

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

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté par :

M^{elle} MADANI Narimane et M^{me} ZAIDI Nacera

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Thème :

**Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de
Miswak (*Salvadora Persica*) chez *Candida
albicans* et *Staphylococcus aureus***

Devant le Jury :

Président : Mr BEKADA AMA

Pr CU. Tissemsilt

Promotrice : Mme AIT CHAABANE O

MCB U. Mostaganem

Examineur : Mr AIT SAADA D

MCA U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition

- Université de Mostaganem -

Année universitaire : 2019/2020

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions « DIEU », le majestueux, de nous avoir accordé la volonté et le courage afin d'accomplir dans les meilleures conditions ce travail.

A l'issue de cette étude, nous tenons à remercier vivement notre Encadreur **M^{me} AIT CHAABANE Ouiza** d'avoir proposé ce travail. Ses conseils et son aide à la fois sur le contenu et sur la rédaction, ont été très précieux. Pour tout le temps qu'elle a consacré pour nous apporter toutes les informations indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence nous a grandement stimulées

Nos remerciements vont aussi à monsieur : **BEKADA A.M.A** d'avoir accepté de présider le jury ; vous nous offrez le grand honneur et le grand plaisir

Et nous tenant également à remercier **Mr AIT SAADA Djamel** qui a accepté d'examiner cette modeste étude et pour la gentillesse et la bienveillance avec lesquelles vous avez guidé nos pas dans ce travail...

Résumé :

Le but escompté à travers cette étude expérimentale est de suivre l'effet antimicrobien de l'extrait aqueux de *Salvadora Persica* chez *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* responsables d'infections buccales. Le Miswak a été récolté de la région d'Arak à Ain Salah-Algérie. L'extrait aqueux a été obtenu par une macération d'une prise du végétal dans l'eau, suivi d'une filtration. L'extrait a été concentré à l'eau distillée à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. L'effet antimicrobien de l'extrait aqueux de Miswak a été testé sur deux microorganismes : *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. Les mesures ont concerné : le test de croissance, le test de diffusion sur disque, la concentration minimale inhibitrice, la concentration minimale bactéricide et la concentration minimale fongicide.

L'extrait aqueux de *Salvadora Persica* a montré des effets de type bactéricide et fongicide vis-à-vis des deux microorganismes étudiés ; *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*.

Les concentrations minimales inhibitrices ont été enregistrées à 60% d'extrait chez *Candida albicans* et à 80% d'extrait de Miswak chez *Staphylococcus aureus*.

Quant à la concentration minimale fongicide chez *Candida albicans*, elle a été obtenue à 60% d'extrait de Miswak ; alors que la concentration minimale bactéricide a été remarquée chez *Staphylococcus aureus* à une concentration de 80% d'extrait.

Mots clé : *Salvadora persiqua*, Miswak, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, antimicrobien, extrait aqueux.

Abstract :

The expected goal of this experimental study is to monitor the antimicrobial effect of the aqueous extract of *Salvadora Persica* in *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* responsible for oral infections. The Miswak was harvested from the Arak region in Ain Salah-Algeria. The aqueous extract was obtained by macerating one intake of the plant in water, followed by filtration. The extract was concentrated in 0, 20, 40, 60, 80 and 100% distilled water. The antimicrobial effect of the aqueous extract of Miswak has been tested on two microorganisms: *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. The measurements concerned: the growth test, the disk diffusion test, the minimum inhibitory concentration, the minimum bactericidal concentration and the minimum fungicidal concentration.

The aqueous extract of *Salvadora Persica* showed bactericidal and fungicidal effects on the two microorganisms studied; *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*.

The minimum inhibitory concentrations were recorded at 60% extract from *Candida albicans* and 80% extract from Miswak from *Staphylococcus aureus*.

The minimum fungicidal concentration in *Candida albicans* was obtained at 60% Miswak extract; whereas the minimum bactericidal concentration was observed in *Staphylococcus aureus* at a concentration of 80% extract.

Keywords: *Persian Salvadora*, Miswak, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial, extract, aqueous

ملخص:

الهدف المتوقع من هذه الدراسة التجريبية هو مراقبة التأثير المضاد للميكروبات للمستخلص المائي من سلفادورا بيرسيكا في المبيضات البيضاء والمكورات العنقودية الذهبية المسؤولة عن التهابات الفم. تم حصاد السواك من منطقة اراك في عين صلاح-الجزائر. تم الحصول على المستخلص المائي عن طريق نقع كمية واحدة من النبات في الماء، متبوعة بالترشيح. تم تركيز المستخلص في 0، 20، 40، 60، 80 و 100% ماء مقطر. تم اختبار التأثير المضاد للميكروبات للمستخلص المائي للسواك على نوعين من الكائنات الحية الدقيقة: المبيضات البيضاء والمكورات العنقودية الذهبية. القياسات المعنية: اختبار النمو، واختبار انتشار القرص، والتركيز المثبط الأدنى، والحد الأدنى لتركيز مبيد الجراثيم، والحد الأدنى لتركيز مبيد الفطريات.

أظهر المستخلص المائي لـ سلفادورا بيرسيكا تأثيرات نوع مبيد للجراثيم ومبيد للفطريات ضد الكائنات الحية الدقيقة المدروسة. المبيضات البيضاء والمكورات العنقودية الذهبية.

تم تسجيل أقل تراكيز مثبطة عند 60% مستخلص في المبيضات البيضاء و 80% مستخلص السواك في المكورات العنقودية.

تم الحصول على أقل تركيز مبيد للفطريات في المبيضات البيضاء عند 60% من مستخلص السواك. بينما لوحظ الحد الأدنى لتركيز مبيد الجراثيم في المكورات العنقودية بتركيز 80% مستخلص.

كلمات المفتاح: سالفادورا بيرسيكا، المسواك، المبيضات البيضاء، المكورات العنقودية الذهبية، مضادات الميكروبات، المستخلص المائي.

Liste des figures :

Figure 1. L'arbre de <i>Salvadora Persica</i>	03
Figure 2. Fleurs de l'espèce végétale <i>Salvadora Persica</i>	04
Figure 3. Fruit de l'espèce végétale <i>Salvadora Persica</i>	05
Figure 4. Racine de <i>Salvadora Persica</i>	05
Figure 5. Tronc de <i>Salvadora Persica</i>	05
Figure 6. Graines de <i>Salvadora Persica</i>	06
Figure 7. <i>Candida albicans</i> au microscope	10
Figure 8. La morphologie de <i>C.albicans</i>	12
Figure 09. Candidose cutanée (les mains)	14
Figure 10. Candidose unguéale	15
Figure 11. Candidose buccale chez un enfant	16
Figure 12. <i>S.aureus</i> sous microscope électronique	18
Figure 13. <i>S.aureus</i> sous microscope photonique	18
Figure 14. Infections cutanées	22
Figure 15. Amas de <i>staphylocoque</i> après coloration de Gram	25
Figure 16. Aspect des colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu Chapman	25
Figure 17. Présence et l'absence de coagulation	27
Figure 18. Présence et l'absence d'agglutination	27
Figure 19. Zone du prélèvement de la matière végétale de <i>Salvadora .P</i>	29
Figure 20. Activation des souches <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Candida albicans</i>	29
Figure 21. Procédé d'extraction de l'extrait aqueux de <i>Salvadora. P</i>	30
Figure 22. Méthode de contact direct.....	33
Figure 23. Méthode des disques par diffusion sur gélose	34
Figure 24. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	36
Figure 25. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	38

Liste des tableaux :

Tableau 01. Classification de <i>Salvadora Persica</i>	02
Tableau 02. Tailles de chromosomes de <i>C. albicans</i>	10
Tableau 03. La classification de <i>Candida albicans</i>	11
Tableau 04. La classification de <i>S.aureus</i>	20
Tableau 05. Concentration de solution expérimentale des extraits a l'eau de de <i>Salvadora Persica</i>	31
Tableau 06. Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de <i>Salvadora Persica</i> chez <i>Candida albicans</i>	40
Tableau 07. Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de <i>Salvadora Persica</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i>	42

Table de matière :

Remerciements

Résumé

Introduction : 1

Partie I : Etude Bibliographique

Chapitre 01: Généralité sur L'espèce *Salvadora Persica*

1- Définition :.....	2
2- Classification et Etymologie :	2
2- Historique :.....	3
3- Répartition géographique :	3
4- Description botanique :.....	3
5-1- Description des fleurs :.....	4
5-2- Description des fruits :.....	4
5-3- Description des racines :	4
5-4- Description du tronc :	5
5-5- Description des graines :	6
6-ntérêts d'utilisation de <i>Salvadora Persica</i> :.....	6
6-1- Blanchiments des dents :	6
6-2- Mauvaise haleine :	6
6-3- Contre les kilos :.....	7
6-4- Contre le stress :	7
7- Composition chimique du Miswak :	7
7-1- Fluor :.....	7
7-2- Soufre :	7
7-3- Bicarbonate de sodium :.....	8
7-4- Silice :	8
7-5- Tanins :.....	8
7-6- Alcaloïdes comme la salvadorine :	8
7-7- Huiles essentielles :	8

7-8-Saponosides ou Saponines :	8
7-9- Résines :	9
7-10- Vitamine C :	9

Chapitre 02 :Généralité sur quelques germes pathogènes

1- <i>Candida albicans</i>	10
1-1-Définition :.....	10
1-2- Génome de <i>C. albicans</i> :	10
1-3-Classification :	11
1-4- Description des colonies :	12
1-5- Critère d'identification :	12
1-6- Epidémiologie :.....	13
1-7- <i>Candidose</i> :.....	13
1-8-1- Symptômes de la <i>candidose</i>	13
1-9- Facteurs de risques :	15
1-10- Diagnostic :	15
1-11- Mode de transmission :.....	16
1-12- Résistance aux médicaments :	16
1-13- Prévention :	17
1-14- Traitement :	17
2- <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2-1- Définition :.....	18
2-2- Historique :.....	19
2-3- Variabilité génomique :	19
2-4- Classification :	19
2-5- Habitat :	20
2-6- Caractères bactériologiques :	20
2-6-1- Caractères morphologiques et biochimiques	20
2-6-2- Caractères cultureux:	21
2-7- Pathologies :	21
2-7-1- Infections symptomatiques:	21
2-8- Facteurs de risque :	23

2-9- Prévention :	23
2-10- Techniques de culture:	24
2-10-a- Milieu hypersalé de Chapman (à 75 % de NaCl) :	24
2-10-b- Milieu de Baird Parker :	24
2-11- Diagnostic :	24
2-11-a- Examen direct :	24
2-11-b- Caractères cultureux :	25
2-11-c- Identification biochimique :	26

Partie II : Matériels et Méthodes

1- Objectifs :	28
2- Matériel végétal :	28
3- Préparation des disques d'antibiogramme :	28
4- Activation de l'inoculum microbien :	28
5- Procédé d'extraction :	30
6- Etude de l'effet antibactérien des extraits de <i>Salvadora Persica</i> :	31
6-1- Méthode de contact direct :	31
6-2- Méthode des disques par diffusion sur gélose :	32
6-3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI.....	32
6-4- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :	36

Partie III : Résultats et discussion

1- Résultats:	39
1-1- <i>Candida albicans</i> :	39
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	41
2. Discussion:	43
<i>Conclusion générale</i>	45

Introduction :

Salvadora Persica L est une espèce végétale appartenant à la famille *Salvadoraceae* et qui se trouve particulièrement en Afrique et au Moyen-Orient. Le terme *Salvadora* a été trouvé pour la première fois en 1749 par le Docteur Laurent Garcin (1683- 1752), botaniste, voyageur et collectionneur de plantes. Il souhaitait faire référence à Juan **Salvadora Bosca** (1598-1681), un célèbre apothicaire espagnol originaire de Barcelone. *Persica* fait référence à l'Empire Perse, région d'origine de cette espèce végétale. Le terme **L** vient de Carl Linnaeus (1707- 1778), botaniste suédois, médecin, zoologiste et père de la taxonomie moderne.

Les différentes parties de ce végétal telles que les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines sont utilisées dans plusieurs domaines. Néanmoins, ce sont surtout les racines et les branches qui connaissent une application thérapeutique importante grâce à la confection des bâtonnets à mâcher, appelés Miswak dans les pays du Moyen-Orient. C'est pourquoi *Salvadora Persica* est très souvent connu sous le nom « d'arbre à Miswak » ou « d'arbre à Siwak » (**Lababidi , 2019**).

D'autres produits tels que des dentifrices et des bains de bouche à base de cette espèce végétale se développent, exploitant au maximum les avantages de sa composition chimique.

Le bâtonnet frotte-dents, également appelés brosse à dents végétale, est un outil d'hygiène buccodentaire servant à nettoyer les dents et les gencives, grâce à son action à la fois mécanique et chimique. Plus d'une centaine d'espèces végétales peuvent être utilisées afin de confectionner ces instruments d'hygiène mais la plus utilisée reste *Salvadora Persica*. (**Agathe, 2014**).

Cette étude vise à étudier l'effet antimicrobiens des extraits aqueux du Miswak (*Salvadora Persica*) vis-à-vis de certains germes pathogène tels que : *Candida albicans* et *Staphylocoque aureus*.

Le manuscrit est scindé en trois parties essentielles. La première partie comporte une étude bibliographique retraçant dans un premier chapitre la grande richesse de l'espèce végétale *Salvadora Persica* et leurs généralités en précisant son utilisation et sa composition ; Le second chapitre est consacré sur les quatre souches de références en détaillons leurs pathologies

La deuxième partie est consacrée à la méthodologie appliquée. Elle a été orientée tout d'abord en vue de faire une précision de la zone du prélèvement de notre matériel végétal et les manipulations que l'on a fait pendant notre pratique.

La dernière partie comporte l'interprétation et la discussion des résultats obtenus.

Partie I :
Etude Bibliographique

Chapitre 01

Généralité sur L'espèce

Salvadora Persica

1- Définition :

Siwak et aussi appelés le Miswak littéralement bâton pour se laver les dents ou encore bois d'arak on l'obtient à partir de la racine et/ou la tige de l'espèce végétal *Salvadora Persica* utilisé traditionnellement depuis l'antiquité comme une brosse à dents naturelles, plusieurs plantes étaient utilisées à cet effet mais *Salvadora Persica* présente les propriétés les plus intéressantes pour l'hygiène bucco-dentaire (**Parida, 2016**).

2- Classification et Etymologie :

Le nom scientifique est *Salvadora Persica* elle est connue sous plusieurs noms vernaculaires :

- nom arabe: arak, siwak
- nom Anglais: toothbrushtree
- nom français: arbreacure-dents
- nom indien: jhak (**Ozenda, 1983**)

La classification de la plante est présentée dans le **Tableau 1** :

Tableau 01. Classification de *Salvadora Persica* (**Khatak et al., 2010**).

