagnent l'homme au quotidienne. Ce caractère constante, par un effet cumulatif fais de *S. aureus* une des bactéries ayant causé le plus de pertes humaines dans l'histoire de l'humanité ***(Michel et Yves ; 2010).***

2. Genre Staphylococcus :

2.1. Historique :

Dans les deux premières communications à l'académie des sciences en 1870 et 1880, *Louis Pasteur* à et insisté sur l'existence de cette bactérie, qu'il avait isolée à la fois du pus de l'anthrax et de l'ostéomyélite et aussi des eaux de la seine ***(Aouati , 2009).***

De nombreuses méthodes d'isolement et d'identification ont été proposées sur la base du schéma d'identification proposé par *Kloos* et *Schleifer* en 1975 ***(Michel et Yves, 2010)***. Ainsi en 1878, *Robert Koch* en *Allemagne* et *Louis Pasteur* en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine ***(Chaalal , 2013).***

La même année, en *Ecosse, Alexander Ogston* propose le nom *"Staphylococcus*" (*staphylê* : grappe et *kokkos* : grain) car les bactéries se regroupent en amas irréguliers ressemblant à une grappe de raisin (***Gaël , 2012).*** *Ogston* différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* ***(Chaalal, 2013).*** Ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique, ont été décrits par *Robert Koch* en 1878 ***(Aouati , 2009).***

En 1884, en *Allemagne Rosenbach* a obtenu des cultures pures de ces bactéries ***(Aouati , 2009)*** sur milieu solide, Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies ***(Chaalal ,2013).***

En 1885, *Zopf* a placé Les *staphylocoques* et les *microcoques* dans le genre *Micrococcus,* séparés par la suite par *Flugge, Evans, Bradford* et *Niven* (1955) qui classent les *cocci* anaérobies facultatifs et aérobies dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus,* respectivement. Cette classification est basée sur leur action vis-à-vis de la gélatine et le test d'oxydation – fermentation du glucose. Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par *Silvestri* et *Hillen* (1965). Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des *micrococques* est de 63-73%, comparé à celui des *staphylocoques* 30-39%, indiquant qu'il n'existe pas de relation entre les deux genres ***(Chaalal , 2013)***, par leur paroi contenant un peptidoglycane et des acides teichoiques et par la présencede peptide oligoglycine dans les ponts peptidiques de la paroi ***(Michel et Yves, 2010).***

En 2001, les chercheurs *Garrity* et *Holt* ont proposé de radier les *S. aureus* de la famille des *Micrococcaceae (*genre *Micrococcus* et *Stomatococcus*) grâce l'analyse des séquences de la sous-unité 16S de l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr 16S) ainsi que d'autres analyses génétiques. Sa position taxonomique est maintenant bien définie et il a une famille à son nom *: Staphylococcaceae*. Cette famille comporte les genres *Gemella, Jeotgalicoccus, Salinicoccus, Macrococcus,* ainsi que le plus important le genre *Staphylococcus.* On retrouve donc *S. aureus* dans le genre *Staphylococcus* ***(Robert ; 2013).***

2.2. Caractères bactériologiques :

A l'examen microscopique, les *Staphylococcus aureus* [ii]se révèlent être des cocci Gram-positive en amas ***(.Epelboin et Macey ; 2009),*** d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre ***(Robert ; 2013)*** elles peuvent être pigmentées (**Figure. 2**). Cette coloration a d'ailleurs donné le nom d' « *aureus* » à *S. aureus* car la pigmentation est souvent de couleur (jaune à jaune orangée) (**Tabeau.2**) (***Robert ; 2013).***

Certaines espèces de *Stapylocoques* sont capables de croitre dans des conditions hostiles (par exemple en bouillon hypersalé à 7% de NaCl ***(Michel et Yves, 2010).***

Figure2. Culture de *S. aureus* sur gélose au sang ***(Robert ,2013).***

S. aureus est un aéro-anaérobie facultative qui produit une catalase ***(Olivia, 2011)***, immobiles, ils ne forment pas de spores ***(Névine el solh, 2018)***. Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de ***(Chaalal, 2013)*** (du grec *staphylo* "*grappes de raisin*" ***(Michel et Yves, 2010),*** elle a une propriété de provoquer la coagulation ***(Jean et Guy, 2014)*** d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrition d'une enzyme : la *staphylocoagulase* ou coagulaseune coagulase ***(Epelboin, Macey, 2009)*** et qui peut tolérer une activité en eau très réduite (Aw= 0,83). Dans des conditions optimales, la division cellulaire se produit approximativement tous les 20 min avec un diamètre de cellule allant de 0,5 à 1,5 µm, (**Figure .3**) La grande majorité des souches sont capsulées in vivo mais perdent progressivement leur capsule en culture, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule ***(Chaalal, 2013).*** C'est la paroi de *S. aureus* qui a fait l'objet des études les plus approfondies ; elle est donc la mieux connue. Elle est épaaisse (200 à 800 A), présentant un aspect homogène en microscopie électronique ***(Leclerc, 1975).***

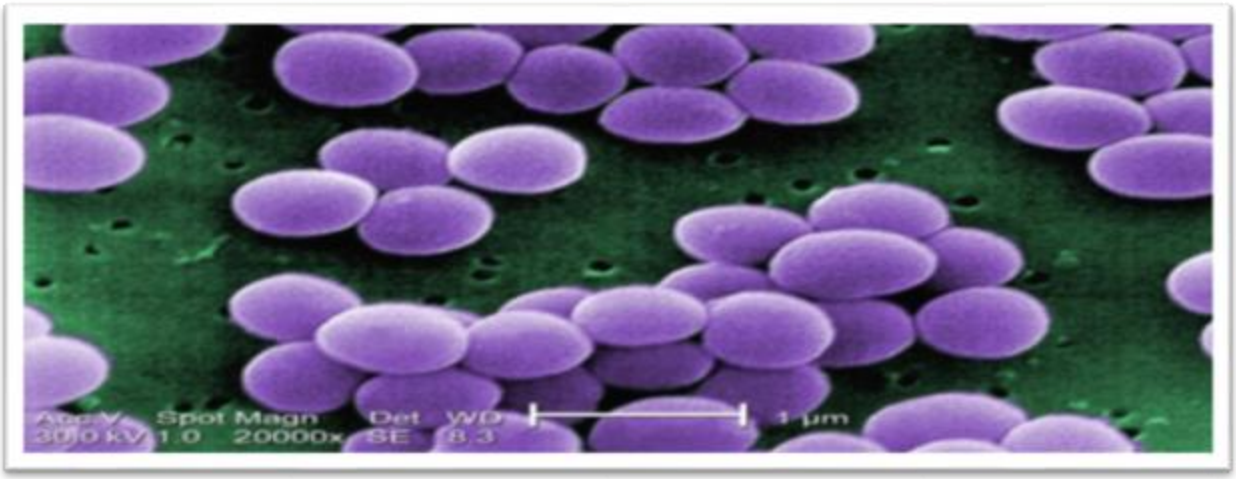

Figure 3. Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000).

http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/

Tableau 02. Caractères principaux des *staphylocoques*.

MORPHOLOGIE	Cocci sphiriques de 0,5 à 1µm de diamètre -en amas
Coloration de gram	gram+
Mobilité	Immobiles
Types de respiratoire	Anaérobies facultatifs en général
Oxydase	+
Catalase	+
Coagulase	+
Condition de culture	Tampérature optimale 37° ; croissance à 10°et à 45°
Caractères spécifiques	Halotolérants : 6,5% de NaCL

(Camille, 2014),

2.3. Isolement :

Les coques Gram +, catalase +, se cultivent facilement sur gélose ordinaire. Ils proviennent probablement des individus par la desquamation de la peau par exemple. Pour la température de culture, *S. aureus* se cultive, selon les souches, entre 6 à 12°C et entre 39,5 et 48°C. À pH 4 ***(Noël, 2006).***

S. aureus est capable de croître sur une large gamme de milieux de culture, sélectifs (p. ex. les géloses Chapman, et Baird Parker) (**tabeau.03**) ; ***(Olivia ; 2011)***, ou non sélectifs (p. ex. un milieu gélosé enrichi en sang, une gélose nutritive, ou une gélose coeur-cervelle). Sur une gélose au sang ***(Alioua, 2015)***, dans milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments). Examinés sur lames, après avoir été isolés d'une gélose, l'aspect en mosaïque est habituel ***(Chaalal, 2013).***

Trois milieux sélectifs sont utilisables :

• **Le milieu de Chapman** (milieu hypersalé au mannitol et au rouge de phénol) : Ce milieu n'est pas favorable à la culture des *Staphylococcus ;* mais très inhibiteur des autres bactéries (sauf certains Gram + comme les *Entérocoques,* et certains Gram - comme *Proteus*...). Il faut bien reconnaitre que ce milieu n'est pas un bon milieu d'isolement des *Staphylococcus* car certaines espèces ne se cultivent pas et d'autres ont des durées excessives (**Figure.04).**

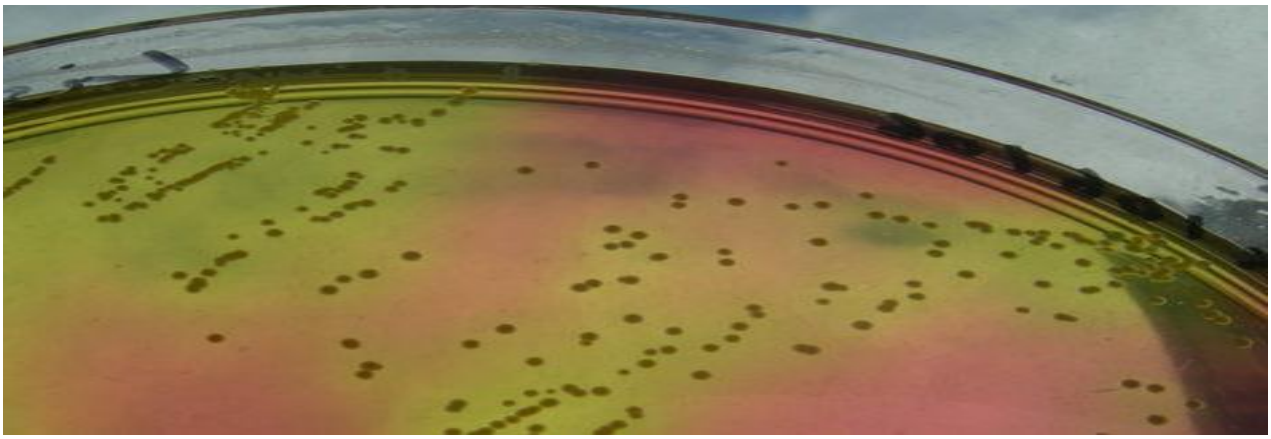

Figure 04. Aspect caractéristique de *S. aureus* sur milieu Chapman.

• le milieu de Baird Parker (milieu au tellurite-lithium et au jaune d'oeuf) : Ce milieu est riche et utilisé surtout en microbiologie des aliments. Il permet la mise en évidence classiquement de la lécithinase et la lipoprotéinase. Les colonies peuvent de plus être noires par réduction du tellurite en tellure noir.

$$6\ H^+ + 4\ e^- + TeO_3 \rightarrow 2\text{- è } Te + 3\ H_2O$$

Staphylococcus aureus est lécithinase +, lipoprotéinase + et réduit le tellurite en tellure (**Figure.05**).

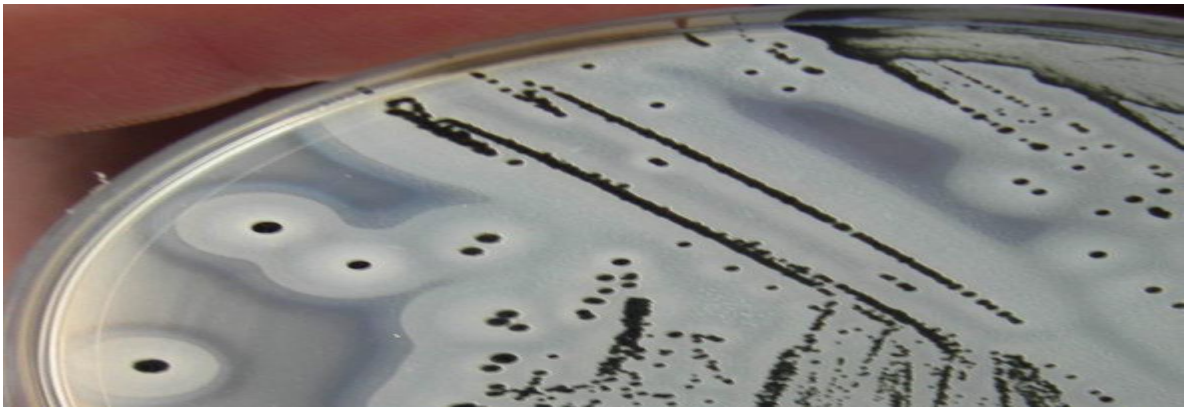

Figure 05. Aspect et caractéristique de *S. aureus* sur Baird Parker.

• **la gélose au sang + ANC** (ANC = Acide nalidixique +Colimycine) : Ce milieu est utilisé pour la plupart des grams +. En médical il est préférable à Chapman car la culture de *Staphylocoques* sera plus sûre que sur Chapman.

ATTENTION : les souches de *Staphylocoques* donnent souvent un aspect hétérogène (colonies de différentes tailles, coloration…. On peut avoir l'impression d'un mélange (**Figure. 06).**

Figure 06. Aspect hétérogène d'une souche pure de *Staphylococcus aureus.*

Tableau3. Caractères distinctifs de *S. aureus.*

	Espèse *S.aureus*	**Autre espèses de *stapylocoques***
Aspects des colonies	Pigment doré	Blanches
Milieu de chapman	Acidification du mannitol (jaune)	Pas d'acidification du mannitol (rouge) sauf *S.epidermidis*
Staphylo-coagulase	Positive	Nègative

(Olivia, 2011).

2.4. Taxonomie :

Ces dernières années, l'analyse des séquences d'ARNr 16S a conduit à des remaniements importants quant à la position taxonomique du genre *Staphylococcus,* qui n'appartient plus à la famille des *Micrococcaceae*. Cette position taxonomique reste cependant à définir ***(Michel et Yves, 2010).***

2.5. Habitat et transmission :

S. aureus appartient à la flore commensale normale des animaux à sang chaud, principalement les mammifères**.** On le trouve dans les appareils gastro-intestinal et urinaire ***(Prescott et al., 2007)*** (terrestres et marins ; mais aussi les oiseaux), à la différence d'autres espèces de *staphylocoque* qui ont un hôte préférentiel ***(Michel et Yves, 2010)*** **.**

Les souches de *S. aureus* sont présentes également sur les membranes muqueuses du tractus respiratoire ainsi que le tractus urogénital et comme flore transitoire dans le tractus digestif ***(Chaalal, 2013).*** Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation (ils survivent plusieurs d'un mois dans des produits pathologiques desséchés), aux variations de température (ils résistent 2 h à 55° C, voire 1 h à 60° C) ***(Patrick et al., 1988).***

Il existe aussi un autre état de porteur de *S. aureus* qui n'est pas sain, sans pour autant être considéré comme infectieux. Il s'agit des gens souffrant de dermatite atopique, d'eczéma et de psoriasis. Ces gens sont reconnus comme des grands porteurs de *S. aureus* sans qu'il y ait signe d'infection et sans que cette bactérie soit responsable de leur état dermatique. Ces patients ont observé des taux de colonisation par le *S. aureus* de 79% dans le nez, de 76% sur la peau normale et de 93% sur la peau lésée. Ce groupe de personnes forme donc un réservoir important de *S. aureus* dont la dispersion est favorisée par la desquamation exagérée provoquée par leur état. Il va sans dire que le risque d'infection nosocomiale est très grand dans l'entourage de ces gens ***(Johanne, 1984).***

La transmission des *staphylocoques* s'effectue essentiellement par contact direct à partir de sujets colonisés ou de lésions *staphylococciques* ouvertes, cutanées ou muqueuses. La transmission indirecte est plus rare (objets divers, vêtements, literie, etc.) et elle est exceptionnellement aéroportée. Les toxi-infections alimentaires collectives sont des épidémies concernant des sujets ayant consommé le même repas (restaurant, cantine), contenant des

aliments souillés par du personnel porteur de *staphylocoques* et dont les conditions de conservation ont permis la multiplication du germe, comme cela peut arriver à l'occasion d'une rupture de la chaine du froid ***(Cécile, 2012)***

2.6. Position taxonomique et classification :

Selon la classification de ***(Garrity et al ., 2007)*** , le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des *Firmicutes* constitué de quatre classes :

1-*Clostridia* *2- Mollicute,* *3- Bacilli* *4- Togobacteria*

La classe des *Bacilli* est constituée de deux ordres: *Bacillales* et *Lactobacillales,* dont chacun est divisé en quatre familles; *Staphylococcaceae* constitue la 4ème famille des *Bacillales,* celle-ci comprend un seul genre: *Staphylococcus* (GC% 30-39%). Le genre *Staphylococcus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animale

La taxonomie du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs grâce au développement du séquençage d'ARNr 16S, on distingue plus de quarante espèces de *Staphylococcus* dont 24 sous espèces. Un certain nombre d'entre elles sont trouvées chez l'homme, d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments.

Parmi les espèces retrouvées chez l'homme, trois espèces occupent une place privilégiée *S. aureus, S. epidermidis* et *S. saprophyticus,* les autres sont rarement impliquées en pathologie humaine ***(Chaalal, 2013).***

3. L'espèce Staphylococcus aureus: agent pathogène :

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus.* C'est la première cause d'infection bactérienne à travers le monde. Les infections à *S. aureus* sont très polymorphes, et pouvent eauser des atteintes cutanées bénignes ***(Milkus et Alcon, 2004)*** comme les furoncles ou les panaris (**Figure7**), ***(Elaine et Marieb , 2003)*** des infections ORL (Otite, sinusite, phlegmon amygdalien) ;d'infections des séreuses (Arthrite, pleurésie, péritonite) des infections osseuses (Ostéomyélite, infection sur prothèse) ; et des infections viscérales (Abcès du poumon, abcès du cerveau et Pneumonie nécrosantes) (PVL) ***(Milkus et Alcon, 2004).***

Figure07. Les furoncles, panaris et anthrax ***(Elaine et Marieb , 2003).***

3.1. Facteurs de pathogénicité (virulence) :

Pratiquement toutes les souches de *Staphylococcus aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence potentiels qui contribuent à la pathogénicité du germe **(Figure.8),** en produisant des enzymes et des cytotoxines qui permettent en particulier de convertir les tissus locaux de l'hôte en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne ***(Todar, 2005).***

Il s'agit différents produits extracellulaires peuvent être des facteurs de pathogénicit (**Tabeau. 04).**

Tableu 04. Facteurs de pathogénicité (virulence).

Coagulase	Coagule le plasma et favorise donc l'isolement de l'infection dans un cocon protecteur.
Hyaluronidase	Hydrolyse l'acide hyaluronique des tissus conjonctifs.
Phosphatase	Hydrolyse les différentes molécules phosphatées cellulaires.
Gélatinase	Hydrolyse les collagènes tissulaires.
Hémolysine α	Détruit les cellules probablement en "perçant" par un mécanisme inconnu la membrane (DL50 40 µg par kg de souris).
Leucocidine	Tue les granulocytes et les macrophages par fixation sur la membrane (souches provoquant des furoncles ou des pneumonies).
« Entérotoxines » (immunotoxines)	Responsable des empoisonnements alimentaires probablement par un mécanisme de "super-antigènes Elles sont thermorésistantes (à 100°C).
TSST1	Toxine de choc *staphylococcique* de même nature que les entérotoxines et pouvant provoquer un grave choc superantigénique
Exfoliatine	Dissocie la couche granulaire de l'épithélium. Elle est responsable de lésions bulleuses. Le mécanisme d'action est superantigénique d'une part, et activateur probable d'une protéase clivant les desmosomes reliant les cellules granuleuses de l'épiderme
Protéine A	Provoque la fixation des IgG par le fragment Fc et isole donc les *Staphylocoques* de l'action du site anticorps, est cytotoxique, et déclenche la réaction inflammatoire.
Récepteur au fibrinogène (Coagulase liée ou "clumping factor")	Favorise la fixation des bactéries sur les caillots ou sur les tissus recouverts de fibrinogène.

(Noël, 2006).

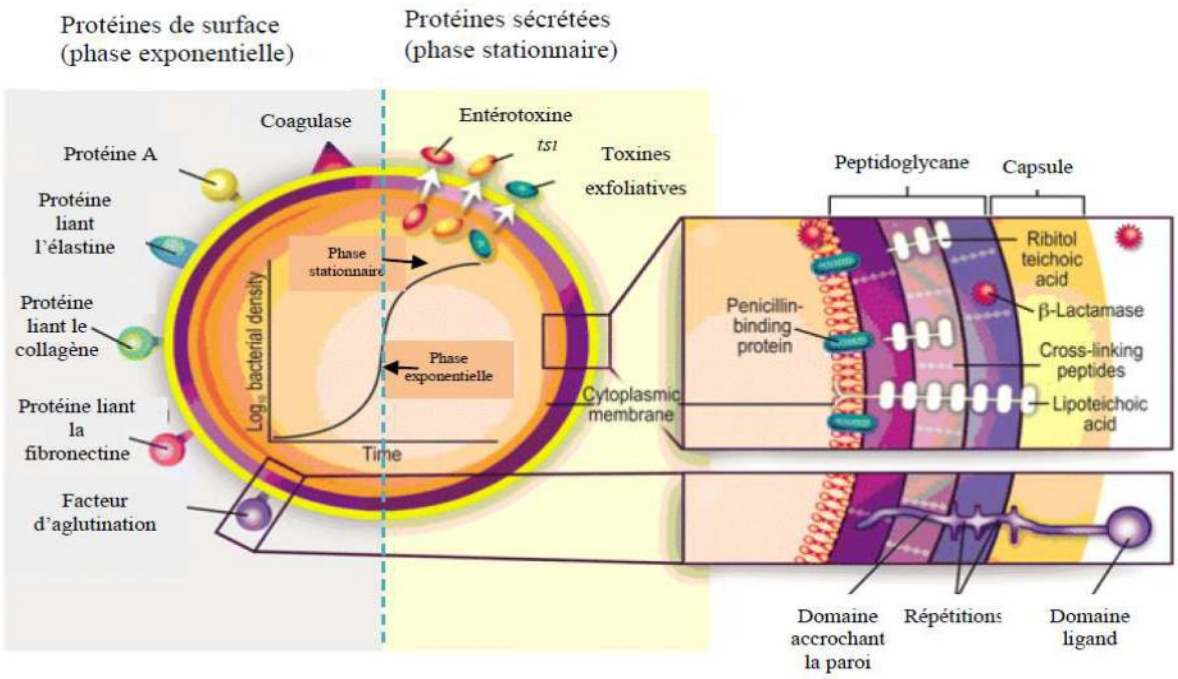

Figure 8. Facteurs de virulence de *S. aureus* ***(Gordon et al., 2008).***

3.2. Causes favorisant l'infection :

Différentes causes favorisent l'infection *Staphylococcique* :

- ✓ Ruptures cutanées (blessures, interventions chirurgicales, brulures, dermatoses) ;
- ✓ Corps étrangers (poussières et gravillons dans une plaie, points de suture, cathéters, prothèses) ;
- ✓ Une infection virale préalable (grippe et rougeole en particulier) ;
- ✓ L'usage préalable d'une antibiothérapie pour laquelle le Staphylococcus est résistant ;
- ✓ les déficits leucocytaires quantitatifs (leucopénie) ou qualitatifs (comme la granulomatose familiale) ;
- ✓ Les déficits dans l'immunité humorale (Anticorps) ;
- ✓ Diverses pathologies : diabète, artériosclérose, éthylisme, insuffisance rénale ***(Noël, 2006).***

4. Génétique de *S. aureus* :

4.1. Génome :

Le génome de *S. aureus* a été séquencé pour 6 souches de *S. aureus*. Il s'agit d'un chromosome circulaire qui comprend 2,82 x 106 à 2,9 x 106 Pb. Le contenu en GC est de 33%,

84% du génome est codant et entre 2592 et 2748 gènes ont été identifiés. *S. aureus* contient en général un plasmide de 20 000 à 25 000 Pb contenant une trentaine de gènes ***(Chaalal, 2013).***

5. Résistance aux antibiotiques des *S. aureus* :

La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle, il ne cesse d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine.

