

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

قسم البيولوجيا



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME :

L'impact de la méthode d'extraction sur le potentiel antimicrobien de quelques extraits végétaux

Présenté par : TAOUTI Hibat Allah

Devant le jury composé de :

M. OUINTEN Mohamed	Pr	Université Amar Téliidji, Laghouat	Président
M. BENAMAR Ibrahim	MCA	Université Amar Téliidji, Laghouat	Examineur
Mme ELHOUITI Fatiha	MCA	Université Amar Téliidji, Laghouat	Rapporteur
Mme NEBEG Halima	MCB	Université Amar Téliidji, Laghouat	Co-Rapporteur

Soutenu publiquement le : 02/07/ 2025

Résumé

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques et la lutte contre ce phénomène représente un défi majeur en santé publique, soulignant l'impératif de découvrir de nouvelles molécules bioactives. Dans ce contexte, les plantes médicinales s'imposent comme une source prometteuse de composés antimicrobiens. Cette étude a spécifiquement comparé l'efficacité de deux méthodes d'extraction 'l'extraction par Soxhlet et l'extraction par sonication' pour isoler des composés bioactifs à partir de quatre espèces de *Thymelaea* : *T. virgata*, *T. tartonraira*, *T. microphylla* et *T. hirsuta*. L'objectif principal était de déterminer quelle méthode d'extraction permettait d'obtenir les composés les plus puissants contre un panel de microorganismes pathogènes, incluant *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Pour ce faire, divers solvants (méthanol et acétate d'éthyle) ont été utilisés, et les activités antimicrobiennes ont été évaluées par des techniques de diffusion sur milieu solide et de micro dilution. Les résultats obtenus démontrent clairement que la méthode d'extraction par Soxhlet est généralement plus efficace que la sonication pour l'extraction des composés responsables de l'activité antimicrobienne des espèces de *Thymelaea* étudiées. En conclusion, ces travaux soulignent l'importance cruciale de la méthode d'extraction dans l'optimisation de la récupération des métabolites secondaires dotés de propriétés antimicrobiennes. Il est essentiel de poursuivre l'optimisation des paramètres d'extraction pour maximiser cette activité.

Mots clé : *Thymelaea virgata*, *Thymelaea tartonraira*, *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea hirsuta*, activité antimicrobienne, soxhlet, sonication, méthanol, acétate d'éthyle

Abstract

The growing crisis of antibiotic resistance necessitates the discovery of novel bioactive molecules. In this regard, medicinal plants offer a promising avenue for identifying antimicrobial compounds. This study aimed to evaluate the efficacy of two common extraction methods, Soxhlet extraction and sonication extraction, in isolating bioactive compounds from four *Thymelaea* species: *T. virgata*, *T. tartonraira*, *T. microphylla*, and *T. hirsuta*. The primary objective was to ascertain which extraction method yielded compounds with superior potency against a panel of pathogenic microorganisms, specifically *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. Various solvents, including methanol and ethyl acetate, were employed, and antimicrobial activities were assessed using both solid-state diffusion and microdilution techniques. The findings demonstrate that Soxhlet extraction usually more effective than sonication for isolating the compounds responsible for the antimicrobial activity observed in the *Thymelaea* species under investigation. This research underscores the critical influence of the extraction method on optimizing the recovery of secondary metabolites possessing antimicrobial properties. Further optimization of the extraction parameters is imperative to maximize the observed antimicrobial activity

Keywords: *Thymelaea virgata*, *Thymelaea tartonraira*, *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea hirsuta*, antimicrobial activity, soxhlet, sonication, methanol, ethyl acetate.

ملخص

تمثل الزيادة في مقاومة المضادات الحيوية ومكافحة هذه الظاهرة تحديًا كبيرًا للصحة العامة، مما يؤكد الحاجة إلى اكتشاف جزيئات جديدة نشطة بيولوجيًا. وفي هذا السياق، تبرز النباتات الطبية كمصدر واعد للمركبات المضادة للميكروبات. قارنت هذه الدراسة على وجه التحديد فعالية طريقتين للاستخلاص "طريقة Soxhlet وطريقة sonication" لاستخلاص المركبات النشطة بيولوجيًا من أربعة أنواع من نبات *Thymelaea*: *Thymelaea virgata*, *Thymelaea tartonraira*, *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea hirsuta*. كان الهدف الرئيسي هو تحديد طريقة الاستخلاص التي توفر المركبات الأكثر فعالية ضد مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض، بما في ذلك *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. تم استخدام مذيبات مختلفة (الميثانول وولات الإيثيل)، وتم تقييم الأنشطة المضادة للميكروبات باستخدام تقنيات الانتشار في الحالة الصلبة والتخفيف الدقيق. تُظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن طريقة استخلاص Soxhlet غالبًا أكثر فعالية من sonication لاستخلاص المركبات المسؤولة عن النشاط المضاد للميكروبات لأنواع *Thymelaea* التي تمت دراستها. وفي الختام، يسلم هذا العمل الضوء على الأهمية الحاسمة لطريقة الاستخلاص في تحسين استخلاص الايضات الثانوية ذات الخصائص المضادة للميكروبات. من الضروري الاستمرار في تحسين طريقة الاستخلاص

الكلمات المفتاحية: *Thymelaea virgata*, *Thymelaea tartonraira*, *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea hirsuta*، النشاط المضاد للميكروبات، Soxhlet, sonication، الميثانول، خلات الإيثيل.

Dédicace

C'est avec une immense joie que je dédie ce travail :

*A mes **chères parents**, votre amour inconditionnel et votre foi en moi ont été le moteur d'incessant de ce parcours. Chaque livre ouvert, chaque nuit blanche, chaque défi surmonter porte l'empreinte de vos encouragements constantes et votre soutien sans faille,*

*A mes sœurs **Khadidja, Aya, Anfal** et mon frère **Mohamed** qui m'avez toujours soutenu et encouragé pendant ces années d'études.*

*A mes précieux ma nièce **Inès** et mon neveu **Daddi**, étincelles de joie qui rappellent la beauté de l'avenir.*

*A toute **ma famille** et **mes amies** à tous ceux qui, dans l'ombre ont souhaité mon succès. C'est avec un grand remerciement que je partage ce succès avec vous.*

Remerciement

Je tiens tous d'abord à remercier **ALLAH**. Qui m'a éclairé et ouvert les portes de la connaissance, me donnant le courage nécessaire pour accomplir ce travail.

Je tiens ensuite à exprimer ma profonde gratitude à mon encadrante **Dr. EL HOUITI Fatiha**, dont l'expertise et les conseils avisée ont été précieux tout au long de ce parcours. Merci également à mon Co-encadrante **Dr. NEBEG Halima**. Pour les précieux conseils qu'il ma prodigués.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers le professeur **YOUSFI Mohamed**, Directeur du laboratoire des Sciences Fondamentales de l'Université AMAR TELIDJI de Laghouat. Pour m'avoir reçu et avoir mis à ma disposition tout le matériel indispensable.

Je tiens également à remercier chaleureusement tous les enseignants de département de biologie pendant cinq années d'études, ont partagés leur savoir, leur conseils, contribuant ainsi à mon développement intellectuel et personnel. Surtout **Pr OUINTON Mohamed** pour ces conseils éclairés qui ont enrichi ma réflexion.

Mes remerciements vont également à **Monsieur BENAMAR Ibrahim** pour avoir accepté d'examiner notre travail. Je lui suis reconnaissante pour le temps qu'il a consacré à la lecture de mon mémoire, ainsi que pour ses remarques enrichissantes, qui ont contribué à l'amélioration de ce travail et à ma progression personnelle et académique.

Je n'oublie pas **Melle ZEGRIR Anfal** et **Melle AISSAOUI Abir** pour leur assistance technique, leur disponibilité et leur expertise, leur aide précieuse a grandement facilité la réalisation de mes expériences et l'obtention de mes résultats.

Enfin, un merci tout particulier à ma copine **TAIBAOUI Douaa**, dont le soutien constant et l'aide précieuse lors des travaux pratiques ont été d'un grand réconfort et merci pour toutes mes amies.

Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	III
Introduction.....	2
1. Etude bibliographique.....	5
1.1. Généralités sur les plantes médicinales.....	5
1.2. Généralité sur la famille des <i>Thymelaeaceae</i>	5
1.3. Description botanique de la famille des <i>Thymelaeaceae</i>	5
1.3.1. Le genre <i>Thymelaea</i>	6
1.3.2. Répartition géographique de genre <i>Thymelaea</i> Mill.	6
1.4. Travaux antérieurs réalisées sur le genre <i>Thymelaea</i>	7
1.5. Activité antimicrobienne.....	8
1.5.1. Activité antibactérienne.....	9
1.5.2. Activité antifongique.....	9
1.6. Méthodes d'extraction des composés bioactifs des plantes.....	10
1.6.1. Extraction par Soxhlet :.....	10
1.6.2. Extraction par Sonication (Ultrasons) :.....	11
1.7. Description des microorganismes étudiés.....	12
2. Matériel et Méthodes.....	15
2.1. Matériel biologique.....	15
2.1.1. Matériel végétal.....	15
A. Description du Matériels végétales.....	16
B. Systématique des espèces étudiées.....	20
2.1.2. Les souches microbiennes.....	20
a) Les caractéristiques des souches microbiennes.....	21
2.2. Etude d'activité antimicrobienne.....	22
2.2.1. Préparation des milieux de culture.....	22
2.2.2. Préparation de l'inoculum microbien.....	22
2.2.3. Préparation des extraits.....	22
2.3. Techniques dévaluation de l'activité antimicrobienne.....	23
2.3.1. Technique de diffusion sur milieu solide.....	23
2.3.2. Technique de diffusion sur milieu liquide.....	24
3. Résultats et discussions.....	28
3.1. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	28
3.1.1. Résultats de la méthode de diffusion sur milieu solide.....	28

a) Comparaison de l'efficacité antimicrobienne selon les méthodes d'extraction (Soxhlet et Sonication).....	32
3.1.2. Résultats de la détermination de (CMI, CMB et CMF)	34
Conclusion.....	42
Références bibliographiques	45
Annexes.....	52

Liste des abréviations

<i>AFNOR</i>	Association française de normalisation.
<i>ATB</i>	Antibiotique.
<i>ATCC</i>	American Type Culture Collection.
<i>ATF</i>	Antifongique.
<i>CMB</i>	Concentration Minimale Bactérienne.
<i>CMF</i>	Concentration Minimale fongique.
<i>CMI</i>	Concentration Minimale Inhibitrice.
<i>DMSO</i>	Diméthyle sulfoxyde.
<i>DO</i>	Densité optique.
<i>INT</i>	Iodonitrotétrazolium chloride.
<i>MH</i>	Mueller Hinton agar.
<i>MHB</i>	Mueller Hinton Broth.
<i>SB</i>	Sabouraud dextrose agar.
<i>SDB</i>	Sabouraud dextrose Broth.
<i>UFC</i>	Unité Formant Colonie.

Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique de genre <i>Thymelaea</i>	6
Figure 2:schéma de l'extracteur de soxhlet	11
Figure 3 : Schéma des étapes clés suivies dans notre travail	15
Figure 4 : Photo de <i>Thymelaea virgata</i> (Plant Biodiversity of South-Western Morocco(teline.fr))	16
Figure 5: Répartition géographique de <i>Thymelaea virgata</i>	17
Figure 6: Photo de <i>Thymelaea microphylla</i>	17
Figure 7: Répartition géographique de <i>Thymelaea microphylla</i>	18
Figure 8 : Photo de <i>Thymelaea hirsta</i>	18
Figure 9: Répartition géographique de <i>Thymelaea hirsta</i>	19
Figure 10: photo de <i>Thymelaea tartonraira</i>	19
Figure 11: Répartition géographique de <i>Thymelaea tartonraira</i>	20
Figure 12 : schéma représentatif de la méthode de diffusion sur milieu solide. (Crée par biorender)	23
Figure 13 : Schéma de la méthode de micro dilution sur milieu liquide.	25
Figure 14:Histogrammes comparative représentant les diamètres des zones d'inhibition des extraits avec différentes méthodes d'extraction.	31
Figure 15:Comparaison des valeurs de CMI obtenues selon la méthode d'extraction (soxhlet et sonication)	37
Figure 16 : Microplaques inoculées utilisées pour la détermination de la CMI après ajout du révélateur INT (extraction par soxhlet)	40
Figure 17: Microplaques inoculées utilisées pour la détermination de la CMI après ajout du révélateur INT (extraction par sonication)	40
Figure 18: Schéma représentatif de préparation des milieux de culture	52
Figure 19 : photo illustrant de préparation de milieu de culture	53
Figure 22: Effet du DMSO et l'antibiotique et l'antifongique sur les souches microbiennes	53

Liste des tableaux

Tableau 1: Travaux antérieurs réalisés sur (Thymelaea hirsta, Thymelaea Microphylla, Thymelaea tartonraira et Thymelaea virgata).	7
Tableau 2: différence entre la méthode de soxhlet et la méthode de sonication	12
Tableau 3: les espèces de plantes utilisées	16
Tableau 4 : Classification botanique des espèces étudiées.....	20
Tableau 5 : Les souches microbiennes testés mentionnés dans notre recherche.	21
Tableau 6: Les caractéristiques des souches microbiennes étudiées.....	21
Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des microorganismes incubés avec des extraits variés à différentes concentrations (méthode Sonication)	29
Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des microorganismes incubés avec des extraits variés à différentes concentrations (méthode Soxhlet).....	30
Tableau 9: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des extraits en (mg/ml) obtenues par la méthode de sonication.....	35
Tableau 10: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des extraits en (mg/ml) obtenues par la méthode de soxhlet.	35
Tableau 11: Les positions des dilutions des extraits sur la microplaque.	36
Tableau 12: Préparation des milieux de culture.....	52

Introduction

Introduction

L'invention des antibiotiques a marqué une avancée majeure pour la santé de l'homme. Depuis longtemps, leur emploi a contribué à réduire le taux de mortalité et de morbidité à l'échelle mondiale. Toutefois, l'emploi inapproprié de ces agents antimicrobiens et leur usage croissant ont engendré l'émergence de certaines résistances microbiennes qui atténuent les effets des antibiotiques (**Goossens et al.,2005**).

Certaines espèces de bactéries pathogènes appartenant aux familles des Entérobactéries et des Pseudomonadacés sont devenues de véritables problématiques pour la santé humaine, On note fréquemment la présence de bactéries résistantes telles que l'*Escherichia coli*, le *Klebsiella pneumoniae* et le *Pseudomonas aeruginosa*.(**Chaudhary,2016**).

Actuellement, les infections causées par des bactéries résistantes à plusieurs traitements font environ 700 000 victimes annuellement dans le monde, et ce nombre pourrait grimper à 10 millions d'ici 2050 si aucune mesure n'est prise (**Blair,2018**).

Devant ce défi, de nombreuses recherches ont été menées pour élaborer des molécules d'alternative efficaces contre ces infections. Les plantes médicinales et aromatiques représentent une ressource significative de molécules bioactives qui pourraient être utilisées dans le traitement des infections (**Talbaoui et al.,2012**).

Les plantes médicinales ont servi de source primordiale de traitements pendant des milliers d'années dans l'histoire de l'humanité. Et même à l'heure actuelle, elles demeurent le fondement des pratiques régulières de la médecine traditionnelle sur plusieurs siècles à travers le monde (**Pan et al.,2009**).