Règne :	Plante
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe:	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre :	<i>Brassicales</i>
Famille :	<i>Salvadoraceae</i>
Genre :	<i>Salvadora</i>
Espèce :	<i>Persica Eloides</i>
Nom binomial :	<i>Salvadora Persica</i>

2- Historique :

L'espèce végétale *Salvadora Persica* existe depuis les temps anciens. Elle est utilisée par les Babyloniens il y a 7000 ans, par la suite son usage s'est rependu chez les Grecs et les Romains, les Egyptiens et les musulmans.

Aujourd'hui, le Miswak se retrouve encore en Afrique, en Amérique du sud, en Asie, au Moyen-Orient, notamment en Arabie Saoudite et partout dans les pays musulmans (**Douib et Slimani, 2015**).

3- Répartition géographique :

L'arbre d'Arak couvre différentes régions du monde en particulier: le Moyen- Orient et l'Afrique (**Hilal et Rajagopal, 2014**). Mais, il est surtout retrouvé d'une façon abondante dans les zones de la péninsule d'Arabie, en Egypte, et en Inde (**Nadkarni, 1976**).

En Algérie le Miswak est dominant notamment au Sahara central et couvre plus particulièrement les deux régions de Hoggar et de Tassili (**Quesel et Santa, 1962**).

4- Description botanique :

C'est un petit arbre touffu, ressemblant parfois à un buisson, et reconnaissable à son feuillage très dense. Ce végétal mesure en moyenne 5 mètres de large et peut atteindre une hauteur de 6 mètres (**figure 01**). Son espérance de vie est d'environ 25 ans.

L'arbre est initialement doux et de couleur blanchâtre et devient ensuite, en vieillissant rugueux et gris. Il est feuillu pendant toute l'année. L'ensemble des éléments le constituant peuvent être utilisés en toutes saisons (**Ronse De Craene, 2009**).



Figure 01. L'arbre de *Salvadora Persica* (**Mehdi, 2012**).

5-1- Description des fleurs :

Salvadora Persica appartient aux plantes angiospermes, c'est-à-dire les plantes à fleurs et donc les végétaux qui portent des fruits. Les fleurs sont de couleur verte et parfois légèrement jaune (**figure 02**). Elles sont le plus souvent unisexuées.

Elles ont une forme de tétramères caractéristiques avec un calice de 2 mm de long, 4 lobes et 4 étamines insérées dans le tube de la corolle qui mesure environ 3 mm de longueur. Les fleurs ont par conséquent le même nombre de sépales, de pétales et d'étamines (**Almas, 2001**).



Figure 02. Fleurs de l'espèce végétale *Salvadora Persica* (**Moussaoui, 2013**).

5-2- Description des fruits :

Les fruits du *Salvadora Persica* sont appelés en arabe Kabâth. Ce sont des petites baies rouges (**figure 3**) de la même consistance qu'une groseille et qui arrivent à maturité à la fin du printemps, Ils font environ 5 mm de diamètre et ont un goût sucré, poivré ou piquant (**Alma et al., 2005**).

5-3- Description des racines :

Les racines sont nombreuses, entremêlées et de diamètre variable. Elles sont le plus souvent enterrées mais parfois, lorsque le végétal se trouve dans le désert, elles se retrouvent exposées à l'air libre en raison des mouvements des dunes de sable (**Figure 4**).

Les racines ont un rôle d'ancrage et de nutrition en absorbant l'eau et les nutriments nécessaires au développement de l'arbre, elles sont blanches à l'intérieur et marron clair ou beige à l'extérieur (**Almas et al., 2005**).

5-4- Description du tronc :

Le tronc principal de l'arbre est court et tortueux, d'un diamètre moyen de 30 cm (**figure 5**). L'écorce est grise, brun foncé et parfois blanchâtre et a un goût très âcre (**Almas, 2001**).



Figure 03. Fruit de l'espèce végétale *Salvadora Persica* (Khatak et al., 2010)



Figure 04. Racine de *Salvadora Persica* (Moussaoui, 2013)



Figure 05. Tronc de *Salvadora persica* (Kokwaro, 1987)

5-5- Description des graines :

Les premières analyses de graines semblent remonter à 1912 et 1914. Les graines font 3 à 4mm de diamètre et sont entourées par une coque mince contenant une amande jaune clair (**figure6**).Elles permettent à la plante de se reproduire (**Almas et Al-Zeid., 2004**).



Figure 06. Graines de *Salvadora persica* (Ait Chaabane, 2018)

6-Intérêts d'utilisation de *Salvadora Persica*:

6-1- Blanchiments des dents :

L'utilisation de Miswak est un moyen pour le nettoyage buccal prévient efficacement l'installation des caries dentaires et les inflammations de la gencive. En effet, il empêche la décomposition de l'émail dentaire, confère un parfum agréable à la bouche, élimine les mauvaises odeurs, améliore le sens du goût et fait briller les dents (**Masood et al., 2010 ; Halawany, 2012**). Il est donc conseillé aux intéressés de l'employer au moins 5 fois par jour afin de diminuer d'une manière importante l'accumulation des plaques dentaires (**Gazi et al., 1990**).

6-2- Mauvaise haleine :

Salvadora Persica empêche les bactéries de constituer la plaque dentaire qui risque de créer des inflammations de la gencive d'où les bactéries colonisatrices produisent leurs composés soufrés et amines malodorants (**Al-Bayaty, 2010**), elle stop les *streptocoques* mutants, les *streptocoques* sanguins et les *lactobacilles* de créer des colonies qui produisent les acides cariogènes (**Darout et al., 2003**).

6-3- Contre les kilos :

La lutte contre les kilos en trop, Le fait d'avoir quelque-chose à mastiquer, ce qui renforce les gencives et fait fonctionner les glandes salivaires pour notre plus grand bien, aide à lutter contre le grignotage, source de déséquilibre néfaste pour les dents et source d'obésité.

De plus, le *Salvadora Persica* contient des principes actifs qui augmentent la sensation de satiété en agissant sur le taux de glycogène dans le foie et en activant le stimulus qui déclenche la production des hormones peptidiques anorexigènes, aidant ainsi à supprimer la sensation de faim. **(Anonyme, 2012).**

6-4- Contre le stress :

Par le même principe (glucides + acides aminés) qui stimule la production d'hormones peptidiques, le *Salvadora Persica* provoque la libération de neuropeptides qui ont une fonction de neurotransmetteurs. Certains neuropeptides sont impliqués dans la notion de plaisir et de bien-être. D'autre-part, l'apport de vitamine C associée à la vitamine E et aux lignines renforce la sensation de bien-être et augmente le plaisir **(Anonyme, 2012).**

7-Composition chimique du Miswak :

Les propriétés de ce bâtonnet sont essentiellement dues à l'isothiocyanate de benzyle qu'il contient. On retrouve une quantité plus importante de ce composé dans la racine que dans les branches. En plus de ce composant, des éléments inorganiques tels que le Fluorure, le Calcium et le Phosphore, vont participer à l'effet bénéfique du Miswak.

En effet, ces derniers vont permettre de reminéraliser les structures fragilisées de la dent. D'autres métabolites bioactifs sont identifiés comme contribuant à l'efficacité de cet outil bucco-dentaire tels que les alcaloïdes, les acides, les tannins, les saponins, la vitamine C... Plusieurs de ces produits chimiques confèrent également un goût légèrement amer à la mastication, ce qui active le flux de salive, agissant comme antiseptique **(Niazi et al., 2016).**

7-1- Fluor : Il a des propriétés antimicrobiennes et joue un rôle dans la prévention carieuse. La quantité de fluor contenue dans les bâtonnets n'est pas assez importante pour avoir une activité anti-carieuse significative **(Paliwal, 2007).**

7-2- Soufre : C'est un composé multivalent insoluble dans l'eau et indispensable pour les êtres vivants car il participe à la synthèse de deux acides aminés essentiels, la cystéine et la méthionine. Il est bactéricide et permet ainsi de réduire le taux de bactéries dans la cavité

buccale. C'est cette substance chimique qui est responsable du goût âcre du Miswak (**Patel, 2012**).

7-3- Bicarbonate de sodium : Il est abrasif et utilisé comme dentifrice afin d'éliminer les tâches et de blanchir les dents (**Patel, 2012**).

7-4- Silice : Elle a un rôle abrasif et permet d'enlever les tâches, la plaque dentaire et de blanchir les dents (**Cheftel, 1980**).

7-5- Tanins : Ce sont des composés de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 ppm, de saveur astringente et ayant la propriété de rendre la peau imputrescible. Ce sont ces antifongiques qui vont permettre de diminuer les taux de *Candida Albicans* dans la cavité buccale. Les tanins ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leurs large utilisation dans le tannage des peaux, ils précipitent également les protéines de la salive ce qui explique leur action astringente. (**Cheftel, 1980**).

7-6- Alcaloïdes comme la salvadorine : Ce sont des substances hétérocycliques azotées et basiques. La salvadorine a des propriétés insecticides, antiseptiques, diurétiques, ténifuges, antitussives, bactéricides et anti-inflammatoires. Elle possède également un effet prolifératif et stimulant pour la gencive (**Portères, 1974**).

7-7- Huiles essentielles : sont rencontrées dans divers familles botaniques et n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées. Le végétal aromatique fabrique de faibles quantités des huiles essentielles dans ses cellules excrétrices, de 0.01% à 5% de son poids, qu'il concentre ensuite dans des cellules (dite cellules à huiles essentielles) « Lauraceae », dans des poils sécréteurs « Lamiaceae », dans des poches sécrétrices « Myrtaceae ou Rutaceae » ou dans des canaux sécréteurs « Apiacidae ou Asteraceae » situées dans certaines parties (soit endogènes soit exogènes) du végétal à savoir : fleur, fruit, feuille, tige, rhizome, écorce

Les Huiles essentielles Sont des substances volatiles et aromatiques de saveur âcre qui ont un rôle antiseptique, carminatif et de désinfection de la cavité buccale. Elles fournissent une odeur agréable au Miswak et permettent ainsi aux utilisateurs d'avoir une bonne haleine et elles stimulent la sécrétion salivaire (**Dorman et Deans, 2000**).

7-8-Saponosides ou Saponines : On entend par saponosides (lat. sapon, savon - saponaire, l'herbe à savon ; le réglisse ; le bouillon blanc ; le modène), des hétérosides

naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon. Ils modifient la tension superficielle de l'eau. On les emploie pour la fabrication d'émulsions, dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion. Sont des hétérosides avec une activité d'abaissement de la tension superficielle et un pouvoir moussant et hémolytique. Elles permettent de fluidifier les sécrétions salivaires (**Shirzaiyet et al., 2016**).

7-9- Résines : c'est des substances naturelles secrétées par certains végétaux. Elles contiennent des composés chimiquement inertes comme des phénols, des acides, des alcools ou des esters. Elles fondent à la chaleur et permettent de former une couche superficielle à la surface de l'émail afin de rendre la dent plus résistante face aux attaques carieuses (**Shirzaiyet al., 2016**).

7-10- Vitamine C : c'est une vitamine hydrosoluble antioxydant qui joue un rôle dans la cicatrisation et la réparation des tissus oraux (**Schagen et al., 2012**).

Chapitre 02 :
Généralité sur quelques
germes pathogènes

1-Candida albicans

1-1-Définition :

Candida albicans est un organisme mycotique, c'est-à-dire qu'il fait partie de la famille des champignons (**figure 07**). C'est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida* Il est présent depuis toujours sur nos muqueuses, notre peau, ou bien encore dans notre intestin. Lors d'un déséquilibre immunitaire ou hormonal, il prolifère et devient pathogène en libérant des toxines. On parle alors de "candidose"(**Schoeters et Van Dijck, 2019**).



Figure 07. *Candida albicans* au microscope 400X (**Vouriot, 2007**).

1-2- Génome de *C. albicans* :

C. albicans est un organisme eucaryote diploïde dont le génome fait 16 Mb Il possède 8 chromosomes le chromosome R et les chromosomes 1 à 7 avec une tailles différentes présenté dans le **Tableau 02 (Eloy gosselin, 2006)**.

Tableau 02. Tailles de chromosomes de *C. albicans* (**Odile, 2006**)

Chromosomes	Taille (kb)
R	3200
1	3165
2	2300
3	1820
4	1700
5	1230
6	1090
7	949.625

1-3-Classification :

La classification de *Candida albicans* est comme suit :

Tableau 03. La classification de *Candida albicans* (Hamri et Brinis, 2018).

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordre	<i>Saccharomycetales</i>
Famille	<i>Saccharomycetaceae</i>
Genre	<i>Candida</i>

1-4- Aspects morphologiques :

Trois aspects morphologiques peuvent être rencontrés chez *C. albicans* (figure 8):

- La forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec un bourgeon de formation. (Coste et al., 2002)
- La forme *pseudomycélium*, mesurant de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien. (Stahl et Ezekowitz, 1998).
- La forme *mycélium* vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte (Doyle et al., 1994).

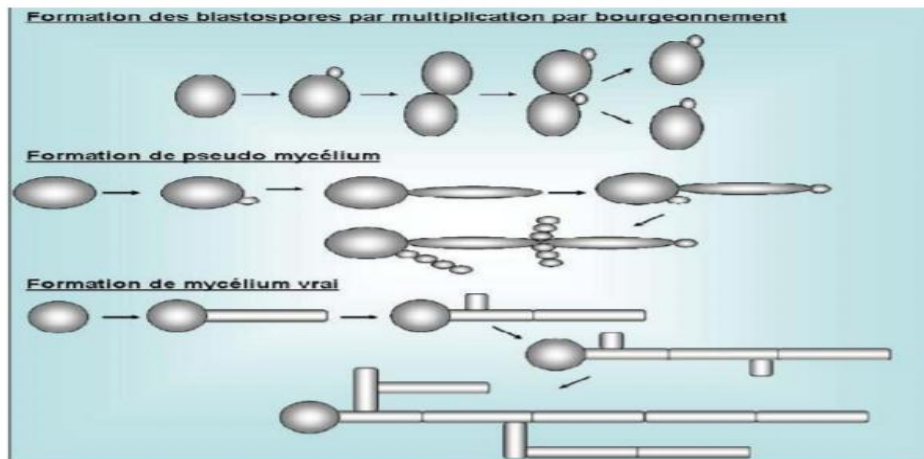


Figure 08. La morphologie de *C.albicans*(Januway. 1992)

1-5- Description des colonies :

Les colonies de *C.albicans* sont de couleur crème, légèrement élevée, Elles sont lisses un peu comme une goutte de beurre et elles dégagent une odeur aromatique douce et agréable. L'examen en épiscopie met en évidence une accumulation de micro colonies (**Buffo et al., 1984**).

1-6- Critère d'identification :

Candida albicans est l'espèce de levure la plus souvent isolée à partir d'échantillons cliniques et est d'importance clinique, de sorte que son identification rapide et vraie est le point le plus important pour les laboratoires cliniques et les mycologues. Une identification présomptive rapide de *C. albicans* est nécessaire pour un diagnostic et un traitement précoces.