L'histoire des résistances bactériennes commence avec l'utilisation des sulfamides dans les années 30 ***(Chaalal , 2013).***

Au début, il s'agissait surtout d'infections à *staphylocoques* qui répondaient à la pénicilline. Peu après, les *staphylocoques* résistants à la méticilline apparurent et leur fréquence augmenta de 2% en 1957 à 14% en 1987 et à plus de 40/%en 1999. En 1997 apparut un *S. aureus* une résistance intermédiaire à la vancomycine et le-- Centre for Desease control -- pence que l'arrivée d'infections à *S. aureus* résistant au glycopeptides est inévitable. A la fin des annés 1950 et au début des années 1960, S*taphylococcus aureus* devient un organisme pathogène nosocomial (acquis à l'hôpital) entrainent une morbidité et une mortalité considérable. Depuis lors, des pénicillines semi-synthétiques, résistantes à la pénicilline, se sont avérées être des agents antimicrobiens efficaces dans le traitement d'infections *Staphylococciques*. Malheureusement, des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA) sont apparues récemment, elles créent un problème nosocomial majeur. Un moyen par lequel les *Staphylocoques* deviennent résistants est l'acuisition d'un gène chromosomique (mecA) qui encode une cible protéique alternative qui n'est pas inactivée par la méthiciline. La plupart des souches sont résistantes à plusieurs des agents antimicrobiens à plusieurs des agents antimicrobiens à noyau β-lactame, y compris la dernière génération de céfalosporine. Des infections graves par des souches résistantes à la méthiciline ont été le plus souvent traitées avec succès à l'aide d'un antibiotique plus ancien, potentiellement toxique, la vancomycine cependant, des souches *d'Enterococcus e*t de *Staphylococcus* sont devenues récemment résistantes à la vancomycine ***(Prescott et al ., 2007).***

Chapitre 3 : Les infections uro-génitales chez la femme

Chapitre III : Les infections uro-génitales chez la femme

1. Historique :

La première description a été faite par *Alfred Donne* lors de la séance du 19 septembre 1836 à l 'académie des sciences : « A propos d'animalcules observés dans les matières purulentes et le produit de sécrétion des organes génitaux de l'homme et de la femme ».

En 1884, *Kunstler* à *bordeaux* observe une très grande abondance, le flagellé chez presque toutes les femmes examinées en clinique gynécologique. En 1913, *Brumpt* et *Sabate* à Paris le découvrent chez les femmes apparemment saines qui consultent en clinique d'accouchement.

Dans une même année de nombreux auteurs d'horizons divers comme *Marchand* à *Marburg, Miura* à *Tokyo* et *Dock d'ann. Artor* d'écrivent la présence de *Stapylococcus aureus* dans les voies uro-génitales masculines.

En 1942, *Jiovec* et coll. à *Prague*, rencontrent le parasite chez 32% des femmes ayant des troubles génitaux divers, seulement chez 14,3% des femmes apparemment saines et n'en trouvent pas chez 55 filles vierges.

En 1935, utilisant un milieu pauvre en albumine, *Westphal* réussit à conserver une culture vivante pendant 7 mois et demi.

De leur côté, *Harkness, Durel* et *Siboulet* arrivent à la conception de L'infection uro-génitale en tant que maladie vénérienne.

En 1955, *Chapaz* peut affirmer devant l'académie de Médecine que l'infection uro-génitale est actuellement la maladie vénérienne la plus répandue.

En 1957, la société française de gynécologie réunissait à Reims dans un symposium international non seulement des gynécologues, des urologues, des vénérologues, mais aussi des Epizootistes, des Gastro-entérologues. Ces spécialités des disciplines différentes ont confirmé l'importance sociale des infections uro-génitale, la nécessite de rechercher et de traiter les partenaires et d'étudier cette infestation en tant que maladie vénérienne ***(Oumar, 2009).***

2. Les infections urinaires :

De nombreuses maladies humaines sont dues à l'action d'agents pathogènes microscopiques qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. Ces germes sont d'origine bactérienne, virale ou mycosique, qui cause des maladies infectieuses.

Parmi ces infections on distingue l'infection urinaire qui représente la deuxième pathologie infectieuse après celle des voies respiratoires ***(Perino et al., 2012).***

Les infections urinaires communautaires sont le deuxième motif de consultation et de prescription d'antibiotiques au cabinet du médecin et dans les services d'urgences. L'infection urinaire est définie comme une colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et symptomatique avec inflammation des structures de l'arbre urinaire ***(Bernard et Claude, 2007).***

2.1. La flore microbienne normale du corps humain :

Le corps humain contient normalement des milliers d'espèces bactériennes ainsi qu'un plus petit nombre de virus, de champignons et de protozoaires. Ce sont, pour la plupart, des commensaux, ce qui signifie qu'ils vivent en parfaire harmonie avec l'homme sans causer de dommages.

Ils ne sont pas tous présents en permanence dans l'organisme, mais ils sont très nombreux, à chaque individu correspond un spectre particulier d'espèces et de souches.

L'objectif de tous organismes vivant, y compris les micro-organismes, est de croitre, de prospérer, et de se reproduire. Le micro-organisme qui a le plus de chance de survivre, est celui qui peut se diviser rapidement et efficacement. Il faut noter que parmi les facteurs qui lui permettent de se développer, sa « pathogénicité » et sa « virulence » n'interviennent pas. En fait, les pathogènes les plus virulents, ceux qui tuent leur hôte, peuvent être les moins bien adaptés pour survivre.

Aussi, avant d'explorer le monde des pathogènes (les « inadaptés »), allons-nous nous intéresser aux hôtes normaux. Il faut toutefois noter que même les plus adaptés d'entre eux peuvent s'avérer pathogènes s'ils en ont l'opportunité ***(Spil F, 2005).***

2.2. Généralité :

2.2.1. Définition :

L'urine est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, elle est secrétée par les reins par filtration du sang, qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire ***(Zerari et Kouadio, 2014).***

2.2.2. Caractères physicochimiques de l'urine :

L'urine d'un sujet sain présente plusieurs paramètres :

• Volume : 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grandes chaleurs ou de divers exercices corporels.

• Couleur : jaune ambrée liée aux pigments qu'elle contient tels l'urochrome et l'uroerythrine.

• Limpidité : l'urine normale fraichement émise renferme toujours des cellules épithéliales, du mucus de sédiment, et constitue le dépôt floconneux. Les leucocytes qu'elle contient peuvent également de façon légère diminuer sa clarté.

• Odeur : légère, cependant des bactéries peuvent transformer l'urée en carbonate d'ammonium (cas de cystite) et donner une odeur ammoniacale.

• Poids : déterminé à l'aide d'un pycnomètre l'urine recueillie 24h pèse environ 1,020 kg ***(Lavigne, 2007).***

2.2.3. La différence entre urine normal et contaminé :

Le Tableau 05 suivant représente une comparaison de certains paramètres des composants urinaires normaux et contaminés.

2.3. Appareil urinaire :

2.3.1. Définition :

Le système urinaire contribue à l'homéostasie en stabilisant la composition, le pH et le volume du sang, en agissant sur la pression artérielle, en maintenant l'osmolarité sanguine, en éliminant les déchets et les substances étrangères et, enfin, en produisant des hormones**,(Figure.9) (Michel et Louise ,2007).**

Tableau 05. Caractères généraux de l'urine saine et d'une urine contaminée.

Caractères	Etat normal	Etat anormal	
		Diminution	**Augmentation**
Volume	20 ml/kg de poids corporel, soit 1300 à 1 500 ml par 24h.	<500 ml constitue l'oligurie : s'observe dans toutes les maladies infectieuses.	> 2 000 ml constitue la polyurie : tous les diabètes (sucrés, rénaux, et insipides ainsi que dans les néphrites interstitielles).
Couleur	Jaune citron plus ou moins foncé	Jaune paille ou incolore : néphrite Interstitielle chronique.	Brun acajou dans le cas d'un ictère, rouge sanglant dans l'hématurie.
Odeur	Peu prononcée.	/	Odeur de pomme au cours de l'acétonurie.
Ph	5 à 8	S'abaisse (acidité augmentée) chez les diabétiques.	Augmente (acidité diminuée) dans les insuffisances rénales.

(Domart et Bournef,1989)

2.3.2. Composition de l'appareil urinaire :

2.3.2.1. Reins :

Les reins sont situés dans la région lombaire de part et d'autre de la colonne vertébrale. Ils sont plaqués contre la paroi abdominale postérieure. Les reins ont une fonction d'épuration et de régulation du milieu intérieur permettent de maintenir l'équilibre intérieur de l'organisme (entrées et sorties de l'eau, des électrolytes, potassium, sodium, chlore, bicarbonates…), de l'azote ; qui est apporté sous forme de protéines par l'alimentation et éliminé sous forme d'urée, de créatinine et d'acide urique). Elle permet aussi d'éliminer de multiples autres substances, toxiques ou médicamenteuses par exemple ***(Lasnier et al. ,1984).***

Chez l'adulte, le rien normale mesure de 10 à 12 cm de long, de 5 à 7 cm de large et 3 cm d'épaisseur-il a donc à peu près la taille d'un pain de savon, et sa masse de 135 à 150 g ***(Ait Milouk ; 2011).***

2.3.2.2. Uretères :

Les uretères transportent l'urine vers la vessie. Ce sont des conduits longs de 22 à 25cm et très fins, avec un diamètre de 3 mm. Ils partent de chaque rein et descendent en oblique vers la vessie. La contraiction des muscles de leur paroi assure la progression de l'urine ***(Lasnier et al.,1984).***

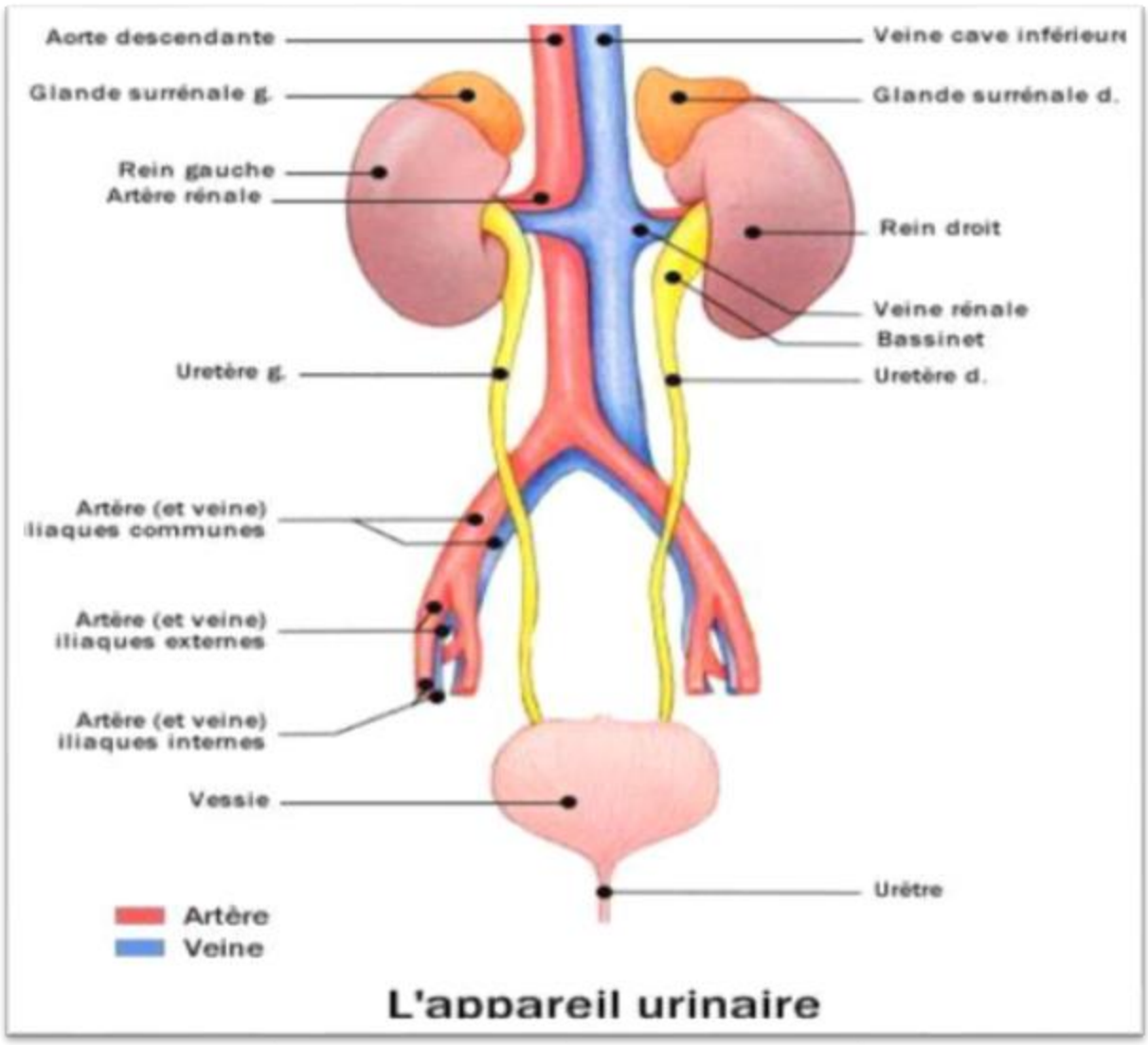

Figure 09 . Anatomie de l'appareil urinaire (www.futura-sciences.com/sante).

2.3.2.3. Vessie :

La vessie stocke l'urine. C'est un réservoir musculo-membraneux, extensible. Sa contenance est variable, 300 ml en moyenne. Elle est fermée par un sphincter, un muscle en forme d'anneau qui commande l'ouverture et la fermeture de la vessie. Par ailleurs le besoin d'urine se nomme miction ***(Lasnier et al .,1984).***

2.3.2.4. Urètre :

L'urètre évacue l'urine vers l'extérieur. C'est un canal de longueur variable selon le sexe. Chez l'homme, il mesure environ 16cm de long. A sa partie inférieure il se confond avec les voies génitales. Chez la femme, il mesure seulement 3 cm. Il descend verticalement en avant du vagin. Les voies génitales et urinaires sont totalement séparées ***(Lasnier et al. ,1984).***

2.4. Epidémiologie :

2.4.1. Infections urinaires :

2.4.2. Définition :

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

L'infection urinaire se caractérise par une multiplication de microorganismes au sein de l'arbre urinaire (bactériurie) s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (leucocyturie). Cette infection est majoritairement féminine, le risque d'infection est moindre chez le sexe masculin ***(Banacors, 2007).***

2.4.3. Facteurs de risques des infections urinaires :

Il existe plusieurs facteurs de risque qui jouent un rôle important dans la cause des infections urinaire ***(Anglaret et Mortier, 2003).***

Les facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence de l'infection urinaire sont multiples avec l'augmentation avec l'âge des troubles de la motricité vésicale (effet des médicaments, alitement...), la déshydratation, le défaut d'hygiène et la baisse des défenses immunitaires. Globalement, l'appareil urinaire est pauvre en cellules immunocompétentes ; le contrôle de l'infection est surtout assuré par des moyens physico-chimiques ***(Gonthier, 2000).***

2.4.4. Pourquoi les femmes sont-elles plus vulnérables aux infections urinaires que les hommes?

Les femmes sont plus vulnérables aux infections urinaires que les hommes parce que l'urètre de la femme est plus court que celui de l'homme et que les bactéries ont moins de distance à parcourir pour atteindre la vessie.

Chez les femmes, l'urètre est situé près de l'anus. Les bactéries de l'anus et du rectum peuvent facilement remonter jusqu'à l'urètre et causer des infections. Après une selle, le mouvement qui consiste à s'essuyer de l'arrière vers l'avant peut transporter des bactéries de l'anus vers l'urètre.

Les femmes enceintes semblent plus sujettes aux infections rénales. La grossesse rend la femme plus fragile à l'infection parce que le fait de porter le bébé applique une pression sur les uretères et que la grossesse comporte des changements hormonaux ***(Christiane ; 1997).***

2.4.5. Signes possibles d'infection urinaire :

- ✓ Sensations de brûlure en urinant ;
- ✓ Impression d'avoir besoin d'uriner plus souvent ;
- ✓ Besoin urgent d'uriner sans en être capable ;
- ✓ Pertes d'urine ;
- ✓ Urine trouble, foncée, malodorante, contenant du sang ;
- ✓ Sensation de pression au bas-ventre **(Christiane, 1997*).***

2.4.6. Types d'infections urinaires :

On distingue trois types d'infections urinaires, selon la localisation de l'infection :

2.4.6.1. La cystite :

Touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales, Tout ce qui gêne la vidange de la vessie augmente le risque de cystite. La cystite s'accompagne normalement d'une urétrite, l'inflammation de l'urètre.

2.4.6.2. L'urétrite :

Si l'infection touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire), on l'appelle urétrite. Il s'agit d'une infection transmissible sexuellement (ITS), les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite.

2.4.6.3. La pyélonéphrite :

La pyélonéphrite est un état plus grave. Elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein. Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée ***(Luce, 2012).***

2.5. Examens complémentaires urinaires

2.5.1. Test rapide indirect qualitatif par bandelette urinaire (stick) :

C'est l'examen de premier choix. On y recherche la présence de leucocytes, nitrites et/ou de globules rouges, La mise en évidence du leucocyte estérase reflète l'activité des polynucléaires dans les urines et détecte la leucocyturie. Le test a une sensibilité de 75-96% et une spécificité de 94-98% comparé au sédiment urinaire quantitatif.

2.5.2. Sédiment urinaire :

Examen semi-quantitatif au microscope pratiqué sur des urines prélevées à mi-jet et centrifugées pendant 5 minutes. Permet d'identifier en particulier des éléments morphologiques spécifiques au parenchyme rénal.