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les plantes médicinales constitueraient la ressource idéale pour la fabrication de différents médicaments. On considère ces végétaux comme un don pour l'humanité, car ils renferment une multitude de composés bioactifs ou phytochimiques utilisés dans la lutte contre diverses affections (**Abirami et al., 2017**).

La flore méditerranéenne, en particulier celle de l'Algérie, est remplie de plantes médicinales issues de familles diverses. Nous avons particulièrement choisi quatre espèces appartenant à la famille des *Thymelaeaceae*.(*Thymelaea hirsuta* , *Thymelaea microphylla* , *Thymelaea tartonraira* , *Thymelaea virgata*) Ces espèces sont connues par leurs propriétés

antimicrobiennes, antioxydantes, Dans le domaine des infections cutanées et dans plusieurs zones du globe, antidiabétique, purgatif pour soigner le rhume des brebis en médecine vétérinaire, contre l'hypertension et en tant qu'antiseptique (**Bnouham et al.,2006**).

Par ailleurs, un grand nombre de plantes sont largement reconnues pour leurs vastes potentialités dans le métabolisme des composés secondaires. Ces composés, qui représentent généralement entre 1 et 3 % du poids de la matière végétale déshydratée, sont générés dans des cellules spécialisées lors des différentes étapes de développement. Du fait de leur structure très complexe, l'extraction et la purification de ces derniers représentent un véritable challenge (**Ben Amor,2008**).

L'efficacité et la sélectivité du processus d'extraction employé sont liées à la qualité nutritionnelle ou médicinale d'un extrait naturel (**Nkhili,2009**). Parmi les divers procédés d'extraction utilisés fréquemment, on compte la méthode d'extraction par Soxhlet et la méthode d'extraction par sonication.

Notre recherche vise à examiner l'influence de ces deux techniques d'extraction sur le potentiel antimicrobien de *Thymelaea hirsta* ; *T. microphylla* ; *T. tartonraira* et *T. virgata*) vis-à-vis les souches microbiennes suivantes (*Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*). Nous avons structuré notre travail en trois parties

La première partie concerne l'étude bibliographique au cours de laquelle nous décrivons les plantes médicinales, la famille des *Thymelaeaceae* et le genre *Thymelaea*, ainsi que les micro-organismes et les techniques d'extraction.

La deuxième partie expose la méthode de travail, au cours de laquelle nous explorerons les protocoles expérimentaux pour évaluer l'activité antimicrobienne, ainsi que le matériel employé pour étudier l'efficacité antimicrobienne de nos extraits sur les souches microbiennes grâce la technique de diffusion sur milieu solide. Après cela, cette activité a été confirmée par la technique de micro-dilution en milieu liquide afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices.

La troisième partie présente les résultats obtenus, accompagnés de leurs leur analyse.

Pour finir, cette étude se conclut par une conclusion et des perspectives de recherche possibles.

Etude Bibliographique

1. Etude bibliographique

1.1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées à des fins thérapeutiques pour prévenir, soulager ou guérir diverses maladies ou troubles de santé. Elles contiennent des composés bioactifs qui ont des propriétés pharmacologiques, tels que des effets antiseptiques, anti-inflammatoires, analgésiques, antimicrobiennes, ou curatifs. Ces plantes peuvent être utilisées sous différentes formes, comme des infusions, des décoctions, des poudres, ou des extraits, selon la tradition et la nature de la plante. (Djahafi *et al.*,2021).

D'après l'étude de (Djahafi *et al.*,2021). Les Algériens utilisent largement les plantes médicinales dans leur médecine traditionnelle. Environ 80 % de la population dans de nombreux pays en développement. y compris l'Algérie qui possède une flore très riche et diversifiée.(Rachid *et al.*,2012). L'étude a recensé plus de 100 espèces de plantes médicinales utilisées localement, avec des usages traditionnels pour des maladies variées.

1.2. Généralité sur la famille des *Thymelaeaceae*

Selon (Bouchelaghem Maroua et Rania,2020), la famille des *Thymelaeaceae*, qui fait partie des dicotylédones, comprend près de 1200 espèces réparties dans 67 genres. 500 variétés d'arbres et de buissons. La famille des *Thymelaeaceae* se compose essentiellement des genres suivants : *Daphne* (de 50 à 90 espèces), *Daphnopsis* (73 espèces), *Gnidia* (entre 120 et 150 espèces), *Gonystylus* (32 espèces), *Pimelea* (80 espèces), *Wikstroemia* (87 espèces) et *Thymelaea* (30 espèces) selon (Bounab,2020). Ce type d'habitat héberge un grand nombre d'espèces fascinantes, mais celles qui se démarquent comme étant les plus courantes en Algérie sont : *Th. Hirusta*, *Th. Virgata* et *Th. microphylla* (Belreka et Tair 2022).

1.3. Description botanique de la famille des *Thymelaeaceae*

Les *Thymelaeaceae* sont des plantes qui se présentent sous forme d'arbustes ou de plantes herbacées, parfois de lianes, avec des feuilles qui sont souvent coriaces et persistantes et qui peuvent être alternées ou opposées. Inflorescences hautement variables comportant des fleurs hermaphrodites, dioïques ou polygames, avec 4 à 5 mères et un calice en forme de tube. Périanthe à segments soudés à la base ; généralement de couleur corail avec des nuances de jaune ou de vert. 8 à 10 étamines ont été intégrées sur deux lignes. Généralement, l'ovaire est uniloculaire et porte un seul ovule. Monopétale ou drupe à fruit sec. (Quezel et Santa., 1963).

1.3.1. Le genre *Thymelaea*

Le genre *Thymelaea* appartient à la famille des *Thymelaeaceae* et comprend environ 30 à 31 espèces de plantes à feuilles persistantes ou herbacées, principalement originaires de la région méditerranéenne. Ces plantes se caractérisent par leur croissance en arbustes ou en herbes, avec de petites feuilles et des fleurs de couleur jaune ou vcrâtre. Elles sont connues pour leur diversité chimique remarquable, comprenant notamment des diterpènes, lignanes, flavonoïdes, acides phénoliques, et huiles essentielles. Le genre est apprécié à la fois pour ses utilisations traditionnelles en médecine, ses activités biologiques potentielles, mais aussi pour sa diversité chimique unique (Marmouzi *et al.*,2021).

En Algérie, le genre est représenté par huit (8) espèces dont une espèce est endémique *Thymelaea microphylla* (Quezel et Santa., 1963).

Les études antérieures relatives à l'importance biologique des espèces du genre *Thymelaea* ont révélé leurs propriétés thérapeutiques et leur utilisation en médecine traditionnelle, positionnant ainsi ces plantes comme des ressources médicinales hautement recherchées.

1.3.2. Répartition géographique de genre *Thymelaea* Mill.

Le genre de *Thymelaea* se retrouve largement dans les régions tropicales et tempérées du monde, surtout en Afrique et il est totalement absents des zones froides Comme l'indique l'image ci-dessous (Bouchelaghem Maroua et Rania,2020).



● Concentration elevées du genre *thymelaea*

● présence du genre *thymelaea*

Figure 1: Répartition géographique de genre *Thymelaea*

Source : <https://www.gbif.org/species/7311314> .

1.4.Travaux antérieurs réalisées sur le genre *Thymelaea*

(spécifiquement *Thymelaea hirsuta* ‘ *Thymelaea microphylla* ‘ *Thymelaea tartonraira* ‘ *Thymelaea virgata*).

Tableau 1: Travaux antérieurs réalisées sur (*Thymelaea hirsuta*, *Thymelaea Microphylla*, *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea virgata*) au nord d’Afrique.

Activités étudiées	Références
<i>Thymelaea hirsuta</i>	
-- Inhibition of oncogene Product enzyme activity as an approach to cancer chemoprevention. Tyrosine-specific protein kinase inhibition by daphnoretin from <i>Thymelaea hirsuta</i> root.	-(Abou-Karam <i>et al.</i> ,1998).
-- Effet antidiabétique et antihypertenseur d’une fraction riche en polyphénols de <i>Thymelaea hirsuta</i> L. dans un modèle de streptozotocine néonatale diabétique et de nitro l arginine NG...	-(Bnouham <i>et al.</i> ,2012).
-- Composition chimique et évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes du <i>Thymelaea hirsuta</i> tunisien avec référence particulière à son mode d’action.	-(Trigui <i>et al.</i> ,2013).
--Dépistage phytochimique et capacité antioxydante des parties aériennes de <i>Thymelaea hirsuta</i> L.	- (Amari <i>et al.</i> ,2014)..
-- Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of <i>Thymelaea hirsuta</i> L.	-(Azza ,Oudghiri,2015).
-- Activités anti-inflammatoires et antiarthritiques in vivo d’extraits aqueux de <i>Thymelaea hirsuta</i> .	- (Samiya,2017).
-- Etude phytochimique et activité biologique des parties aériennes (feuilles, fleurs et brindilles) de <i>Thymelaea hirsuta</i> .	-(KERBOUB,2018).
- Valorisation de certaines plantes sauvages : <i>Thymelaea hirsuta</i> Endl. (Metnane)et <i>Haloxylon scoparium</i> Pomel. (Remt). Bio-activité et Caractérisation des Composés Phénoliques.	-(Yahyaoui <i>et al.</i> ,2018).
- The impact of regional locality on chemical composition, anti-oxidant and biological activities of <i>Thymelaea hirsuta</i> L. extracts	-(Alafid <i>et al.</i> ,2019).
- evaluation of phytochemical constituents and antibacterial activity of <i>Thymelaea hirsuta</i> (L.) Endl, and that utilised as a conventional treatment of infertility and diabetic in Libya.	- (Bounab <i>et al.</i> ,2019).
- Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of <i>Thymelaea hirsuta</i> from Algeria.	-(Belgacem,2020).
- Effet antimicrobien des extraits de <i>Retama dasycarpa</i> et <i>Thymelaea hirsuta</i> récoltées de la région de Djelfa.	-(Rouane,2023).
- Contribution à l’étude de pouvoir thérapeutique de quelques plantes médicinales (<i>Thymelaea et allium</i>).	-(Ounis,2024).
- Pharmacological activities of <i>Thymelaea hirsuta</i> L. extracts	-(Ghamgui <i>et al.</i> ,2024).
-Reproductive and developmental safety evaluation of <i>Thymelaea hirsuta</i> (L.) leaves aqueous extract in Wistar albino rats.	-(El-Hak <i>et al.</i> ,2025).
<i>Thymelaea microphylla</i>	
- Etude de quelques propriétés des extraits de <i>Thymelaea Microphylla</i> Coss. Et Dur.	- (Dehimi,2011).
- Constituants phytochimiques de <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. Et Dur. D’Algérie.	- (Mekhelfi <i>et al.</i> ,2014).

- Antioxydant and antimicrobial activities of an endemic desert species <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. Et Dur.	-(Noman <i>et al.</i> ,2015)
- Composition chimique et activité antioxydante d'un extrait polaire de <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. Et Dur	-(Kerbab <i>et al.</i> ,2015).
- Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits algériens de <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. Et Dur.	-((Dehimi <i>et al.</i> ,2016).
- Study of biological activities of extracts from <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. and Dur.	-(Dehimi,2018).
- Le Rôle De <i>Thymelaea Microphylla</i> Dans L'amélioration Du Stress Oxydant Et Du Taux De La Métallothionéine Induits Par Le Cadmium Dans Le Rein Chez Le Rat.	-(Laib ,Lalaoui,2018).
- Identification des composés phénoliques et évaluation des propriétés antioxydantes et antibactériennes de <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. Et Dur. De l'Algérie occidentale...	- (Allam <i>et al.</i> ,2020).
- Nephroprotective and Antioxidant Effects of Flavonoid-Rich Extract of <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. et Dur Aerial Part.	-(Bencheikh <i>et al.</i> ,2022).
<i>Thymelaea tartonraira</i>	
-Nouveau flavonoïde spécifique de l'inhibiteur de la α glucosidase provenant des feuilles de <i>Thymelaea tartonraira</i> : élucidation de la structure, études biologiques et d'amarrage moléculaire.	-(Soltani <i>et al.</i> ,2023).
- Profils phytochimiques, antilithiques, antifongiques et cytotoxiques de <i>Thymelaea tartonraira</i> (L.) Tous. Extraits.	-(Soltani <i>et al.</i> ,2024).
<i>Thymelaea virgata</i>	
- Ethnopharmacological review of medicinal plants used to manage diabetes in Morocco.	-(Idm'hand <i>et al.</i> ,2020)

1.5. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne désigne la capacité de certaines substances à éliminer ou empêcher la prolifération de microorganismes, tels que les bactéries, les champignons et les virus. Cette activité est primordiale pour lutter contre les infections, notamment face à l'augmentation de la résistance aux antimicrobiens. Plusieurs recherches ont examiné diverses sources et techniques pour l'évaluation des agents antimicrobiens, soulignant l'importance d'approches novatrices dans ce domaine (Atallah *et al.*,2022).

Un agent antimicrobien se caractérise par sa capacité à éliminer les populations de microbes. On s'attend généralement à ce qu'un agent désinfectant agisse de manière extensive plutôt que de cibler spécifiquement un microbe particulier (Pibiri,2006).

- On classe Les modes d'action des agents antimicrobiens en deux types selon leur impact. Le premier cause la mort de l'individu, donc il est létal.

- On utilise le suffixe 'CIDE' pour nommer les agents comme le virucide, le bactéricide, le fongicide et l'insecticide. Le second fait référence à une inhibition de croissance lorsqu'il y a présence du produit actif.

- On utilise le suffixe ‘STATIQUE’ pour les nommer : bactériostatique, fongistatique. **(Belkhiri, 2018)**.

1.5.1. Activité antibactérienne

Au cours des dernières années, l'augmentation des infections affectant une grande variété de microorganismes représente une menace significative pour la santé publique et est susceptible de provoquer les maladies les plus mortelles et les épidémies les plus étendues à travers le monde. Environ un quart des décès mondiaux sont attribuables à ces infections bactériennes, qui sont désormais au cœur de discussions tant nationales qu'internationales. **(Camille, 2014)** Toutefois, le traitement de ces infections repose essentiellement sur l'administration des antibiotiques qui attaquent de façon ciblée certaines voies métaboliques des bactéries. Malheureusement, l'utilisation massive et la surconsommation de ces médicaments conduisent à l'émergence de bactéries résistantes et multirésistantes, **(Bourrillon et al., 2004)**. Cela souligne l'importance de développer de nouvelles substances bioactives sûres, efficaces et plus fiables que les médicaments actuels, des alternatives puissantes sans effets secondaires. **(Rios ,Recio, 2005)**.

1.5.2. Activité antifongique

Pendant une longue période, l'humanité s'est retrouvée plutôt désarmée face aux maladies provoquées par les champignons. On a observé une augmentation considérable de ces maladies touchant une vaste gamme d'hôtes au cours des deux dernières décennies. Ces maladies sont provoquées par un nombre surprenant d'espèces de champignons. **(Bitar et al., 2013)** Elles causent des dommages considérables à l'homme ainsi qu'à certaines espèces végétales. **(Dorrance et al., 2004)**.