L'identification préliminaire de *C. albicans* dans un échantillon clinique commence par un examen microscopique direct des échantillons colorés et non colorés de l'échantillon, qui comprend également leurs caractéristiques macroscopiques (morphologie, couleur, taille et texture)

Et d'autres méthodes conventionnelles telles que le test de formation du tube germinatif, croissance sur gélose à la semoule de maïs, milieux de culture contenant des substrats fluorogènes ou chromogènes spécifiques de *C. albicans*, tests de fermentation et d'assimilation des sucres. L'accent est mis sur les techniques moléculaires permettant son identification rapide (**Weichert et al., 2012**).

La microscopie directe fournit un diagnostic provisoire avant la croissance de la culture et peut fournir suffisamment d'informations pour que le clinicien puisse commencer une prise en charge immédiate correcte du patient.

L'examen microscopique des cellules colorées à Gram et des préparations de KOH est principalement utilisé pour l'identification des levures (**Shepard et al., 2008**).

1-7- Epidémiologie :

C. albicans est observé partout dans le monde, et il peut être retrouvé chez l'animal, sur les objets inanimés, dans le sol, les aliments et les hôpitaux.

Les infections *muco-cutanées* à *C. albicans* peuvent être observées chez les patients immunocompétents ou immunodéprimés, tandis que les *candidoses* invasives comme la *candidémie* (atteinte systémique) ne touchent que les patients gravement immunodéprimés (**Ruhnke, 2006**).

1-8- Candidose :

La *candidose* est due à un champignon du genre *Candida* qui vit dans le tube digestif, les muqueuses de la bouche, les voies génitales ou encore, sur la peau sur les ongles.

Sa présence est normale chez un individu sain, mais dans certaines circonstances (humidité, chaleur, diminution des défenses immunitaires, prise d'antibiotiques, de corticoïdes etc.), ce champignon peut se développer en quantité importante et provoquer une *candidose*.

En effet, "une *candidose* se développe plus particulièrement dans les zones chaudes et humides (**Anne, 2019**).

1-8-1- Symptômes de la *candidose*

a- Sous formes cutanées

Les *candidoses* cutanées se manifestent avant tout par des intertrigos (rougeurs) des grands plis (plis inguinaux, abdominaux, sous-mammaires, axillaires et interfessier), et des petits plis (commisure labiale, anus, espaces interdigitaux, rarement espaces interorteils).

Les symptômes sont identiques : début de la rougeur au fond du pli puis extension de part et d'autre sur les surfaces cutanées adjacentes. La peau y est rouge, d'aspect vernissé et suintant, fissurée au fond du pli qui est parfois recouvert d'un enduit blanchâtre (**figure 09**)

Les contours sont irréguliers, limités par une bordure en « collerette desquamative », et la présence de petites pustules en périphérie sont très évocatrices (**Ludovic, 2017**).



Figure 09. Candidose cutanée (les mains) (**Lorier joy, 2005**).

b- Sous formes unguéales

Le plus souvent, l'atteinte débute par un périonyxis (rougeur et gonflement de la peau autour de l'ongle), avec parfois écoulement de pus à la pression. L'ongle est atteint dans un second temps, et il prend souvent une teinte jaune verdâtre, marron ou noire (**figure 10**), surtout dans les zones latérales (**Ludovic, 2017**).

c- Sous formes muqueuses :

- **Candidose buccale :**

La candidose buccale est une mycose de la muqueuse buccale due à une prolifération d'un champignon levuriforme à savoir *Candida albicans* présent en temps normal dans la flore de la bouche (**Encyclopédie Médicale- Medix of healthcare, 2014**). La *Candida albicans* est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) formant ainsi des colonies blanches crémeuses (**Figure 11**) Elle est caractérisée par un polymorphisme remarquable (**Cardinale V .2001**)

- **Candidose vaginale :**

Elle provoque une rougeur, des démangeaisons et des pertes blanches dites «caillebotées», On estime que 75 % des femmes ont fait ou feront un ou plusieurs épisodes de candidose vaginale. Parmi elles, 10 % souffrent d'une forme récidivante définie par plus de quatre épisodes par an.

Il ne s'agit pas d'une maladie sexuellement transmissible mais d'une infection opportuniste pouvant être favorisée par les rapports sexuels en raison des traumatismes des muqueuses ou exceptionnellement en raison d'une balanite profuse du partenaire.

Les phases du cycle (rôle prépondérant du taux de progestérone naturelle) et la grossesse pourraient être aussi favorisantes (**Ludovic, 2017**).

1-9- Facteurs de risques :

Pour les formes cutanéomuqueuses, les facteurs locaux (macération, irritations...) sont souvent prédominants. Mais les facteurs généraux doivent aussi être pris en considération : diabète, grossesse, surcharge pondérale, âges extrêmes, certaines atteintes de l'immunité cellulaire en particulier au cours du sida, corticothérapie et antibiothérapie à large spectre.

Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (immunodéprimés, chirurgie digestive lourde, patients de réanimation, toxicomanes par voie intraveineuse...) (**Lagane, 2007**).

1-10- Diagnostic :

Le diagnostic de la présence de *C.albicans* est avant tout clinique, avec, par exemple, le classique muguet au niveau buccal, réalisant un dépôt blanchâtre sur la langue et les muqueuses.

En cas de résistance au traitement bien conduit, un prélèvement peut être fait au niveau des muqueuses pour confirmer la présence du champignon.

Des examens complémentaires sont utiles dans le cas de septicémie avec notamment des hémocultures qui permettent d'identifier le germe en cause (**Anne, 2019**).



Figure 10. Candidose unguéale (Baudraz-Rosselet et al., 2010).



Figure 11. Candidose buccale chez un enfant (Charlotte, 2015).

1-11- Mode de transmission :

La plupart des infections sont attribuables à la flore endogène du patient, et non à une infection croisée. Bien que la transmission nosocomiale soit rare, des cas secondaires à une contamination des surfaces inanimées et des mains des professionnels de la santé et des cas de transmission entre patients ont été signalés (Rangel-Frausto et al., 1994).

1-12- Résistance aux médicaments :

Une résistance de *C. albicans* au fluconazole a été associée à l'usage répété de ce médicament, notamment chez les patients immunodéprimés à qui il est administré à titre de prophylaxie chronique. Une résistance aux échinocandines a aussi été décrite. L'existence d'une forme intraveineuse et orale permet de passer rapidement à un traitement simplifié et donc ambulatoire dès que l'infection est maîtrisée (**Edwards, 1997**).

Toutefois, le recours au fluconazole pour le traitement initial d'une *candidose* invasive pose un problème dans les hôpitaux avec une haute incidence de *C. glabrata* et *C. krusei* qui sont moins sensibles ou même résistants à cet antimycotique (**Rex, 2000**).

1-13- Prévention :

Il est nécessaire de parfaitement se sécher après la douche car l'humidité est un milieu favorable pour le développement des *mycoses*. Une bonne hygiène alimentaire permet de limiter la prolifération du *Candida albicans* dans l'organisme.

La prévention passe aussi par une parfaite hygiène du corps. Il est cependant difficile d'anticiper la pathogénie du *candida albicans* chez les patients immunodéprimés, notamment les patients VIH à un stade avancé (**Waltimo et al., 1999**).

1-14- Traitement :

Le traitement antifongique, quelle que soit la gravité des *candidoses*, ne se conçoit qu'en prenant en compte les facteurs favorisants et en maîtrisant la maladie sous-jacente.

Pour le traitement des *candidoses* systémiques, l'arsenal antifongique s'est diversifié ces dernières années avec la commercialisation de nouvelles formulations lipidiques de l'amphotéricine B, le développement de nouvelles molécules dans des classes d'antifongiques connues et l'apparition des échinocandines. L'ablation de matériel étranger est un prérequis pour la stérilisation des foyers lors des *candidoses* profondes. L'intérêt de la chirurgie doit être discuté dans certaines localisations (**Chabasse et Guiguen., 1999**).

2- *Staphylococcus aureus*

2-1- Définition :

Staphylococcus aureus est une bactérie pathogène pour l'Homme. Appartenant au genre des *Staphylococcus*, de Gram + qui se présente comme une coque, associée par groupes en amas (grappe de raisin) ou en chaînes D'environ 1 μm de diamètre (**figure12 et 13**) la cellule bactérienne est immobile (**Wertheim, 2005**).

Les bactéries deviennent visibles à l'oeil nu en formant des colonies sur des milieux solides appropriés (boîtes gélosées). Chaque colonie contient des milliards de cellules filles issues d'une cellule originale ou d'un tout petit groupe de cellules agrégées (**Gould, 1995**).

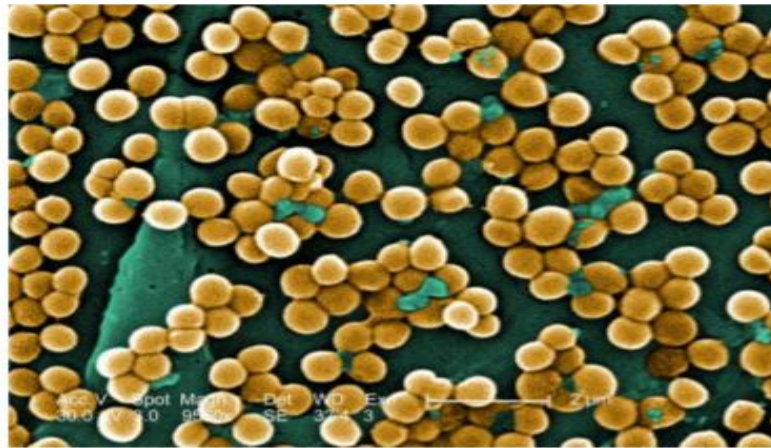


Figure 12. *S.aureus* sous microscope électronique X8500 (**Jean-Marc, 2011**)

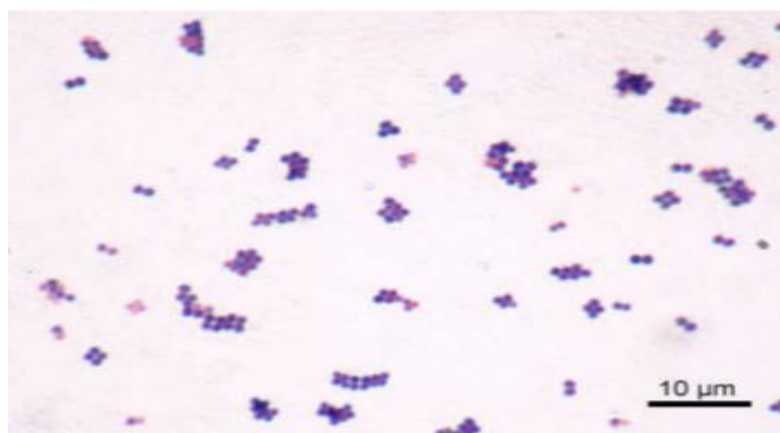


Figure 13. *S.aureus* sous microscope photonique X8500 (**Jean-Marc, 2011**)

2-2- Historique :

Dans les deux premières communications à l'académie des sciences en 1876 et 1880, Louis Pasteur a révélé 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. Ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique, ont été décrits par Robert Koch en 1878.

Ces isolats observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite par Pasteur comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petits amas". Ainsi, ils les ont cultivés en 1880 et dits que "l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière".

Ce n'est que plus tard ; en 1882 que le nom "*Staphylocoque*" a été donné par le chirurgien Ogston, pour décrire ces grains groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin. Koch, Pasteur et Ogston ont réussi à reproduire des abcès chez l'animal par inoculation des prélèvements de pus.

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon les colonies étaient blanches ou dorées (**Aouati, 2009**).

2-3- Variabilité génomique :

Depuis les grands ilots à l'échelle du chromosome, qui contiennent de nombreux gènes, en passant par les petites régions variables de la taille d'un gène ou moins, jusqu'aux mutations ponctuelle. Toutes les souches d *S.aureus* contiennent un seul chromosome, dont la taille varie de 2,7 à 2,9 Mb

Une première source de variabilité entre souches provient de la présence d'éléments extra-chromosomique à réplication autonome, les plasmides. Ceux-ci sont très souvent porteurs de gène de résistance aux antibiotique, la deuxième source provient de régions chromosomique entières acquises ou perdues par un ou plusieurs génomes de l'espèce (**Yves et Michel., 2009**).

2-4- Classification :

La classification de *S.aureus* est présentée dans **le tableau 04**

Tableau 04. La classification de *S.aureus* (Delarras, 2007).

Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>

2-5- Habitat :

Le réservoir naturel des *staphylocoques* est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement.

Le site de colonisation préférentielle de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. En effet, 30% des adultes hébergent *S.aureus* de façon permanente, 50% de façon intermittente et 20% ne sont jamais porteurs. A partir des sites de portage, *S. aureus* colonise les territoires cutanés en particulier, les zones humides (aisselles, périnée) et les mains (**Ghali et Mostefal., 2019**).

2-6- Caractères bactériologiques :**2-6-1- Caractères morphologiques et biochimiques**

S.aureus est un *cocci* à Gram + de forme sphérique de 0,5 à 1,5µm de diamètre, isolé ou groupé en diplocoques ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, immobile, non sporulé mais parfois encapsulé. C'est un aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, catalase positive, et produit plusieurs enzymes, telles que (l'ADNase, la coagulase et différentes hémolysines) (**Yves et Michel, 2009**).

2-6-2- Caractères culturels :

La culture de *S.aureus* est obtenue en 18 à 24 heures à 37°C sur milieux ordinaires, il peut pousser en présence de fortes concentrations salines (milieu sélectif de Chapman à 7,5% de NaCl), et son pH optimal est de 7,0 à 7,5. Pour les produits monomicrobiens, l'isolement est facile en bouillon, ou en milieu solide non sélectif le MH et la gélose au sang.

Pour les produits pathologiques polymicrobiens ou les aliments, il faut recourir à des milieux sélectifs comme le milieu Chapman (milieu hypersalé + mannitol) ou le milieu de BairdParker au téllurite de potassium et le jaune d'œuf (Yves et Michel, 2009).

2-7- Pathologies :

Parmi la quarantaine de types de *Staphylocoques* existants, le *staphylocoque* doré (*Staphylococcus aureus*) est le plus souvent rencontré dans les pathologies infectieuses. (Lindsay et Holden., 2004)

Ce *staphylocoque* peut causer des infections et des pathologies graves et des intoxications alimentaires

Ainsi *S.aureus* peut infecter tous les organes. Il est important de noter que 30 à 50% de la population est porteur sain du staphylocoque, c'est-à-dire que la bactérie est retrouvée au niveau de la peau ou des muqueuses externes sans un symptôme ne soit développé. Ce type de portage est normal et le *staphylocoque* est considéré comme un membre de la flore bactérienne naturelle de la peau et des muqueuses (Diekema et al., 2001).