2.5.3. Culture d'urine :

Doit se faire par un prélèvement des urines à mi-jet après avoir nettoyé soigneusement la région (savon et eau) et avoir observé un délai d'au moins 2 heures depuis la dernière miction. L'urine peut être cultivée sur Uricult qui détecte une bactériurie de >103 germes/ml et permet de distinguer les bactéries Gram+ des Gram- ***(Mordduf ; 2007)***

3. Les infections génitales :

On distingue deux grands types d'infection : les *infections génitales* hautes, qui sont essentiellement des salpingites et endométrites, et les *infections génitales basses* qui sont surtout représentées par les vulvo-vaginites ***(Gachot et al., 2004).***

Les germes en cause peuvent être sexuellement transmis : maladies sexuellement transmissibles ou banaux *(staphylococcus aureus)*. Ils comprennent des agents microbiens, mycosiques, parasitaires ou viraux ***(Pierre, 2005).***

3.1. Vaginites : Généralités

3.1.1. Le vagin :

Le vagin est le tube fibromusculaire de 10 cm de long tapissé d'une muqueuse ***(Tortora et Derrickson, 2007)***. Le vagin est l'organe de la copulation chez la femme. C'est un tractus tubulaire qui relie l'utérus à l'extérieur du corps. Il joue un rôle capital dans la statique des viscères pelviens, en effet il est solidaire de ces viscères et maintenu par des structures très variées. Le vagin est sensible aux incitations œstrogéniques, il est utilisé en gynécologie comme voie d'accès permettant l'exploration des organes génitaux (col de l'utérus, utérus et les annexes) et des organes pelviens (vessie et rectum) ; les techniques d'exploration sont multiples : vision directe à l'aide du spéculum, prélèvements du vagin et du col utérin, colposcopie, hystéroscopie exploratrice, et constitue en outre une voie d'abord chirurgicale (**figure.10)** ***(Dous , 2014).***

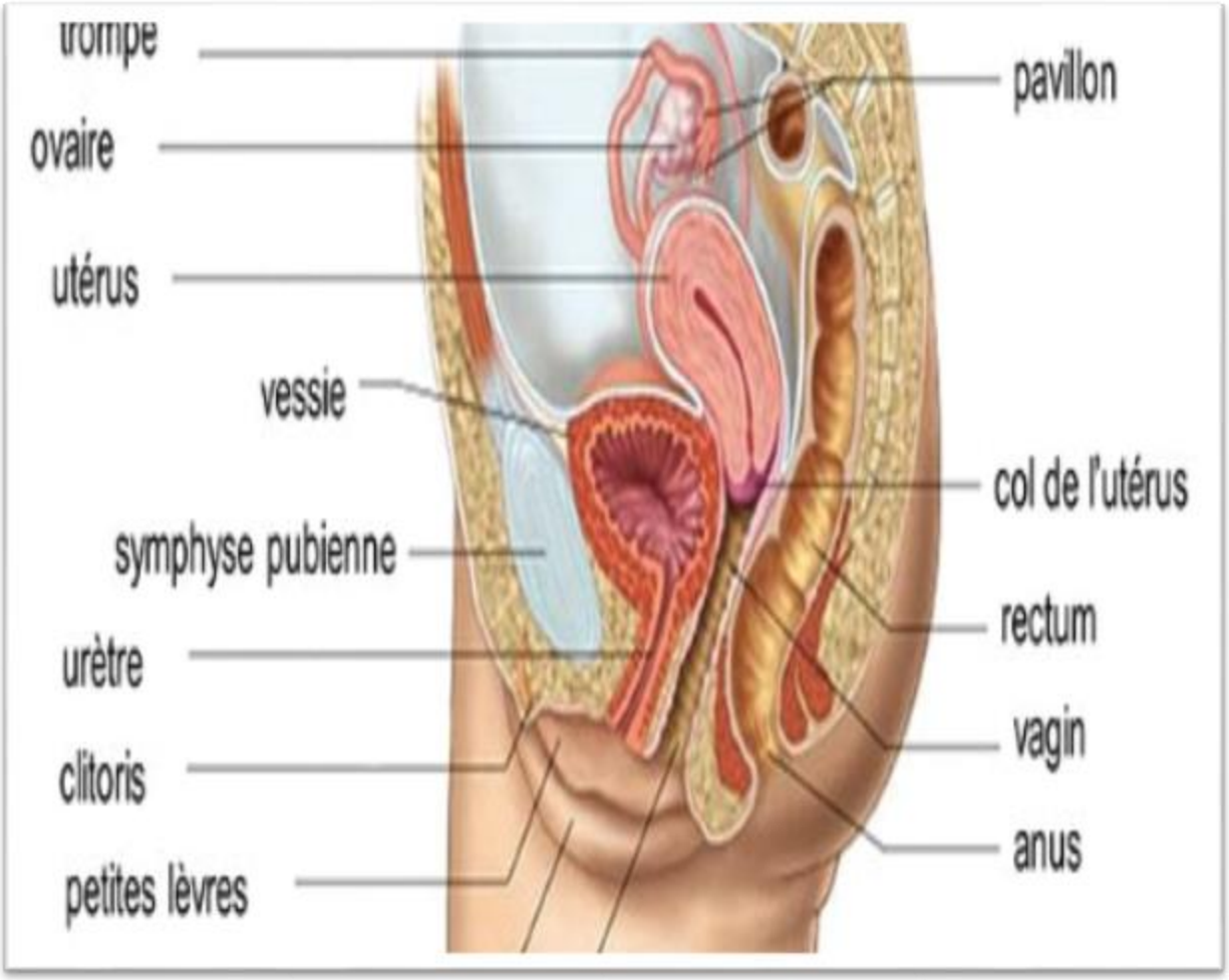

Figure 10. Appareil génital féminin https://coupemenstruelle.net/.

3.2. Les infections vaginales :

3.2.1. Définition :

Les infections vaginales sont une cause fréquente de détresse et d'inconfort chez les femmes. Les infections vaginales sont souvent associées à la vaginite, une inflammation (enflure et irritation) du vagin, caractérisée par des pertes et / ou du prurit (démangeaisons). La cause de la vaginite ne peut pas être déterminée uniquement en se basant sur les symptômes ou l'examen physique. Les symptômes peuvent aussi masquer une infection transmise sexuellement. De plus, des infections mixtes ou multiples sont également possibles. Ainsi, des tests de laboratoire permettant une évaluation des sécrétions vaginales à l'aide d'un microscope sont nécessaires pour obtenir un diagnostic précis ***(Daméhan, 2012).***

3.2.2. Écosystème vaginal :

Le vagin est un écosystème dynamique où chaque femme possède 8 à 10 germes en équilibre. La flore dominante est le bacille de Döderlein: lactobacille tapissant la muqueuse vaginale. Il transforme le glycogène abondamment contenu dans les cellules vaginales et cervicales grâce à l'imprégnation oestrogénique en acide lactique. Cet acide lactique explique le potentiel Hydrogène acide du vagin qui est un facteur protecteur de la pullulation microbienne (**Figure.11**).

Cette flore vaginale évolue selon :

· **L'âge :** moins de bacille de Döderlein avant la puberté et après la ménopause

· **Le cycle :** les aérobies diminuent avant et après les règles ;

· **La contraception :** en cas de stérilet, on constate une augmentation des anaérobies et du bacteroides

Cette flore aéro-anaérobie équilibrée s'oppose à l'adhérence et à la colonisation des germes pathogènes dans le vagin ***(Chaine et Janier , 2009).***

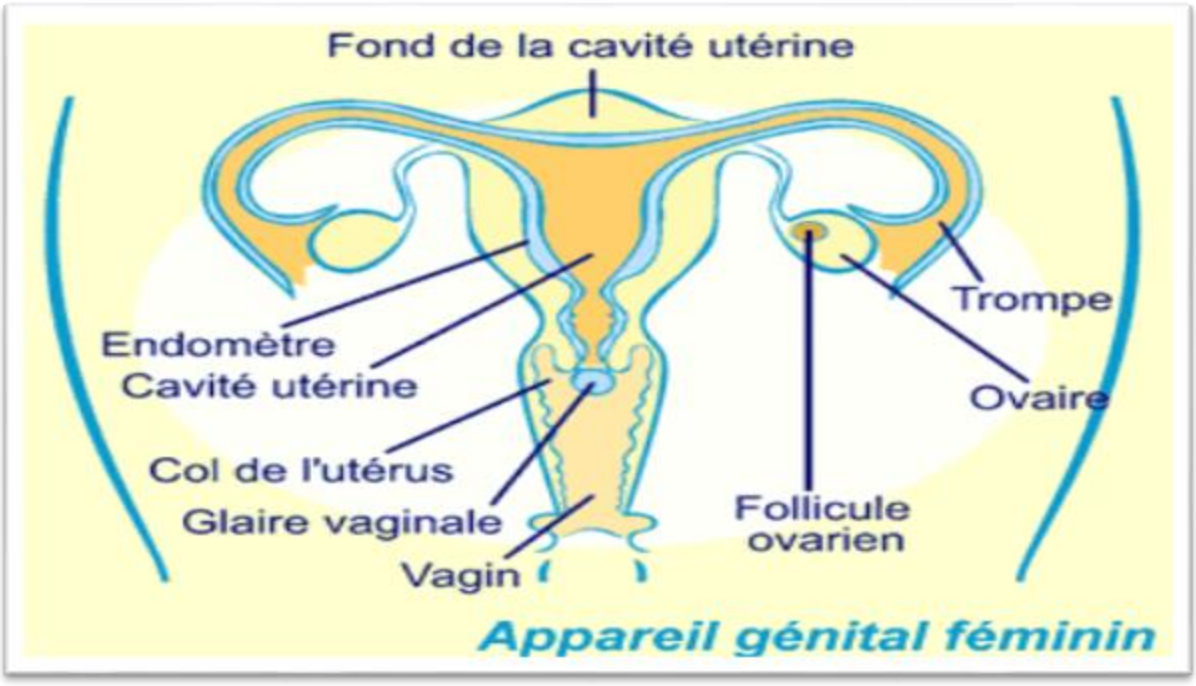

Figure 11: Anatomie fonctionnelle de l'appareil génital féminin.

(https://docteur-benchimol.com)

3.3. Diagnostiquer une infection génitale de la femme :

3.3.1. Les différents types d'infection génitales chez La femme :

3.3.1.1. Infections génitales hautes chez la femme (pelvic Inflammatory Disease –Pid) :

Les infections génitales hautes (IGH) ou « pelvic inflammatory disease – PID » incluent l'endométrite, la salpingite, l'abcès tubo-ovarien et la péritonite pelvienne. Les IGH englobent les infections touchant l'utérus, les trompes de Fallope, les ovaires, les surfaces péritonéales ou les structures contiguës. Elles sont souvent une complication d'infections transmises sexuellement (ITS), bien qu'elles puissent aussi être secondaires à une procédure médicale ou à une grossesse.

3.3.1.2. Symptomatologie/ Diagnostic :

Les symptômes peuvent varier largement entre les patientes et certaines femmes peuvent même être asymptomatiques. Les signes et symptômes associés aux IGH ne sont pas spécifiques. Le tableau suivant, adapté des lignes directrices canadiennes, résume les critères diagnostiques ***(Marie, 2009)***

3.3.2. Diagnostiquer une infection génitale basse :

3.3.2.1. L'infection est souvent peu symptomatique, révélée par une complication (infection haute) :

Les manifestations évocatrices des infections génitales sont :

- Leucorrhées ;
- Prurit vulvaire ;
- Brulures vaginales ;
- Dyspareunie ;
- Dysurie-pollakiurie.

Pas de fièvre, sauf si complications (infection haute).

3.3.2.2. L'aspect de l'écoulement est parfois évocateur d'une étiologie précise :

- Jaunatres et abondantes ;
- Sanguinolentes ;
- Verdatres, malodorantes ;
- Blachaitre, mousseuses, malodorantes.

3.3.2.3. L'examen au spéculum : inflammation vaginale et de l'endocol :

3.3.2.3. Prélèvement microbiologique impératif à la recherche de pyogènes et de C.trachomatis :

- la sérologie chlamydia n'a pas d'intérêt diagnostique ***(Pilly ,2008)***

3.4. Différencier infection génitale haute et basse :

Devant des leucorrhées pathologiques, les deux symptômes fortement évocateurs du diagnostic d'endométrite ou de salpingite sont la fièvre et les douleurs abdominopelviennes ***(Gachot et al. , 2004).***

3.5. Leucorrhées :

3.5.1. Les leucorrhées physiologiques proviennent :

1. De la desquamation vaginale, responsable de leucorrhée laiteuse, peu abondante, opalescente, augmentant en période prémenstruelle ;

2. De la glaire cervicale secrétée par les cellules cylindriques de l'endocol qui augmente du 8e au 15e jour du cycle, translucide, cristallisant en feuille de fougère. Chez les patientes porteuses d'un ectropion les secrétions cervicales sont majorées par contact des cellules cylindriques avec l'acidité vaginale.

Ces secrétions physiologiques n'engendrent aucune irritation, ne sentent pas mauvais et ne contiennent pas de polynucléaires. Toutefois leur abondance peut parfois être source de gêne pour la patiente et justifier la prise en charge thérapeutique de l'ectropion retrouvé et présumé responsable.

Par ailleurs, le comportement compulsif d'hygiène intime excessive avec savons détergents voire injections intravaginales quotidiennes devant ces secrétions physiologiques peut entraîner une destruction de l'écosystème vaginal et favoriser la survenue d'infections génitales basses souvent chroniques ***(Doridot et Audibert, 1998)***

Il existe deux types de leucorrhées

- les leucorrhées physiologiques: Sans odeur, sans symptomatologie fonctionnelle, sans traitement
- les leucorrhées pathologiques (d'origine infectieuse) ***(Labaune, 2011).***

3.6. Conduite de l'examen d'une femme consultant pour des leucorrhées anormales :

3.6.1. Interrogatoire :

Il renseigne sur :

- **Les caractéristiques de l'écoulement :**
  - La couleur, l'abondance, l'odeur (une mauvaise odeur oriente vers une vaginose bactérienne).
  - L'importance du caractère récent de cet écoulement.
- **Les signes fonctionnels d'accompagnement :**
  - Le prurit oriente vers une mycose, la brûlure vers un Trichomonas ou un germe banal.
  - Les métrorragies associées et/ou les douleurs pelviennes orientent vers une infection génitale haute (IGH) ou une pathologie cervicale.
- **Les circonstances de survenue :**

- Après un traitement antibiotique (mycose).
- Lors d'une grossesse (physiologique, mycose).
- Port d'un stérilet (vaginose bactérienne, IGH).
- Terrain favorisant (diabète, corticothérapie, immunodépression).
- Notion d'IST, changement récent de partenaire.

- les signes éventuels chez le partenaire (rougeur, brûlure, écoulement, irritation)

3.6.2. Examen clinique :

L'inspection de la région vulvaire, vestibulaire et périnéale permettra de révéler éventuelle présence d'une inflammation vulvaire, des lésions de grattage, des vésicules ou des ulcérations ***(viraben , 2006)***.

Matériels et méthodes

1. Objectifs:

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits des plantes ayant des vertus thérapeutiques dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques. Ces effets antibactériens nous ont conduits à poser les questions suivantes :

- Est-ce que l'utilisation des extraits de certaines plantes médicinales autochtones récoltées dans certaines régions du pays peut avoir un effet antimicrobien à l'égard de certains germes responsables d'infections urogénitales ?
- Ces extraits peuvent-ils- être préconisés comme moyen thérapeutique en substitution aux traitements préventifs et curatifs conventionnels dont l'usage fréquent semble atténuer de leurs efficacités ?

Pour cela, nous nous somme proposé d'essayer de connaître le comportement *in vitro* du principal l'un des germe responsable des maladies urogénitales à savoir (*Staphylococcus aureus*) vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels 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 dont la *Menthe poivrée (Mentha piperita).*

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 plantes par usage de solvants à polarités croissantes dont: Hexane, Méthanol, Ethanol et Eau.

2. Suivre les effets antimicrobiens des extraits aux solvants à différentes polarités de la plantes sur le germe spécifiques de références *(S.aureus)* reconnues comme étant les plus responsables d'infections urogénitales chez l'Homme.

2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal :

Les parties aériennes des médicinale (*Menthe povrée*) objets de l'étude ont été prélevées au stade de floraison de deux régions du pays en l'occurrence Naama et Mostaganem dont les conditions

climatiques, édaphiques et écologiques différentes peuvent sans doute faire varier la composition en principes composés bioactifs des plantes.

2.1. Région de Mostaganem :

La wilaya de Mostaganem est située sur le littoral Ouest du pays, elle dispose d'une façade maritime de 124 km. Le Chef lieu de la wilaya est située à 365 km à l'Ouest de la capitale, Alger **(Figure .12).**

La wilaya de Mostaganem est limitée:

- A l'Est par les Wilayas de Chlef et Relizane ;
- Au Sud par les Wilayas de Mascara et Relizane ;
- A l'Ouest par les Wilayas d'Oran et Mascara ;
- Au Nord par la Mer Méditerranée ***(Andi, 2013).***

Figure 12. Région de Mostaganem **(https://www.viamichelin.fr).**

2.1.1. Climat de Mostaganem :

Le climat de Mostaganem se caractérise par un climat semi aride en hiver tempéré et une pluviométrie qui varie entre 350 mm sur le plateau et 400 mm sur les piémonts du Dahra ***(Toudert ; 2000).***

2.2. Région de Naama :

La wilaya de Nâama est issue de découpage administratif institué par la loi 84-09 du Avril 1984. Elle se situe entre l'Atlas tellien et l'Atlas saharien. La wilaya fait partie de la région des hauts plateaux Ouest, telle que définie par le Schéma National d'Aménagement du Territoire (SNAT). Elle se trouve intégralement incluse dans le périmètre du programme impliqué par l'option "HAUTS PLATEAUX" **(Figure.13).**

Naâma, wilaya frontalière avec le royaume du Maroc, est limitée:

- Au Nord par les wilayas de Tlemcen et Sidi-Bel-Abbès ;
- A l'Est par la wilaya d'El bayadh ;
- Au Sud par la wilaya de Béchar ;
- A l'Ouest par la frontière Algéro-marocaine.

La wilaya s'étend sur une superficie de 29.514,14 Km² ***(Andi, 2013).***

Figure 13. Région de Naama ***(TAD, 2003).***

2.2.1. Climat *:*

D'une manière générale, l'année climatique de la wilaya est divisée en deux grandes saisons; une saison froide et relativement humide qui s'étend de Novembre à Avril et une saison chaude et sèche allant de Mai à Octobre ***(Benaradj, 2009).***

3. Matériel végétal :

Un échantillon de 2 à 3 kg de matière végétale pris uniquement sur la partie aérienne de la *Menthe poivrée* étudiée a été récolté d'une manière aléatoire dans chaque région expérimentale. La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier aluminium, puis séchée à l'air ambiant. Les échantillons séchés ont été enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité **(Figure.14).**

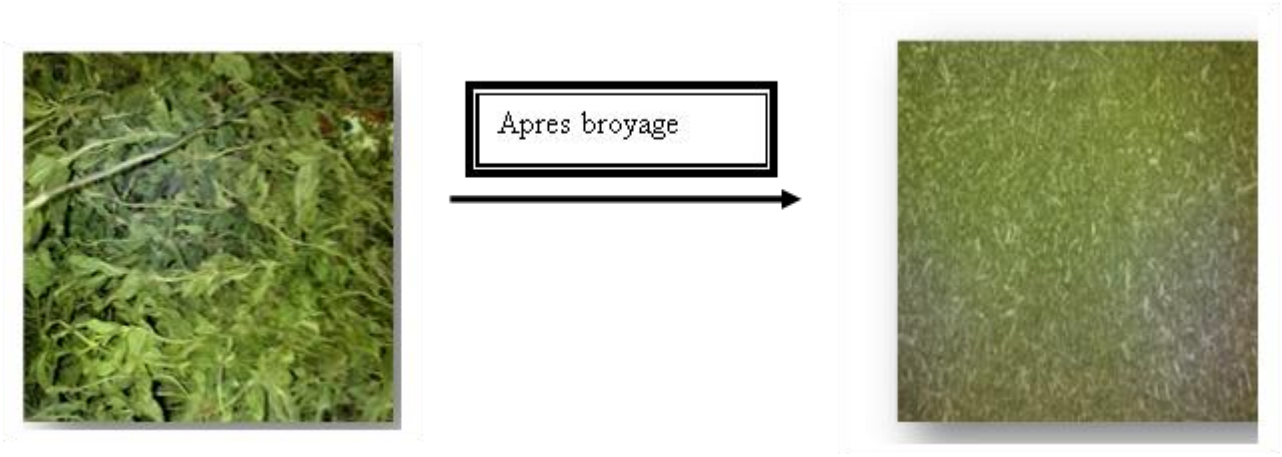

Figure14. Le matériel végétal.

4. Extraction des composés bioactifs aux solvants à différentes polarités :

Selon ***Almas et Al-Bagieh (1999)*** et ***Almas (2001)***, les extraits à l'eau arrivent à agir en général sur la croissance de certaines bactéries appartenant au genre *Streptococcus* à des taux d'extractions de 5g/100ml de matière végétale de *Kikar (Acacia arabica*) provenant du Pakistan et de l'Arak (*Salvadora persica*) d'Arabie Saoudite.

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans les plantes testées 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.

L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage de plusieurs solvants à polarité croissante (Hexane, méthanol, éthanol et eau). Elle a été effectuée séparément pour chaque solvant d'extraction sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v), **(Figure.15).**

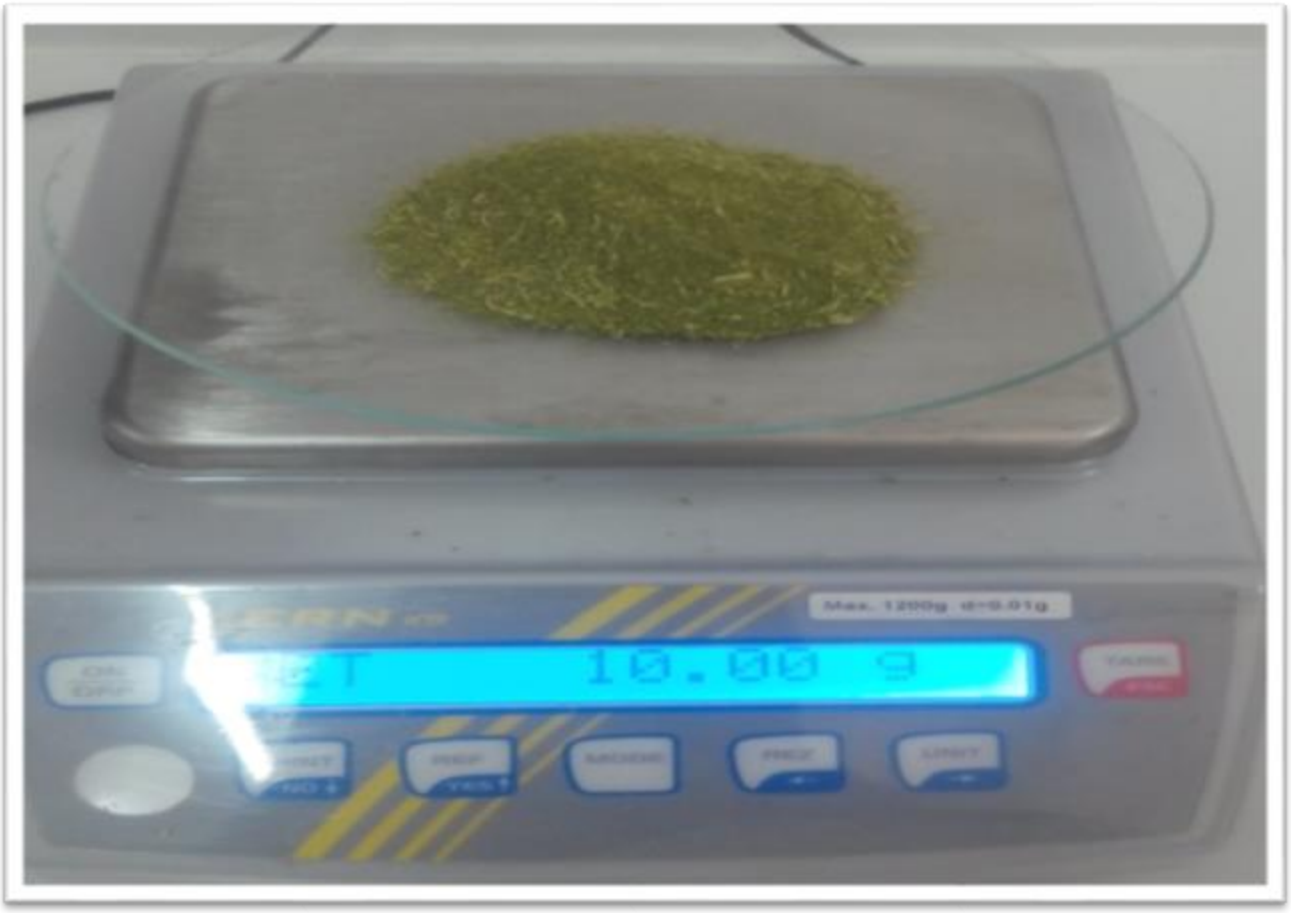

Figure15: d'échantillons de 10 g.