Pour résoudre ces problèmes, on recourt généralement à l'utilisation de produits chimiques. Cependant, cette formation sera rapidement confrontée à ses limites en raison de nombreux inconvénients surtout au risque de sélection de souches résistantes aux fongicides **(Dorrance et al., 2004)**. Pour répondre à ce défi de résistance, les scientifiques ont mis en place deux axes de recherche distincts : soit élaborer de nouvelles molécules qui ne sont pas encore touchées par la résistance des microorganismes, soit découvrir des produits capables, seuls ou en synergie, de rétablir la sensibilité aux antifongiques existants et donc de restaurer leur efficacité thérapeutique.

Dans le domaine de la recherche sur les molécules bioactives, l'étude des ressources naturelles, et plus particulièrement des plantes médicinales, semble être une voie prometteuse.

En effet, compte tenu de leur biodiversité, elles représentent un vaste réservoir de substances actives. On peut les exploiter pour concevoir de nouveaux agents antifongiques. (**Scherrer et al.,2005**).

1.6. Méthodes d'extraction des composés bioactifs des plantes

L'obtention de composés bioactifs à partir de matière végétale représente une phase essentielle dans divers domaines scientifiques. Il existe différentes techniques d'extraction, tirant parti de diverses propriétés physico-chimiques pour solubiliser et isoler les composés visés. Mon travail est effectué par ces deux méthodes.

1.6.1. Extraction par Soxhlet :

Appelée aussi extraction liquide -solide où un solvant est utilisé pour extraire les analytes d'un échantillon solide. Le principe de cette méthode est :

-Extraction continue : La technique d'extraction de Soxhlet (Comme l'indique l'image ci-dessous) opère sur la base du principe de l'extraction continue, où le solvant est réutilisé plusieurs fois sur la matière végétale. Cela facilite l'extraction efficace des composés solubles.

-Choix du solvant : Le choix du solvant est essentiel car il doit être capable de dissoudre les composés visés, sans interagir avec la matière végétale. Le méthanol, l'éthanol et l'hexane, acétate de méthyle sont des solvants communément utilisés.

-Régulation de la température : La procédure implique de maintenir le solvant à ébullition, ce qui favorise sa vaporisation et condensation dans la chambre d'extraction, moment où il entre en interaction avec la matière végétale. Ce processus se continue jusqu'à ce que l'extraction soit achevée. (**Goplasatheeskumar,2018**).

On suit le protocole suivant :

-1- insertion et chauffage : l'échantillon solide est introduit dans une cartouche, ou il entre en contact avec le solvant. Le solvant est chauffé jusqu'à ce qu'il se transforme en vapeur, puis il remonte dans un tube et se condense.

-2- cycle d'extraction : le solvant condensé s'égoutte dans la cartouche remplie de l'échantillon. Quand le niveau du solvant atteint un certain seuil, il se déverse automatiquement dans le ballon cella, ce qui facilite la dissolution des composés organiques contenus dans l'échantillon solide.

-3- processus récurrent : le processus de chauffage, condensation et extraction se répète de nombreuses fois (généralement sur une durée de plusieurs heures). Ce qui permet au solvant d'extraire efficacement les analytes contenus dans l'échantillon

-4- après l'extraction : Le solvant est généralement éliminé par évaporation. Laissant les analytes isolés qui peuvent être analysés à l'aide de techniques chromatographiques ou d'autres méthodes. (Luque de Castro,1998).

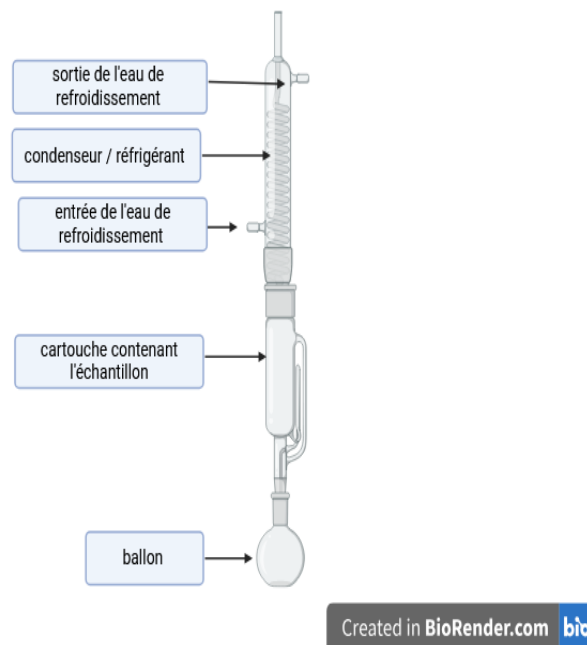


Figure 2: schéma de l'extracteur de soxhlet

1.6.2. Extraction par Sonication (Ultrasons) :

La sonication est une méthode polyvalente qui exploite les effets physiques et physico-chimiques des ondes ultrasonores ainsi que de la cavitation pour altérer les caractéristiques d'un échantillon.

Le concept d'ultrasonication repose sur l'application d'ondes sonores à fréquence élevée (habituellement supérieure à 20 kHz) pour provoquer des phénomènes physiques tels que la cavitation - l'apparition, le développement et l'effondrement soudain de bulles dans un milieu liquide. Cette cavitation produit des températures et des pressions élevées localisées, ainsi que de fortes forces de cisaillement, qui favorisent des processus tels que la perturbation des cellules, le gonflement des tissus végétaux et l'optimisation du transfert de masse durant

l'extraction. En particulier, les ultrasons peuvent stimuler le gonflement et l'hydratation des cellules végétales, accroître la taille des pores dans les membranes cellulaires et fragmenter les structures cellulaires, facilitant ainsi la libération de composés bioactifs dans le solvant (Vinatoru,2001). Une comparaison des méthodes d'extraction par Soxhlet et par sonication est détaillée dans le tableau suivant, mettant en évidence leurs avantages et leurs limitations.

Tableau 2: différence entre la méthode de soxhlet et la méthode de sonication

Type d'extraction	Avantages	Limitations	Références
Soxhlet	Facilite une extraction exhaustive et performante des composés bioactifs, y compris ceux de faible solubilité, par le biais d'un recyclage constant du solvant.	Des temps d'extraction plus longs et une consommation énergétique élevée.	(Fernández-Fernández,2003).
	La méthode se distingue par sa simplicité, sa capacité à extraire de grands échantillons, et l'absence de filtration nécessaire après la libération.	Risques de dégradation thermique des composés sensibles à la chaleur en raison d'un chauffage prolongé.	(Weller,2006). (Castro,2010)
Ultrasons	Haute efficacité, économie de temps, réduction de l'utilisation de solvants.	Moins efficace pour certains analytes ou matrices, et la dégradation de la sonde peut affecter la reproductibilité.	(Webste,2006).
	Elle peut être appliquée à divers composés (polyphénols, protéines, lipides, etc.) et différentes matrices végétales.	Nécessite optimisation, coût de l'équipement.	(Protiva Rani Das,2018).
	Extraction plus douce et plus respectueuse de l'environnement.		(Hromádková,2010) (Chemat <i>et al.</i> ,2016)

1.7. Description des microorganismes étudiés

- *Candida albicans* :

Il s'agit d'un champignon di morphique pouvant se manifester à la fois comme une levure unicellulaire et sous forme de filaments mycéliens, fréquemment présent dans l'environnement humain en tant que commensal et agent pathogène opportuniste. Il se retrouve sur les zones muqueuses comme la bouche, la peau, le système digestif et le vagin de nombreux individus en bonne santé, sans pour autant provoquer d'infections chez ceux qui ont un système immunitaire intact (Swidergall,2019).et peut provoquer des infections invasives, en particulier chez les hôtes immunodéprimés.(van der Graaf *et al.*,2005).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie mono flagellée, aérobie et non sporulant et en forme de bâtonnet, qui se classe parmi les Gram-négatives. Elle présente une apparence nacrée *P. aeruginosa* est capable de se développer dans une large gamme de températures, généralement entre 4°C et 42°C (Wu *et al.*,2015)., capable d'entraîner diverses infections chez les hôtes.

- ***Escherichia coli* :**

Escherichia coli (*E. coli*) est un bacille gram-négatif, mobiles qui fait partie de la flore intestinale, mais qui peut également être responsable de maladies intestinales et extra-intestinales chez l'homme. (Mueller ,Tainter,2023). *Escherichia coli* est l'espèce facultativement anaérobie dominante de la flore colique humaine, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et au genre *Escherichia*. On peut facilement isoler *E. coli* à partir d'échantillons cliniques en utilisant des milieux généraux ou sélectifs à 37°C. (Nataro ,Kaper,1998).

- ***Staphylococcus aureus***

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie à gram positif de forme Cocci. Se présente en agrégats, C'est l'un des agents infectieux bactériens les plus connus et omniprésents, *S. aureus* est susceptible de provoquer des affections inflammatoires, comme les infections de la peau, et les abcès. Ce micro-organisme a un diamètre qui fluctue de 0,5 à 1 µm, facultativement Aero-anaérobie. L'espèce typique du genre *Staphylococcus*, connue sous le nom de *S. aureus*, est parfois appelée staphylocoque doré (Mendoza-Olazarán *et al.*,2015).

Matériels et Méthodes

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel biologique

Le processus global de cette étude est schématisé dans l'organigramme ci-dessous.

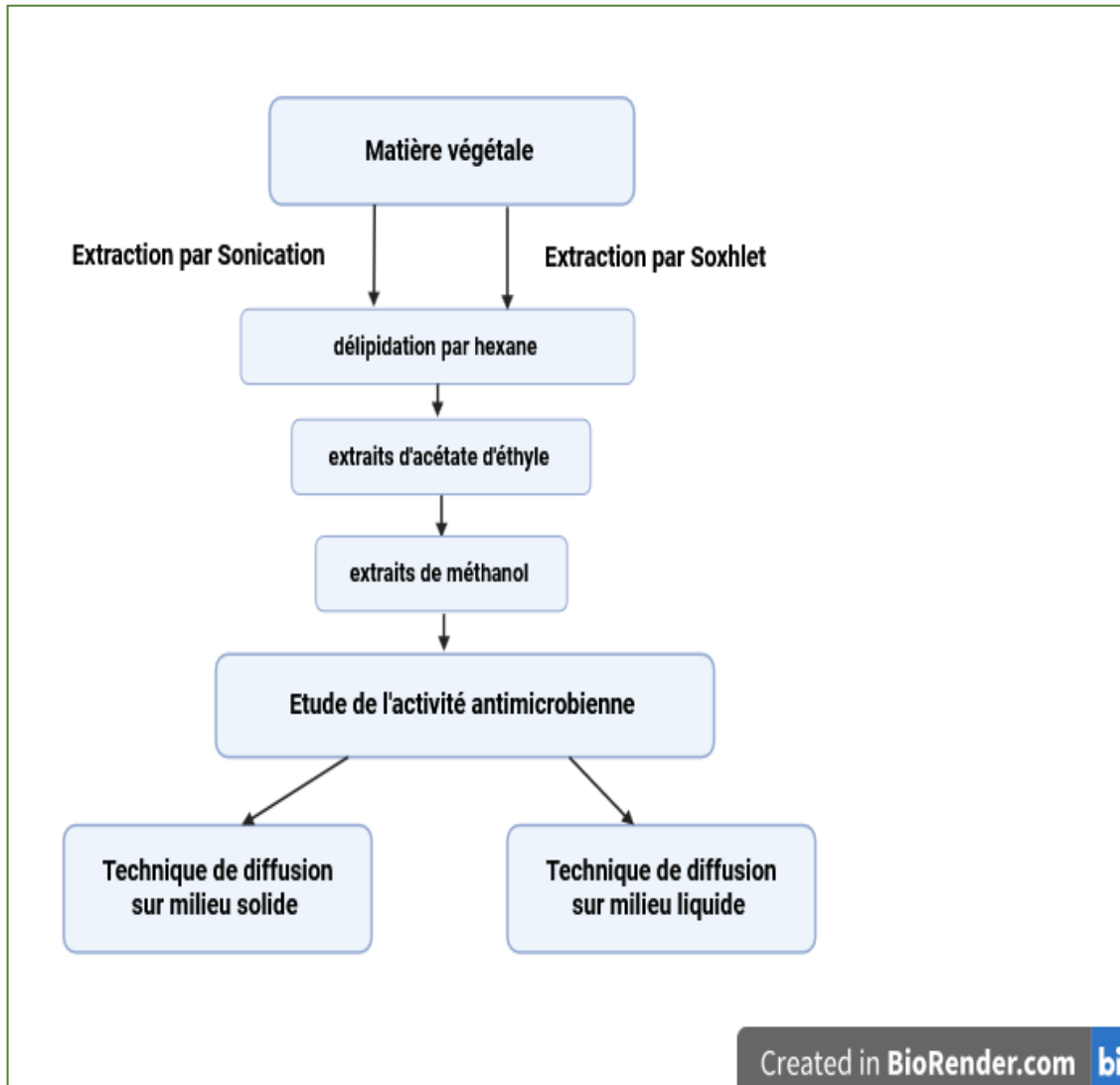


Figure 3 : Schéma des étapes clés suivies dans notre travail

2.1.1. Matériel végétal

Dans le contexte de cette recherche, notre attention se porte sur l'analyse de la partie aérienne des quatre espèces : *Thymelaea virgata* (Desf.), *Thymelaea hirusa*, *Thymelaea microphylla* et *Thymelaea tartonraira*, toutes appartenant à la famille des *Thymelaeaceae*. (Tableau 3) Ces quatre espèces endémiques dotées de vertus médicinales sont largement reconnues dans la flore algérienne.

Tableau 3: les espèces de plantes utilisées

Famille	Nom scientifique	Synonymes	Nom vernaculaire	Région de récolte	La date de récolte
<i>Thymelaeaceae</i>	<i>Thymelaea virgata</i>	- <i>Passerina virgata</i> Desf	(Methnina) المثنينة	Naima, Tiaret	13-04-2023
	<i>Thymelaea hirsuta</i>	- <i>Passerine hérissée</i> , <i>Thyméléé hirsuta</i>	(Methnane) المثنان	Naima, Tiaret	13-04-2023
	<i>Thymelaea microphylla</i>	- <i>Stellera microphylla</i> (Coss. & Durieu) Kuntze	(Methnane abiadh) المثنان الأبيض	El- ghicha, Laghouat	06-05-2023
	<i>Thymelaea tartonraira</i>	- <i>Thyméléé tartonraire</i> , <i>Tartonraire</i>	(Lezzaz el rhezal) لزاز الغزال	Ain El bell, Djelfa.	06-05-2023

A. Description du Matériels végétales

- L'espèce *Thymelaea virgata*

Thymelaea virgata, également connue sous le nom de *Passerina virgata*, ses extraits ont été étudiés pour leur composition chimique et leur activités biologiques, notamment des propriétés antimicrobiennes contre plusieurs bactéries pathogènes, c'est une plante vivace pubescente-cendrée avec des petites feuilles el linéaire et des fleurs jaunâtres. (Zellagui *et al.*,2012).