2-7-1- Infections symptomatiques:

Les infections symptomatiques et les pathologies peuvent intervenir par L'invasion tissulaire directe est le mécanisme le plus fréquent de la maladie *staphylococcique*, dont les éléments suivants :

a- Infections cutanées :

Les infections cutanées sont les maladies *staphylococciques* les plus fréquentes. Les infections superficielles peuvent être diffuses, avec des pustules vésiculaires et des croûtes (impétigo) et parfois une cellulite, ou focales avec des abcès nodulaires (furoncles et anthrax). Des abcès plus profonds sont fréquents. Des infections nécrosantes graves de la peau peuvent se produire (Figure 14) (Ackah Jacques, 2009).

b- Pneumonie :

Les pneumonies à *S. aureus* représentent 10 % des cas de pneumonies nosocomiales et 1 % des pneumonies aiguës communautaires (PAC). *S. aureus* est responsable d'angines érythémateuses et érythémato-pultacées favorisées en période cataméniale. Il peut également être responsable de sinusites chroniques souvent sélectionnées par des antibiotiques inactifs sur les *staphylocoques* (Brun, 2000).



Figure 14. Infections cutanées (Rogeaux, 2020).

c- les infections endo-vasculaires et valvulaires cardiaques

L'endocardite *staphylococcique* s'observe notamment chez les patients porteurs de valves cardiaques artificielles. Chez les drogués, ce sont des endocardites du cœur droit (Avril et al., 2000).

d- Ostéomyélite :

L'ostéomyélite est plus fréquente chez l'enfant, entraînant frissons, fièvre et douleurs de l'os atteint. Par la suite, les tissus mous sous-jacents deviennent rouges et enflés. Une infection articulaire peut survenir ; et entraîne souvent un épanchement, évoquant une arthrite septique plutôt qu'une ostéomyélite. La plupart des infections des vertèbres et des disques intervertébraux chez l'adulte sont dues à *S. aureus* (Larry et Perez, 2019).

e- Production d'exotoxine :

Ce sont des exotoxines protéiques relativement thermostables et résistantes aux enzymes digestives, agissant sur les récepteurs neurovégétatifs mésentériques. Elles sont caractérisées par leur PM compris entre 27.8 et 34.1 kDa, leurs points isoélectriques et leur sérotypie.

Sur le plan antigénique, huit entérotoxines sont identifiées: A, B, C1, C2, C3, D, E et H. Leur production est assez répandue chez *S. aureus*, elles ne sont élaborées que par certaines souches appelées *staphylocoques* entérotoxigènes (**Avril et al., 2003**).

2-8- Facteurs de risque :

Les sujets prédisposés aux infections à *staphylocoques* comprennent :

- Les nouveau-nés et les mères allaitantes ;
 - Les patients qui ont une grippe, des troubles bronchopulmonaires chroniques (p. ex., mucoviscidose, emphysème), une leucémie, des tumeurs, des maladies chroniques de la peau ou un diabète sucré ;
 - Les patients greffés, qui portent une prothèse implantée, d'autres corps étrangers ou du cathéter intravasculaire en plastique à demeure ;
 - Les patients traités par stéroïdes surrénaliens, irradiation, immunosuppresseurs ou chimiothérapie antitumorale ;
 - Les utilisateurs de drogues injectables ;
 - Les patients insuffisants rénaux chroniques et traités par dialyse ;
- et Les patients présentant des incisions chirurgicales, des plaies ouvertes ou des brûlures (**Larry et Perez, 2019**).

2-9- Prévention :

- Des mesures locales (p. ex., décontamination, débridement)
- Une restauration volémique et une assistance circulatoire
- Antibiothérapie empirique (p. ex., clindamycine plus vancomycine ou daptomycine) en attendant les résultats de la culture

En cas de suspicion de syndrome de choc toxique, les patients doivent être hospitalisés immédiatement et recevoir un traitement intensif. Les tampons hygiéniques, diaphragmes ou tout autre corps étranger doivent être immédiatement retirés.

Les sites primitifs suspects doivent être soigneusement désinfectés. La décontamination comprend :

- Réinspection et irrigation des plaies chirurgicales, même si elles semblent saines
- Débridement répété des tissus dévitalisés
- Irrigation des sites potentiels naturellement colonisés (sinus, vagin) **(Larry et perez, 2019)**

2-10- Techniques de culture:

Il existe des techniques de culture sur milieux sélectifs pour permettre d'évaluer la présence de *Staphylococcus aureus*. Il s'agit des milieux suivants :

2-10-a- Milieu hypersalé de Chapman (à 75 % de NaCl) :

Le milieu de Chapman est particulièrement utilisé, il ne laisse croître au bout de 24 à 48 heures que les *staphylocoques*, germes halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de NaCl jusqu'à 7,5% (qui inhibe pour cette raison, la plupart des autres germes), **(Couture, 1990)**.

Ce milieu sélectif rendu différentiel par l'addition de Mannitol à 1% et d'un indicateur d'acidité, le rouge de phénol, permet à la fois d'isoler le *staphylocoque* à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes et nous oriente vers un *S. aureus* ou un *S. epidermidis* **(Fasquelle, 1974)**.

2-10-b- Milieu de Baird Parker :

En bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le *staphylocoque*, le milieu de Baird Parker est utilisé. Il est à base de téllurite comme agent sélecteur, enrichi en glycine, en pyruvate et en jaune d'œuf. Il faut noter que les milieux sélectifs ne conviennent pas pour isoler les *staphylocoques* de l'air **(Lowy, 1998)**.

2-11- Diagnostic :

2-11-a- Examen direct :

Il se réalise sur culot obtenu par centrifugation. On distingue

- Coloration au bleu de méthylène : cette coloration permet de confirmer la cytologie déjà observée grâce à la cellule de Nageotte. C'est une précaution supplémentaire pour éviter les erreurs de lecture car elle permet de faire une meilleure distinction entre les polynucléaires et les lymphocytes. De plus, cette coloration permet de faire la mise en évidence éventuelle des bactéries (leurs formes et leurs dispositions).

-Coloration de Gram : en plus de la forme et la disposition des bactéries observées au bleu de méthylène, **(Figure 15)** le Gram permet de rechercher l'affinité tinctoriale des bactéries observées **(Aouath, 2009)**.

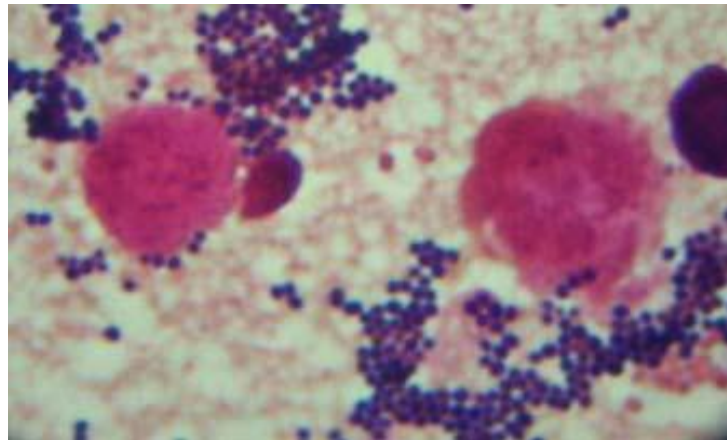


Figure 15. Amas de *staphylocoque* après coloration de Gram **(Hennekinne, 2009)**.

2-11-b- Caractères cultureux :

Peu exigeants sur le plan nutritif, les *staphylocoques* sont aérobies anaérobies facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître), et croissent bien sur les milieux usuels simples, de même que sur la plupart des milieux qui favorisent la croissance des bactéries à Gram positif **(Fasquelle, 1974)**.

Les *staphylocoques* se développent rapidement à 37°C sur les milieux usuels et la plupart des souches de *S. aureus* élaborent un pigment qui donne une couleur jaune-orangé aux colonies **(figure 16)** **(couture, 1990)**.



Figure 16. Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu Chapman **(Aouath, 2009)**.

2-11-c- Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques (**Guiraud, 1998**).

- Catalase :

Test de la catalase Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction suivante



Ce test permet de différencier les *staphylocoques* catalase (+) des *streptocoques* catalase (-) et intervient aussi dans le mécanisme de résistance à la bactéricide (**Chaala, 2013**).

- Coagulase :

La propriété de *Staphylococcus aureus* à provoquer la coagulation d'un plasma (**Figure 17**) est due à la sécrétion d'une protéine extracellulaire ; la Staphylocoagulase ou la coagulase.

La recherche de la Staphylocoagulase est le test essentiel qui permet de distinguer les souches potentiellement pathogènes, car la Staphylocoagulase joue un rôle central dans le pouvoir pathogène des *Staphylocoques*, en leur permettant de lutter contre les anticorps opsonisants et la phagocytose (**Le loir et Gautier, 2010**).

- Tests d'agglutination :

Plusieurs tests d'agglutination détectant un ou plusieurs antigènes ou récepteurs de surface (récepteur pour le fibrinogène, protéineA, antigènes capsulaires) sont commercialisés.

En pratique, il est recommandé d'utiliser deux tests pour l'identification de *S. aureus* qui sont la détection de la coagulase et un test d'agglutination (**figure 18**) Toute discordance entre les deux devra conduire à une identification biochimique (**Isabelle, 2019**).

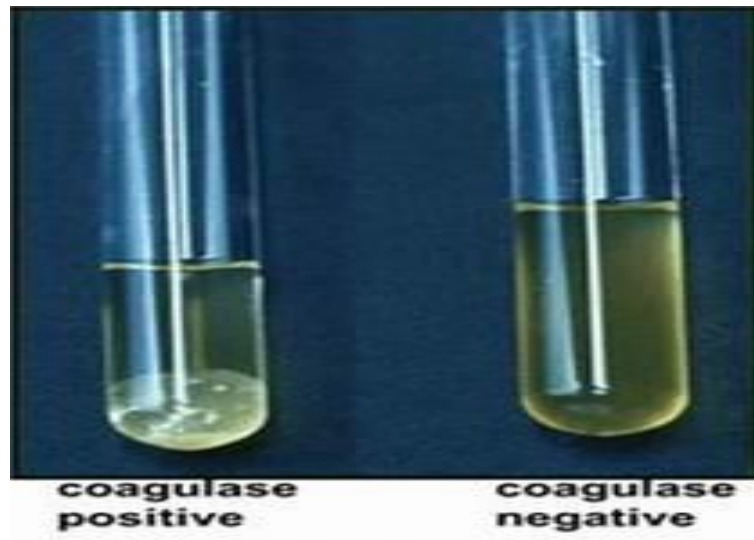


Figure 17. Présence et l'absence de coagulation (Ghislaine, 2015).

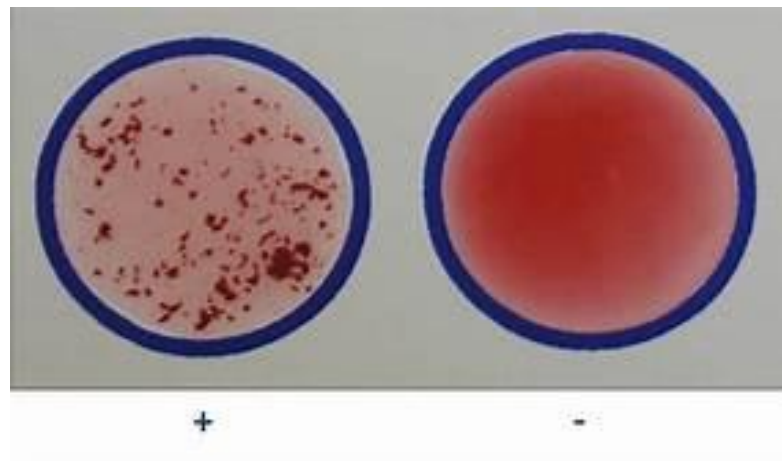


Figure 18. Présence et l'absence d'agglutination (Ghislaine, 2015).

Partie II :

Matériels et Méthodes

1-Objectifs :

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Microbiologie et le laboratoire de biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de la biologie Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

Les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale sont tout d'abord de procéder à une extraction par macération des principaux composés bioactifs de la plante médicinale testée (*Salvadora Persica*) par usage d'eau distillée et suivre son effets antimicrobiens sur des souches de référence pures ; *Candida albicans* (ATCC 10234) et *Staphylococcus aureus* (ATCC33862).

2-Matériel végétal :

A la fin du mois de septembre 2020, des prises d'échantillons de *Salvadora Persica*, à raison de cinq (05) arbustes, ont été prélevés, respectivement, d'une manière aléatoire, dans la région d'Arak, à Ain Salah au Sud d'Algérie (**Figure 19**). Une fois prélevés, les arbustes de Miswak sont par la suite coupés en bâtonnets de tige de 10 à 12 cm de longueur, étalés sur du papier journal, séchés à l'air ambiant durant deux semaines, puis traités aux rayons UV dans une hôte afin de détruire tous germes de contamination et enfin stockés à -18C jusqu'aux analyses ultérieures.

3-Préparation des disques d'antibiogramme :

Les disques d'antibiogramme son confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 6mm de diamètre, et pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques seront stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

4-Activation de l'inoculum microbien :

L'étude concerne les deux souches purs (*candida albicans* et *Staphylococcus aureus*) Chaque espèce est tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale.

Une colonie est tout d'abordensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution constituant la solution d'inocula a été prise pour être ensuiteensemencée en surface d'une boîte de pétri contenant le milieu gélosé de Saboguraud spécifique pour la croissance de l'espèce microbienne *candida albicans* et

Chapman pour la croissance de l'espèce *Staphylococcus aureus* les mélange sont enfin incubé à 37°C pendant 24 heures (**Figure 20**).