L'extraction par macération à froid de chaque mélange a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

Les extraits à l'hexane, à l'eau et hydro alcooliques obtenus ont été filtrées en utilisant un papier filtre Whatman N°5 ayant une porosité de 0,6µm et débarrassés des solvants par évaporation sous vide à 45 °C.

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés ont été enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement, (**Figure 16 et 17).**

0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement, (**Figure 16 et 17).**

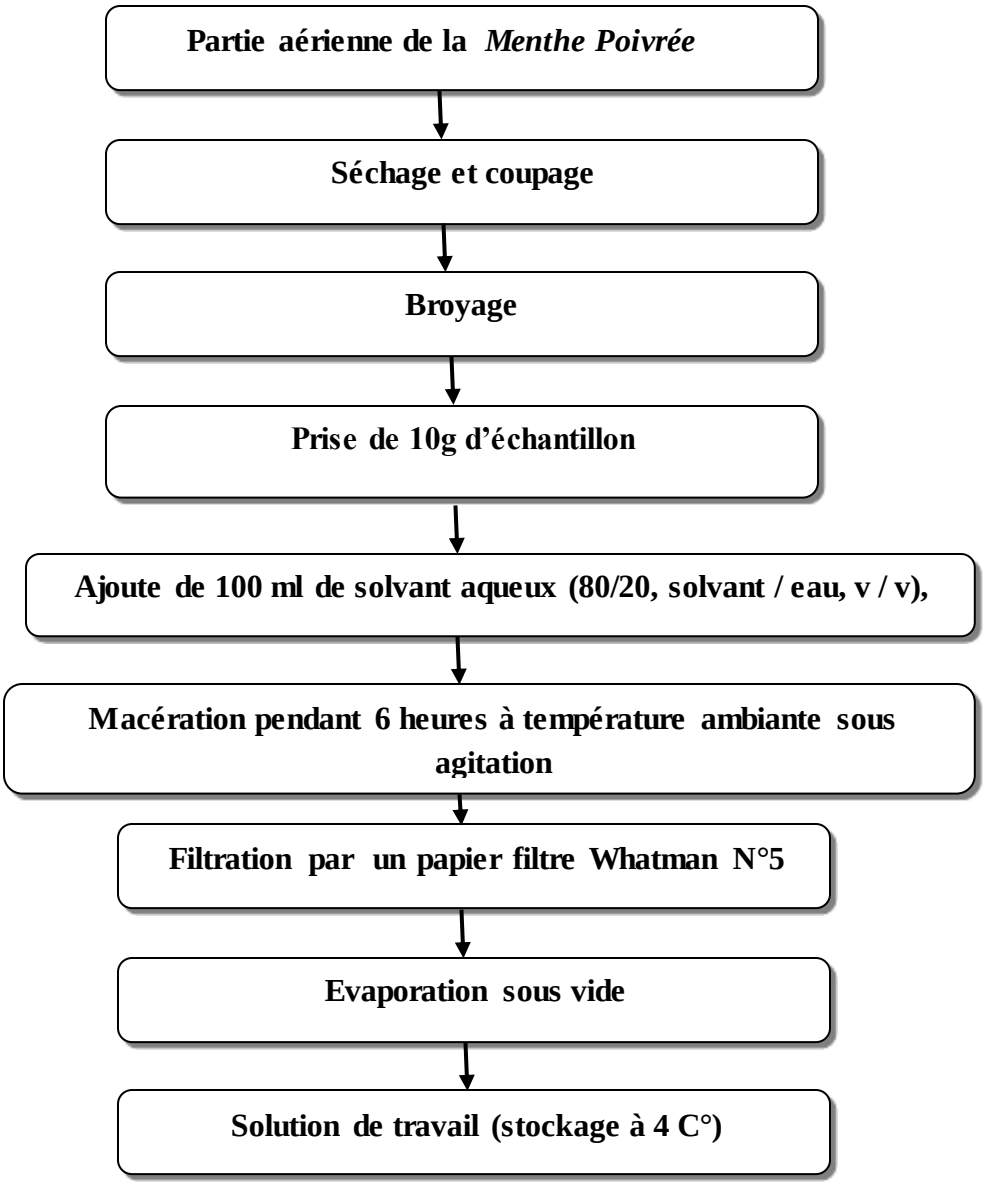

Figure 16. Protocole d'extraction.

Figure 17. Macération des échantillons.

4.1. Evaporation sous vide par l'Evaporateur rotatif :

Les quatre solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rota vapeur (**Figure .18**) Qui permet d'éliminer le solvant sous vide.

Le principe du rota vapeur est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant (***Rihane et Benlahreche, 2013***) :

1-Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation ;

2- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation ;

3- Ouvrir le robinet d'eau froide relier au réfrigérant ;

4- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau ;

5- Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude ;

6- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ;

7- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif ;

8- Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.

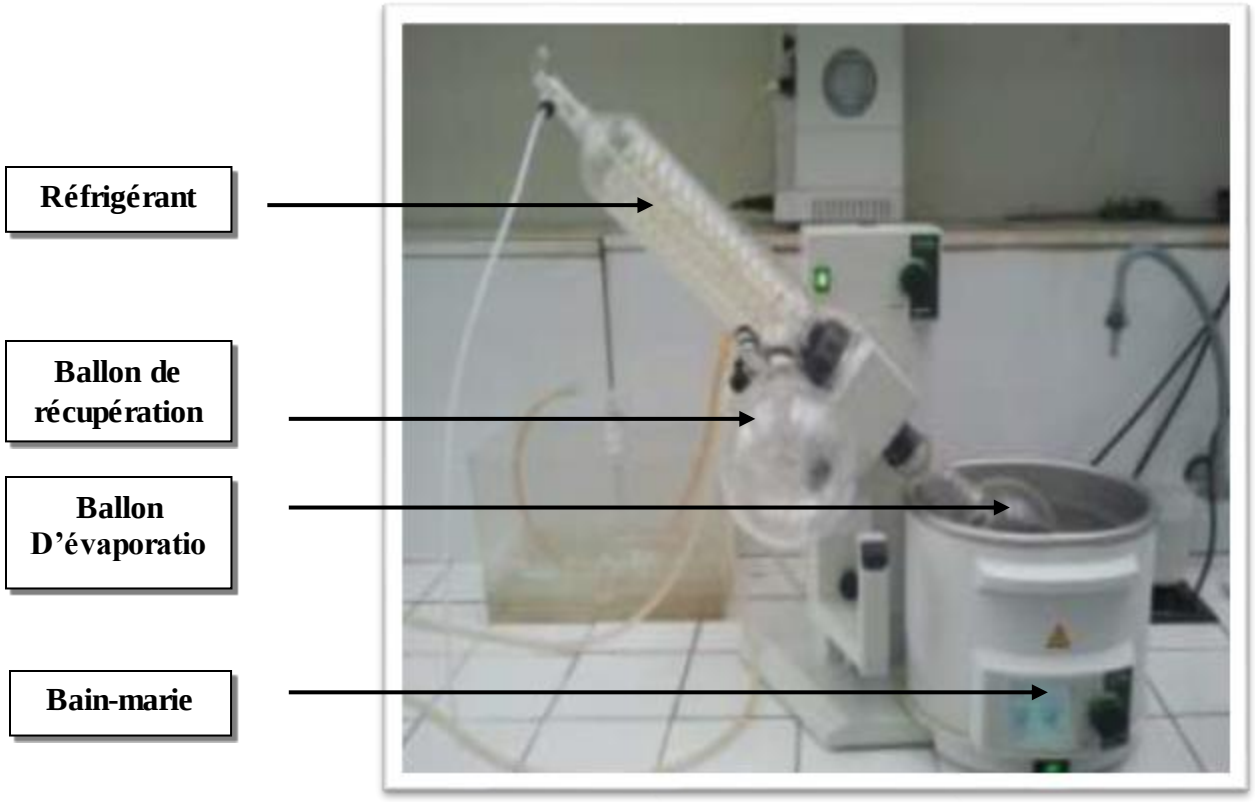

Figure 18. Evaporateur rotatif.

5. Etude des effets antimicrobiens des extraits de menthe :

5.1- Activation des inocula microbiens :

L'étude concerne la souche pure de référence connue comme étant la plus responsable des infections urogénitales à savoir *Staphylococcus aureus (*ATCC33862*).* L'espèce bactérienne a été tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale.

Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C est au préalable ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution constituant l'inoculum a été pris pour être ensemencée en surface d'une boite de Petri contenant un milieu spécifique gélosé de croissance pour chaque espèce microbienne (Chapman) puis le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures, **(Figure.19).**

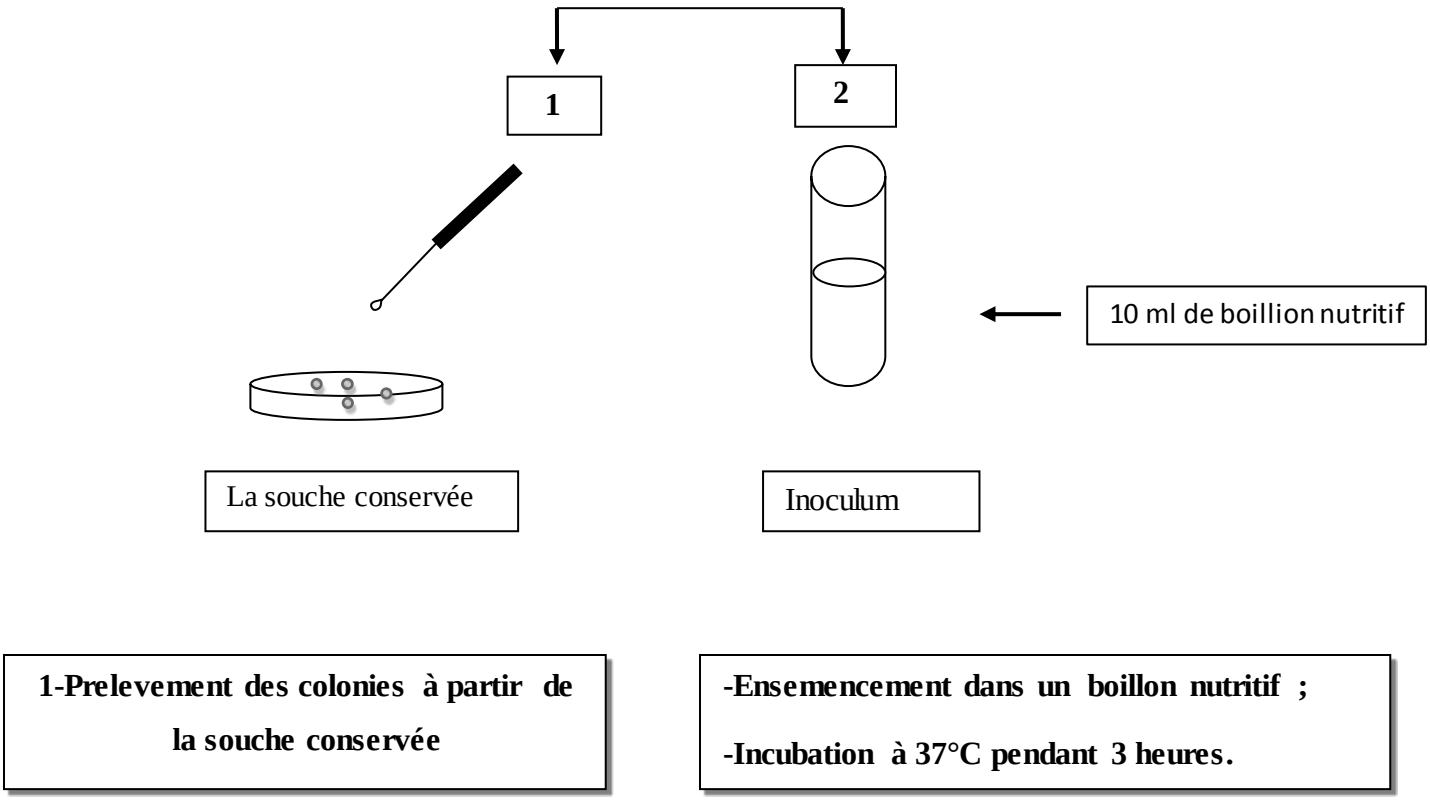

Figure 19. Activation de la souche *Staphylococcus aureus.*

5.2. Méthode de contact direct (*Bourgeois et Leveau, 1980):*

Une colonie issue d'une culture jeune de l'espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, elle a ét ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-5} pour le germe étudié : *Staphylococcus aureus.*

Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale seront 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%.

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés en triple essais (03 boites de Petri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance **(Figure.20).**

La lecture du nombre de colonies développé a été effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures ***(Bourgeois et Leveau, 1980)***

l'eau physiologique ont été effectuées ; allant à 10^{-5} pour le germe étudié : *Staphylococcus aureus.*

Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale seront 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%.

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés en triple essais (03 boites de Petri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance **(Figure.20).**

La lecture du nombre de colonies développé a été effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures ***(Bourgeois et Leveau, 1980)***

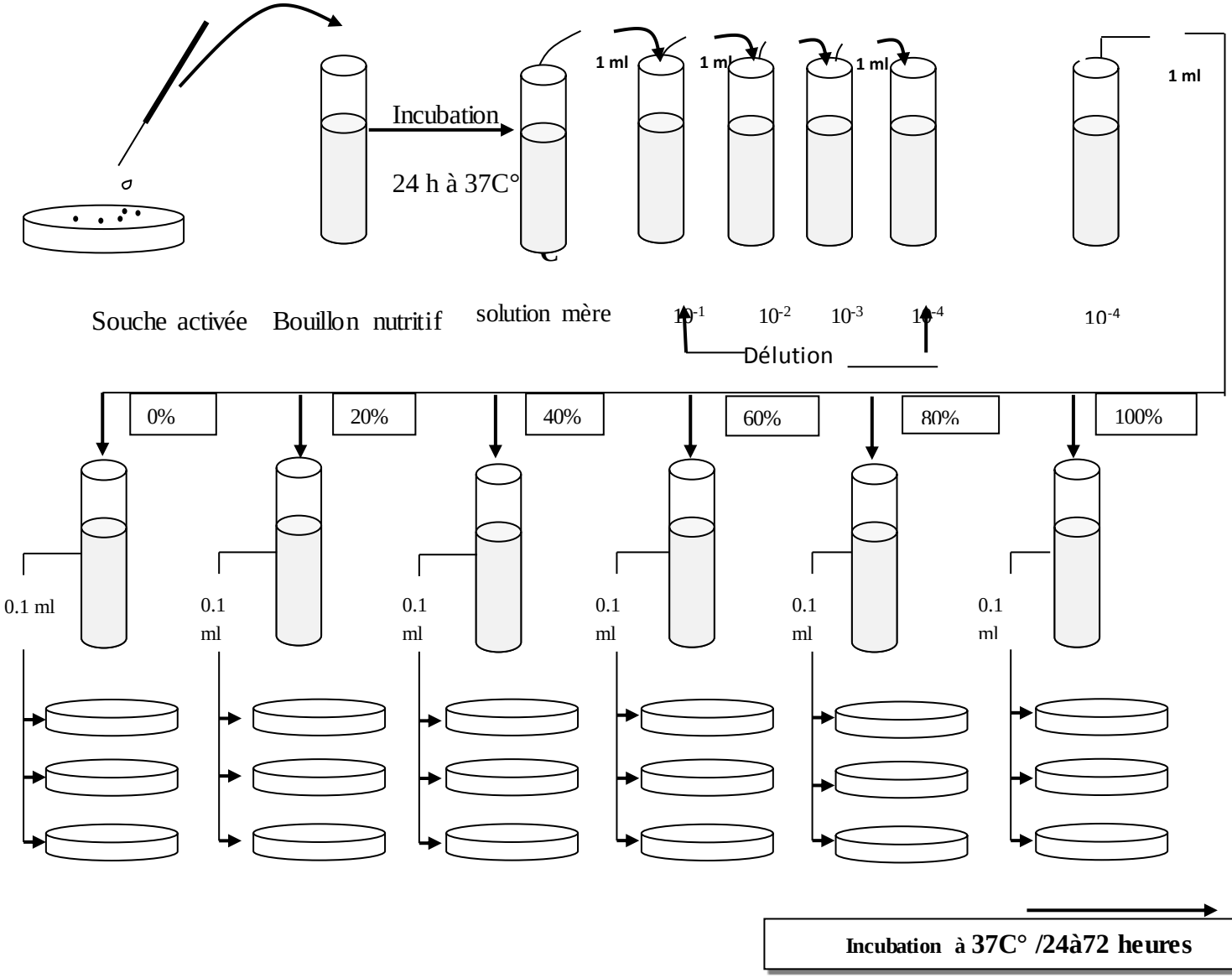

Figure 20.Méthode de contact direct

5.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman 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.

Une colonie de l'espèce bactérienne prélevée du milieu gélosé spécifique après activation a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange constitue la solution mère. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boites de Petri contenant le milieu Mueller Hinton **(Figure.21).**

Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamycine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boite de Pétri contenant le milieu gélosé Meilleur Hinton ensemencé au germe approprié ***(Prescott et al., 2003).***

La lecture des diamètres d'inhibition a été effectuée après incubation des boites de Pétri à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'un pied à colis **(Guignar, 1998)**.

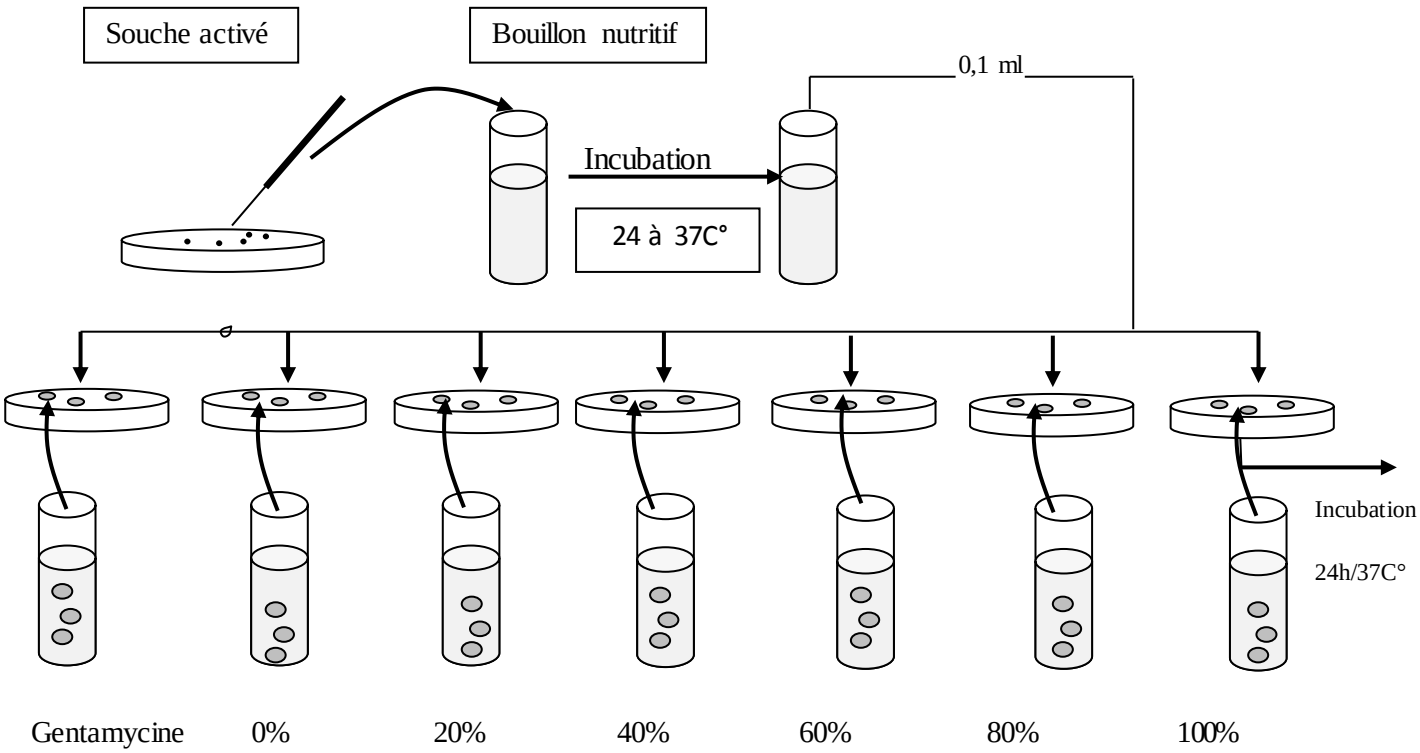

Figure 21. Méthode des disques par diffusion sur milieu de Muller Hinton.

5.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et /ou en principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme ***(Denis et al., 2011).***

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits de la matière végétale des plantes obtenus par extraction aux différents solvants qui ont été utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germes principales des infections urogénitales fréquemment rencontrées chez l'homme dont *Staphylococcus aureus*, **(Figure.22).**

Ainsi, une colonie jeune de *Staphylococcus aureus*, prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif a été incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum ont été 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 ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures ***(Moroh et al, 2008).***

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

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

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

.S : Taux de survie du microorganisme en %.