Figure 4 : Photo de *Thymelaea virgata* (Plant Biodiversity of South-Western Morocco(teline.fr))

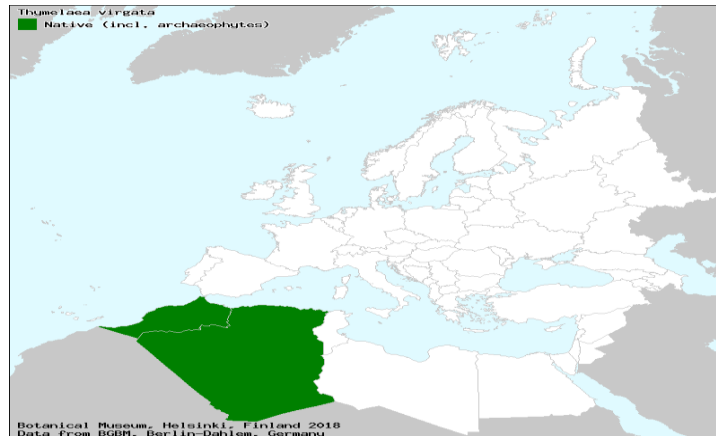


Figure 5: Répartition géographique de *Thymelaea virgata* (Pedrol, J. (2011): Thymelaeaceae. – In: Euro+Med Plantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity).

- **L'espèce *Thymelaea microphylla***

Thymelaea microphylla Coss. Et Dur. Est une espèce de plante médicinale peu commune appartenant à la famille des *Thymelaeaceae*, qui est spécifique à l'Algérie. Cette plante se caractérise par la petitesse de ses feuilles et elle est connue pour les divers composés bioactifs qu'elle renferme, qui contribuent à ses propriétés curatives. Dans la médecine traditionnelle, on fait souvent appel à l'infusion de ses feuilles pour de nombreux bienfaits pour la santé, notamment des vertus anticancéreuses, anti-inflammatoires et antidiabétiques. (Dehimi *et al.*, 2016).



Figure 6: Photo de *Thymelaea microphylla* (Plant Biodiversity of South-Western Morocco (teline.fr))

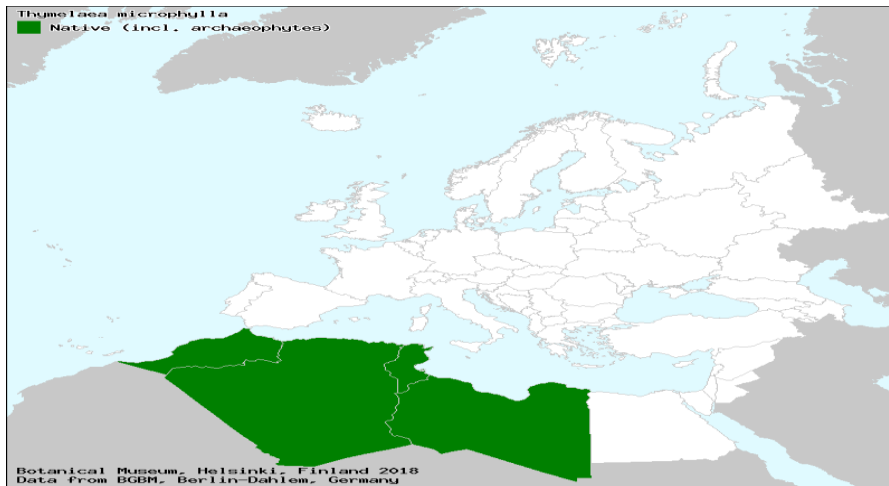


Figure 7: Répartition géographique de *Thymelaea microphylla*. (Pedrol, J. (2011): Thymelaeaceae. – In: Euro+Med Plantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity).

- **L'espèce *Thymelaea hirsuta***

Thymelaea hirsuta est une plante médicinale couramment utilisée au Maroc pour le traitement et la prévention du diabète. Faisant partie de la famille des *Thymelaeaceae*, elle est utilisée traditionnellement pour ses bienfaits potentiels sur la santé, notamment dans la régulation des niveaux de sucre dans le sang. (Abid *et al.*,2021). L'huile essentielle de *T. hirsuta* montre une activité antibactérienne importante contre plusieurs bactéries, son efficacité étant modulée par la concentration et la sensibilité variable entre les différentes espèces bactériennes (Bounab *et al.*,2019).



Figure 8 : Photo de *Thymelaea hirsuta* .

(<https://www.gbif.org/species/7311314>) .

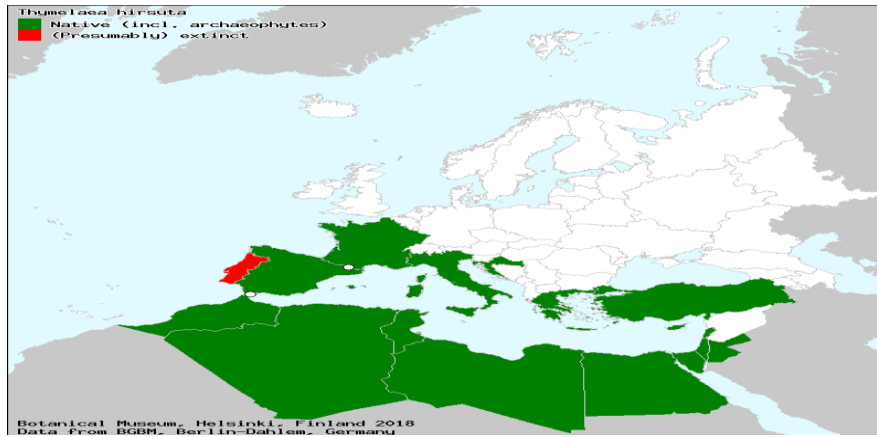


Figure 9: Répartition géographique de *Thymelaea hirsuta*
 (Pedrol, J. (2011): *Thymelaeaceae*. – In: *Euro+Med Plantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity*).

- **L'espèce *Thymelaea tartonraira***

Thymelaea tartonraira (L.) All. est une espèce végétale faisant partie de la famille des *thymelaeaceae*. On en trouve quelques exemplaires qui poussent en Tunisie et en Algérie, ce qui témoigne de son adaptation au climat méditerranéen et aux écosystèmes locaux. Les extraits de *Thymelaea tartonraira* ont démontré des activités biologiques tel que : activité antiileishmanienne, activité antifongique (l'extrait de dichlorométhane a montré une certaine efficacité contre une souche spécifique de *candida albicans*). (Soltani *et al.*,2023).



Figure 10: photo de *Thymelaea tartonraira*
 (*Thymelaea tartonraira* subsp. *broussonetii*- Plant Biodiversity of South-Western Morocco (teline.fr).

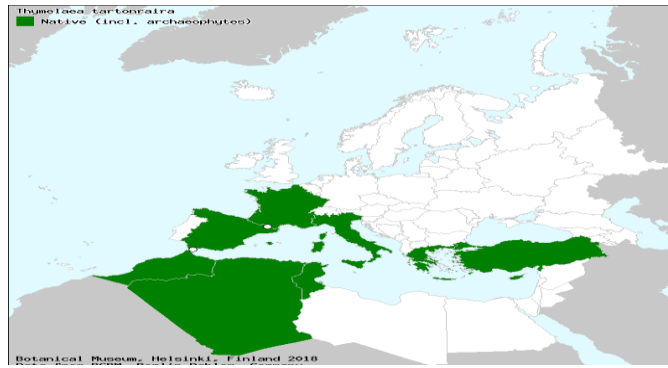


Figure 11: Répartition géographique de *Thymelaea tartonraira*. (Pedrol, J. (2011): Thymelaeaceae. – In: Euro+Med Plantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity).

B. Systématique des espèces étudiées

Tableau 4 : Classification botanique des espèces étudiées.

Règne	Plantae			
Embranchement	Tracheophyta (Tracheobionta)			
Sous-embranchement	Angiospermes			
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)			
Ordre	Malvales			
Famille	Thymelaeaceae			
Genre	<i>Thymelaea</i> Mill			
Espèce	<i>Thymelaea virgata</i> (Desf.) Endl	<i>Thymelaea microphylla</i> Coss. & Durieu	<i>Thymelaea hirsuta</i> (L.) Endl.	<i>Thymelaea tartonraira</i> (L.) All

Source : base de données Tela botanica .

2.1.2. Les souches microbiennes

Les souches microbiennes sélectionnées pour cette recherche ont été choisies en raison de leur grande capacité pathogène et leur présence récurrente dans diverses infections. Elles ont été fournies par le laboratoire vétérinaire régionale de Laghouat et de laboratoire de l'Université de Tlemcen. Les souches étudiées sont des souches de références fournies par (ATCC : American type culture collection) issues de familles et de catégories variées comme indique dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Les souches microbiennes testés mentionnés dans notre recherche.

	Souches microbiennes		Références
Bactéries	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923
	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853
Levure	<i>Candida albicans</i>		ATCC10231

a) Les caractéristiques des souches microbiennes

Le Tableau 6 présente une synthèse des informations clés relatives aux souches microbiennes incluses dans cette étude. Il détaille pour chaque souche son type de microorganisme, sa morphologie, son métabolisme et sa pathogénicité.

Tableau 6: Les caractéristiques des souches microbiennes étudiées.

Les caractéristique	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Type	Champignon (levure)	Bactérie à Gram -	Bactérie à Gram -	Bactérie à Gram +
Morphologie	Cellules ovales	Bacilles	Bacilles	Cocci en amas
Métabolisme	Aérobie facultatif	Aérobie facultatif	Aérobie facultatif	Aérobie facultatif
Pathogénicité	Candidose (muguet, infections vaginales, infections systémiques chez les patients immunodéprimés)	Infections urinaires, diarrhées, méningites néonatales	Infections nosocomiales. Infections pulmonaires (chez les patients immunodéprimés), infections cutanées	Infections cutanées, intoxications alimentaires, infections nosocomiales
Références	(van der Graaf <i>et al.</i> ,2005). (Swidergall,2019).	(Nataro ,Kaper,1998). (Mueller ,Tainter,2023).	(Wu <i>et al.</i> ,2015)	(Mendoza-Olazarán <i>et al.</i> ,2015).

2.2. Etude d'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Thymelaea hirsuta*, *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea virgata* et *Thymelaea tartonraira* a été réalisée au niveau du laboratoire de sciences fondamentale. Deux bactéries à Gram négatif ont été testé *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853). Et une bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), et une levure *Candida albicans* (ATCC10231). L'évaluation de l'activité microbienne a été réalisée par :

- *la méthode de diffusion sur gélose
- * la méthode de micro dilution en milieu liquide.

2.2.1. Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour effectuer l'activité antimicrobienne sont : Mueller Hinton MH (pour les bactéries) et Sabouraud (pour les champignons).

Le tableau 7 dans l'annexe indique la préparation des milieux que nous avons utilisés lors de notre recherche

2.2.2. Préparation de l'inoculum microbien

- **Repiquage des colonies :**

Afin d'obtenir des cultures jeunes et physiologiquement actives, les souches microbiennes conservées ont étéensemencées sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures

- **Ajustement de la densité microbienne :**

À partir d'une culture pure des souches microbiennes étudiées, cultivées pendant 18 à 24 heures, on prélève aseptiquement des colonies isolées. Ces dernières sont mises en suspension dans des tubes remplis d'eau physiologique stérile. La densité optique de la suspension doit être comprise entre 0,08 et 0,10 à 625 nm en utilisant un spectrophotomètre. Ce processus essentiel assure une distribution homogène des microorganismes.

2.2.3. Préparation des extraits

Les extraits bruts ont été obtenus selon deux méthodes différentes, à savoir l'ultrason et le Soxhlet. Le résidu a été conservé à une température de 4 °C jusqu'au jour du traitement. L'extrait sec a été dissous dans du DMSO dans un rapport de 33,33 mg/ml pour la préparation de la concentration mère, puis des dilutions été réalisées.

À noter que ce sont des extraits que nous avons reçus pour une utilisation. Ils ont été préparés par des doctorant au sein du laboratoire de recherche.

2.3. Techniques dévaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne est réalisée par la méthode de diffusion sur disques en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries et levures

2.3.1. Technique de diffusion sur milieu solide

Principe : Les susceptibilités antimicrobiennes des extraits ont été évaluées par la méthode de diffusion en milieu solide sur agar Mueller-Hinton, La méthode consiste à préparer un inoculum pour chaque bactérie en ajustant la turbidité, puis à le répartir sur des boîtes d'agar Muller-Hinton. Par la suite, les disques Déposés puis imbibés avec 10 μ l d'extrait ont été déposés sur des boîtes d'agar. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant une période de 24 heures. (Hanoun *et al.*, 2023).

Mode opératoire :

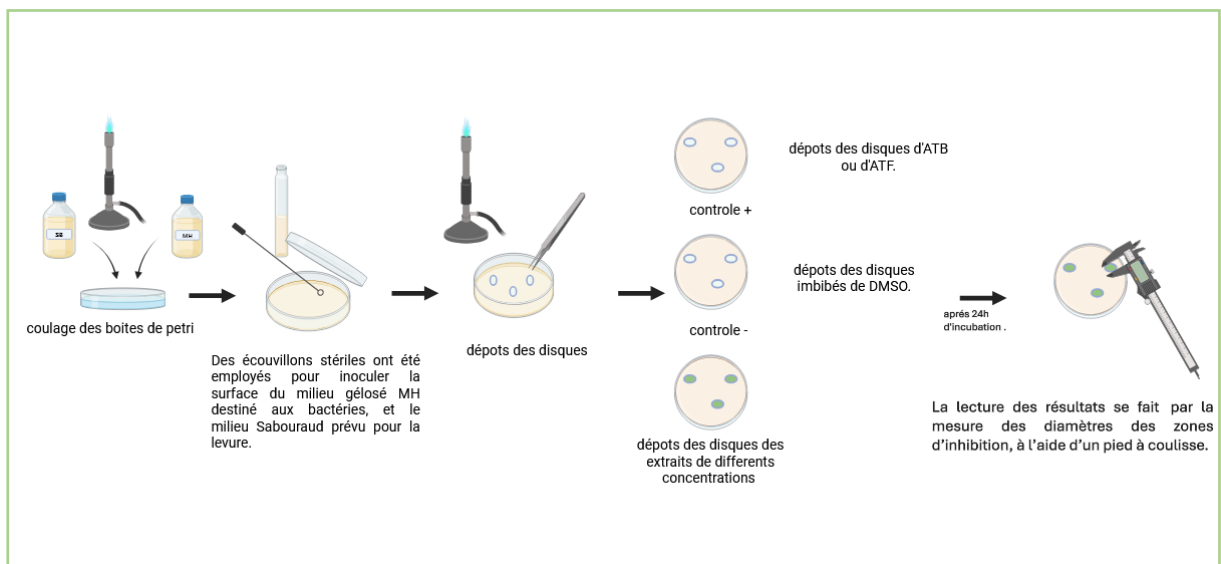


Figure 12 : schéma représentatif de la méthode de diffusion sur milieu solide. (Crée par biorender)

1^{re} étape : Coulage des boîtes de Petri stériles avec le milieu de culture (MH pour les bactéries, Sabouraud pour les champignons). Pour garantir une diffusion uniforme des extraits, l'épaisseur de la gélose doit être constante.

2^e étape : Après l'ajustement de l'inoculum. À l'aide d'un écouvillon stérile, la surface de gélose estensemencée uniformément en effectuant des stries de haut en bas.

3^e étape : Dépôts des disques de papier Wattman N° 3 (5 mm de diamètre) sur la surface des milieux ensemencés à l'aide d'une pince stérile, en effectuant trois répétitions pour chaque concentration. (Diverses concentrations C_0 , $C_{1/2}$ et $C_{1/5}$ ont été préparés en utilisant du DMSO)

Les disques déposés ont été imprégnés avec 10 μ l de chaque concentration au moyen d'une micropipette.