Figure 19. Zone du prélèvement de la matière végétale de *Salvadora Persica*

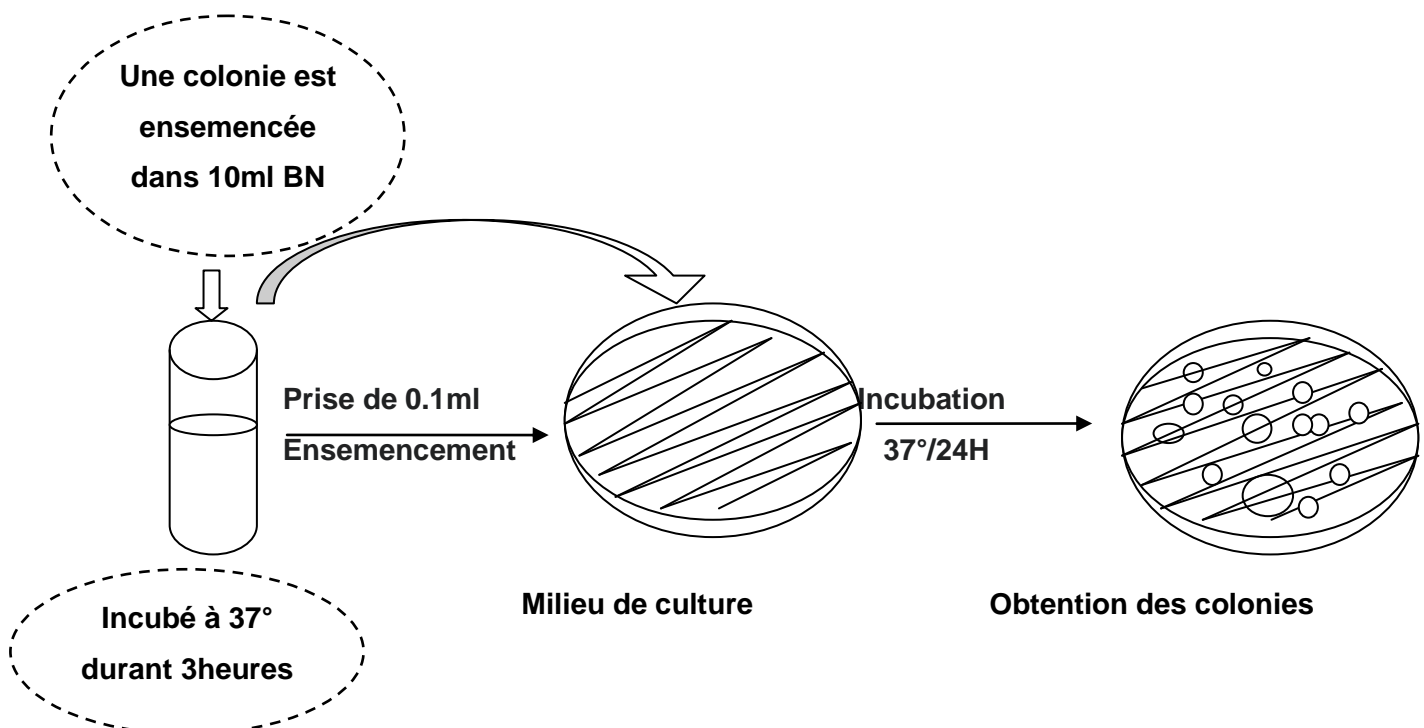


Figure 20. Activation des souches *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*

5-Procédé d'extraction :

Pour l'extraction des principaux composés contenus dans notre plante testée à savoir *Salvadora Persica* on a opté pour l'utilisation d'une méthode d'extraction 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 macérer La poudre de la plante (10g dans 100 ml l'd'eau distillée) pendant 6 heures sous agitation à la température ambiante.

Après décantation du mélange, l'extrait hydrique est récupéré par filtration sur papier Wattman. Le résidu est ensuite concentré par évaporation rotative dans un Rota vapeur à 40°C (Figure 21) Le filtrat est ensuite récupéré dans des flacons et conservé à 4°C jusqu'à leur utilisation (Sultana et al., 2009).

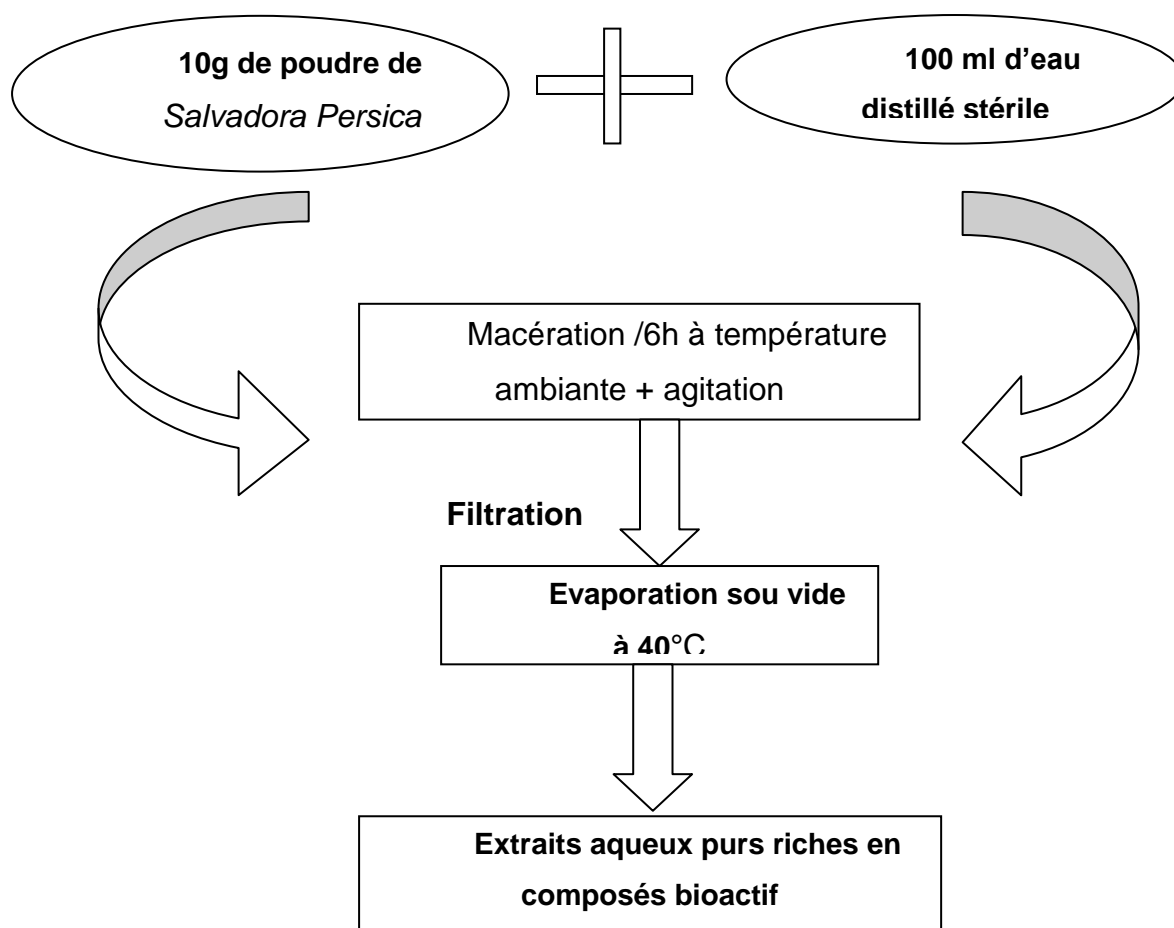


Figure 21. Procédé d'extraction de l'extrait aqueux de *Salvadora Persica*

L'extraits purs riches en composés bioactifs récupérés et enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement (**Tableau 05**)

Tableau 05. Concentration de solution expérimentale des extraits à l'eau de de *Salvadora Persica*

Solution	00%	20%	40%	60%	80%	100%
Quantité d'extrait aqueux pure	00ml	02ml	04ml	06ml	08ml	10ml
Qualité d'eau distillée	10ml	08ml	06ml	04ml	02ml	00ml

6-Etude de l'effet antibactérien des extraits de *Salvadora Persica*:

6-1- Méthode de contact direct :

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique et prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune et ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de BN, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures.

A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue l'inoculum d'une espèce donnée, des dilutions décimales ont été effectuées allant jusqu'à 10^{-4} pour les deux souches étudiées

Des prélèvements de 01ml de chaque dernière dilution décimale de 10^{-4} ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait *Salvadora Persica* dilué à l'eau distillée, ainsi que dans une solution d'eau distillé stérile, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boites de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance pour chaque espèce microbienne.

La lecture du nombre de colonies développé est effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (**Figure 22**) (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

6-2- Méthode des disques par diffusion sur gélose :

La méthode de diffusion ou des disques en milieu solide est la plus simple. Elle consiste à ensemencer en surface d'un milieu solide par inondation de la souche à tester. Puis à déposer 3 disques de papier wathman n°3 comprenant un antibiotique Gentamicine pour la *Staphylococcus* et un antifongique la fungizone pour le *Candida albicans* à une certaine concentration.

Après solubilisation de l'antibiotique par l'humidité du milieu gélosé, il s'établit un gradient de concentration qui varie avec le temps.

La boîte ainsi préparée est mise à incuber pendant à 37°C. Il est possible de voir la croissance bactérienne (au milieu de la boîte) ainsi que des zones d'inhibition de la croissance circulaires, à proximité de chaque disque

Plus la zone d'inhibition est grande, plus grande est la sensibilité de la souche bactérienne testée vis-à-vis de l'antibiotique étudié et aussi pour la souche fongique testée vis-à-vis de l'antifongique étudié. Chaque zone peut être mesurée selon divers moyens: règle, compas, pied à coulisse. (**Philippon, 2020**)

Des prises de volume de 1ml de l'inoculum ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu MH. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque extrait obtenu, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique Gentamicine pour la *Staphylococcus* et la fungizone pour le *Candida albicans* sont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétrie contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe approprié (**Figure 23**) (**Prescott et al., 2003**).

6-3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

La CMI constitue un élément essentiel de la relation entre un antibiotique et des micro-organismes. Elle se définit comme la plus petite concentration d'un antibiotique permettant d'inhiber une bactérie / un champignon et permet de mesurer la sensibilité de l'agent pathogène à un antibiotique.

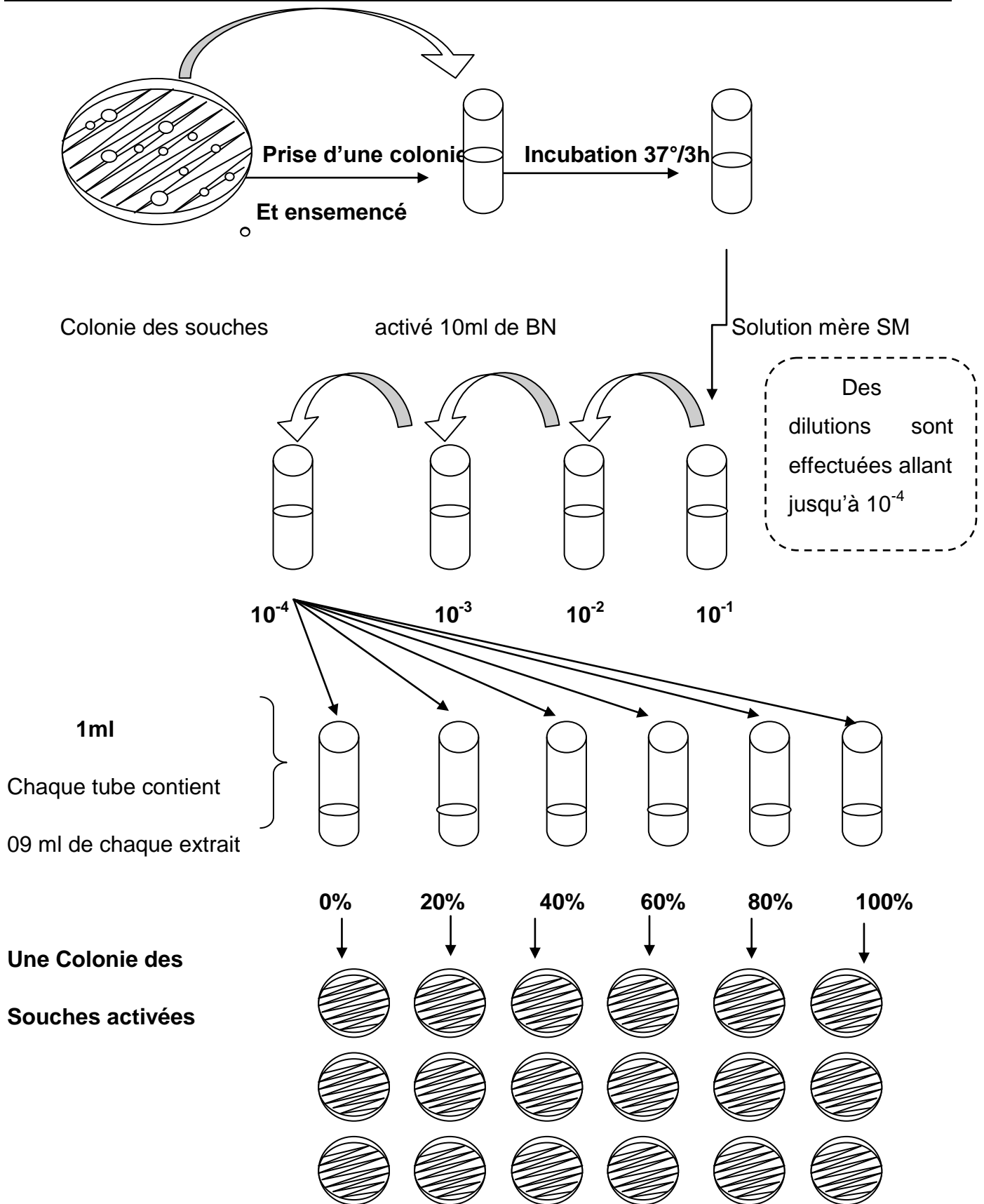


Figure 22. Méthode de contact direct

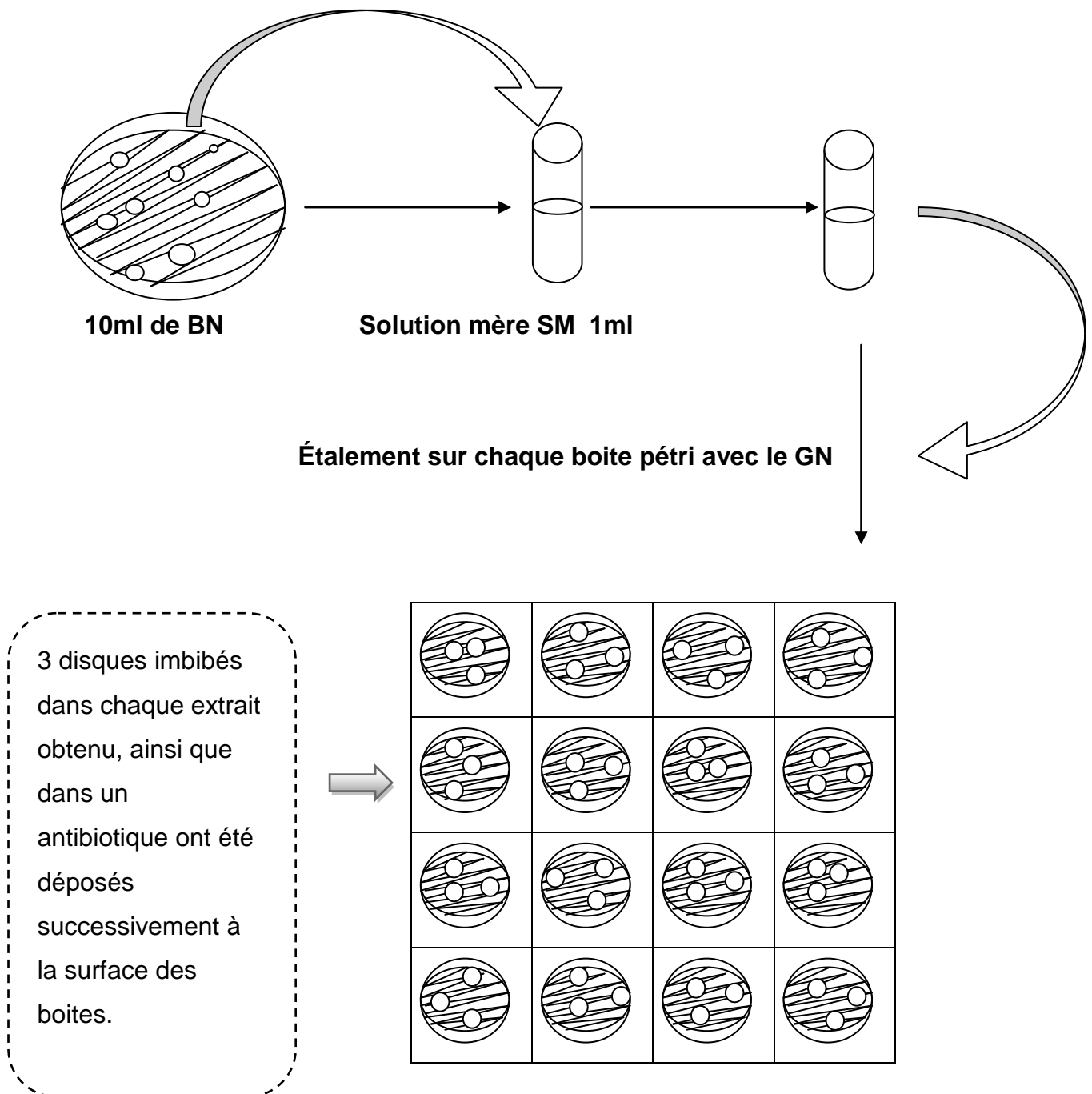


Figure 23 .Méthode des disques par diffusion sur gélose.