.df-di : différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures. **Df-Di :** différence de densité optique sans extraits de Menthe avant et après incubation à 37°C durant 18 heures ***(Kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007)***

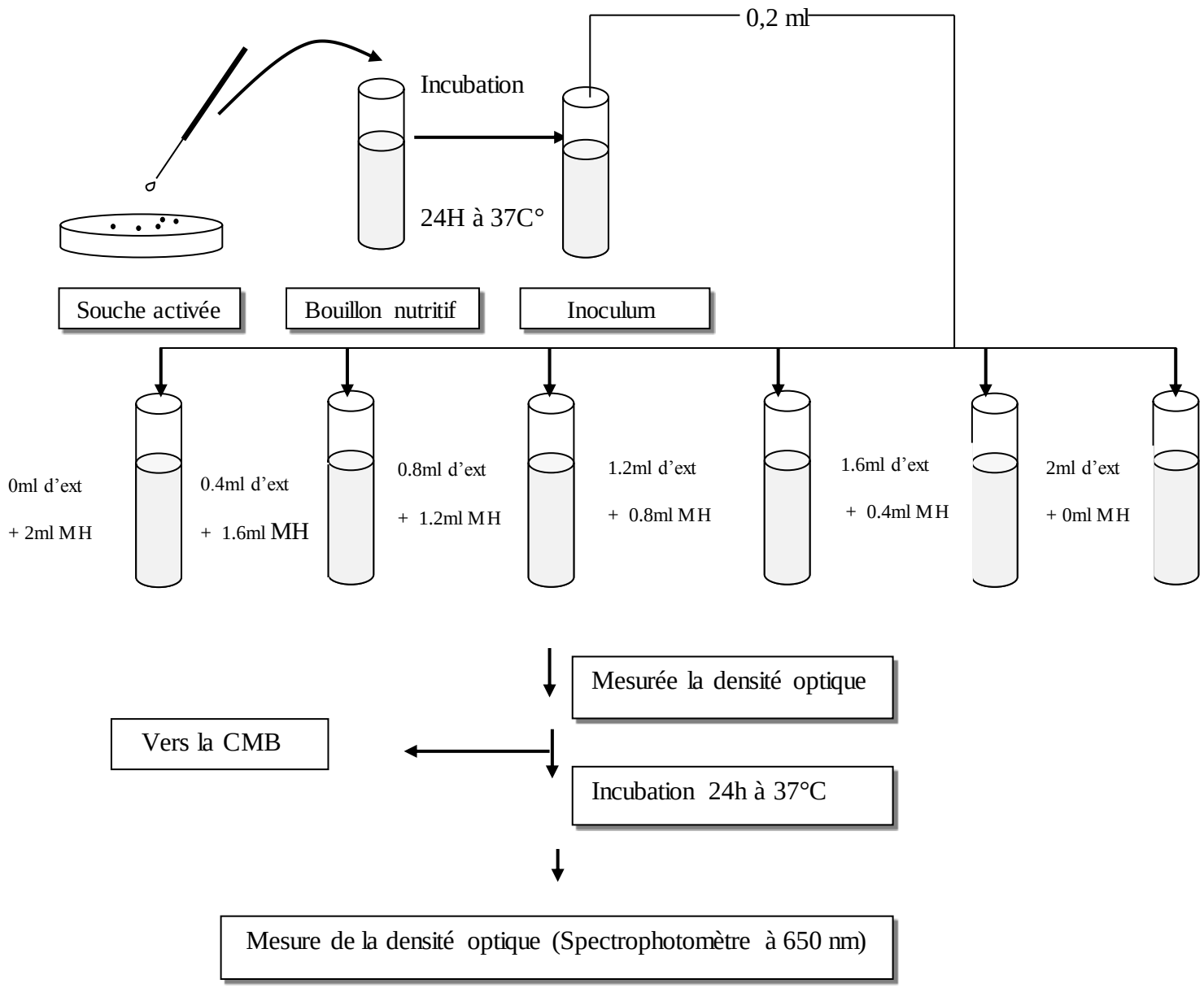

Figure 22. Concentration Minimale Inhibitrice(CMI).

5.5. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :

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) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4}. Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle a été ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de la colonie de bactérie obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque

tube expérimental contenant l'inoculum, préparé comme préalablement avant incubation pour la détermination de la CMI et également ensemencé sur le même milieu solide (Muller Hinton) de culture en strie de 5cm et suivi d'une incubation 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.23).**

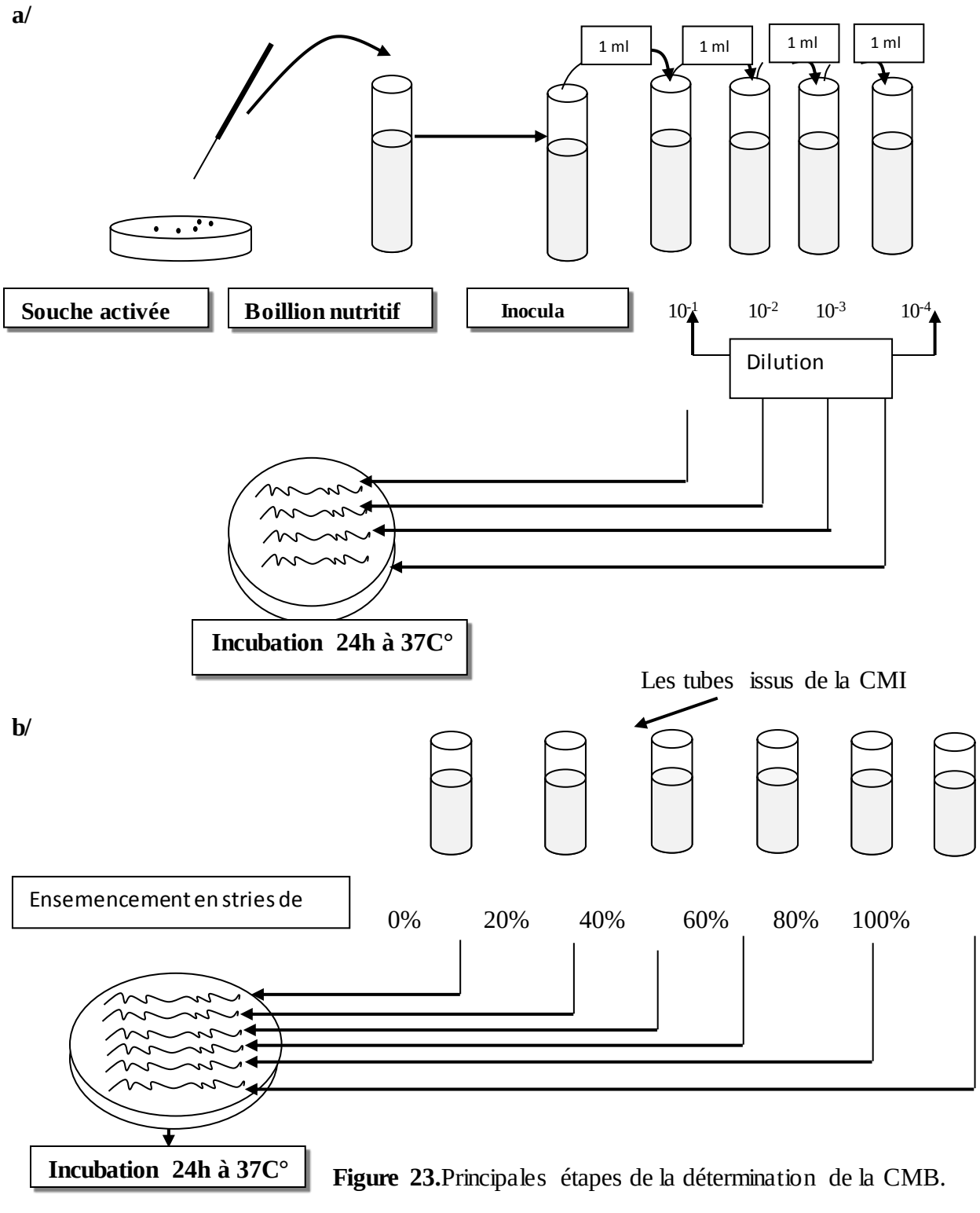

Figure 23. Principales étapes de la détermination de la CMB.

6. Traitement statistique :

Les résultats des données expérimentaux ont subi une analyse de la variance en randomisation et une comparaison des moyens deux à deux selon le test selon de Newman et Keuls en appliquent un logiciel de statistique (le stat box version 6.4).

1. Résultats :

1.1. Croissance du germe staphylococcus aureus :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de la menthe poivrée *(Mentha x peperita)* prélevée des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur la croissance de *Staphylococcus aureus sont* illustrés dans les **(Figure 24 et 25).**

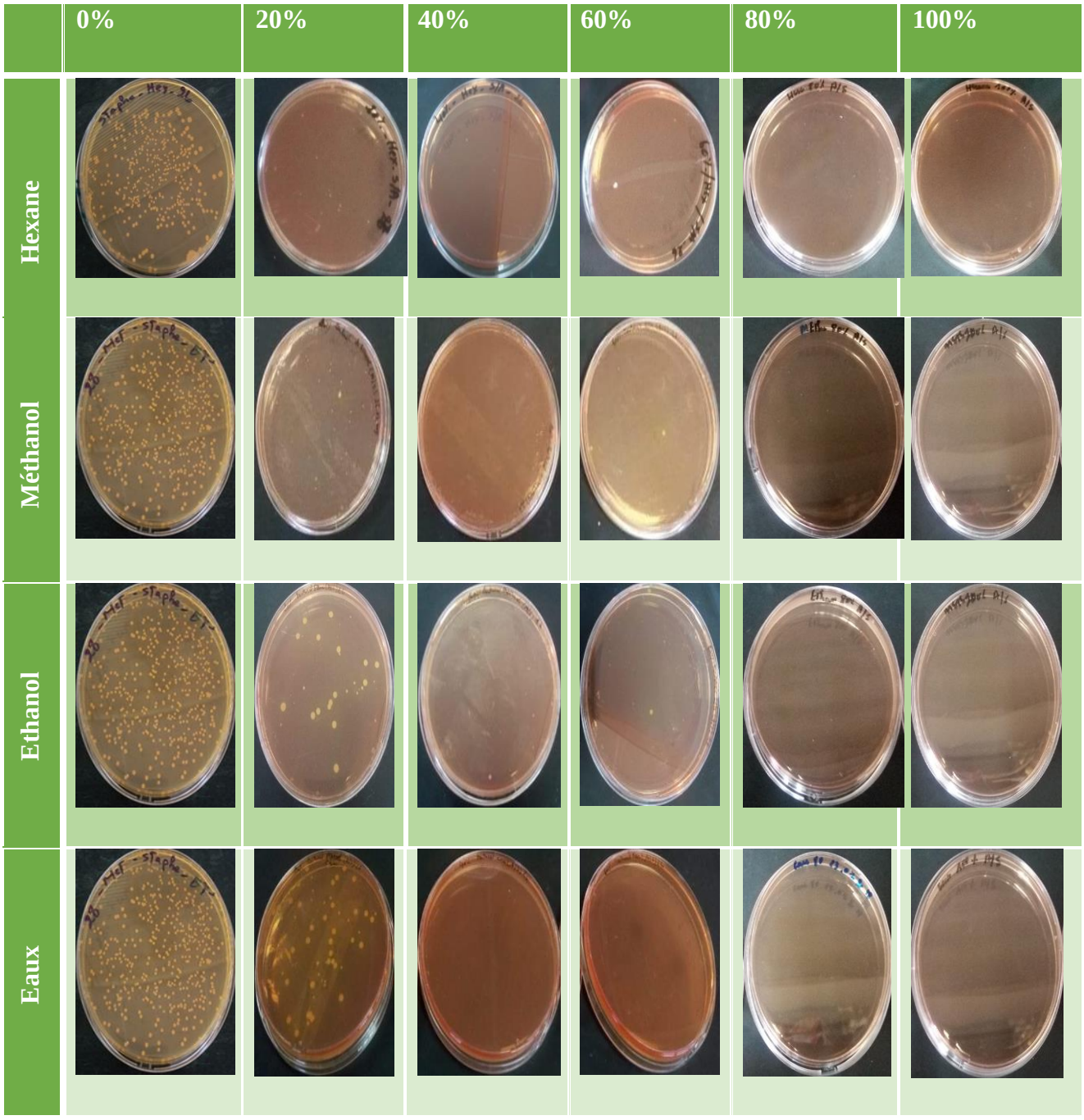

Figure 24. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de la région de Mostaganem sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

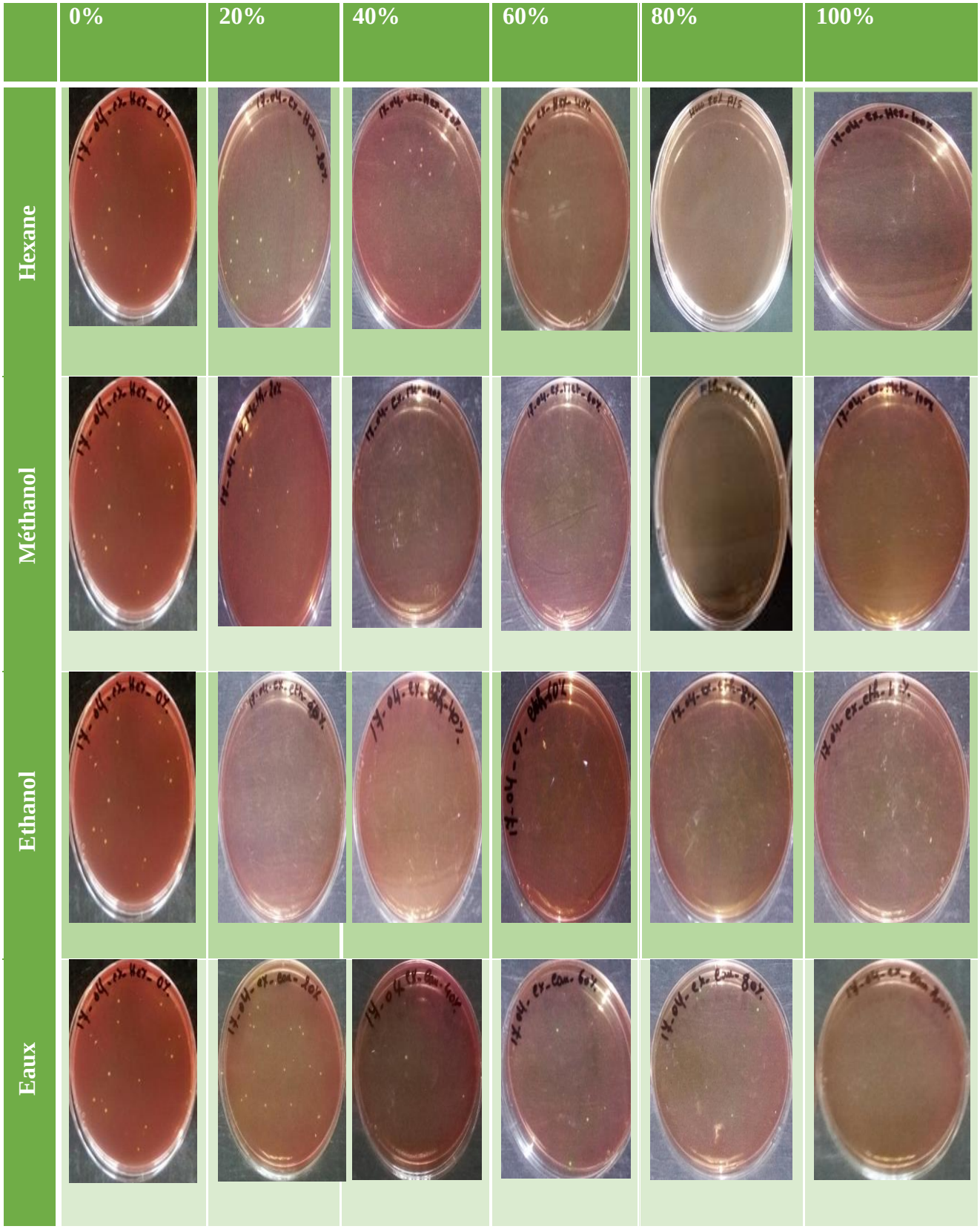

Figure 25. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée de la région de Naama sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

En fonction de la concentration des extraits de Mostaganem, la concentration du germe étudié à été totalement réduites à 80 et 100% d'extraits

Par contre, en fonctions des concentrations variables de 0 à 100% en extraits de Naama des baisses remarquables ($p<0.01$) de 13.104 à 58.10^3 Ufc/ml ont été décelées en nombre de ces germes **(Tableau.06).**

Selon la polarité des solvants, les extrais de Mostaganem semblent exercer un même effet antimicrobien chez l'espèce *S.aureus* ($p> 0.05$) ; avec des niveaux de croissance identiques et variables de 121.10^4 à 143.10^4 UFC/ml, en moyenne.

En revanche, les extrait ont révélé une plus faible croissance du germe ($p<0.01$) parraport aux extrait au méthanol et à l'eau ; 51.10^4 Vs 155.10^4 Vs 25.10^3 Vs 84.10^4 en moyenne.

1.2. Test de diffusion sur disque :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de la *Menthe poivrée (Mentha x peperita)* prélevée des deux régions de l'étude (Naama et Mostaganem) sur les diamètres d'inhibitions développes chez *Staphylococcus aureus* sont mentionnés dans les **(Figure 26 et 27).**

Les extraits à l'hexane, au méthanol et à l'éthanol de la *Menthe poivrée* prélevée de la région de Mostaganem montrent des diamètres d'inhibitions élevés par rapport à l'extrait aqueux ($p<0,01$) ; 13.44Vs 14.75 Vs 14.04 Vs 10.22mm, respectivement.

Concernant la région de Naama, les extraits à l'hexane, au méthanol et à l'éthanol ont accusé des diamètres d'inhibitions chez *Staphylococcus aureus* comparables néanmoins supérieurs ($p<0.01$) par comparaison à celui issu d'une extraction sans solvant à l'eau distillée ; 14.38, 14.16, 15.44 et 11.38 mm, respectivement.

En fonctions des concentrations en extraits variables de 20, 40, 60, 80 à 100%, les diamètres d'inhibitions ont tendance à augmenter significativement ($p<0.01$) de 5.75 à 17.12 mm et de 10.14 à 16 mm, pour respectivement les extraits de Mostaganem et de Naama.

La gentamycine a engendré les meilleurs diamètres d'inhibition chez *Staphylococcus aureus* ; 20 mm en moyenne **(Tableau.07)**.

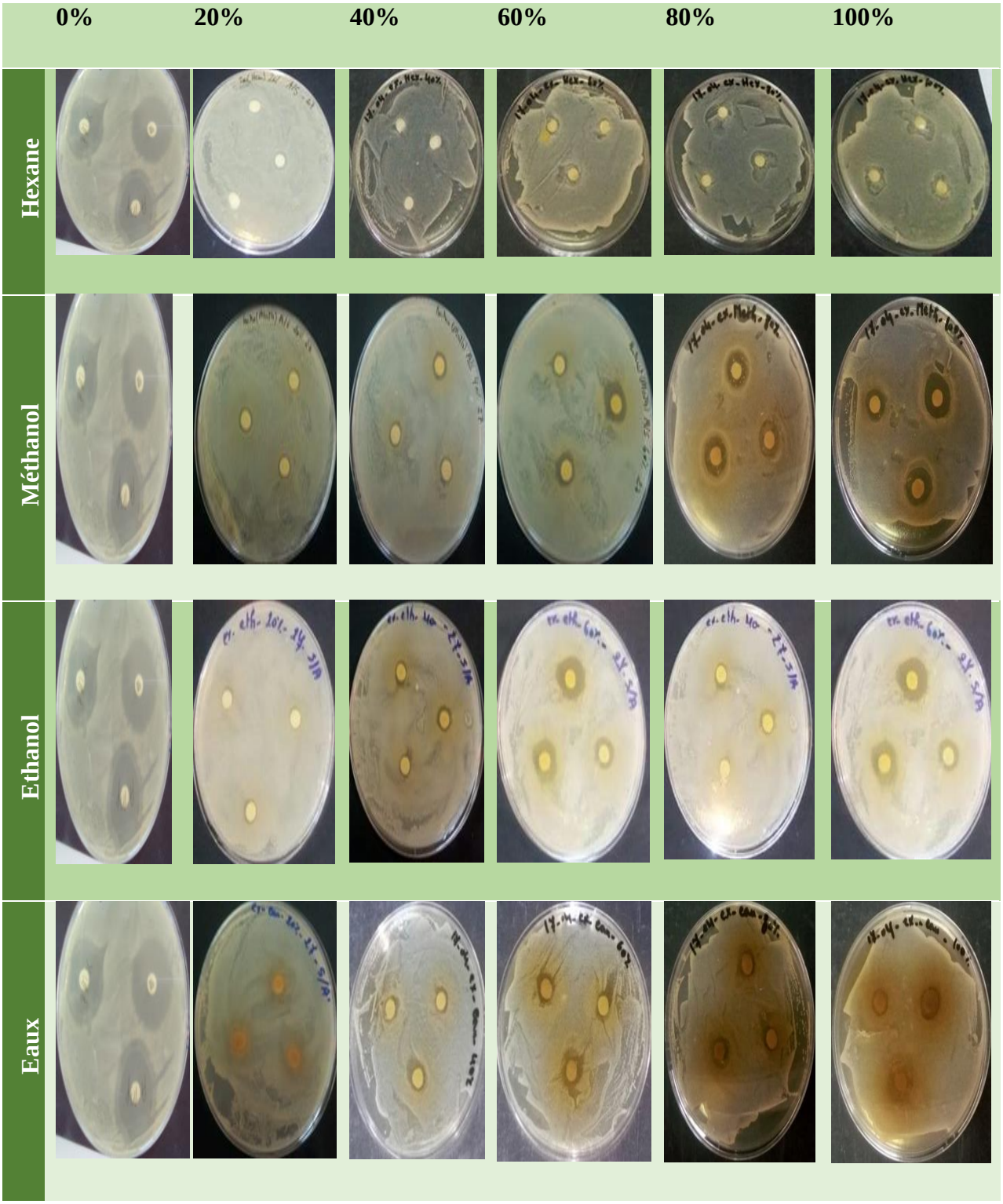

Figure 26. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée à Naama sur les diamètres d'inhibitions mm chez *Staphylococcus aureus.*

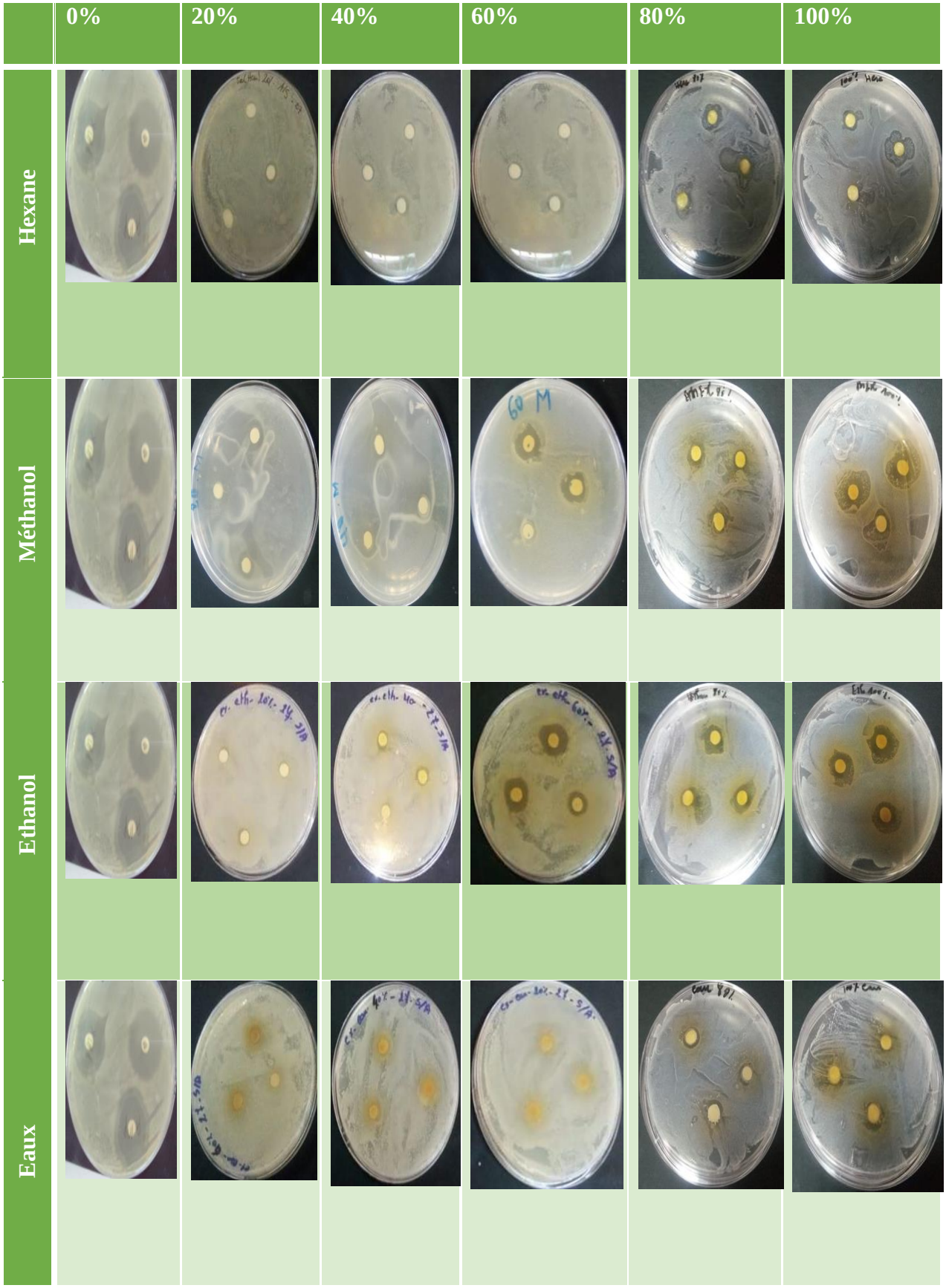

Figure 27. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée à Mostaganem sur les diamètres d'inhibitions mm chez *Staphylococcus aureus*.