Lors des contrôles, le DMSO est employé comme contrôle négatif et on utilise des disques standards d'antibiotiques (destinés aux bactéries) et d'antifongiques (pour les champignons) en tant que contrôle positif.

4^e étape : les boîtes de Pétri sont mises en incubation à une température appropriée (37 °C) pendant une durée déterminée (généralement 18 à 24 heures).

5^e étape : L'interprétation de l'antibiogramme : Après l'incubation, les zones d'inhibition de la croissance bactérienne (zones claires) qui se trouvent autour des disques ont été évalués. Chaque zone d'inhibition est minutieusement mesurée en utilisant un pied à coulisse.

2.3.2. Technique de diffusion sur milieu liquide

Principe : La méthode de micro dilution en milieu liquide est une procédure de laboratoire cruciale pour évaluer l'efficacité antimicrobienne des extraits. Cette méthode permet de mesurer les CMI (concentration minimale inhibitrice) des extraits, qui correspondent à la plus faible concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne. La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial. Elle définit l'effet bactéricide d'un extrait (**Wikler,2006**).

Dans des microplaques stériles à 96 puits. Nous avons déterminé les CMI, CMB, CMF de divers extraits dans un milieu liquide comme il est indiqué dans le schéma ci-dessous.

Mode opératoire :

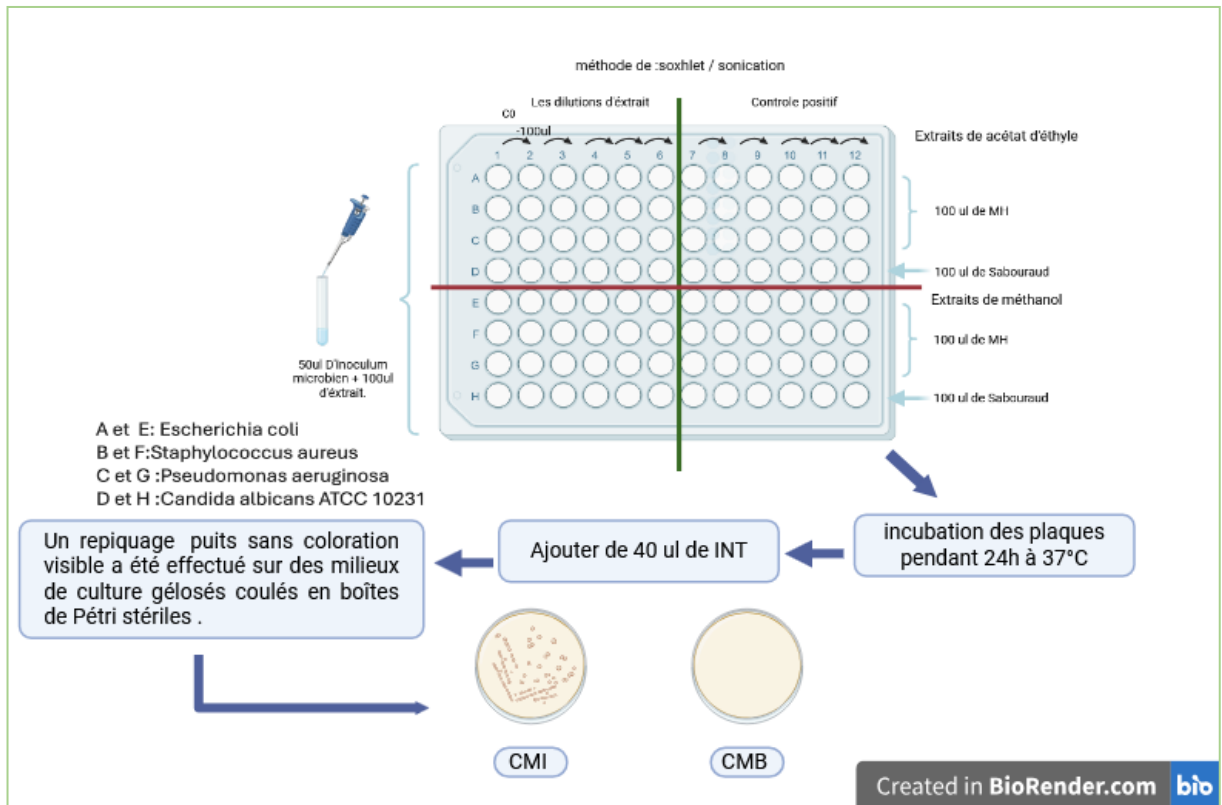


Figure 13 : Schéma de la méthode de micro dilution sur milieu liquide.

1^{er} étape : dépôt de 100 µl de milieu de culture dans chaque puits, des plaques.

- MHB pour les bactéries (dans les lignes « A-B-C-E-F-G »).
- SDB pour la levure (dans les lignes « D-H »).

2^e étape : Ajout de 100 µl extraits de la solution mère.

- Les extraits d'acétate d'éthyle ont été ajoutés dans les premiers puits de la première colonne de A jusqu'à D,
- Les extraits méthanolique de E à H.

Ensuite, un processus de dilution en cascade a été réalisé de la colonne 1 à 6 (milieux de culture comme agent de dilution). Pour obtenir un volume constant de 100 µl dans chaque puits, le surplus de la dernière concentration a été éliminé.

3^e étape : Ajout de 100 µl d'antibiotique et d'antifongique) dans les colonnes de 7 à 12 et les lignes de A à H qui sont réservées pour le contrôle positif.

- L'antibiotique « Cefazoline » dans les colonnes de 7 à 12 et les lignes de A à C et E à G.
- Et l'antifongique « fluconazole » dans les colonnes de 7 à 12 et les deux lignes D et H.

Puis un procédé de dilution en cascade a été réalisé jusqu'aux puits de la colonne 12 (100 μ l du dernier puits a été éliminé).

4^e étape : Ensemencement des puits avec 50 μ l de suspensions microbiennes

5^e étape : les microplaques de culture ont été mises en incubation dans l'étuve à 37 °C pendant 24 h.

6^e étape : Après 24h d'incubation, 40 μ l d'une solution d'iodonitrotétrazolium chloride (INT) d'une concentration de 0,2 mg/ml a été incorporé dans chaque puits.

Après 15 à 30 minutes de contact entre l'INT sur les cellules microbiennes un changement de couleur dans les puits est observé avec l'apparition d'une coloration rose indique une prolifération microbienne (**Mahcene *et al.*, 2024**).

En général, la CMI désigne la concentration du dernier puit dépourvu de couleur qui se trouve juste avant l'apparition du premier puit teinté. Une fois la CMI relevée, nous avons entrepris de déterminer la CMB. Cette décision a été prise en replantant les puits qui ne présentaient pas de croissance observable à l'œil nu, grâce à une micropipette pour les ensemercer sur une boîte de Pétri contenant un milieu de culture. Après une incubation de 24 heures à 37 °C, les boîtes où aucune croissance microbienne n'a été observée correspondent aux concentrations des extraits qui représentent les CMB (**Mahcene *et al.*, 2024**).

Résultats et discussions

3. Résultats et discussions

3.1. Résultats de l'activité antimicrobienne

3.1.1. Résultats de la méthode de diffusion sur milieu solide

Pour examiner l'efficacité antimicrobienne des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle de *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea hirsuta*, *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea virgata*, nous avons employé la technique de diffusion sur agar (méthode de Vincent), pour déterminer la sensibilité des quatre souches microbiennes vis-à-vis de nos extraits. Cette procédure implique la réalisation d'un antibiogramme en substituant les disques d'antibiotiques par des disques de 6 mm de diamètre imbibés d'extraits (10 µl : pur, 1/2, 1/5). Pour la même concentration, trois disques par boîte ont été déposés sur la gélose ensemencée par les souches microbiennes ajustées. Et une fois incubés (pendant 18 à 24 h), se manifeste par la création d'une zone d'inhibition autour du disque, servant ainsi d'indice de l'absence de croissance microbienne dans cette région.

Les tableaux et les figures ci-dessous présentent Les diamètres des zones d'inhibition en millimètres (\pm (écart-type) avec n= 3 disques par boîte), entourant les disques, pour les trois concentrations d'extraits obtenus par deux différentes méthodes d'extraction (soxhlet et sonication).

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des microorganismes incubés avec des extraits variés à différentes concentrations (méthode Sonication)

Extraction par Sonication							
Extraits	Souches	Diamètres de la zone d'inhibition en (mm)					
		Acétate d'éthyle			Méthanol		
		Pure	C1/2	C1/5	Pure	C1/2	C1/5
<i>Thymelaea virgata</i>	<i>Escherichia coli</i>	7,67±1,53	7,67±0,58	7,33±1,53	8,33±1,15	7±0	6±1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	7,33±0,58	6,33±0,58	6±0	6±0	6±0	6±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,67±0,58	7,33±1,53	7,33±1,53	9±0	7,67±1,15	7,67±0,53
	<i>Candida albicans</i>	9,67±0,58	8,33±0,58	8,33±0,58	8±1,73	8±1	7±0
<i>Thymelaea hirsuta</i>	<i>Escherichia coli</i>	8,67±1,53	7,33±0,58	7,33±0,58	7,67±1,53	7,67±0,58	6,33±1,53
	<i>Staphylococcus aureus</i>	9,33±0,58	9,33±0,58	7,33±0,58	8±1	6,33±0,58	6 ±0,58
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9±0,58	7,33±0,58	7,33±0,58	10±1	9±0	8,33±1,15
	<i>Candida albicans</i>	9±1	8±0,58	7,33±0	8,67±0,58	8,33±1	7,67±0,58
<i>Thymelaea microphylla</i>	<i>Escherichia coli</i>	6,33±0,58	6±0	6±0	7,67±0	7,67±1	7±0,58
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6±0	6±0	6±0	6±0	6±1	6±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,33±0,58	8±1	6,33±0,58	9,33±0,58	9,33±0,58	7,33±1,53
	<i>Candida albicans</i>	8,67±0,58	8,67±0,58	8,67±0,58	8,67±0,58	8,33±0	8±0,58
<i>Thymelaea tartonraira</i>	<i>Escherichia coli</i>	6,67±0,58	6,67±0,58	6,33±0,58	6,67±0,58	6,33±0	6±0,58
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9±0	9±0	9±1	9±0	9±0	6,67±0,58
	<i>Candida albicans</i>	10±1	10±0,58	9,33±1	9,33±0,58	9,33±0,58	9±0

Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des microorganismes incubés avec des extraits variés à différentes concentrations (méthode Soxhlet)

Extraction par Soxhlet							
Extraits	Souches	Diamètres de la zone d'inhibition en (mm)					
		Acétate d'éthyle			Méthanol		
		Pure	C1/2	C1/5	Pure	C1/2	C1/5
<i>Thymelaea virgata</i>	<i>Escherichia coli</i>	8,33±0,58	7,67±1,15	6±0	8±0	8±0	7,33±0,58
	<i>Staphylococcus aureus</i>	7,33±1,53	7±1,15	6,33±0	6±0	6±0,58	6±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,33±0,58	9±1,73	8,67±1,15	9±1	8±0	7±0
	<i>Candida albicans</i>	9,33±0,58	8,33±1,53	8±1	9,67±0,58	9,67±0,58	8,67±1
<i>Thymelaea hirsuta</i>	<i>Escherichia coli</i>	8,67±1,15	7,33±1	7±0,58	7±0	6±0	6±0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6±0	6±0	6±0	6,33±0,58	6±0	6±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8±1	7,67±0,58	7,33±1,15	9,67±1,15	7,33±0	7±0,58
	<i>Candida albicans</i>	8,67±1,15	8,33±0,85	8±1	9,67±1,53	8,67±2,08	7±0
<i>Thymelaea microphylla</i>	<i>Escherichia coli</i>	8,33±0,85	7,67±0,58	7±0	9 ±0	7,67±0,58	7,67±0,58
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6±0	6±0	6±0	7,33±0,58	7±0,58	6,33±1,73
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,33±1,53	9,33±1,15	9±0	8,67±1,15	7±0	6,33±0,58
	<i>Candida albicans</i>	10±1	9±0	9±1,73	10±1,73	9,33±0,58	8,33±1,15
<i>Thymelaea tartonraira</i>	<i>Escherichia coli</i>	8±0	7±0	6±0	7±0	6,33±0,58	6,33±0,58
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8±0,58	6,33±0,58	6±0	6,33±0,58	6±0	6±0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,67±0,58	8,33±0,58	8,33±2,08	6,33±0,58	6,33±0,58	6,33±0,58
	<i>Candida albicans</i>	9±0	9±1	8,33±2,08	9±0	8,33±0,58	8,33±0,58

Résultats et discussions

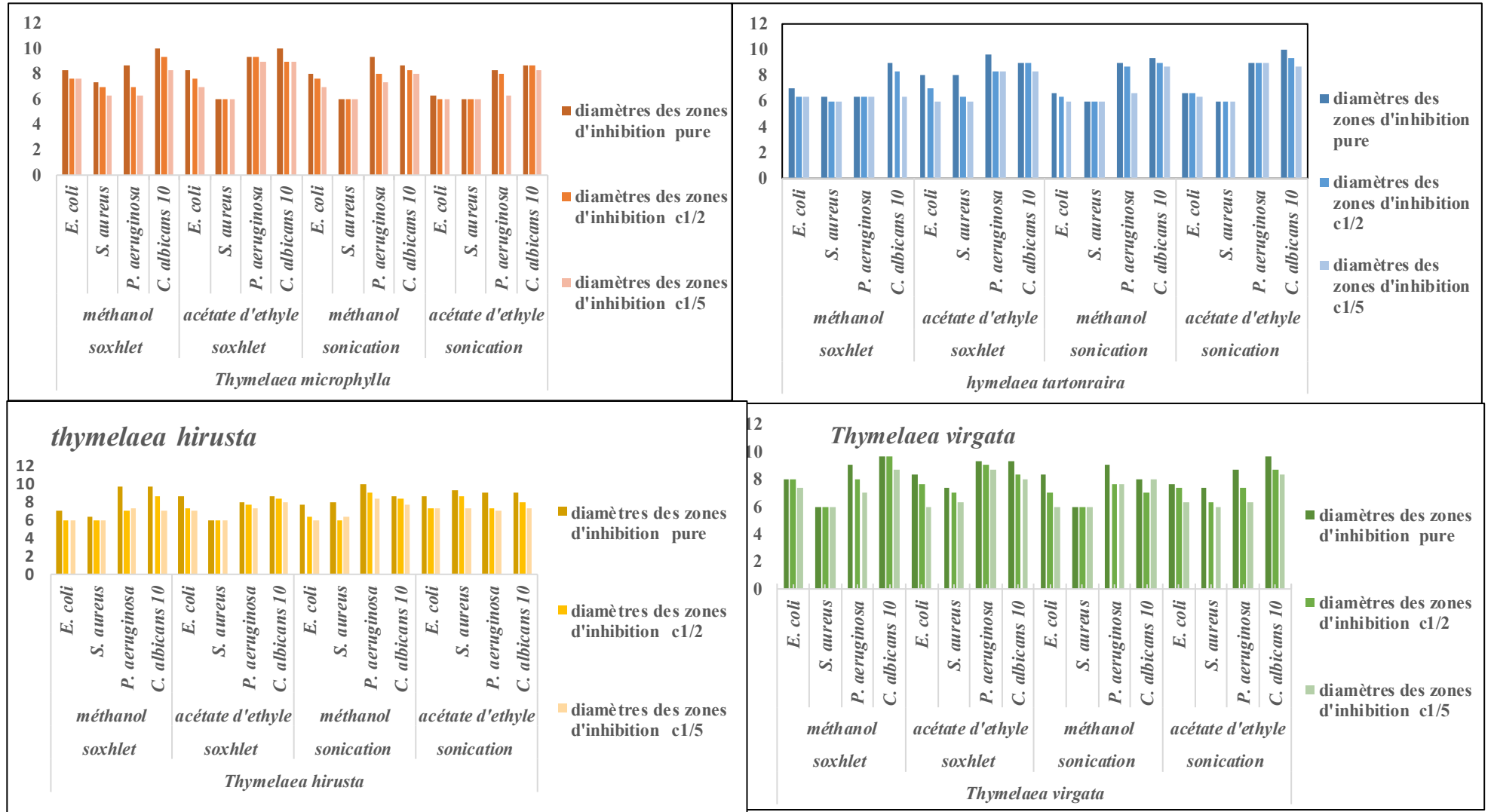


Figure 14: Histogrammes comparative représentant les diamètres des zones d'inhibition des extraits avec différentes méthodes d'extraction.