Les CMI sont utilisées pour mesurer la sensibilité d'un agent pathogène à un éventuel traitement antibiotique in vitro

- Une CMI faible indique une plus grande sensibilité à l'antibiotique
- Une CMI élevée indique une sensibilité plus faible et un risque de résistance vis-à-vis de l'antibiotique

Cependant, l'interprétation de la valeur de la CMI dépend de l'antibiotique et de l'agent pathogène **(Denis et al., 2011)**.

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits à l'eau de la matière végétale *Salvadora Persica* qui est utilisé pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*

Une colonie jeune de chaque souche à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif ont 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 pure ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures **(Figure 24) (Moroh et al., 2008)**.

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

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

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

-S : Taux De survie du microorganisme en %.

- $d_f - d_i$: différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

- $D_f - D_i$: différence de densité optique sans extraits de *Salvadora Persica* avant et après incubation à 37°C durant 18 heures **(Kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007)**.

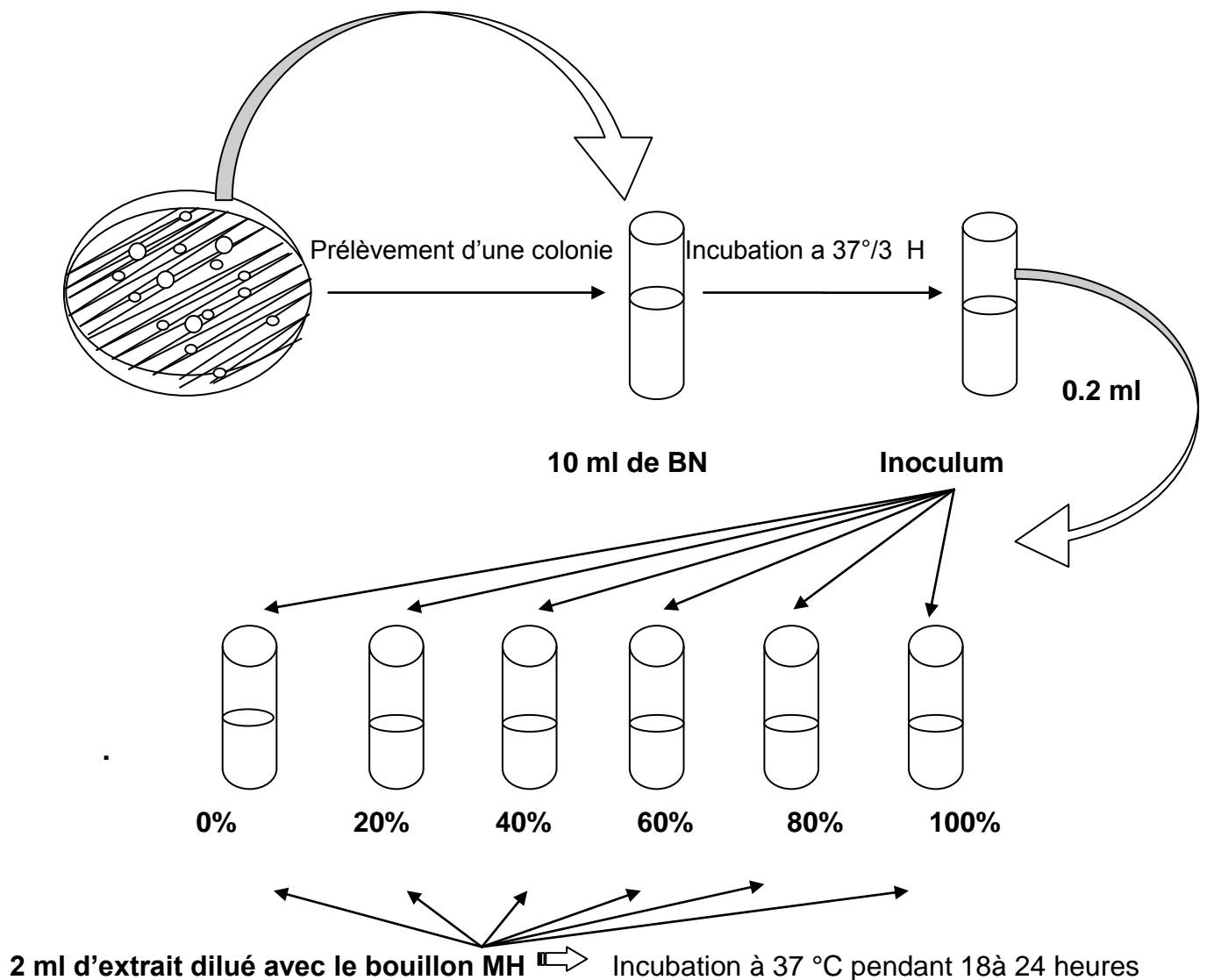


Figure 24. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

6-4- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

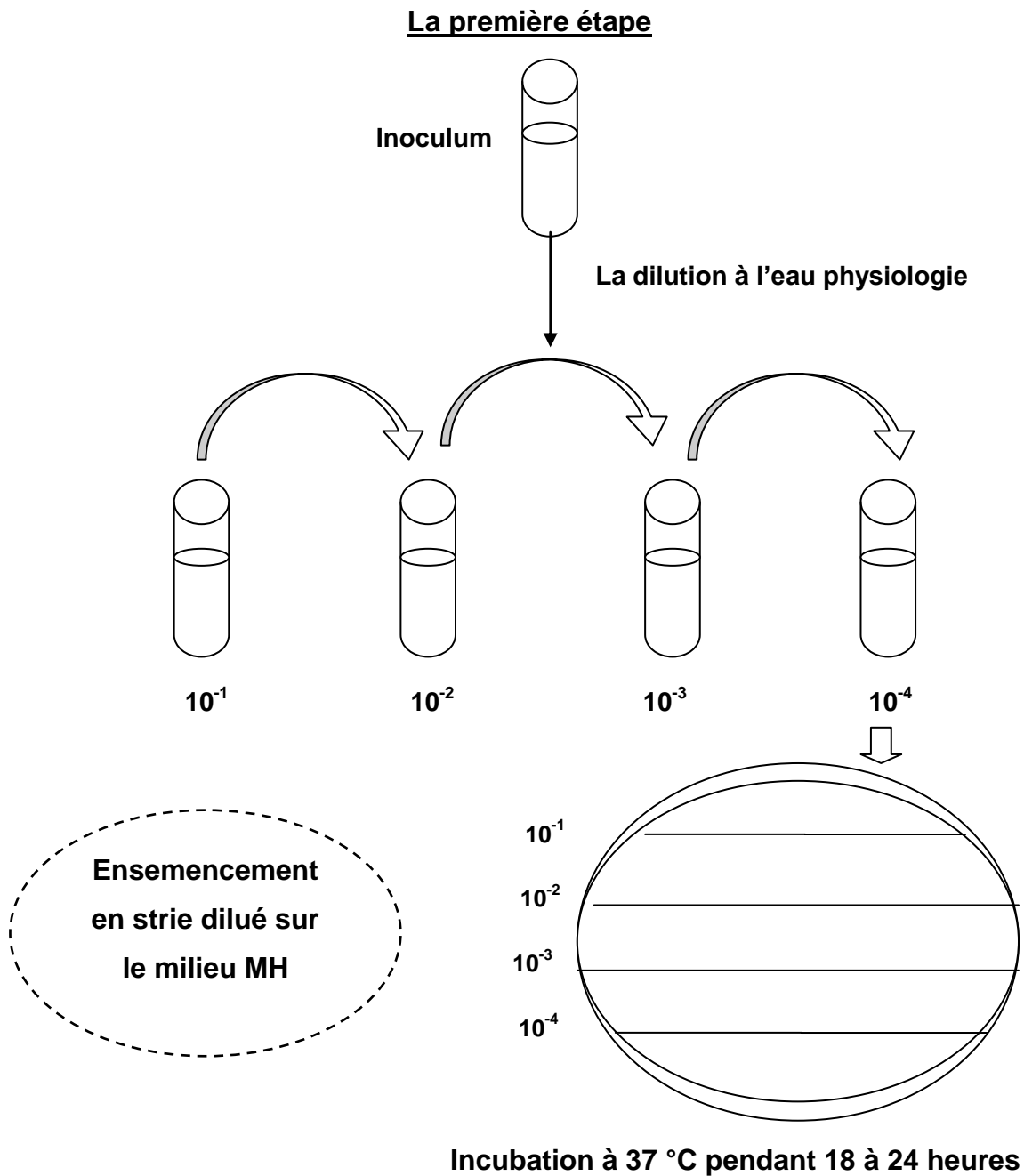
La concentration minimale bactéricide d'une espèce de représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (**Moroh et all., 2008**).

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 est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant les solutions d'extraction et l'inoculum ayans servis à la détermination de la CMI après 24 H d'incubation ont été également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures.

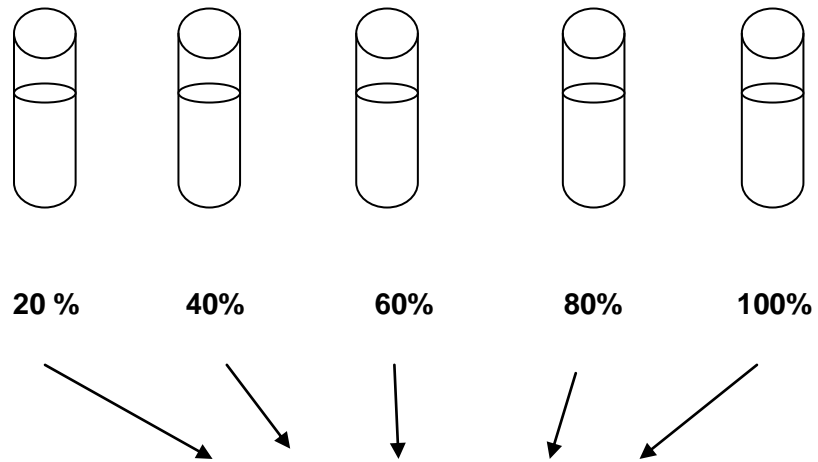
Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB (**Figure 25**).

7- Calculs statistiques :

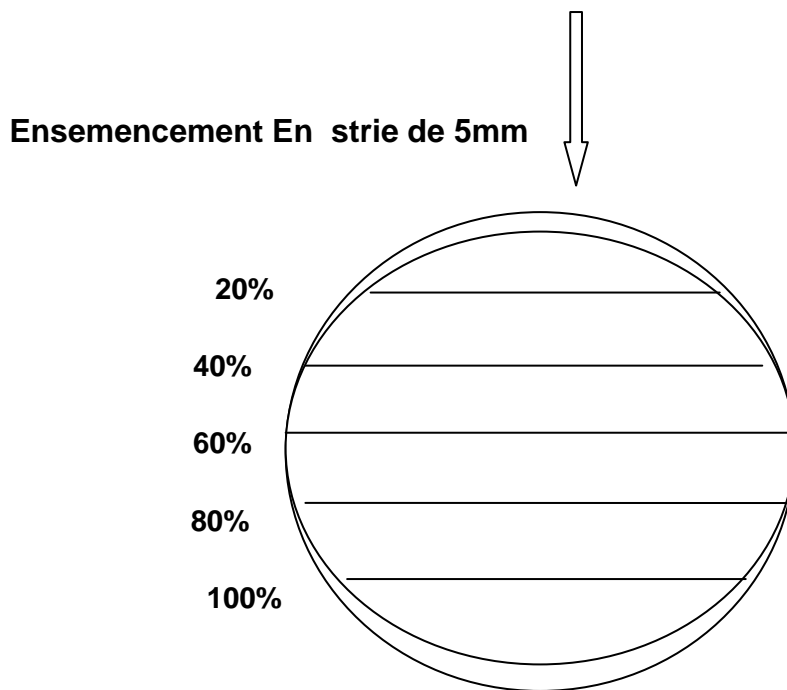
Les résultats obtenus ont subi une analyse de variance mono factorielle en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls (**Stat box 6.4**).



La deuxième étape



Ces tubes contenant les solutions d'extraction et l'inoculum ayans servis à la détermination de la CMI après 24 H d'incubation



Incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures

Figure 25. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).

Partie III :

Résultats et discussion

1- Résultats:

1-1- *Candida albicans* :

Le fungizone dénote un meilleur diamètre d'inhibition ($p < 0.01$) chez *Candida albicans* (58 mm, en moyenne) par comparaison aux autres solutions expérimentales d'extrait de *Salvadora Persica*. Par rapport à ce fongicide, le diamètre d'inhibition obtenu chez l'espèce de levure étudiée avec les solutions d'extrait aqueux de Miswak préparées à 100, 80, 60, 40 et 20 % sont faibles ($p < 0,01$) ; 11 , 11.50, 10.66, 10.06 et 10,26 mm, en moyenne, respectivement. Cependant, tous les diamètres d'inhibition développés par les solutions d'extrait préparées à 20, 40, 60, et 80 % chez *Candida albicans* après 24 heures de culture s'avèrent statistiquement identique mais aussi restent inférieurs à celui de la fungizone (58mm en moyenne). L'analyse de la variance montre l'effet majeur des différentes concentrations d'extrait à l'eau de *Salvadora Persica* sur la variation des diamètres d'inhibitions chez *Candida albicans* après culture de 24 heures sur milieu GN à 37C°.