1.3. Taux de croissance :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de la *Menthe poivrée (Mentha x pepirita*) collectée des régions de Mostaganem et de Naama sur les taux de croissance chez *S.aureus* sont présentés dans le **(Tableau.08)**.

Les extraits aux solvants (hexane, méthanol et éthanol) ont montré une sensible diminution de la croissance de *Staphylococcus aureus* par comparaison à l'extrait à l'eau, avec des taux de croissance de (22.14, 19.87 et de 22.584) Vs 27.7% dans les extraits de Naama et des taux de prolifération du germe variable de (29.62 à 17.03 et à 66%) Vs 56.29 dans ceux provenant de la *Menthe poivrée* collectée à Naama.

Les extraits de la plante issus de la région de Mostaganem et préparés sà 80 et 100% ont inhibé totalement la croissance du germe pathogène étudiée.

Par ailleurs, en fonctions de la concentration variable de (0, 20, 40, 60, 80, et 100%), les extraits de Naama ont induits des chutes drastiques en nombre de *S.aureus* ; de 100 à 3.88%, en moyenne.

1.4. Taux d'inhibition :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de la *Menthe poivrée* (*Mentha x pepirita*) collectée des régions Mostaganem et de Naama sur les taux d'inhibitions chez *S.aureus* sont mentionnés dans le tableau **(Tableau.09)**.

Les extraits aux solvants (hexane, méthanol et de éthanol) ont montré une sensible augmentation du taux d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par comparaison à l'extrait à l'eau ; soit des de taux (70.27, 73.75 et 70.27% Vs 27.7%) dans les extraits de Naama et des taux d'inhibition du germe variables de (71.94, 73.33 et de 76.66 Vs 56.94%) dans ceux provenant de la *Menthe poivrée* collectée à Naama.

Les extraits de plante issus de la région de Mostaganem et préparés à 80 et 100% ont donné les meilleurs résultats sur le taux d'inhibition du germe pathogène ;76.66et87.29%) en moyenne.

Concernent la *Menthe poivrée* de Naama, les extraits préparées à 20 % ont présenté un variation de taux d'inhibition de germe de 52.02%, puis les taux d'inhibitions ont été rehaussé à des taux significativement plus élevée ($p<0.01$), variant de (59.58 Vs 66.83 Vs

66.66%) pour les extraits préparés à 40, 60 et 80%, successivement, jusqu'à atteindre le taux maximal,le plus élevée ($p<0.01$) estimé à 79.16 % dans les extraits purs.

La gentamycine a enregistré toute fois le taux d'inhibition référenciel le plus élevé par comparaison aux différentes solutions l'extrait de la Menthe poivrée ($p<0.01$), 100%.

1. 5 Concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Les variations de la turbidité des germes étudiés (*Staphylococcus aureus*) après incubation à 37°C pendant 24h dans les différents extraits la *Menthe poivrée* sont représentées dans le **(Tableau.10).**

Les extraits de la Menthe poivrée de Mostaganem ont montré des CMI chez S.aureus :

- avec les extraits à l'hexane et au méthanol concentré à 80%.
- avec l'extrait éthanolique préparé à 60%
- et avec l'extrait aqueux pur.

Quant à la plante issue de la région de Naama, les CMI du germe étudié ont été observées :

- à 20% de l'extrait à l'hexane
- avec les extraits purs, au méthanol et à l'eau.
- et avec l'extrait éthanolique dilué à 80%.

1.6. Effets des extraits de la Menthe poivrée prélevée des régions de Mostaganem et Naama su la CMB :

Les figures(28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35) représentent d'une parte (à droite des figures) le nombre de germe de *S. aureus* développée après 24h d'incubation à 37°C des différentes dilutions décimales de l'inoculom de *S. aureus* allant de 10^{-1} ;10^{-2} ;10^{-3} ;10^{-4}, et d'autre part (sur la gauche) les différentes solutions de l'extraits phénoliques de la *Menthe poivrée* préparés à 20 ;40 ;60 ;80 et 100% ensemencées au germe et ayant servi à la détermination de la CMI après 24H ;d'incubation à 37°C.

1.6.1. Les CMB des extraits de Mostaganem :

1.6.1. a-Extrait à l'hexane :

La confrontation des résultats montre que le premier tube ou le nombre de germes après culture est proche à la dilution10^{-4} après 24 heures d'incubation est celle prépare à 80% d'extrait; cette dilution représente donc la concentration minimale bactéricide **(Figure.28)**.

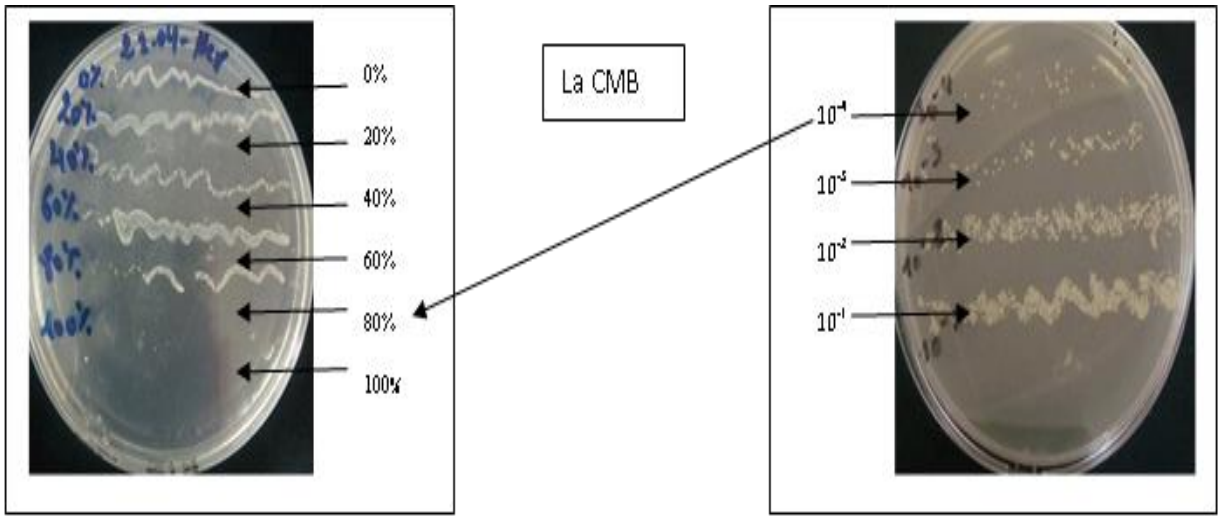

Figure 28. La CMB des extraits à hexane de la *Monthe Poivrrée* collectée à Mostaganem.

1.6.1.b-Extrait au Méthanol :

La CMB a été remarquée avec l'extrait au méthanol concentré à 80% **(Figure .29).**

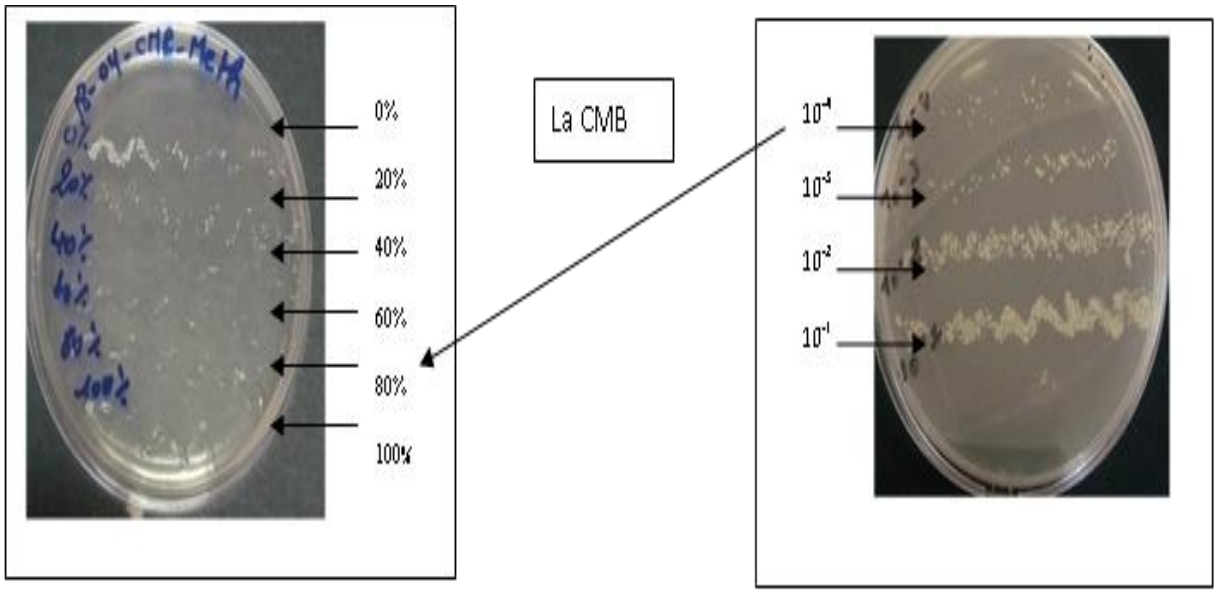

Figure 29. La CMB des extraits au méthanol de la *Menthe* de Mostaganem.

1.6.1.c.Extrait éthanolique :

La CMB chez l'espèce *S.aureus* est notée avec l'extrait éthanolique concentré à 60% **(Figure.30).**

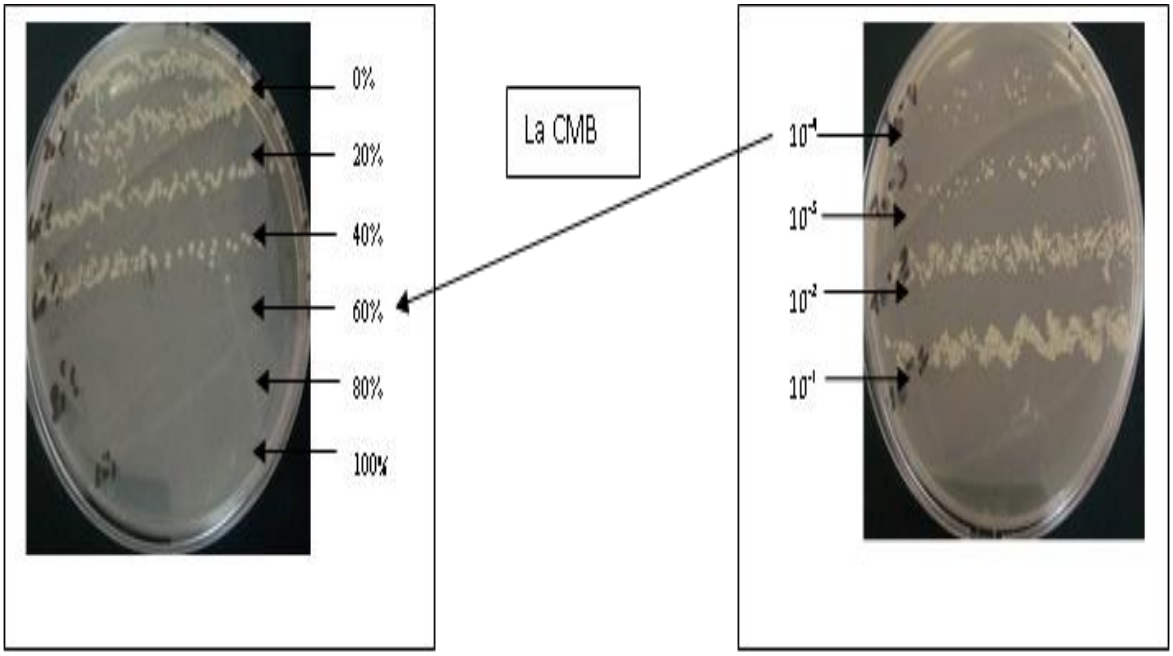

Figure 30. La CMB d'éthanol de la région de Mostaganem.

1.6.1.d. Extrait aqueux :

La CMB été obtenu avec l'extrait pur aqueux concentré à 100% **(Figure .31**).

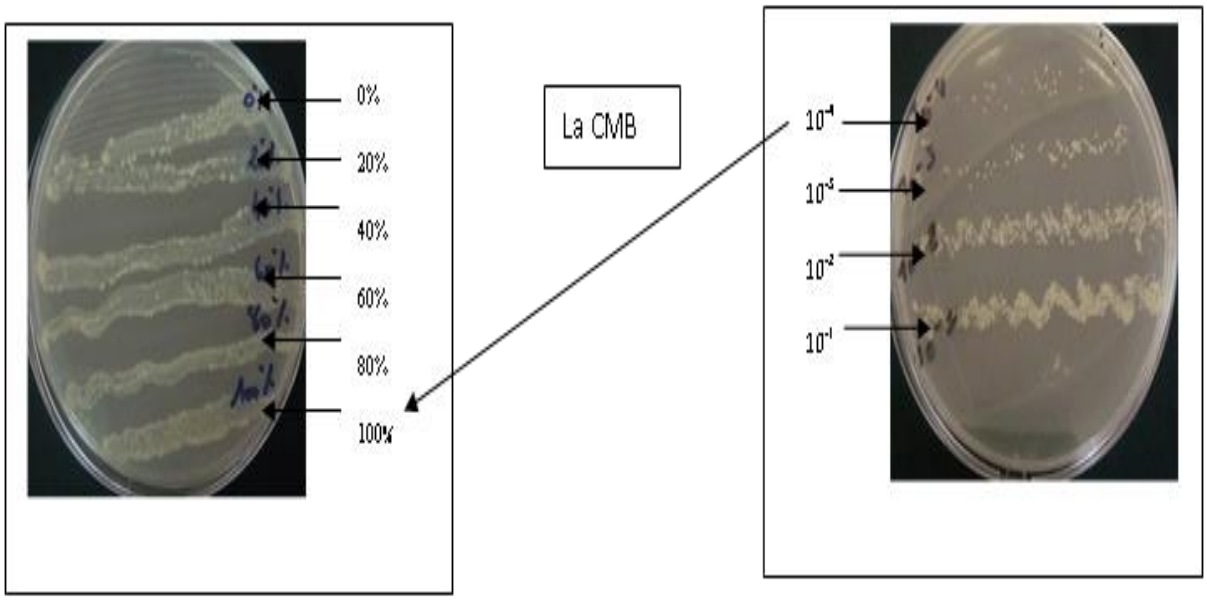

Figure 31. La CMB des extraits aqueux de la *Menthe* région de Mostaganem.

1.6.2.d-La CMB de Naama :

1.6.2. a. Hexane :

La confrontation des résultats montre que le premier tube ou le nombre de germes après culture est proche de la dilution10^{-4} après 24 heures d'incubation est celle préparé à 100% d'extrait à l'hexane de la *Menthe Poivrée* ; cette dernière dilution est donc la concentration minimale bactériostatique du germe étudié **(Figure ; 32).**

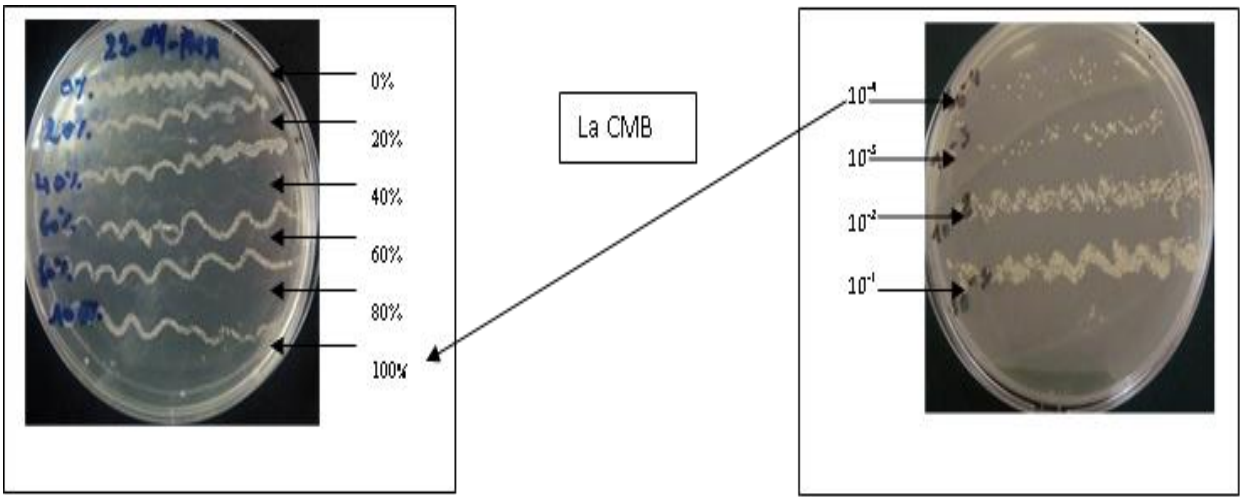

Figure 32. La CMB des extraits à l'hexane de la *Menthe* de Naama.

1.6.2. b.Méthanol :

L'extrait méthanolique de Naama préparé à 20% est la CMB pour le germe étudié *S.aureus* ***(Figure.33).***

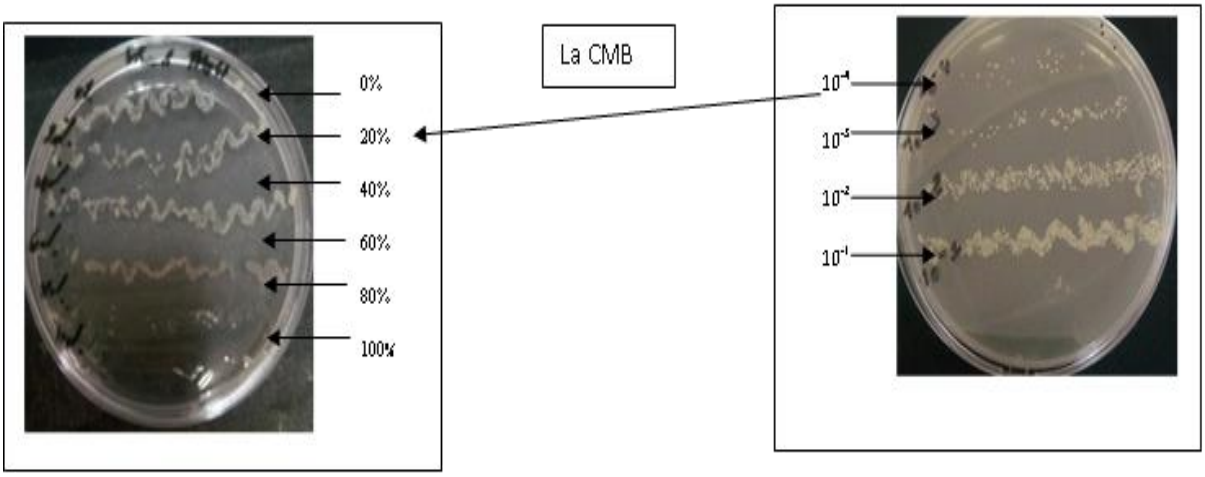

Figure 33. La CMB de méthanol de la région de Naama.