Un diamètre de 6 ± 0 mm indique l'absence de l'activité antimicrobienne (le disque à généralement un diamètre de 6 mm). et une zone d'inhibition plus élevée indique une activité antimicrobienne.

Les deux tableaux, ainsi que les histogrammes, illustrent les diamètres des zones d'inhibition obtenues suite à l'effet de nos extraits obtenus par deux méthodes d'extraction (soxhlet et sonication), en utilisant deux solvants (méthanol et acétate d'éthyle) avec trois concentration (pure, $C/2$ et $C/5$). Les extraits sont issus de diverses espèces de *Thymelaea* (*virgata*, *hirsuta*, *microphylla*, *tartouira*), mises à l'épreuve face à (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* 10).

Les données expérimentales relatives à l'action antimicrobienne selon la méthode de Vincent montrent une variation des diamètres des zones d'inhibition, variant entre 6 et 10 mm pour les extraits produits par la méthode de Soxhlet, ainsi que pour ceux issus de la méthode de sonication.

a) Comparaison de l'efficacité antimicrobienne selon les méthodes d'extraction (Soxhlet et Sonication)

L'analyse comparative des tableaux 7 et 8 met en évidence des différences entre les méthodes d'extraction par Soxhlet et Sonication, évaluées à travers les diamètres des zones d'inhibition.

Méthode de Soxhlet :

Staphylococcus aureus est résistante aux trois concentrations (pure, $C/2$ et $C/5$) d'extraits de *T. hirsuta* pour les deux solvants. Elle manifeste également une résistance aux extraits méthanolique de *T. virgata* et *T. tartouira*, ainsi qu'à l'extrait d'acétate d'éthyle de *T. microphylla*.

Tous les extraits testés sur *Candida albicans* présentent une activité antifongique quel que soit le solvant utilisé. Par exemple, l'extrait de *T. microphylla* à l'acétate d'éthyle donne une zone d'inhibition de 10 ± 1 à la concentration pure, et $10\pm 1,73$ avec le méthanol à concentration pure.

Cependant, pour certaines souches, la méthode Soxhlet montre une amélioration notable par rapport à la sonication. Ainsi, pour *T. tartouira* contre *Escherichia coli*, la zone passe de $7,67\pm 0,58$ (sonication, acétate d'éthyle. Extrait pur) à 8 ± 0 (Soxhlet, acétate d'éthyle extrait pur).

Globalement, le méthanol pur utilisé avec la méthode Soxhlet présente une efficacité comparable, voire légèrement inférieure à celle obtenue avec la méthode Sonication pour les souches sensibles à cette dernière, comme *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, pour d'autres bactéries, l'activité est supérieure. Par exemple, *T. microphylla* contre *E. coli* passe d'une zone de $7,67 \pm 0$ (sonication, méthanol, extrait pur) à 9 ± 0 (Soxhlet, même conditions).

Enfin, les concentrations diluées ($C/2$ et $C/3$) d'extraits d'acétate d'éthyle obtenus par Soxhlet produisent généralement de bonnes zones d'inhibition, parfois supérieures à celles observées avec la sonication. (Bien que les zones d'inhibition diminuent avec la dilution, elles restent significatives.)

Méthode de Sonication :

Staphylococcus aureus se montre résistant aux trois concentrations extrait de *Thymelaea microphylla* et *T. tartonraira*, quel que soit le solvant utilisé. En revanche, une résistance est uniquement observée pour les trois concentrations de *Thymelaea virgata* extraites avec du méthanol.

Le méthanol pur se révèle plus efficace que l'acétate d'éthyle pour. L'extrait de *T. microphylla* contre *Pseudomonas aeruginosa* présente une zone de $9,33 \pm 0,58$ (avec méthanol) tandis que celui (avec acétate d'éthyle) présente une zone $=8,33 \pm 0,58$. Les extraits obtenus par sonication démontrent également une activité marquée contre *Candida albicans*, en particulier lorsqu'ils sont extraits au méthanol.

L'acétate d'éthyle pure montre des zones d'inhibition semblent globalement similaires ou légèrement inférieures à celles obtenues par soxhlet pour l'extrait de *Thymelaea hirsta* contre *Escherichia coli* présente une zone de $8,67 \pm 1,15$ (soxhlet. Acétate d'éthyle) et une zone $8,67 \pm 1,53$ (Sonication. Acétate d'éthyle).

Nos résultats ont été comparés à ceux rapportés par (Bounab *et al.*,2017), l'huile essentielle de *Thymelaea microphylla* a révélé une activité antibactérienne marquée notamment contre *Escherichia coli*. En revanche, elle demeure inefficace contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Par contre nos résultats montrent que *Thymelaea microphylla* a révélé une activité antibactérienne marquée contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Et inefficace seulement avec les extraits d'acétate d'éthyle obtenue (par soxhlet et sonication) et les extraits méthanolique (obtenue par sonication) contre *Staphylococcus aureus*.

Ce qui confirme les résultats de (Noman *et al.*,2017), Ces derniers ont également noté une bonne inhibition vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus*, mais une faible inhibition contre *P.*

aeruginosa. Ces variations suggèrent une spécificité antimicrobienne de l'huile essentielle de *T. microphylla*, certaines espèces bactériennes y étant sensibles tandis que d'autres présentent une résistance probable liée à des mécanismes intrinsèques de défense ou à des différences de perméabilité membranaire.

Nos résultats montrent une activité antibactérienne supérieure de l'extrait méthanolique de *T. microphylla* contre *Staphylococcus aureus*, se manifestant par une zone d'inhibition de 7,33 mm. À l'inverse, l'extrait d'acétate d'éthyle n'a montré aucune activité inhibitrice dans des conditions similaires, ce qui est en cohérence avec les conclusions de (Allam *et al.*,2020) ont, par ailleurs, montré que l'extrait méthanolique de *Thymelaea microphylla*, riche en composés phénoliques et flavonoïdes, présentait une activité antibactérienne supérieure aux extraits obtenus avec l'acétate d'éthyle ou l'eau. Ceci met en évidence le rôle potentiel des phénols dans l'efficacité antimicrobienne des extraits de cette espèce.

Selon (Neggaz *et al.*,2015) La méthode d'extraction par Soxhlet est considérée comme la plus adaptée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Elle permet l'obtention d'extraits plus concentrés en composés bioactifs, augmentant ainsi la puissance et la fiabilité des effets antimicrobiens observés.

3.1.2. Résultats de la détermination de (CMI, CMB et CMF)

Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides ont été déterminées par des tests de micro-dilution en milieu liquide, réalisés après l'ajout d'INT. Cette méthode permet d'apprécier l'efficacité des extraits en fonction de leur capacité à inhiber la croissance microbienne à différentes concentrations.

Après avoir évalué l'activité antimicrobienne de nos extraits par la méthode de diffusion en gélose, nous avons complété cette analyse en appliquant la méthode de micro-dilution en milieu liquide sur l'ensemble des souches microbiennes testées. Cette approche a permis de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), définie comme la plus faible concentration d'un extrait végétal capable d'inhiber totalement la croissance bactérienne. La valeur de la CMI traduit l'effet bactériostatique d'un extrait, c'est-à-dire sa capacité à inhiber la croissance microbienne sans provoquer de destruction cellulaire.

En revanche, la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration permettant d'éliminer 99,99 % de l'inoculum bactérien après 24 heures d'incubation à 37 °C. Elle permet de caractériser l'effet bactéricide de l'extrait.

Pour les levures, la **Concentration Fongicide Minimale (CFM)** a été établie, correspondant à la plus faible concentration entraînant l'élimination complète de l'organisme fongique.

Les tableaux ci-dessous synthétisent les résultats obtenus souches, en précisant l'efficacité des différents extraits testés.

Tableau 9: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des extraits en (mg/ml) obtenues par la méthode de sonication.

Méthode de sonication					
Extraits	Souches	Concentration en (mg/ml)			
		Acétate d'éthyle		Méthanol	
		CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Thymelaea tartonraira</i>	<i>Escherichia coli</i>	8,34		4,17	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,34		8,34	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,34		4,17	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	
<i>Thymelaea hirsta</i>	<i>Escherichia coli</i>	4,17		8,34	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,08		4,17	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,17		4,17	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	
<i>Thymelaea microphylla</i>	<i>Escherichia coli</i>	8,34		8,34	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,34		8,34	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,08		8,34	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	
<i>Thymelaea virgata</i>	<i>Escherichia coli</i>	4,17		2,08	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,17		2,08	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,17		2,08	
	<i>Candida albicans</i>	0,52	16,67	0,52	

Tableau 10: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des extraits en (mg/ml) obtenues par la méthode de soxhlet.

Méthode de soxhlet					
Extraits	Souches	Concentration en (mg/ml)			
		Acétate d'éthyle		Méthanol	
		CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Thymelaea tartonraira</i>	<i>Escherichia coli</i>	4,17		4,17	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,17		4,17	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,17		4,17	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	
<i>Thymelaea hirsta</i>	<i>Escherichia coli</i>	4,17		8,34	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,17		8,34	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,17		8,34	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	16,67
<i>Thymelaea microphylla</i>	<i>Escherichia coli</i>	4,17		4,17	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,17		8,34	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,17		4,17	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	16,67
<i>Thymelaea virgata</i>	<i>Escherichia coli</i>	2,08		4,17	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,17		4,17	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,17		4,17	
	<i>Candida albicans</i>	0,52		0,52	

Dans les tableaux précédents, la CMI a été définie en fonction d'une série de concentrations d'extrait. (Tableau 11).

Tableau 11: Les positions des dilutions des extraits sur la microplaque.

<i>C0</i>	<i>C1/2</i>	<i>C1/4</i>	<i>C1/8</i>	<i>C1/16</i>	<i>C1/32</i>	<i>C1/64</i>
33,33	16,67	8,34	4,17	2,08	1,04	0,52
	1	2	3	4	5	6

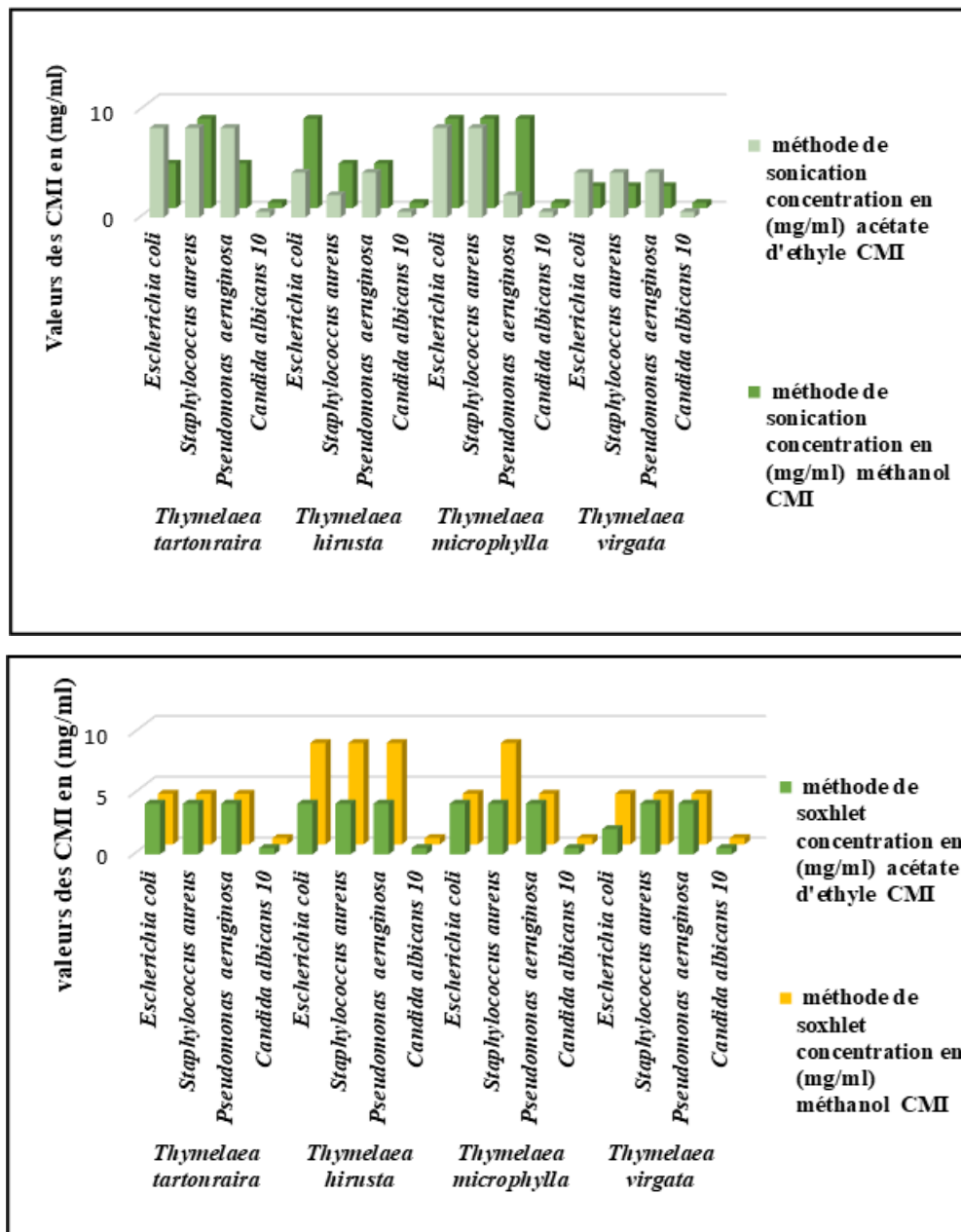


Figure 15: Comparaison des valeurs de CMI obtenues selon la méthode d'extraction (soxhlet et sonication).

D'après les tableaux 09 et 10 ainsi que l'histogramme de la figure 11, il apparaît que les valeurs de CMI varient sensiblement selon la souche microbienne et l'extrait utilisé, entre 0,52 et 8,34 mg/ml pour les deux méthodes d'extraction (Soxhlet et Sonication). On observe une corrélation inverse entre les CMI et l'activité antimicrobienne : des CMI plus faibles traduisent une sensibilité accrue de la souche à l'extrait, révélant une teneur élevée en composés antimicrobiens actifs.