La variation du niveau d'inhibition des solutions d'extrait aqueux de *Salvadora Persica* chez *candida albicans* est marquée par des taux d'inhibition moyen et comparable « 17,69-17,35-18,38-18,96-19,82% » respectivement à des dilutions de 20, 40, 60, 80 et 100 % , successivement. L'analyse de la variance montre l'absence d'effet de la solution d'extrait de *Salvadora Persica* sur les variations des taux d'inhibitions chez l'espèce *Candida albicans*.

La réduction de la croissance de cette espèce fongique comparativement au témoin « $47 \cdot 10^4$ UFC/ml » a été ressentie tout d'abord à 20 % d'extrait de Miswak « 10^5 UFC/ml », ensuite la baisse de sa prolifération a été plus prépondérante dans la solution préparée à 40 % d'extrait avec $52 \cdot 10^2$ UFC/ml. Cependant, et d'une façon générale, aucune croissance du germe n'a été remarquée sous l'effet des solutions préparées à des concentrations de 60 80 et 100%. Les Concentrations de l'extrait de *Salvadora* de 20 et 40% laissent un seuil de survie du

germe *Candida albicans* ; alors que pour des concentrations de 60, 80 et 100% aucune croissance du germe n'est observée. C'est donc à partir de la concentration de 60% que la croissance est Inhibée. La concentration de 60% constitue donc la concentration minimale inhibitrice (CMI) du germe étudié *Candida albicans*. La concentration minimale fongicide (CMF) de l'espèce microbienne *Candida albicans* a été obtenue avec la concentration d'extrait de la plante de 60%.

D'après le rapport CMF/CMI égale à 01 l'extrait à l'eau de *Salvadora Persica* exerce un effet inhibiteur de type fongicide vis-à-vis de la souche étudiée *Candida albicans* (**Tableau.06**).

Tableau 06. Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de *Salvadora Persica* chez *Candida albicans*.

Germes	Mesures	Fungizone	Concentrations de l'extrait à l'éthanol de <i>Salvadora Persica</i>						Effets des différentes solutions
			100%	80%	60%	40%	20%	0% Témoin	
<i>Candida albicans</i>	Diamètre d'inhibition (mm)	58.00 ^a ± 00.00	11.00 ^b ± 02.00	11.50 ^b ± 00.50	10.66 ^b ± 01.15	10.06 ^b ± 00.05	10.26 ^b ± 00.05	-	P<0.01
	Taux d'inhibition (%)	-	18.96 ± 03.45	19.82 ± 04.86	18.38 ± 01.98	17.35 ± 00.09	17.69 ± 00.09	-	NS
	Niveau de Croissance (UFC/ml)	-	00.00 ^a	00.00 ^a	00.00 ^a	52 10 ^{2b}	10010 ^{3c}	47 10 ^{4d}	P<0.01
	CMI		60						
	CMF		60						
	Rapport CMF/CMI		1						
	Type d'inhibition		Fongicide						

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; Témoin : Eau (0MEAG/ml) ou Fungizone; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.2. *Staphylococcus aureus*

La gentamicine présente un haut diamètre d'inhibition ($p < 0.01$) chez *Staphylococcus aureus* (63 mm, en moyenne) par comparaison aux autres solutions expérimentales d'extrait de *Salvadora Persica*. Par rapport à ce bactéricide, le diamètre d'inhibition obtenu chez l'espèce étudiée a varié significativement ($p < 0.01$) de « 14 à 13 à 12,66 à 11,33 et à 10,50 mm » avec les variations des concentrations d'extrait de Miswak de 100 à 80 à 60 à 40 et à 20 %, respectivement. Cependant, tous les diamètres d'inhibition développés par les extraits préparés à 20 40 60 et 80 % chez *Staphylococcus aureus* après 24 heures de culture sont presque identiques et inférieurs à celui de la gentamicine 58 mm en moyenne.

La variation du niveau d'inhibition des concentrations d'extrait de *Salvadora Persica* chez *Staphylococcus aureus* s'est démarquée par des taux d'inhibitions similaires « 16,73-17,98-20,10-20,63-22,21% » avec les différentes dilutions 20 40 60 80 100 % en extrait aqueux de la plante.

L'analyse de la variance montre l'absence d'effet de la solution d'extrait de *Salvadora Persica* sur les variations des taux d'inhibitions des d'espèce *Staphylococcus aureus*.

La réduction de la croissance de cette espèce bactérienne *Staphylococcus aureus* comparativement au témoin « $57 \cdot 10^4$ UFC/ML » a été ressentie déjà à 20 % d'extrait de Miswak « $51 \cdot 10^4$ UFC/ml » ensuite la baisse de la croissance microbienne a été plus prononcée dans les solutions préparées à 40 % ($30 \cdot 10^4$ UFC/ml) et à 60% d'extrait ($66 \cdot 10^3$ UFC/ml). Par ailleurs, aucune croissance du germe étudié n'a été enregistrée à des solutions d'extrait de la plante préparées à 80 et 100%. La concentration de 60% d'extrait de *Salvadora Persica* constitue la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou la croissance de *Staphylococcus aureus* est totalement inhibée. Par ailleurs, la CMB chez cette espèce microbienne a été remarquée avec la concentration de 60% d'extrait de Miswak.

Le rapport CMB/CMI égale à 01 (CMB/CMI<2) montre bien que l'extrait à L'eau de *Salvadora Persica* exerce un effet inhibiteur de type bactéricide chez *Staphylococcus aureus* (Tableau 07).

Tableau 07. Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de *Salvadora Persica* chez *Staphylococcus aureus*.

Germes	Mesures	Gentamicine	Concentrations de l'extrait à l'éthanol de <i>Salvadora Persica</i>						Effets des différentes solutions
			100%	80%	60%	40%	20%	0% Témoin	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Diamètre d'inhibition (mm)	63.00 ^a ± 00.00	14.00 ^b ± 01.00	13.0 ^b ± 01.00	12.66 ^b ± 00.57	11.33 ^c ± 00.58	10.50 ^c ± 00.50	-	P<0.01
	Taux d'inhibition (%)	-	22.2 ^a ± 01.58	20.6 ^{ab} ± 01.59	20.10 ^{ab} ± 00.91	17.98 ^c ± 00.91	16.73 ^c ± 00.89	-	P<0.01
	Niveau de Croissance (UFC/ml)	-	00.0 ^a	00.0 ^b	66 10 ^{3c}	30 10 ^{4d}	51 10 ^{4e}	57 10 ^{4e}	P<0.01
	CMI	80							
	CMB	80							
	Rapport CMB/CMI	1							
	Type d'inhibition	Bactéricide							

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; Témoin : Eau (0MEAG/ml) ou Gentamicine ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

2. Discussion:

L'extrait aqueux de Miswak de *Salvadora Persica* a induit des diminutions significatives $p < 0.001$ de la croissance de *Candida albicans* et de *Staphylococcus aureus*.

Par comparaison au témoin la diminution de la croissance des espèces microbiennes étudiées commencent à apparaître à 20% et 40% d'extrait et elle s'estampe totalement avec les dilutions d'extrait préparées à 80 et 100 %.

L'effet antimicrobien de l'extrait de la plante étudié est confirmé par les zones d'inhibitions développées chez ces microorganismes dont les diamètres ont varié proportionnellement de 10 à 14 mm avec l'augmentation de 20 à 100% de la concentration d'extrait de Miswak.

D'après (Lwis et Elvin., 1977 ; Darout et al., 2000 ; Al'bagich et al., 1994 ; Al-lafi et Abanech, 1995 ; Almas et Al-Zeid, 2004 ; Naseem et al. 2014) *Salvadora persica* contient plusieurs substances possédant des propriétés antibactériennes contre de nombreux microorganisme cariogènes dont *Staphylococcus epidermidis* , *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus mutans*

Selon (Ezmirly et al. 1979) c'est surtout la présence d'huiles essentielles dans le Miswak qui est à l'origine de l'effet antimicrobien avéré contre de nombreux micro-organismes. D'autres composés bioactifs du Miswak (*Salvadora persique*) ayant de forts pouvoirs antimicrobiens contre de nombreux microorganismes ont été rapportés par de nombreux auteurs dont le Fluor, le Soufre, le Bicarbonate de sodium, la Silice, les Tanins, la salvadorine, les Saponosides, les Résines, la Vitamine C (Al Sadhan et al., 1999 ; Mariod et al., 2009).

L'analyse de la CMI et de la CMF montre que *Candida albicans* est sensible à 60 % d'extrait de Miswak et d'après le rapport CMF/CMI égale à 1 et inférieur à 2 l'extrait de Miswak exerce un effet antimicrobien de type fongicide vis-à-vis de l'espèce microbienne étudiée «*Candida albicans* » (Marmonier, 1990 ; Oliver, 2007). Par ailleurs, *Staphylococcus aureus* semble très sensible à 80 % d'extrait de Miswak qui a exercé un effet inhibiteur de type bactéricide chez cette espèce bactérienne.

Des études in-vitro réalisées par (Al-Bagieh et al., 1994 ; Al-Lafi et al., 1995) sur la flore buccale montrent que le Miswak empêche la croissance de plusieurs bactéries aérobies et anaérobies, ainsi que de *Candida albicans*. L'inhibition in vitro de tels extraits sur la formation de la plaque dentaire ainsi que sur la croissance et la production d'acides par diverses

bactéries cariogènes a été également signalée par plusieurs autres auteurs (**Elvin, 1980 ; Al Sadhan et al., 1999**)

En outre Beaucoup de résultats d'études ont montré de manière significative l'effet antibactérien et anti-plaque du Miswak, et par conséquent son efficacité contre certaines pathologies buccales dont caries dentaires, parodontites, gingivites...etc (**Al-Bagieh et al., 1994 ; Naseem et al., 2014**).

Cette effet antimicrobien des composés actifs contenus dans le Miswak peut être expliqué par sa propriétés particulières citées par de nombreux auteurs dont antibactériennes, antioxydant (**Noumi et al., 2010**), antiviral, analgésique, anti-inflammatoire, anti-pyrétique, diurétique (**Galletti et al., 1993**), anti-caries, anti-maladies parodontales et antifongiques (**Al-Bagieh et Almas et al., 1997**).

En plus de ce composant, des éléments inorganiques tels que le Fluorure, le Calcium et le Phosphore, vont participer à l'effet bénéfique du Miswak. En effet, ces derniers vont permettre de reminéraliser les structures fragilisées de la dent. D'autres métabolites bioactifs sont identifiés comme contribuant à l'efficacité de cet outil bucco-dentaire tels que les alcaloïdes, les acides, les tannins, les saponins, la vitamine C... Plusieurs de ces produits chimiques confèrent également un goût légèrement amer à la mastication, ce qui active le flux de salive, agissant comme antiseptique (**Niazi et al., 2016**).

Il a été noté que la salive joue un rôle important pour la libération des composés volatiles aromatiques contenus dans la plante, notamment grâce à sa composition complexe en enzyme (**Farag et al., 2017**).

Conclusion générale

Conclusion :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, il apparaît que l'extrait aqueux de *Salvadora Persica* exerce une activité antimicrobienne et antifongique intéressante contre *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*.

Toutefois, l'effet inhibiteur de cet extrait de la plante est moindre par rapport à la fungizone et à la gentamicine même à de fortes concentrations de 100% ; 58 vs 11 mm et 63 vs 14 mm, respectivement.

La CMI a été obtenue chez *Candida albicans* à une concentration de 60% d'extrait aqueux de Miswak et à une concentration de 80% chez *Staphylococcus aureus*.

Par ailleurs, la CMF chez *Candida albicans* a été constaté à 60% d'extrait de *Salvadora persique* et 80% chez *Staphylococcus aureus*.

Apparemment, l'extrait a exercé des effets antimicrobiens de type fongicide et de type bactériostatique contre la croissance de *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*.

En perspectives, il serait très intéressant d'orienter d'autres travaux de recherche sur la caractérisation des principaux composés actifs constituant l'espèce *Salvador persique* afin de mettre en évidence leurs éventuelles propriétés antibactériennes tout en essayant d'élargir l'éventail des espèces microbiennes à tester et responsables de nombreuses pathologies.

Liste de référence :

Agathe M. Hygiène dentaire : la brosse à dent, un véritable nid à microbes. 2014 disponible sur internet : <https://www.topsante.com/medecine/dents-bouche/hygiene-bucco-dentaire/hygiene-dentaire-la-brosse-a-dent-un-veritable-nid-a-microbes-57587>

Ait Chaabane O. « Etude des effets antimicrobiens des extraits bruts, phénoliques et à base d'huiles essentielles du Miswak (*Salvadora persica*) sur les microorganismes responsables des infections buccales (caries dentaires, gingivite, parodontite, candidoses...etc. ». Thèse de Doctorat en Sciences FILIÈRE : Sciences Agronomique OPTION : Biotechnologie Végétale » Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 2018.187p.

Al Sadhan RI, Almas K. Miswak (chewing stick): a cultural and scientific heritage. Saudi Dent. J. 1999; 11(2):80-87.

Al-Bagieh NH, Almas K. In vitro antibacterial effects of aqueous and alcohol extracts of miswak (chewing sticks). Cairo Dent J 1997; 13:221-224.

Al-Bagieh NH, Idowu A, Salako NO. Effect of aqueous extract of miswak on the in vitro growth of *Candida albicans*. Microbios 1994; 80:107-113.

Al-Bayaty FH, Al-Koubaisi AH, Ali NA, Abdulla MA. Effect of mouth wash extracted from *Salvadora persica* (miswak) on dental plaque formation: A clinical trial. J Med Plant Res. 2010;4:1446–54.

Al-lafi T, Ababnech H. The effet of the extract of the miswak (chewing sticks) used in Jordan and the middle east on oral bactéria.Int Dent J 1995; 45:218-222.

Almas K, Al-Zeid Z. The immediate antimicrobial effect of a toothbrush and miswak on cariogenic bacteria: A clinical study. contemporary dental practice J 2004; 5:105-114.

Almas K, Skaug N, Ahmad I. « An in vitro antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses ». International journal of dental hygiene 2005; 3(1):18-24.

Almas K. The antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. Odonto Stomatologie Tropicale 2001; 96: 17-20.