1.6.2. c.Ethanol :

La CMB du germe *S.aureus* est notée avec l'extrait éthanolique dilué à 20% **(Figure.34).**

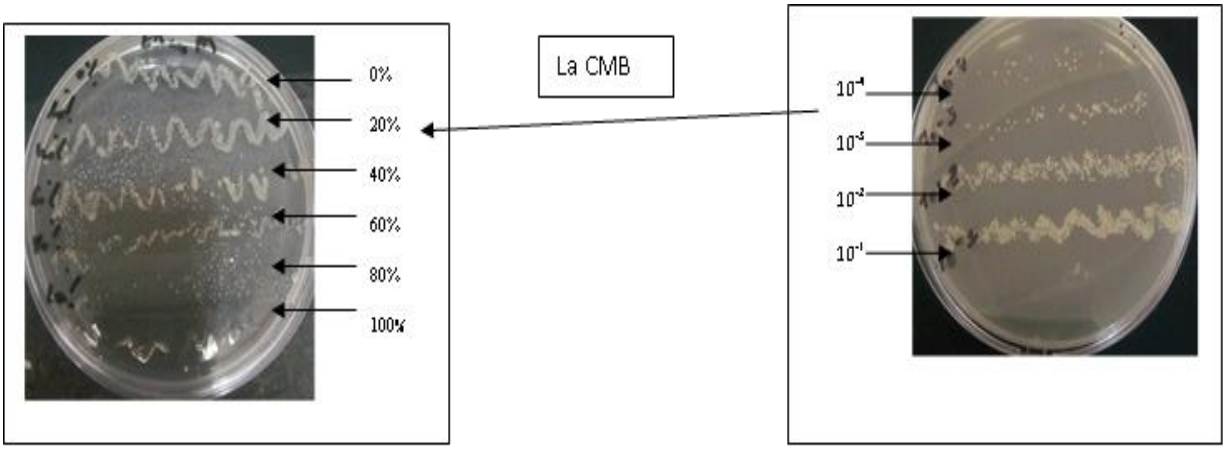

Figure 34. La CMB des extraits à éthanol de la *Menthe* de Naama.

1.6.2. d. Extrait aqueux :

La CMB du germe *S.aureus* est remarquable avec l'extrait aqueux concentré à 100% **(Figure.35).**

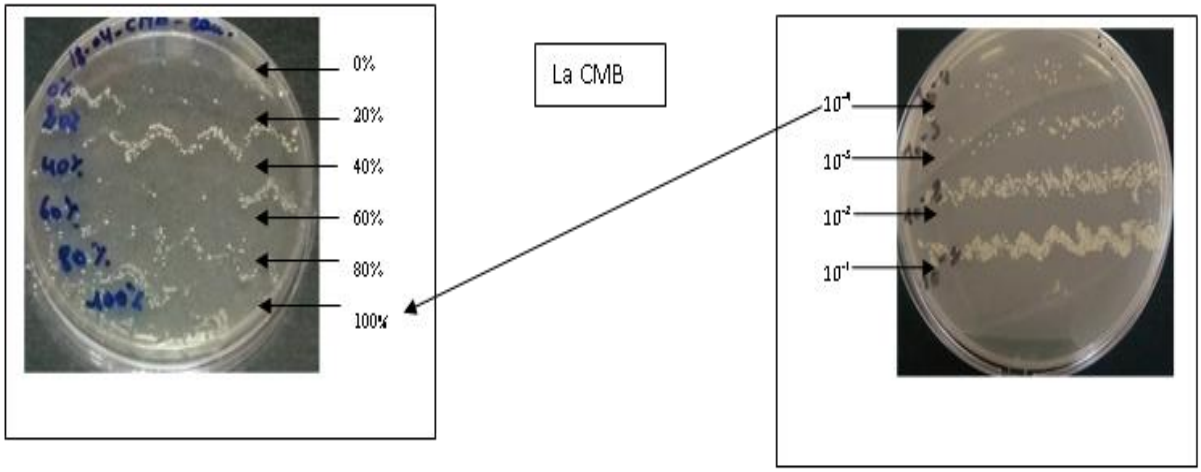

Figure 35. La CMB des extraits aqueux de la *Menthe* de Naama.

1-7.Type d'inhibition :

Tous les extraits possèdent une inhibition de type bactéricide, sauf pour l'extrait à l'hexane de la région de Naama qui à montrer une inhibition de type bactéristatistique (**Tableau11**).

Tableau06. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de *Staphylococcus aureus* (UFC/ml).

	Facteurs		**Int. des facteurs ($F_1 \times F_2$) (n=03)**				**Type de solvants (n=18)**				**Concentration des extraits (n=12)**						F_1	F_2	$(F_1 \times F_2)$
	Solvants		**Hex.**	**Méth.**	**Eth.**	**Eau**	**Hex.**	**Méth.**	**Etha.**	**Eau**	**0**	**20**	**40**	**60**	**80**	**100**			
Mostaganem	**Concentrations des Extraits**	**0%**	56.10^5	56.10^5	56.10^5	56.10^5	124.10^4	121.10^4	126.10^4	143.10^4	$56.10^{5\,a}$	$152.10^{4\,b}$	$125.10^{3\,c}$	$43.10^{4\,c}$	$00^{\,c}$	$00^{\,c}$	**p>0.05**	**p<0.01**	**p>0.05**
		20%	153.10^4	73.10^4	86.10^4	296.10^4													
		40%	66.10^3	66.10^4	100.10^4	00													
		60%	200.10^3	23.10^4	66.10^3	00													
		80%	00	00	00	00													
		100%	00	00	00	00													
Naama	**Concentrations des Extraits**	**0%**	150.10^{4b}	90.10^{4bc}	150.10^{4b}	150.10^{4b}	$51.10^{4\,b}$	$155.10^{3\,c}$	$250.10^{3\,a}$	$84.10^{4\,c}$	$135.10^{4\,a}$	$90.10^{5\,b}$	$141.10^{3\,c}$	$100.10^{3\,c}$	$91.10^{3\,c}$	$58.\ 10^{3\,c}$	**p<0.01**	**p<0.01**	**p<0.01**
		20%	130.10^{4b}	00^{c}	00^{c}	$230.\ 10^4$													
		40%	$233.10^{3\,c}$	00^{c}	00^{c}	$33.\ 10^{4\,c}$													
		60%	33.10^{3b}	33.10^{3c}	00^{c}	$30.\ 10^{4\,c}$													
		80%	00^{c}	00^{c}	00^{c}	$40.10^{4\,c}$													
		100%	00^{c}	00^{c}	00^{c}	233.10^{3c}													

Les résultats sont représentés en valeurs moyens, F1 :facteur étudié (solvant d'extraction) ; F2 :facteur étudié (concentration de la plants) ; Int(F1×F2) :interaction des deux facteurs étudiés (types des solvants et concentrations d'extraits) ; Hex :hexane ;Eth :ethanol ;Méth : méthanol) ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c …….etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions.

. **Tableau07.** Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les diamètres d'inhibitions (mm) chez *Staphylococcus aureus*.

Facteurs		Int. des facteurs ($F_1 \times F_2$) (n=03)				Type de solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F_1	F_2	($F_1 \times F_2$)
Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	Gent.	20	40	60	80	100			
Mostaganem	Concentrations des Extraits																	
	Gent	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	$13,44^{a} \pm 2,815$	$14,75^{a} \pm 2,032$	$14,04^{a} \pm 1,76$	$10,22^{b} \pm 1,534$	$20^{a} \pm 0,853$	$5,75^{f} \pm 2,651$	$9,16^{e} \pm 0,888$	$12,08^{d} \pm 2,229$	$14,58^{c} \pm 2,629$	$17,12^{d} \pm 2,573$	p<0.01	p<0.01	p>0.05
	20%	6 ± 4,58	7,66 ± 3,78	6 ± 1	3,33 ± 1,5													
	40%	11 ± 1	10 ± 1,73	10 ± 0	5,66 ± 0,57													
	60%	12 ± 2	12,33 ± 2,51	16 ± 4	8 ± 1													
	80%	14,66 ± 4,61	17,33 ± 2,51	14,33 ± 1,15	12 ± 3													
	100%	17 ± 4,35	21,16 ± 2,02	18 ± 2,64	12,33 ± 2,51													
Naama	Concentrations des Extraits																	
	Gent	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	$15,44^{a} \pm 1.547$	$14,61^{a} \pm 1,899$	$14,38^{a} \pm 2,393$	$11,38^{b} \pm 1,547$	$20^{a} \pm 0,853$	$10,41^{d} \pm 1,969$	$11,83^{c\,d} \pm 1,557$	$12,167^{c\,d} \pm 1,279$	$13,33^{c} \pm 2,243$	$16^{c} \pm 2,85$	p<0.01	p<0.01	p>0.05
	20%	11,66 ± 1,52	11,33 ± 2,08	12,33 ± 2,88	6,33 ± 2,51													
	40%	11 ± 1	12 ± 3	14,33 ± 0,59	10 ± 1,73													
	60%	12 ± 2	14,33 ± 1,52	11,66 ± 0,57	10,66 ± 1,52													
	80%	14,66 ± 4,61	14 ± 1	15 ± 2	9,66 ± 1,15													
	100%	17 ± 4,35	16 ± 3,60	19,33 ± 2,51	11,16 ± 2,51													

Les résultats sont représentés en valeurs moyens, F1 : facteur étudié (solvant d'extraction) ; F2 : facteur étudié (concentration de la plants) ; Int(F1×F2) : interaction des deux facteurs étudiés (types des solvants et concentrations d'extraits) ; Hex : hexane ; Eth : ethanol ; Méth : méthanol ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c …….etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions.

Tableau08. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur taux de croissance (%) chez *Staphylococcus aureus*.

	Facteurs		Int. des facteurs ($F_1 \times F_2$) (n=03)				Effets solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)								
	Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	0	20	40	60	80	100	F_1	F_2	($F_1 \times F_2$)
Mostaganem	Concentrations des Extraits	0%	100	100	100	100	22,14 b	19,87 c	22,58 c	25,7 a	100 a	25,74 b	7,91 c	1,82 c	00 c	00 c	p<0.01	p<0.01	p>0.05
		20%	28,04	4,62	16,03	54,27													
		40%	1,19	12 ,18	18,28	00													
		60%	3,56	00	1,21	00													
		80%	00	00	00	00													
		100%	00	00	00	00													
Naama	Concentrations des Extraits	0%	100b	100b	100b	100b	29,62 b	17,03 c	16,66 c	56,29 a	100 a	53,33 b	9,44 c	6,66 c	6,1 c	3,88 c	p<0.01	p<0.01	p<0.01
		20%	59,99c	00d	00d	153,33a													
		40%	15,55d	00d	00d	22,22d													
		60%	2,22d	2,22d	00d	19,99d													
		80%	00d	00d	00d	26,66d													
		100%	00d	00d	00d	15,55d													

Les résultats sont représentés en valeurs moyens, F1 :facteur étudié (solvant d'extraction) ; F2 :facteur étudié (concentration de la plants) ; Int(F1×F2) :interaction des deux facteurs étudiés (types des solvants et concentrations d'extraits) ; Hex :hexane ;Eth :ethanol ;Méth : méthanol; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c …….etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions.

Tableau09. Effets des extraits de la *Menthe poivrée* prélevée des régions de Mostaganem et Naama sur les taux d'inhibition (%) chez *Staphylococcus aureus*.

Facteurs		Int. des facteurs ($F_1 \times F_2$) (n=03)				Type de solvants (n=18)				Concentration des extraits (n=12)						F_1	F_2	($F_1 \times F_2$)
Solvants		Hex.	Méth.	Eth.	Eau	Hex.	Méth.	Etha.	Eau	Gent.	20	40	60	80	100			
Mostaganem	Concentrations des Extraits																	
	Gent	100^{a}	100^{a}	100^{a}	100^{a}	$70,27^{a}$	$73,75^{a}$	$70,27^{a}$	$51,11^{b}$	100^{a}	$32,5^{c}$	$42,5^{e}$	$59,16^{d}$	$76,66^{c}$	$87,29^{b}$	p<0.01	p<0.01	p<0.05
	20%	$45^{e\ f}$	$38,33^{e\ f\ g}$	$30^{f\ g}$	$16,66^{f}$													
	40%	$41,66^{e\ f}$	$50^{d\ e\ f}$	$50^{d\ e\ f}$	$28,33^{f\ g}$													
	60%	$55^{d\ e\ f}$	$61,66^{c\ d\ e}$	$80^{a\ b\ c}$	$40^{e\ f\ g}$													
	80%	$88,33^{a\ b}$	$86,66^{a\ b}$	$71,66^{b\ c\ d}$	$60^{c\ d\ e}$													
	100%	$91,66^{a\ b}$	$105,83^{a}$	$90^{a\ b}$	$61,66^{c\ d\ e}$													
Naama	Concentrations des Extraits																	
	Gent	100	100	100	100	$71,94^{a}$	$73,33^{a}$	$76,66^{a}$	$56,94^{b}$	100^{a}	$52,02^{d}$	$59,58^{c\ d}$	$66,66^{c}$	$66,83^{c\ d}$	$79,16^{b}$	p<0.01	p<0.01	p>0.05
	20%	58,33	56,66	61,66	31,66													
	40%	55	61,66	71,66	50													
	60%	60	71,66	58,33	53,33													
	80%	73,33	70	75	48,33													
	100%	85	80	93,33	58,33													

Les résultats sont représentés en valeurs moyens, F1 :facteur étudié (solvant d'extraction) ; F2 :facteur étudié (concentration de la plants) ; Int(F1×F2) :interaction des deux facteurs étudiés (types des solvants et concentrations d'extraits) ; Hex :hexane ;Eth :ethanol ;Méth : méthanol; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; * : Effet significatif du facteur étudié ; ** : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a, b, c …….etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions.

Tableau11. Action inhibitrice des extraits de la *Menthe Poivrée* chez *Staphylococcus aureus*.

	Solvants	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
Mostaganem	**Hexane**	80%	80%	1	Bactéricide
	Méthanol	80%	80%	1	Bactéricide
	Ethanol	60%	60%	1	Bactéricide
	Eaux	100%	100%	1	Bactéricide
Naama	**Hexanes**	20%	100%	5	bactériostatique
	Méthanol	100%	20%	0,5	Bactéricide
	Ethanol	80%	20%	0,4	Bactéricide
	Eaux	100%	100%	1	Bactéricide
Normes	*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)				

2-Discussion :

D'après (***Coxet all., 2000***), l'activité antimicrobienne des extraits d'une plante médicinale est étroitement liée ou profile chimique de ses constituants en principaux composés bioactifs.

Karmen, (2015 *),* confirment que la plupart de ces composés sont dotés de propriétés antimicrobiennes remarquables ; mais c'est surtout les constituants, volatiles majeurs qui présentent, souvent, les propriétés inhibitrices vis-à-vis des microorganismes dont principalement les polyphénoles, les composés alcaloïdes et les huiles essentielles.

Ces composés sont des molécules qui appartiennent aux métabolites secondaires des plantes. Environ 1000 substances ont été caractérisées ***(Dibong et all ; 2011).*** Ils sont essentiellement les composés naturels les plus rependus dans la nature et de ce fait constituent, sans doute, des éléments qui fond partie intégrante de la plante médicinale étudiée à savoir *Mentha × piperita* (nu menthe poivrée).

L'analyse de la CMI et la CMB montre que *Staphylococcus aureus* est moins sensible aux extraits à l'hexane de Naama ou ils ont présenté un effet de type seulement bactériostatique chez le microorganisme étudié ; alors que les autres extraits préparés par le biais d'autres solvants polaires en l'occurrence (le méthanol, l'éthanol, et l'eau) ont accusé des effets antimicrobiennes plus sévères de type bactéricide.

A ce propos , d'après ***(Oliver, 2007),*** si le rapport CMB/CMI est inferieur ou égale à 2, l'extrait ou la substance antimicrobienne un effet inhibiteur de type bactéricide ; alors que si le rapport est supérieur à 2 , l'extrait possède un effet plutôt de type bactériostatique vis-à-vis du microorganisme testé.

La Menthe Poivrée (*Mentha L Piperita*) est en effet une source de plusieurs composés bioactifs de nature surtout phénoliques, très intéressantes pour la santé humaine et représentés surtout par les flavonoïdes, les tannins ***(François, 2012).*** hétérosiodes, d'aspégenine, la diosmétine, la tuteoline, l'eridictiol et le flavone polymothosite.

L'activité antimicrobienne de ces composés résulte probablement d'une combinaison de plusieurs mode d'action, impliquant différents cibles cellulaires ***(Brut ;2004 et Skandamis et all ; 2001).***

Cette action des polyphénols sur les cellules des microorganismes est basée sur une multiplicité d'influence, individuelle. Celles-ci n'incluent pas seulement un mécanisme physique ; mais aussi chimique et biochimique.

Les polyphénols, notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leurs toxicités vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de cette toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéase et cabohydrolase) ou à d'autres interactions susceptibles d'inactiver les protéines de transports, et de lyser la paroi cellulaire ***(Cowan, 1999).***

Ainsi, cette action antimicrobienne peut être impliquée par d'autres phénomènes : influence sur la synthèse des protéines, influence sur l'ADN ainsi que les activités enzymatiques ***(Luck et all ; 1995).***

Plusieurs de donnés expérimentales, plaident de nos jours en faveur d'implications importantes des extraits bioactifs des plantes médicinales, en substitution aux traitements conventionnels lourds et très couteux, à fin de prévenir et guérir certaines maladies infectieuses et métaboliques comme(les infections urogénitales, les maladies dermiques, les contaminations nosocomiales, les maladies cardiovasculaires, les diabète…ect) ***(Bahorum ; 1997 et Rock ; 2003).***

L'extraction des composés bioactifs de Menthe avec des solvants à polarité croissante, utilisée dans cette étude, a sans doute, permis de séparer différemment les principes actifs de la plante (*Mentha Piperita*) selon leur degré de solubilité dont la plupart des effet pharmaceutiques sont attribués, certainement à leur grande richesse en polyphénols. Les taux de polyphénols totaux enregistrés dans les extraits de l'espèce de la Menthe testé sont vraisemblablement différents d'un type de solvants utilisé à un autre, mais aussi ; d'une concentration d'extrait à une autre.

D'après les résultats des testes antimicrobienne préliminaires effectués, ils peut être supposé que les taux en polyphénols dans les extraits varient proportionnellement en fonction de la concentration et la polarité des solvants d'extraction.

En effet, les extraits aux solvants à différentes polarités de la Menthe poivrée prélevée des régions de Mostaganem et de Naama ont induit des baisses hautement significatives ($p<0.01$) de la croissance de la *Staphylococcus aureus* par comparaison à l'extrait témoin à base d'eau distillé. La prolifération du germe pathogène à été totalement réduites à 80 et 100% d'extraits.

Par contre, en fonction des concentrations variables de 0 à 100% en extraits de Naama des chutes notables ($p<0.01$) de 13.10^4 à 58.10^3 ufc/ml ont été décelées en nombre de ce germe.

Plusieur auteurs (Barchan et al., 2015) ont prouvé in vitro l'effet antimicrobienne de la Menthe Poivrée sur la croissance de l'espèce étulisée (*S.aureus*). Selon ***(Punit et al., 2004),*** la différence d'effet antimicrobien des composés bioactifs de la plante est surtout en rapport avec leur fort contenu phénoliques. Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les extraits sont éfficases, ceci explique la sensibilité de la souche étudiée qui semble augmenter avec l'augmentation de la concentration en extrait actif.

Pa railleurs, les extraits aux solvants à différentes polarité (hexane, méthanol, éthanol et l'eau) de la Menthe Poivrée de Mostaganem ont causé une faible activité antimicrobienne par rapport aux extraits de Naama qui à présenté les meilleurs résultats d'inhibitions de la croissance du germe.

A ce propos, plusieurs auteurs ***(Tad ; 2003)*** suggèrent que dans certaines conditions prédo-climatiques sévéres les plantes médicinales autochtones sont capables d'accumler plus de composés bioactifs à effet antimicrobien, très élevés.

La souche de références (*S.aureus*) à gram (+) utilisée a montré comparativement aux extraits aqueux de *Menthe Poivrée* des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) , une nette sensibilité aux extraits notamment éthanolique ; avec des taux d'inhibition de l'ordre de (53 Vs 73%) et des diamètres d'inhibitions d'environ (10.5 Vs 14 mm), en moyenne.

Les travaux de ***(*Andamis ; 2001*)*** ont revélé que 29% des extraits de la *Menthe Poivrée* testés ont présenté au faite une fort activité antimicrobienne contre les bactérie Gram (+), alors que seulement 13% des extraits étaient actif contre les souches à Gram (-).

Les nombreuses études menées à ce jours sur les effets antimicrobiens en rapport avec le type de solvants utilisé et les composés phénoliques des pmantemédicinale, sont contradictoires.

D'après ***(Lee at al., 2007)*** l'extarit aqueux de pleurotus cétrinopileatus présente une plus garnde tenneur en polyphénols ; alors que chez l'espèce Smilax excelsa c'est plutôt l'extrait méthanoïque qui accuse le taux le plus élevé en polyphénols ***(Tad ; 2003)*** . Nos travaux concordanent à ceux de ***(Hambaba et Boudgellol, 2012)*** qui ont suggéré que les extraits à de la Menthe aux solvants à différents polarités produisent des zones d'inhibitions plus garndes

que celle des extraits queux. Les effets antimicrobiens constatés dans le cas de cette étude semblent être liés à la richesse des extraits en principaux composés actifs capables d'inhiber la croissance du germe étudié.

En effet en fonction des concentrations en extraits variables, de 20 à 100% les diamètres d'inhibitions ont augmenté significativement ($p<0.01$) de 5.75 à 17.12 mm et de 10.14 à 16 mm pour respectivement les extraits de Mostaganem et de Naama.

Toutefois, la gentamycine considérée comme étant un antibiotique à large spectre contre de nombreux germes ***(Mississauga ; 2017)*** à engendré les meilleurs diamètres d'inhibitions chez *Staphylococcus aureus* ; 20mm en moyenne.

La Menthe Poivrée des régions de Mostaganem et de Naama semble contenir l'essentiel des composés bioactifs capables de se substituer aux traitements conventionnels à base, notamment d'antibiotiques dont l'usage abusif peut développer une certaines résistances des germes nuisibles et induire par voie de conséquence des effets néfastes sur la santé humaine.

Conclusion

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus, il apparait d'après les antibiogrammes que l'antibiotique standard de référence utilisé a savoir la gentamycine semble exercer un effet antimicrobien plus considérable sur le germe pathogène étudié (*Staphylococcus aureus*) que les autres extrais expérimentaux de *Mentha x Pepirita*($p<0.001$) ; 20Vs 5 .75 à 17.12mm, en moyenne.

Les extraits purs au méthanol, ont néanmoins, accusé des diamètre d'inhibition du germe proche de la gentamycine ($p>0.005$) ; Vs 20mm, en moyenne.

Les concentrations croissantes en l'extraits de la *Menthe Poivrée* testées ont témoigne une forte activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche étudiée. A une concentration de 20 % il à été enregistré une inhibition, mais pas totale, de la croissance du germe. L'effet inhibiteur est accentué pour des concentrations plus élevées notamment de 40, 60, 80 et 100%.