L'analyse comparative des résultats met en évidence l'impact de la technique d'extraction sur l'efficacité des extraits. Pour des souches identiques, les valeurs de CMI et de CMF peuvent différer notablement selon qu'il s'agisse d'extraits obtenus par sonication ou par Soxhlet, reflétant l'influence du procédé sur la concentration des bioactifs.

Concernant *Escherichia coli* bactérie à gram négative, la CMI de l'acétate d'éthyle passe de 8,34 mg/ml avec les extraits de *T. tartonraira* et *T. microphylla* obtenus par sonication, à 4,17 mg/ml lorsque l'extraction est réalisée par Soxhlet. Pour *T. virgata*, la CMI décroît de 4,17 à 2,08 mg/ml selon la méthode employée. Ces observations suggèrent que l'extraction par Soxhlet pourrait être plus efficace pour concentrer les composés actifs dirigés contre *E. coli*. Des observations similaires ont été obtenues pour *Staphylococcus aureus*, une bactérie à Gram positif, où la méthode Soxhlet a également démontré une meilleure efficacité pour l'extraction de composés actifs. Cependant, dans le cas des extraits de *Thymelaea hirsuta* contre *Staphylococcus aureus*, la CMI de l'acétate d'éthyle passe de 4,17 mg/ml (obtenue par Soxhlet) à 2,08 mg/ml lorsque l'extraction est réalisée par sonication.

En ce qui concerne l'activité des extraits, ceux de *Thymelaea hirsuta* et *Thymelaea virgata*, *Thymelaea tartonraira* (extraits méthanolique) et *Thymelaea microphylla* (extrait d'acétate d'éthyle) obtenus par sonication ont montré une efficacité supérieure contre *Pseudomonas aeruginosa* comparée à celle des extraits préparés par Soxhlet. Par contre la CMI de l'acétate d'éthyle passe de 8.34 mg/ml avec les extraits de *Thymelaea tartonraira* (obtenus par sonication) à 4.17 mg/ml lorsque l'extraction est réalisée par soxhlet .

Une inhibition notable a été observée contre *Candida albicans* pour tous les extraits, quelle que soit la méthode d'extraction, avec la plus petite valeur de CMI =0,52 mg/ml. Les valeurs de CMF atteignent 16,67mg/ml pour *T. hirusta* et *T. microphylla* extraites par Soxhlet, ainsi que pour *T. virgata* obtenue par sonication.

La distinction entre effet bactéricide et bactériostatique est généralement basée sur le rapport CMB/CMI, une valeur ≤ 4 indiquant un effet bactéricide et > 4 un effet bactériostatique (Ishak *et al.*,2025). Dans notre étude, aucune CMB n'a été déterminée, cependant, elle a été estimée lorsqu'elle dépassait la CMI des différents extraits.

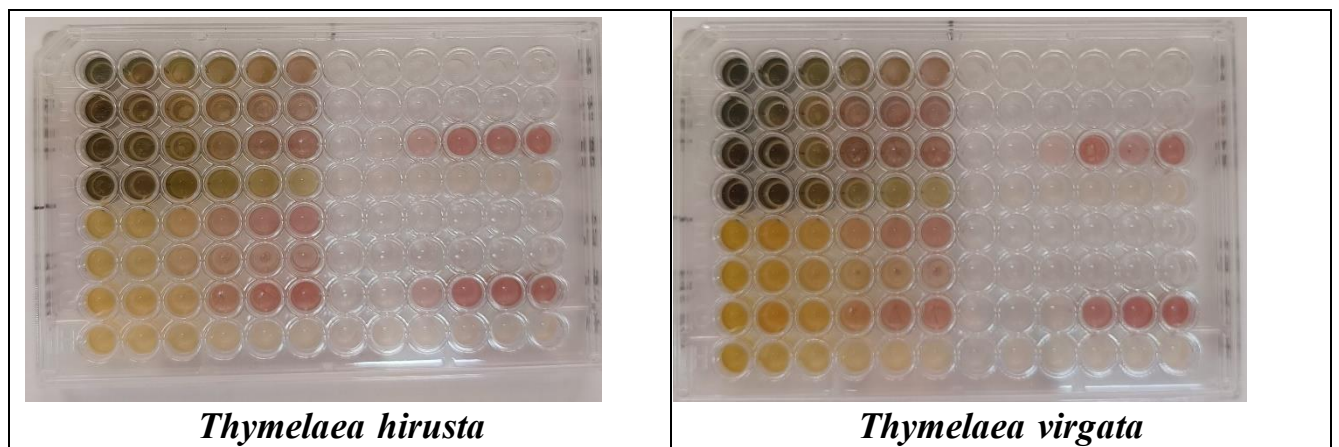
Pour *Candida albicans*, le rapport CMF/CMI est de 32,05 pour les extraits méthanolique de *T. microphylla* et *T. hirusta* (obtenus par Soxhlet), ainsi que pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de *T. virgata* suggérant une action fongistatique plutôt que fongicide.

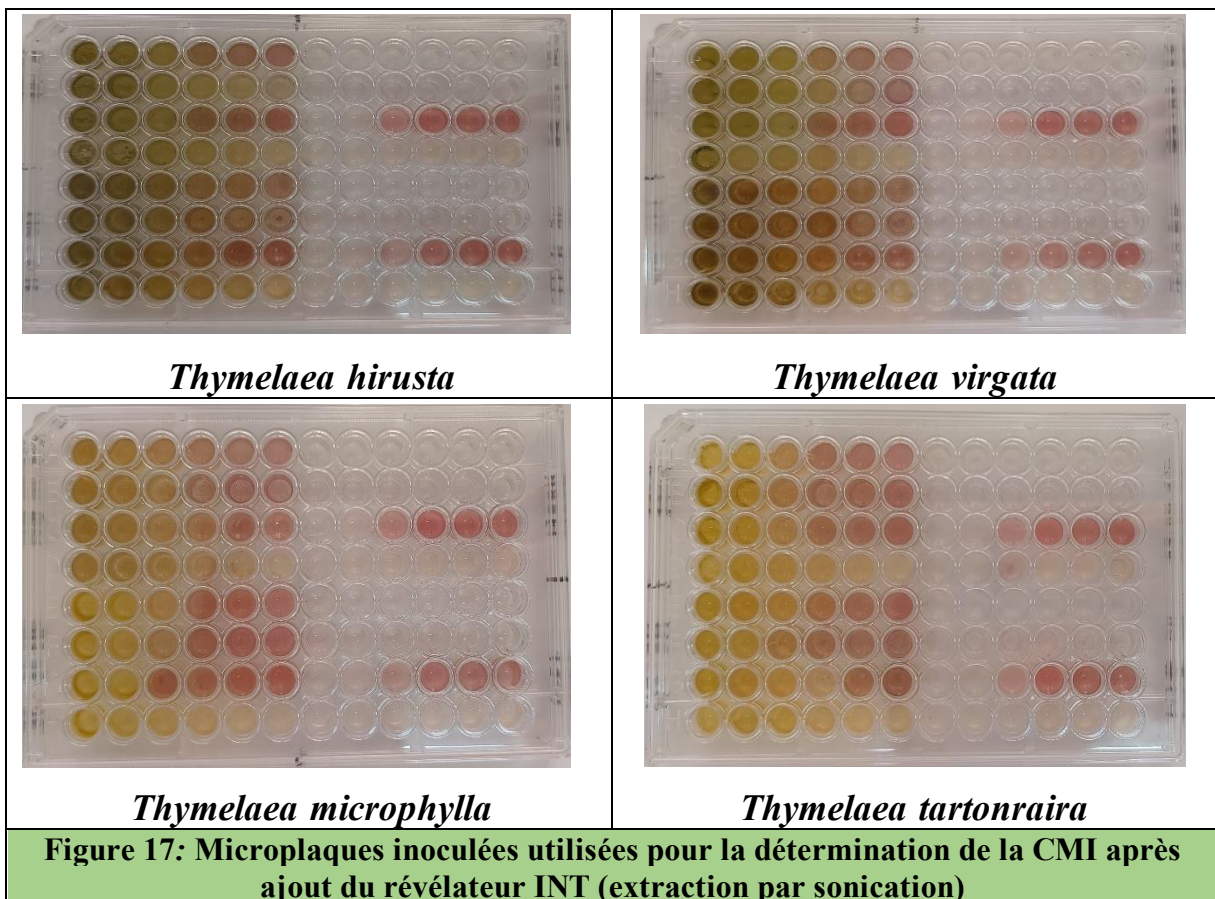
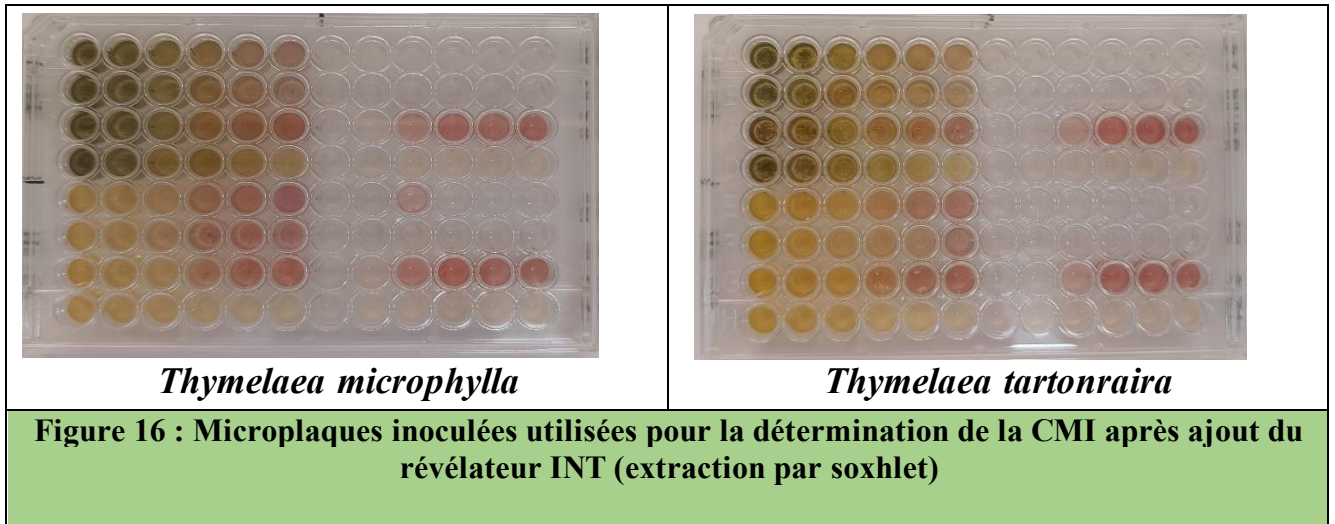
Globalement, l'extraction par Soxhlet tend à produire des extraits plus actifs pour *T. tartonraira* et *T. virgata* contre les bactéries, en particulier avec l'acétate d'éthyle, ce qui se traduit par une diminution des valeurs de CMI. L'efficacité relative des méthodes dépend toutefois de la nature et de la solubilité des molécules bioactifs dans les solvants utilisés, ainsi que de leur stabilité thermique (la sonication se faisant à froid, le Soxhlet sous chaleur).

Par contre, les études de (Sovrlić *et al.* 2015) concernant l'activité antimicrobienne des extraits de *Daphne Alpina* (Thymelaeaceae) obtenus par extraction au Soxhlet avec du méthanol, démontrent une efficacité notable. Ces extraits ont montré une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) efficace de 31,25 µg/ml contre *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, et des champignons tels que *Candida albicans* et *Aspergillus niger*.

(Juskovic *et al.*, 2017) ont par ailleurs montré que les extraits méthanolique de feuilles de *Daphne laureola*, provenant de la montagne Galicica et extraits par sonication, présentaient une forte activité antimicrobienne. Ils ont enregistré une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 6,25 mg/ml contre des bactéries comme *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les images ci-après illustrent les résultats des essais réalisés sur plaques de micro-dilution, chaque puits représentant une dilution donnée ; des extraits testés contre un isolat microbien donné. L'absence de turbidité indique une inhibition totale de la croissance, permettant de fixer la CMI ou la CMF. Par ailleurs, la coloration rose signale la présence de cellules métaboliquement actives, et donc viables.





Conclusion et perspectives

Depuis des siècles, les plantes médicinales sont utilisées pour traiter diverses affections humaines grâce aux composés bioactifs qu'elles renferment. Aujourd'hui, face à la montée des résistances aux antibiotiques et à l'intégration croissante des médecines traditionnelles comme complément aux soins modernes, l'intérêt scientifique pour l'étude du potentiel antimicrobien des plantes s'est intensifié, notamment pour optimiser les méthodes d'extraction de leurs principes actifs.

Dans ce travail, il a été démontré que la technique d'extraction ainsi que le choix du solvant (acétate d'éthyle ou méthanol) influencent l'activité antimicrobienne des extraits de *Thymelaea* (*hirsuta*, *microphylla*, *tartonraira* et *virgata*) vis-à-vis de trois bactéries (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) et de la levure *C. albicans*.

L'extraction par Soxhlet s'est révélée globalement plus efficace que la sonication, tant en termes de zones d'inhibition sur milieu gélosé que des valeurs de CMI et CMF obtenues par micro-dilution, comprises entre 0,52 et 8,34 mg/ml. Une inhibition marquée a notamment été observée contre *Candida albicans*.

Toutefois, *Staphylococcus aureus* s'est révélé résistant aux trois concentrations testées (pure, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{5}$) des extraits de *Thymelaea hirsuta*, quel que soit le solvant utilisé. De plus, cette bactérie n'a présenté une résistance qu'aux extraits méthanolique de *Thymelaea virgata* et *Thymelaea tartonraira* obtenus par Soxhlet, pour les mêmes concentrations.

Nos résultats montrent que les valeurs de CMI et de CMF varient selon les souches microbiennes, les extraits et la méthode d'extraction employée (sonication ou Soxhlet), traduisant une sensibilité différente aux composés bioactifs. Ces différences reflètent l'influence de la solubilité et de la stabilité thermique des composés actifs extraits, soulignant l'importance du choix de la méthode d'extraction pour optimiser l'activité antimicrobienne des extraits végétaux.

Globalement, l'acétate d'éthyle s'avère plus performant que le méthanol. La méthode Soxhlet montre, dans plusieurs cas, une meilleure activité antimicrobienne que la sonication. Cependant, l'efficacité varie selon les espèces de *Thymelaea*, le type de micro-organisme ciblé, le solvant utilisé et la concentration testée.