Anne C. Journal des femmes. 2019 disponible sur internet : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2514813-candida-albicans-definition-traitement-symptomes/>

_Anonyme. ENCYCLOPEDIA. 2012 disponible sur internet : https://www.encyclo-ecolo.com/Salvadora_Persica

Aouati H. « Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques ». thèse de doctorat présentée pour l'obtention du Diplôme de Magister en Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Université Mentouri. Constantine. 2009. p123.

Avril J L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H. Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. ellipses, Paris. 2003.8-28.

Avril J L , Dabernath H, Denis F . Bactériologie clinique. Ellipses Paris, 200. 602p.

Baudraz-Rosselet, F., Ruffieux, C., Lurati, M., Bontems, O., & Monod, M. (). Onychomycosis Insensitive to Systemic Terbinafine and Azole Treatments Reveals Non-Dermatophyte Moulds as Infectious Agents. *Dermatology*, 2010; 220(2) :164–168.

Bourgeois CM, Leveau JM. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Le contrôle microbiologique. Technique et documentation. Apria 1980 ; 3 :331

Brun Y, Bes M et Vandenesck F. *Staphylococcus*. In: FRENEY J, HASEN W ET BOLLET C, eds. Précis de bactériologie clinique. Paris : Eska, 2000 ; 795-819.

Buffo J, Herman M A and Soll, D. R., A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia* 1984. 85:21-30.

Cardinale V. « ES CANDIDOSES VAGINALES RECIDIVANTES À CANDIDA ALBICAN » thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie ; UNIVERSITÉ HENRI POINCARE - NANCY 1 . FACULTÉ DE PHARMACIE ;2001 .154p.

Chaalal W. Occurrence et profil d'antibiorésistante des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de magistère. faculté des sciences. Université d'Oran 2013.

Chabasse habasse D, GUIGUEN CI, CONTET-AUDONNEAU N., Mycologie médicale. Les abrégés. Paris, Masson, 1999. 320p.

Charlotte T. Candidose buccale : quand la mycose infecte la bouche ;2015

Cheftel J C, Introduction à la Biochimie et à la technologie alimentaire. Technologie et documentation. 1980 ; Vol 1: 329P.

Coste A., Linas M D, Cassaing S, Bernad J, Chalmeton S, Seguela, J P. and Pipy B, A sub-inhibitory concentration of amphotericin B enhances candidastatic activity of interferongamma- and interleukin-13-treated murine peritoneal macrophages. J Antimicrob Chemother 2002. 49: 731-740

Couture B. Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 1990 ; 15-32.

Darout IA, Christy AA, Skaug N, Egeberg PK. Identification and quantification of some potentially antimicrobial anionic components in miswak extract. Indian J Pharmacol 2000; 32: 11–14.

Darout IA, Skaug N, Albandar JM. Subgingival microbiota levels and their associations with periodontal status at the sampled sites in an adult Sudanese population using miswak or toothbrush regularly. Acta Odontologica. 2003;61:115–22.

Delarras C. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier.P, 2007 ; 128 :129-269.

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, Quentin R. Bactériologie Médicale, Techniques Usuelles. Editions Masson, Paris. 2011: 640.

Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M and the SENTRY Participants Group 2001. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pasific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 32: S114-S132.

Dorman D, Deans SG. Antimicrobial agents from plants :antibactériactivity of plant volatile oils. Journal of appliedmicrobiology 2000; 88 :308-316.

Douib I, Slimani S. « Extraction et mise en évidence du pouvoir antibactériens chez *SALVADORA PERSICA* ou SIWEK ».Mémoire de Master :Université des Frères Mentouri Constantine,2015.52p.

Doyle A G., Herbein G, Montaner L J, Minty A J, Caput, D, Ferrara P. and Gordon, S., Interleukin-13 alters the activation state of murine macrophages in vitro: comparison with interleukin-4 and interferon-gamma. Eur J Immunol 1994. 24: 1441-1445.

Edwards JE, Jr, Bodey GP, Bowden RA, et al. International Conference for the Development of a Consensus on the Management and Prevention of Severe *Candida* Infections. Clin Infect Dis 1997 ; 25 : 43-59.

Eloy Gosselin O. diagnostic et épidémiologie des infections de *candida albicans*. thèse de doctorat de l'université Paris. BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE. 14 juin 2006; 259p.

Elvin-Lewis M. Plants used for teeth cleaning throughout the world. J. Prevent Med 1980; 6: 61-70.

Encyclopédie Médicale- Medix of healthcare, 2014; disponible sur internet : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02468470/document>

Ezmirly ST, Cheng JC, Wilson SR. Saudi Arabian medicinal plants: *Salvadora persica*. Planta Med 1979; 35:191-192.

Farag MA, Fahmy S, Choucry MA, Wahdan MO, Elsebai MF. Metabolites profiling reveals for antimicrobial compositional differences and action mechanism in the toothbrushing stick «miswak » *Salvadora persica*. J Pharm Biomed Anal. 30 janv 2017;133:32-40.

Fasquelle R. Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris.1974. 27-36.

Galletti GC, Chiavari G, Kahie YD. Pyrolysis/gas chromatography/ion-trap mass spectrometry of the "tooth brush" tree (*Salvadora persica* L.). Rap Com Mass Spectrometry 1993; 7:651-655.

Gazi M, Saini T, Ashri N, Lambourne A. Miswak chewing sticks versus conventional toothbrush as an oral hygiene aid. Clin Prev Dent 1990; 42:19-23.

Ghali K et Mostefai N, « Isolement, identification et étude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolés dans différents service de Lakhdaria » MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER, Spécialité : Biochimie Appliquée, UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA. 2019,87p.

Ghislaine D. AEMIP -*Staphylococcus aureus*. Caractéristiques bactériologiques – Facteurs de virulence. 2015.

Gould D, Chamberlaine A. *Staphylococcus aureus*: a review of the literature. J Clin Nurs 1995; 4:5–12.

Guiraud J P. Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris ;1998: 163 505.

Halawany HS. A review on miswak (*Salvadora persica*) and its effect on various aspects of oral health Saudi Dent. J.2012;24 (2): 63-69.

Hamri A .et Brinis A, Effets antimicrobiens des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Candida albicans* responsable des infections uro-génitales, Mémoire de fin d'études-Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Spécialité: Microbiologie Fondamentale, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem ; Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) Université de Mostaganem., 2018.88p

Hennekinne J A. nouvelles approches pour la caractérisation des toxi infections alimentaires a staphylocoques a coagulase positive, thèse de doctorat.Paris, 2009 : pp.16-17.

Hilal A et Rajagopal K. *Salvadora persica* L. (Meswak) in dental hygiene. The Saudi Journal for Dental Research.2014;(5)2:130-134.

Isabelle G. Cours de Bactériologie Médicale.2019,disponible sur internet :<http://www.microbes-edu.org/etudiant/staph.html>

Janeway C A. Jr. The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. Immunol Today 1992. 13: 11-16.

Jean-Marc Panaud. Stéphanie Guadagnini (PFMU) - Colorisation. Staphylococcus aureus, staphylocoque doré. Disponible sur internet :
https://www.zeiss.fr/microscopie/cmp/mab/18/evo-10.html?gclid=Cj0KCQjw-uH6BRDQARIsAI3I-UcitkrhQ028ZzP6WbUuAL4s3nxJFBW3LHLWu38W7OmWmlZXNeVMizwaAn81EALw_wcB

Khatak M, Khatak S, Siddqui A., Vasudeva N, Aggarwal A., & Aggarwal P. *Salvadora persica*. Pharmacognosy Reviews, 4(8), 209. 2010.

Kokwaro, «Some common african herbal skin diseases: with special reference to Kenya medicinal and poisonous plants of the tropic », 1987.disponible sur internet : <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302059656>

Kra AKM. Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de *m i s c a c o n t r e Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences.Univ. Abidjan. 2001: 126p.

Lababidi S. « *Salvadora Persica L* : intérêt en hygiène bucco-dentaire » THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE ; Dirigée par M. Le Docteur Jean-Claude TAVERNIER. UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE. 2019 .79p.

Lagane c. « role de l'il-13 et des ligands de ppar-γ dans la reponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de *candida albicans*. implication de ppar-γ. » these pour l'obtention du grade de docteur de l'universite toulouse iii discipline : immunopathologie, oncogenese et signalisation cellulaire-sous le directeur dr. bernard pipy-universite toulouse iii – paul sabatier. 2007.151p

Larry M Bush et Maria T Perez. Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University- Wellington Regional Medical Center, West Palm Beach 2019.

Le loir Y, Gautier M. *Staphylococcus aureus*. Tec & Doc, EMinter, Lavoisier. France. 2010

Lewis WH, Elvin-Lewis MPF. Oral Hygiene,Medical Botany. John Wiley & Sons, New York, 1977:pp 226-270.

Lindsay, J. A., & Holden, M. T. G. *Staphylococcus aureus* : superbug, super genome-Trends in Microbiology, 2004 ; 12(8) :378–385.

Lorier-Roy E .Dermato-info ;les mycoses cutanéé-2005.

Lowy F. *Staphylococcus aureus* infections. N. Engl. J. Med. 1998. 339: 520–532.

Ludovic R,.2017.Passeport sante ; disponible sur internet : https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=candidose_pm-comment-traiter-la-candidose-

Mariod AA, Matthaus B, Hussein IH. Chemical characterization of the seed antioxidant activity of various parts of *Salvadora persica*. J. Am. Oil Chem. 2009; 86(9):857-865.

Marmonier A, Introduction aux techniques d'études des antibiotiques, bactériologie médicale, techniques usuelles.1990 ;226-227.

Masood Y, Masood M, Abu Hassan MI , Al-bayaty FH. Biological effects of miswak (*Salvadora persica*) Curr. Top. Nutraceutical. Res. 2010; 8(4):161-168.

Mehdi, "*Salvadora Persica / salvadora indica* : Ukaa, Oamai in Tamil",2012

Moroh J, Bahi AC, Dje K, Loukou YG, Guede-guina F. Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 2008 ;77: 44 – 61

Moussaoui.« Le siwak, solution naturelle pour une hygiène buccodentaire »,2013

Nadkarni A K. Indian Materia Medica. Popular Prakashan,Bombay. vol. 1. 1976 ;1092.

Naseem S, Hashmi K, Fasih F, Sharafat S, Khanani R. In vitro evaluation of antimicrobial effect of miswak against common oral pathogens. Pak J Med Sci. mars 2014;30(2):398-403. 45.

Niazi F, Naseem M, Khurshid Z, Zafar MS, Almas K. Role of *Salvadora persica* chewing stick (miswak): A natural toothbrush for holistic oral health. Eur J Dent. juin 2016;10(2):301-8.

Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H , Valentin E, Bakhrouf A . Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2010;29 (1):81-88.

Odile, E. thèse de doctorat de luniversité Paris diagnostic et épidémiologie des infections de *candida albicans*.;pp 65.

Olivier G. caractéristique et mode d'action des antibiotiques. 2007

Ozanda P. Flore et végétation du sahara. 2^{eme}éd CNRC, Paris. 1983.106p.

Paliwal, S, Chauhan R, Siddiqui A, et Sharma J. « Evaluation of antifungal activity of *Salvadora persica* L inn. leaves », Natural product radiance . 2007; 6(5):372-74.

Parida, A. K., Veerabathini, S. K., Kumari, A., & Agarwal, P. K. . *Physiological, Anatomical and Metabolic Implications of Salt Tolerance in the Halophyte Salvadora persica under Hydroponic Culture Condition. Frontiers in Plant Science*, 7. 2016.

Patel P, Shruthi S, et Kumar S, « Clinical effect of miswak as an adjunct to tooth brushing on gingivitis ». Journal of indian society of periodontology. 2012; 16(1): 84-88.

Phlippon A. Espace Etudiant-Cours de Bactériologie Générale Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université PARIS V.2020.disponible sur internet ; <http://www.microbes-edu.org/etudiant/bgn.html>

Porteres R. Un curieux élément culturel arabo-islamique et Néo Africain: les baguettes vegetales mâchées servant de fote-dents. J Agric Trop Bot 1974; 21:1-36.

Prescott LM, Harley JP Klein DA. Microbiologie. De Boeck-Supérieur. 2003 : 1137.

Quesel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie régions désertiques meridionales. Cnrs Paris 1962; I et II: 1170.

Rangel-Frausto M S.1994. An experimental model for study of *Candida* survival and transmission in human volunteers. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 13(7), 590-595

Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, et al. Practice guidelines for the treatment of *candidiasis*. Clin Infect Dis 2000 ; 30 : 662-78

Rogeaux O In.fectiologie CH métropole Savoie nfections cutanées Grenoble infections cutanées. 2020 Disponible sur internet : <https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/du/grenoble/dutai-grenoble-2019-2020-orogeaux-infections-cutanees.pdf>

Ronse De Craene, L, & Wanntorp L. Floral development and anatomy of *Salvadoraceae*. Annals of Botany, 2009; 104(5): 913–923.

Ruhnke M. Epidemiology of *Candida albicans* infections and role of non- *Candida albicans* yeasts. Current Drug Targets, 2006; 7(4): 495-504.

Schagen SK, Zampeli VA, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Discovering the link between nutrition and skin aging. Dermato endocrinologie, 2012; 4 (3): 298-307

Schoeters F, & Van Dijck P. Protein-Protein Interactions in *Candida albicans*. Frontiers in Microbiology, 2019.

Shepard JR, Addison RM and Alexander BD: Multicenter evaluation of the *Candida albicans* / *Candida glabrata* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization method for

simultaneous dual-colour identification of *albicans* and *C. glabrata* directly from blood culture bottles. J Clin Microbiol 2008; 46: 50-55.

Shirzaïy M, Sarani Z et Bagheri S,. « Miswak/Derum manipulation, a common habit in Baluchestan, Iran ». International journal of high risk behaviors & addiction. 2016; 5(2).

Stahl P D. and Ezekowitz R A. The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense. Curr Opin Immunol 1998; 10(8): 50-55.

Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules. 2009;14: 2167-2180.

Vouriot M, Berle E, Paillaud E, « *Candidoses* orales chez les personnes âgées hospitalisées : fréquence, facteurs de risque et prévention ». Encycl. Med. Hygiènes 15 (2007) 385-390.

Waltimo T M T, Ørstavik D, Sirén E K, & Haapasalo M P P(1999). In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. International Endodontic Journal, 32(6), 421-429..

Weichert S, Reinshagen K, Zahn K, Geginat G, Dietz A, Kilian AK, Schrotten H and Tenenbaum T: *Candidiasis* caused by *Candida kefyr* in a neonate. Case report BMC Infect Dis 2012; 12: 61.

Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis 5:751–762. doi:10.1016/S1473-3099(05)70295-4.

Yves L , Michel G.*Staphylococcus aureus*.France,Dupli-print a Domont (95) ;2009.)N°1195-80

Zrihi GN, Kra AKM, Etien DT. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (*Rubiaceae*) et *Spermacoce verticillata* (SV) (*Rubiaceae*) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*.Rev. Med. Pharm. Afr., 20 : 9-17.