La croissance de l'espèce microbienne testée (*S.aureus*) a été totalement réduite sous l'effet des extraits de la *Menthe* de Mostaganem concentrés à 80 et 100%.

Les extraits de la *Menthe poivrée* de Mostaganem ont montré des CMI chez *S.aureus* avec les extraits à l'hexane et au méthanol concentré à 80% ; mais aussi avec l'extrait méthanolique préparé à 60% et avec l'extrait aqueux pur.

L'analyse des CMI et des CMB ont montré que *Staphylococcus aureus* est très sensible dans l'extrait à l'hexane concentré à 20%, avec des extraits pur, au méthanol et à l'eau et dans l'extrait éthanolique dilué à 80% de la *Menthe Poivrée* de Naama.

Tous les extraits possèdent une inhibition de type bactéricide, sauf pour l'extrait à l'hexane de la région de Naama qui à montré une inhibition de type bacteriostatique.

L'ensemble des résultats de cette étude ne constitue qu'une première ébauche dans le domaine de la recherche porté sur les substances naturelles des plantes biologiquement actif. Des essais complémentaires sont donc plus que nécessaires pour confirmer nos résultats et doivent etre surtout focalisées sur l'étude comporée de la composition chimique en principaux composés bioactifs (Polyphénol-Huiles essentielles- Alcaloïdes) de la plante en fonction des nombreux facteurs biologique et écologique du milieux (espèce, stade végétatif de la plante, période et lieu de récoltée en Algerie ……ect).

Composition des milieux de culture

- **Milieu bouillon nutritive**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande ……...…1g
- Extrait de levure …….……2,5g
- Peptone…….……...…5g
- Chlorure de sodium ……...… …5g
- Agar…… .18g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7 ± 0,2. Autoclaver à 120°C/30 minute.

•Milieu Gélose Nutritive

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande ……...…1g
- Extrait de levure …….……2,5g
- Peptone…….……...…5g
- Chlorure de sodium ……...… …5g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7 ± 0,2. Autoclaver à 120°C/30 minute.

- **Gélose Mueller Hinton**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande……..…… …….3g
- Hydrolysat de caséine (Tryptone).. ……..……17,5g
- Amidon.……1,5g
- Agar agar…….... ……18g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7±0,2. Autoclaver à 120°C/30 minute.

- **Bouillon Mueller Hinton**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande……..…… …….3g
- Hydrolysat de caséine (Tryptone).. ……..……17,5g
- Amidon.……1,5g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7±0,2. Autoclaver à 120°C/30 minute.

- **Gélose chapman**

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Extrait de viande ……...…1g
- Peptone…….……10g
- Chlorure de sodium …….. …. 75g
- Mannitol.……..10g
- Rouge de phénol …….0,025g
- Agar…… .18g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7 ± 0,2. Autoclaver à 120°C/30 minute.

•l'eau physiologique

Composition :

Pour 1 litre d'eau distille

- Chlorure de sodium ……...…9g

Autoclaver à 120°C/30 minute.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **A. Aouiche, N.Sabaou., A.Meklat, A. Zitouni,F. Mathieu, A. Lebrihi. (2012).** Activité antimicrobienne de Streptomyces sp. PAL111 d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxinogènes résistants aux antibiotiques. Journal de Mycologie Médicale : 22, 42-51.

2. **A. BADIS. , N. SABAOU., R. DJIBAOUet M. SARAG.,(2006)**. La diversité des actinomycètes de quelques sols sous orangerie de la Mitidja et la dégradation des acides humiques. Revue : La diversité des actinomycètes de quelques sols sous orangerie de la Mitidja et la dégradation des acides humiques.

3. **Abbes.S et Bouteraa. I.,(2017)**. Identification phénotypique de quelques isolats d'actinobacteries présentant une activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes

4. **Abdelmoughit.E.,(52017).** Activité antifongique des actinomycètes vis à vis de quelques espèces de levures.

5. **Abderrahmane.B., H. Zerizer., Kitouni. M.,(2017).** Métabolites d'actinomycètes à intérêt agro-alimentaire : production de protéases, de lipases, de bactériocines, de phytohormones et de sidérophores.

6. AGRAR.,(2013): 1st conference of Africanresearch on agriculture, food, andnutrition.Yamoussoukro, Coté d'Ivoire, June 4-6.

7. B.G. Eranga.T., (2015). Actinobacteria- Morphology, Physiology, biochemistry, diversity & IndustrialApplications of genus Actinobacteria.Microbiology Special Degree -Assignment 2.VOL 10.13140.

8. Beatriz R., María T López-G., Paula Y., Jesús S., and Ángel M.,(2014). Mycelium differentiation and development of Streptomyces coelicolor in lab-scale bioreactors: Programmed cell death, differentiation, and lysis are closely linked to undecylprodigiosin and actinorhodinproduction.journal Europe PMC Funders Group
Author Manuscript. Vol. 151:10 :1016.

9. Boughachiche F., Rachedi K., Duran R., Lauga B., Karama S., B Lynda., Boulezaz S., Boukrouma M., Boutaleb H and Boulahrouf A.,(2016). Optimization of alkaline protease production by Streptomyces sp. strain isolated from saltpan environment.african journal of biotechnology.Vol.15(26).PP.1401-1412,29.

10. Camille D.,(2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition lavoisir Pp :156 ,

11. CHAOUI R & Boursas I., (2015). Purification partielle et caractérisation des protéases de fleurs de Galactites tomentosus Moench.

12. Cheriet M,; Amari S; Benmammar Y (2015). Étude de quelques activités enzymatiques d'une collection d'actinomycètes.

13.CollinsT., Gerday C., Feller G. (2005). Xylanases, xylanasefamiliesandextremophilicxylanases. FEMS Microbiol. Rev. 29, 3-23.

14.Das A, Hamedani K , Soudbakhsh M, Prashanthi K, Bhattacharya S and Suryan S (2012). Enzymatic screening, antibacterial potential and molecular characterization of Streptomyces isolated from Wayanad District in Kerala, India. IJPBS ,Volume 2, Issue 1 pp 201-210.

15. Dinesh K Maheshwari., Meenu S., (2015). Halophiles: Biodiversity and Sustainable Exploitation. Sustainable Development and biodiversity 6.Springer International Publishing Switzerland 2015. PP43.

16. Divya P., Neelu N., Mansi P., Manish B., Abul M., Madhukar K., and BalasahebK., (2013). Actinomycetes: A Repertory of Green Catalysts with a Potential revenue resource.Journal of BioMed Research InternationalnVolume, ID 264020, 8pp.

17. Essaid Ait B.,ParulV., Lisa S., Nathalie G-V., Cedric J., Hans-P., Christophe C., Yder O., Gilles P. van W., (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Journal of Microbiology and Molecular Biology.Vol:80:1.

18. Galatenko OA, Preobrazhenskaia TP, Terekhova LP, Borisova VN, Fedorova GB., (1982). Distribution of actinomycetes of the genus Actinomadura in the light

chestnut soils of Volgograd Province and their antagonistic properties. Antibiotiki27(11): 803-810.

19. **Geraldine S Mala J .,Satoru T., (2009)**. Perspectives on Lipase Enzyme Technology .PP 147

20, Gerard M ., Williams S.T., Mordarksi.,(1988). Actinomycetes in Biotechnology. Academic Press Limited, PP 232.

21. Gerois J., Gianotta F., De Buyl E., Garnier B., Frére J-M. (2000). Purification and properties of three endo b-1-4 xylanases produces by Streptomyces sp. Strain S38. Enzyme Microb. Technol. 26, 178-186.

22. Goodfellow M. and Williams S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology, 37, 189–216

23. Gouse B , Sheik M , Sheriff M , Gokul S S3, Ranjith Ms4. (2017). Isolation and characterization of actinomycetes from soil of ad-dawadmi, saudi arabia and screening their antibacterial activities. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Vol:9.

24. H. D. TRESNER AND F. DANGA.,(2018). Hydrogen sulfide production by streptomyces as a criterion for species differentiation. Vol 76.

25. Haberra Soumaya., (2014) .Production, optimisation et étude de xylanases chez une nouvelle souche d'Actinomycète thermophile isolée du compost de poulet.

26. Henri LECLERC., (1969). Microbiologie Générale. 1ere Edition.Pp25.

27. Hitesh J., Nimita U., Darshan D., Manthan K., Shilpa S.,andJ agdish Patel (2016). Isolation, Optimization and Production of Cellulase by Aspergillusniger from Agricultural Waste.JOURNAL OF PURE AND APPLIED MICROBIOLOGY.Vol. 10(2), p. 1159-1166.

29. Hotam S. Chaudhary., JayprakashY., Anju R. Shrivastava., Smriti S., Anil K. S., Natrajan G., (2013). Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India.J Adv Pharm Technol Res. Jun; 4(2): 118–123.

30, JANAKI T., (2017). Review: Enzymes FromActinomycetes.International Journal of ChemTechResearc.10(2): 176-182

31 . Jaune G, (2011). les Bactéries leur monde et nous vers une biologie intégrative et dynamique. Edition Dunod. Pp32.

32 . Jean N., Guy Leyral., (2014). Livre : Microbiologie Technique : Dictionnaire des techniques. Edition 2014. Pp 404, 270, 239, 283,

33. Jean-C., Jean-P., Gérard C., (2004). Bernard Flourié. Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives, John LibbeyEurotext, Paris.pp 71.

34. Jean-M., Michel A., 3e édition revue et augmentée.WillyMatthey., Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols. P37.

35. Kar S., Ray RC.,(2008). Statistical optimization of α-amylase production by Streptomyces erumpens MTCC 7317 cells in calcium alginate beads using response surface methodology. Pol J Microbiol 57: 49-57

36. Khwaja S*, Ram Santosh K and Manish D. Visavadia ,. (2011). Isolation of soil thermophilic strains of actinomycetes for the production of α-amylase. African Journal of Biotechnology Vol. 10(77), pp. 17831-17836

37. Khwaja S*, Ram Prasad2, Santosh K and Manish D., (2011).Visavadia. Isolation of soil thermophilic strains of actinomycetes for the production of α-amylase. African Journal of Biotechnology Vol. 10(77), pp. 17831-17836

38. Kohli U., Nigam P., Singh D., Chaudharu K. (2001). Thermostablealkalophilicandcellulase-free xylanase production by Thermoactinomycesthalophilussubgroup C. Enzyme Microbiol. Technol. 28, 606-610.

39. KOLLI N, ZATOUT R.,(2015). Production de l'alpha amylases par certaines souches fongiques sur différents substrats.

40 . Küster.E et Williams.S.T., (1964). Production of Hydrogen Sulfide by Streptomycetes and Methods for its Detection. Journal American Society for Microbiology .Vol. 12, No. 1, p. 46-52.

41. L. V. KALAKOUTSKII., NINA S. AGRE .,(1976). Comparative Aspects of Development andDifferentiation in Actinomycetes. Journal merican Society for Microbiology.Vol. 40, No. 2 .p. 469-524.

42 . Laëtitia C.,Antonio B.,Marion Bardy., Dominique King., (2008). Gestion durable des sols. Edition Quae. Pp : 06.

43. LakshmipathyD., Krishnan K.,(2010). Isolation and Characterization ofAntagonisticActinomycetes from Marine Soil. Journal of Microbial&BiochemicalTechnology.VOL(2)1 :001-006.

44. Larreta-Garde V. (1997). Enzymes en Agroalimentaire. Lavoisier .p.p.179-361.

45. Lemerini, W (2016). Contribution à l'étude des paramètres cinétiques de l'ascorbate oxydase de courgette verte (Cucurbita pepo medullosa). Ebauche d'un capteur optique pour le dosage de l'acide ascorbique., Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magistère en biologie, université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, p 82.

46. LOUATI D., MAJDOUB R., SELMANI S., ACHOUR N., HANNACHI H., ABIDA H., 2017*.Cartographie de la salinité du sol au niveau du périmètre irrigué Zelba de la région de Mahdia (Sahel Tunisien). Larhyss Journal, n°30, pp. 191-204*.

47. M.K.Bhat.,(2000).Cellulases and related enzymes in biotechnology.Journal of biotechnology Advances. Volume 18, Pages 355-383.

48. M.RajeshMuthu., R.Subbaiya.,M.Balasubramanian., P.Ponmurugan., MasilamaniSelvam., (2013). Isolation and Identification of ActinomycetesIsoptericolavariabilis From Cauvery River Soil Sample.Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci :(6): 236-245.

49. Micah D. Shepherd, **Madan K. Kharel**, **Mary A. Bosserman**, and **Jürgen Rohr., (2010).** Laboratory Maintenance of Streptomyces species. Journal NIH Public Access.

50. Mihaela C., Teodor Gh. Negoita., Gabriela E. Bahrim., Peter Stougaard.(2011). Partial characterization of cold active amylases and proteases of streptomyces sp. From antarctica. Brazilian journal of microbiology .vol 42: 868-877

51. Minotto E, Pasqualini ML, Trindade OM and Van Der Sand ST (2014). Enzyme characterization of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants. Journal of Advanced Scientific Research. 5 (2): 16-23.

52. Miyadoh, S., (1997). Digital Atlas of Actinomycetes 2 - Society for Actinomycetes Japan. Asakura Publishing Co., Ltd., Japan**.**

53. Mouranche A., Costes C. (1985). Les Hémicellulases. Dans: Hydrolases etdépolymérases, enzymes d'intérêt industriel. Eds. Gauthier-Villars, Paris, p.p.165-197.

54. Mukhtar S., Zaheer A., Aiysha D., Malik KA., Mehnaz S., (2017) . A Source of Industrially Important Enzymes. J Proteomics Bioinform.10: 316-319.

55. Naglaa h., satoko N., mohsen m e., hushna ara naznin.,masaharu K., hammad, and masafumi s.,(2017). Biocontrol Potential of an Endophytic Streptomyces sp. Strain MBCN152-1 against Alternaria brassicicola on Cabbage Plug Seedlings. Microbes Environ. Vol. 32, No. 2, 133-141.

56. Navarre, Françoise l., **(2010)** L'œnologie 7e Edition.. PP39 et 42.

57. Neelun Aigle., Abul M., Manish B.,Sofiane G.,and Divya b2013. Actinomycetes: Role in Biotechnology and Medicine.journalBioMed Research International. Vol; 1Pg.

58. Nicemol C. Asha, P. Prema (2008) . Purification and partial characterization of polygalacturonasefromStreptomyceslydicus.JournalBioresource Technology. Vol(99): 6697–6701.

59. Pandey B, Ghimire, P, Agrawal, VP., (2004). Studies on the antibacterial activity of the actinomycetes isolated from the Khumbu region of Nepal. AcadSci Technol.;4(3):1-4.

60. Patricia Touyre2015 Le Sol, un monde vivant.Pp81, 85

61. Patrick F, Jacqueline D & Philippe T., (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. Vol 2.

62. Pierre F., **(2000).**Livre le grain de blé : Composition et utilisation. EddditionQuae. PP123,

63. Praveen K.P., Preetam R.J.,NimalChristhudas I.V.S.,SagayaJansi R.,Murugan , Agastian P., ArunachalamC., Sulaiman Ali Alharbi., (2015). Screening Actinomycetes for Enzyme and Antimicrobial Activities from the Soil Sediments of Northern Tamil Nadu, South India. J. Taylor & Francis Group.2231-1866.

64. Priyadharsini P., Dhanasekaran D.,(2013). Diversity of soil AllelopathicActinobacteria in Tiruchirappalli district, Tamilnadu, India. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.**14 :**54-60

65. R.Ragunathan., R. Padhmadas.,(2013). Production, purification and characterization of - amylase using Streptomyces spp. PDS1 and Rhodococcus spp. Isolated from Western Ghats. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci 2(8): 206-214.

66. R.Ragunathan1 and R. Padhmadas., (2013). Production, purification and characterization of - amylase using Streptomyces spp. PDS1 and Rhodococcus spp. Isolated from Western Ghats.

67. Rajeeva G., SoniT., (2015). Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostablealkalophiliccellulase from Bacillus vallismortis RG-07.Journal of BMC Biotechnology.vol 15:19.

68. Rajshree S and Rajni S., 2011. Article: Amylase production by solid-state fermentation of agro-industrial wastes using Bacillus sp. Brazilian Journal of Microbiology. vol 42: 1334-1342

69. Ramesh C., Rishi G., and Ajay S.,(2011). Microbial Cellulases and Their Industrial Applications.Journal of SAGE-Hindawi.10 pages.vol 10.4061.

70. Ranjani A.,Dhanase k., and Gopinath P Manogaran.,2016. an Introduction to Actinobacteria.**Vol** 10.5772/62329.

71. Raoul Calvet., (2013). Le Sol, 2eme Edition. Éditions France Agricole. Pg 71 ; XXVII ;

72. RIPERT Christian., (2013). Mycologie médicale. Editions Lavoisie. PP : 04.

73. Ronald P., De Vries, Visser J., Leo H. de Graaff. (1999). CreA modulates theXlnR-induce expression on xylose of Aspergillusniger genes involved in xylandegradation. Res. Microbiol. 150, 281-285.

74. Rosilma de O. Araujo-Melo., Igor F. A. C. Souz., Maria C. V. Vicalvi-Costa1,Janete M. de Araújo1.,Kêsia X. R. F. de Sena1 and Luana C. B. B. Coelho.,(2016). Actinobacteria : Versatile Microorganisms with Medical and Pharmaceutical Application.British Biotechnology Journal.vol 15(4).

75. S.A. Palaniyandi.,S.H., Yang and J.-W. Suh., (2013). Extracellular proteases from Streptomyces phaeopurpureus ExPro13 inhibit spore adhesion, germination and appressorium formation in Colletotrichum coccodes , Applied Microbiology. 1364-5072.

76. Sabaou N., (1988). Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes: systématique et écologie. Thèse de Doctorat des Sciences Naturelles, option Microbiologie, USTHB, Alger. 192 p

77. Saci Amina., (2012). Production d'alpha-amylase par Streptomyces sp. Optimisation d'un milieu de production à base de déchets d'orange. Université Mentouri, Constantine.th7se de magister.

78. SACI Khaoula ., SAFANE Aziza., (2015). Isolement des souches d'actinomycètes d'un sol agricole contaminé par l'herbicide Apyros et étude de leur capacité à le dégrader

79. Salma Mukhtar., Ahmad Zaheer., DalaqAiysha.,Kauser Abdulla Malik.,andSaminaMehnaz.,(2017). Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. Journal of Proteomics&Bioinformatics.Vol, 10: 316-319.

80. SAMAIN et BOUCHER.(***1974).*** Dosage automatique et simultane de l'amylase et des proteines du zooplancton. Ann. Inst. Oceanogr..vol : 50 (2), 199-205.

81. Samrat C., Ghanshyam R., Abhijeet K., Kakasaheb M., and Chandrakant K.(2012). Study on calcium ion independent α-amylase from haloalkaliphilic marine Streptomyces strain A3. Indian Journal of Biotechnology .Vol 11 , pp 427-437.

82. Sharma. D, Kaur. T, Chadha. BS & Manhas. R. K., (2011) . Antimicrobial Activity of Actinomycetes Against Multidrug Resistant Staphylococcus aureus, E. coli and Various Other Pathogens. Tropical Journal of Pharmaceutical Research December. Vol 10. N°: 6. Pp: 801-808.

83. Sofiane Ghorbel, Maher Kammoun, HalaSoltana, MoncefNasri, and NoomenHmidet.,(2014). Streptomyces flavogriseus HS1: Isolation and Characterization of Extracellular Proteases and Their Compatibility with Laundry Detergents. journal of BioMed, 8 pages.

84. Stackebrandt E. and Schumann P. (2006). Introduction to the taxonomy of Actinobacteria. Prokaryotes, 3, 297–321.

85. Sudhanshu D., Ravindra.,Vijay U., Sanjay K.,(2011). Isolation and Characterization of Actinomycetes Producing Antimicrobial Substance against Human Pathogenic Bacteria. Journal of Pharmacy Research.vol 4(11),4066-4068.

86. Taibi Z., Saoudi B., Boudelaa M., Trigui H., Belghith H., Gergouri A., Ladjama A.,(2011). Purification and biochemical characterization of highlythermostablexylanase from Actinomadura sp. Strain Cpt20 isolatedfrompoutrycompost.Appl. Biochem.Biotechnol. 011.9457

87. Tanveer Pirzadah1., ShashankGarg., Joginder Singh., AshishVyas., Manish Kumar., Naseem Gaur., MadhuBala., ReiazRehman., AjitVarma., VivekKumar., and Manoj Kumar.,(2014). Characterization of Actinomycetes and Trichoderma spp. for cellulase production utilizing crude substrates by response surface methodology. Journal of spirngerplus.vol 3:622.

88. TIFRIT Abdelkarim, 2016. Isolement et caractérisation des bactéries à intérêts biotechnologiques à partir de niches écologiques Algériennes.

89. TOUMATIA Omrane.,(2015). Etude de quelques souches de Streptomyces des sols arides d'Algérie antagonistes de Fusarium culmorum: taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre la fusariose du blé ,thèse de doctorat.

90. Valli S*, SuvathiSugasini S., Aysha OS., Nirmala P., VinothKumar P., Reena A.,(2012). Antimicrobial potential of Actinomycetesspecies isolated from marineenvironment. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.2(6): 469-473.

91. Wiley-VCH., Industrial Biotechnology: Products and Processes., PP 164.

92. William B., Whitman., Michael Goodfellow.,Peter Kämpfer .,(2012).Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria, PP1928.

93. Won-Jae Chi .,Yoon-Hee Kim., Jong-Hee Kim., Dae-Kyung Kang.,Sang-Soon Kang., Joo-Won Suh., and Soon-Kwang Hong., (2003). Streptomyces griseus Trypsin (SGT) Has Gelatinase Activity and Its Proteolytic Activity Is Enhanced by Manganese. The Journal of Microbiology, p.289-294.

94. Wood T.M. et Bhat K.M. (1988). Methods for mesuring cellulase activities. Methods in enzymology. International Union of pure and Applied Chemistry. 87- 100.

95. Xavier et Laurence., (1997). Bactéries, virus et champignons.edition Flammarion. Pp17.

96. Y.Dommergues., F.Mangenot., (1970). Ecologie Microbienne Du Sol. Paris, Masson et C^{ie}. Pg 23,27, 29.

97. Zoubiri Lamia., (2012). Production d'alpha amylases par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes**.**