Ces résultats soulignent l'importance du procédé d'extraction dans la valorisation du potentiel antimicrobien des espèces de *Thymelaea* et ouvrent la voie à diverses perspectives :

- ✚ Explorer des techniques d'extraction plus modernes et écologiques (MAE, SFE),
- ✚ Optimiser les paramètres d'extraction par Soxhlet (tel que le solvant utilisé, la durée de l'extraction, etc.).
- ✚ Réaliser des analyses chromatographiques et spectroscopiques pour identifier les composés actifs et identifier les substances antimicrobiennes majoritaires obtenues via la technique de Soxhlet
- ✚ Évaluer la synergie, l'activité sur biofilms et la toxicité, et élargir les tests à d'autres souches, y compris multirésistantes.
- ✚ Ces approches pourraient ainsi contribuer au développement de nouveaux agents antimicrobiens d'origine végétale pour un usage médical ou agricole.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abid, Sanae, Mekhfi, Hassane, Ziyat, Abderrahim, Legssyer, Abdekhaleq, Aziz, Mohammed, & Bnouham, Mohamed** %J The Scientific World Journal. (2021). Beneficial Effect of *Thymelaea hirsuta* on Pancreatic Islet Degeneration, Renal Fibrosis, and Liver Damages as Demonstrated in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *2021*(1), 6614903.
2. **Abou-Karam, Mohamed, El-Shaer, Nagwa S, Shier, W Thomas** %J Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological, & Derivatives, Toxicological Evaluation of Natural Product. (1998). Inhibition of oncogene product enzyme activity as an approach to cancer chemoprevention. Tyrosine-specific protein kinase inhibition by daphnoretin from *Thymelaea hirsuta* root. *12*(4), 282-284.
3. **Alafid, Fouzy, Edrah, Salem Mohamed, Meelad, Fatimh Mustafa, Belhaj, Soad, Altwair, Khaled, & Maizah, Naser Ramdan** %J World Journal of Pharmaceutical Research. (2019). Evaluation of phytochemical constituents and antibacterial activity of *thymelaea hirsuta* (L.) Endl, and that utilised as a conventional treatment of infertility and diabetic in Libya. *8*(11), 72-88.
4. **Allam, Hanane, Bennaceur, Malika, Ksouri, Riadh, Sahki, Rabéa, Marouf, Abderrazak, & Benamar, Houari** %J Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences. (2020). Identification of phenolic compounds and assessment of the antioxidant and antibacterial properties of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. from Western Algerian Sahara (Ain-Sefra Province). *13*(3).
5. **Amari, Nesrine Ouda, Bouzouina, Mohamed, Berkani, Abdellah, & Lotmani, Brahim** %J Asian Pacific journal of tropical disease. (2014). Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L. *4*(2), 104-109.
6. **Atallah, Ruaa M, Al-Awadi, Salwa J, Kalaf, Elham A, Ghaneim, Zainab J, & Fahad, Maan A** %J Iraqi Journal of Industrial Research. (2022). Screening of Antimicrobial Activity from Various Pharmaceutical Companies in Iraq. *9*(3), 131–135-131–135.
7. **Azza, Zora, & Oudghiri, Mounia** %J Pharmacognosy research. (2015). In vivo anti-inflammatory and antiarthritic activities of aqueous extracts from *Thymelaea hirsuta*. *7*(2), 213.
8. **Belgacem. (2020)**. Effet antimicrobien des extraits de *Retama dasycarpa* et *Thymelaea hirsuta* récoltées de la région de Djelfa.
9. **Belkhiri, Farida.** (2018). Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *tamus communis* L. et *carthamus caeruleus* L.
10. **Belreka et Tair** (2022). Investigation Phytochimique Et Biologique De L'espece *Thymelaea Hirsuta* L. (Master), Université Saad Dahleb Blida 1,
11. **Ben Amor, B** %J Université de La Rochelle, France. (2008). Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs; texturation par détente instantanée contrôlée DIC.
12. **Bencheikh, Nouredine, Ouahhoud, Sabir, Cordero, Mary Anne W, Alotaibi, Amal, Fakchich, Jamila, Ouassou, Hayat, . . . Elachouri, Mostafa** %J Applied Sciences. (2022). Nephroprotective and antioxidant effects of flavonoid-rich extract of *Thymelaea microphylla* Coss. et dur aerial part. *12*(18), 9272.

13. **Bitar, Dounia, Lortholary, Olivier, Dromer, Françoise, Coignard, Bruno, & Che, Didier** %J Bulletin Épidémiologie Hebdomadaire. (2013). Mycoses invasives en France métropolitaine, PMSI 2001-2010: incidence, létalité et tendances. *12*(13), 109-114.
14. **Blair, Jessica MA** %J Nature Climate Change. (2018). A climate for antibiotic resistance. *8*(6), 460-461.
15. **Bnouham, Mohamed, Ziyat, Abderrahim, Mekhfi, Hassane, Tahri, Abdelhafid, Legssyer, Abdelkhaleq** %J International Journal of Diabetes, & Metabolism. (2006). Medicinal plants with potential antidiabetic activity-Areview of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *14*(1), 1-25.
16. **Bnouham, Mohamed, Benalla, Wafaa, Bellahcen, Said, Hakkou, Zineb, Ziyat, Abderrahim, Mekhfi, Hassane, . . . Legssyer, Abdelkhaleq** %J Journal of Diabetes. (2012). Antidiabetic and antihypertensive effect of a polyphenol-rich fraction of *Thymelaea hirsuta* L. in a model of neonatal streptozotocin-diabetic and NG-nitro-l-arginine methyl ester-hypertensive rats. *4*(3), 307-313.
17. **Bouchelaghem Maroua et Rania.** (2020). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des Flavonoïdes De l'espèce *Thymelaea hirsuta* (L) (master), Université Saad Dahleb -blida -,
18. **Bounab , Lograda, Takia, Ramdani, Messaoud, & Chalard, Pierre** %J Biodiversitas Journal of Biological Diversity. (2019). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Thymelaea hirsuta* from Algeria. *20*(10).
19. **Bounab, Souhila.** (2020). Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila): étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales.
20. **Bounab, Souhila, Lograda, Takia, Ramdani, Messaoud, Chalard, Pierre, Figueredo, Gilles** %J Indian Research Journal of Pharmacy, & Science. (2017). Phytochemical investigations and antibacterial and antioxidant properties of *Thymelaea microphylla* essential oil. *4*(4), 1205-1215.
21. **Bourrillon, A, Bingen, E, Gaudelus, J, & Cohen, R.** (2004). Comment réduire la prescription des antibiotiques chez l'enfant. In *Journées parisiennes de pédiatrie 2004* (pp. 183-191): Flammarion Médecine–Science.
22. **Camille, DELARRAS.** (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures: Lavoisier.
23. Castro, M., & Priego-Capote, F. 1217 16, . . (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of chromatography. A, 1217 16*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>.
24. **Chaudhary, Arpana Sagwal** %J Acta Pharmaceutica Sinica B. (2016). A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics' discovery. *6*(6), 552-556.
25. **Chemat, Farid, Rombaut, Natacha, Sicaire, Anne-Gaëlle, Meullemiestre, Alice, Fabiano-Tixier, Anne-Sylvie, & Abert-Vian, Maryline** %J Ultrasonics sonochemistry. (2016). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *34*, 540-560.
26. **Dehimi, Khadidja.** (2011). *Etude de quelques propriétés des extraits de Thymelaea microphylla Coss. et Dur.* université mohamed khider-biskra,
27. **Dehimi, Khadidja.** (2018). *Study of biological activities of extracts from Thymelaea microphylla Coss. and Dur.*

28. **Dehimi, Khadidja**, Speciale, Antonio, Saija, Antonina, Dahamna, Saliha, Raciti, Roberto, Cimino, Francesco, & Cristani, Mariateresa %J *Pharmacognosy magazine*. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory properties of Algerian *Thymelaea microphylla* Coss. and Dur. extracts. *12*(47), 203.
29. **Djahafi, Asma, Taïbi, Khaled, & Ait Abderrahim, Leila** %J *Mediterranean botany*. (2021). Aromatic and medicinal plants used in traditional medicine in the region of Tiaret, North West of Algeria. *42*, e71465.
30. **Dorrance, AE, Berry, SA, & Lipps, PE** %J *Plant Health Progress*. (2004). Characterization of *Pythium* spp. from three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. *5*(1), 10.
31. **El-Hak, Heba Nageh Gad, Mohallal, Eman ME, & Abomosallam, Mohamed** %J *Journal of Ethnopharmacology*. (2025). Reproductive and developmental safety evaluation of *Thymelaea hirsuta* (L.) leaves aqueous extract in Wistar albino rats. *336*, 118729.
32. **Fernández-Fernández, M. Barriada-Pereira and E. Concha-Graña and M. González-Castro and S. Muniategui-Lorenzo and P. López-Mahía and D. Prada-Rodríguez and E.** (2003). Microwave-assisted extraction versus Soxhlet extraction in the analysis of 21 organochlorine pesticides in plants. *Journal of chromatography.*, *008 1*, 115-122. doi:10.1016/S0021-9673(03)01061-6}
33. **Ghamgui, Hanen, Jarboui, Raja, Jeddou, Khawla Ben, Torchi, Ayda, Siala, Mariem, Cherif, Slim, & Trigui, Mohamed** %J *International Journal of Biological Macromolecules*. (2024). Polysaccharide from *Thymelaea hirsuta* L. leaves: Structural characterization, functional properties and antioxidant evaluation. *262*, 129244.
34. **Goossens, Ferech, Herman, , Matus Vander Stichele, Robert, & Elseviers, Monique** %J *The Lancet*. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *365*(9459), 579-587.
35. **Gopalasatheeskumar, Kasiramar** %J *Mintage* (2018). Significant role of soxhlet extraction process in phytochemical research. *Journal of Pharmaceutical Medical Sciences*, *7*(1), 43-47.
36. **Hanoun, Saida, Agaba, Imen, Agoun, Ilhem, Gaid, Kelthoum Ahmed, Mellal, Hanen, Chenna, Housseem, & Aroua, Khaoula** %J *Tropical Journal of Natural Product Research*. (2023). Phytochemical Screening and In Vitro Antibacterial Activity of Methanol Extract of *Thymelaea hirsuta* and *Anacyclus pyrethrum* from Algeria against Multi-Drug Resistant Bacteria Associated with Skin Infections. *7*(5).
37. **Hromádková, Anna Ebringerová . Zdenka.** (2010). An overview on the application of ultrasound in extraction, separation and purification of plant polysaccharides. *Central European Journal of Chemistry.*, *8*, 243-257. doi:10.2478/s11532-010-0006-2
38. **Idm'hand, Elhassan, Msanda, Fouad, & Cherifi, Khalil** %J *Clinical Phytoscience*. (2020). Ethnopharmacological review of medicinal plants used to manage diabetes in Morocco. *6*, 1-32.
39. **Ishak, Angela, Mazonakis, Nikolaos, Spernovasilis, Nikolaos, Akinosoglou, Karolina, & Tsioutis, Constantinos** %J *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. (2025). Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *80*(1), 1-17.
40. **Juskovic, M., Zabar-Popovic, A., Matejić, J. S., Mihajilov-Krstev, T., Manojlovic, N., & Vasiljević, P.** (2017). Phytochemical screening, antioxidants and antimicrobial potential of leaves of *Daphne laureola* L. *Oxidation*, *40*, 1058-69.

41. **Kerbab, Khawla, Mekhelfi, Tarak, Zaiter, Lahcene, Benayache, Samir, Benayache, Fadila, Picerno, Patrizia, . . . Rastrelli, Luca** %J Natural product research. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of a polar extract of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. 29(7), 671-675.
42. **Kerboub, Houda.** (2017). *Valorisation de certaines plantes sauvages*. Université Mustapha Stambouli de Mascara, Département de Bi,
43. **KERBOUB, Houda.** (2018). Valorisation de certaines plantes sauvages: *Thymelaea hirsuta* Endl.(Metnane) et *Haloxylon scoparium* Pomel.(Remt). Bio-activité et Caractérisation des Composés Phénoliques.
44. **Laib, Samira, & Lalaoui, Korichi.** (2018). *Le rôle de Thymelaea microphylla dans l'amélioration du stress oxydant et du taux de la métallothionéine induits par le cadmium dans le rein chez le rat*. Université Frères Mentouri-Constantine 1,
45. **Luque de Castro, M. D., & García-Ayuso, L. E.** (1998). Soxhlet extraction of solid materials an outdated technique with a promising innovative future . analytical chemical act 369.
46. **Marmouzi, Ilias, Bouchmaa, Najat, Kharbach, Mourad, Ezzat, Shahira M, Merghany, Rana M, Berkiks, Inssaf, & El Jemli, Meryem** %J South African Journal of Botany. (2021). *Thymelaea* genus: Ethnopharmacology, chemodiversity, and bioactivities. 142, 175-192.
47. **Mahcene, Salem, Fatiha Elhouiti, Imad Mennai, Diana C.G.A. Pinto, Djilali Tahri, Mohamed Ouinten, and Mohamed Yousfi.** 2024. "A Comparative Study on the Chemical Composition, Anti-Microbial, Antiparasitic, and Cytotoxic Activities of *Rhanterium Adpressum* Coss. & Dur. and *Rhanterium Suaveolens* Desf. Essential Oils from Algeria." *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 27 (2): 327–40.
48. **Mekhelfi, Tarak, Kerbab, Khawla, Guella, Graziano, Zaiter, Lahcene, Benayache, Samir, & Benayache, Fadila** %J Pharm. Lett. (2014). Phytochemical constituents of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. from Algeria. 6, 152-156.
49. **Mendoza-Olazarán, Soraya, Morfín-Otero, Rayo, Villarreal-Treviño, Licet, Rodríguez-Noriega, Eduardo, Llaca-Díaz, Jorge, Camacho-Ortiz, Adrián, . . . Garza-González, Elvira** %J PLoS One. (2015). Antibiotic susceptibility of biofilm cells and molecular characterisation of *Staphylococcus hominis* isolates from blood. 10(12), e0144684.
50. **Mueller, Matthew, & Tainter, Christopher R.** (2023). *Escherichia coli* infection. In StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing.
51. **Nataro, James P, & Kaper, James B** %J Clinical microbiology reviews. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. 11(1), 142-201.
52. **Neggaz, Samir, Fortas, Zohra, Chenni, Mohammed, El Abed, Douniazad, Ramli, B, & Kambouche, N** %J Phytothérapie. (2015). In vitro evaluation of antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Terfezia clavervyi* Chatin. 16(1), 20-26.
53. **Nkhili, Ez-zohra.** (2009). *Polyphénols de l'alimentation: extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant*.
54. **Noman, Labib, Zellagui, Amar, Hallis, Youcef, Yaglioglu, Ayse Sahin, Demirtas, Ibrahim, Gherraf, Nouredine, & Rhouati, Salah** %J Der Pharm. Lett. (2015). Antioxidant and antimicrobial activities of an endemic desert species *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. 7(1), 118-121.
55. **Noman, Labib, Oke-Altuntas, Feyza, Zellagui, Amar, Sahin Yaglioglu, Ayse, Demirtas, Ibrahim, M Cardoso, Susana, . . . Rhouati, Salah** %J Natural product research. (2017). A

- novel benzimidazole and other constituents with antiproliferative and antioxidant properties from *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. 31(17), 2032-2041.
56. **Ounis, Roumaïssa.** (2024). Pharmacological activities of *Thymelaea hirsuta* L. extracts.
 57. **Pan, Li, De Blanco, Esperanza J Carcache, Kinghorn, A Douglas** %J Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function,, & Application. (2009). Plant-derived natural products as leads for drug discovery. 547-567.
 58. **Pibiri, Marie-Cécile.** (2006). *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*. EPFL,
 59. **Protiva Rani Das, Jong-Bang Eun.** (2018). A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction techniques on bioactive metabolites of green tea extract. *Food chemistry*, 253, 22-29. doi: {10.1016/j.foodchem.2018.01.080}
 60. **Quezel, Pierre, & Santa, Sébastien.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*: Eds. du Centre Nat. de la Recherche Scientifique.
 61. **Rachid, Azzi, Rabah, Djaziri, Farid, Lahfa, Zohra, Sekkal Fatima, Houcine, Benmehdi, & Nacéra, Belkacem** %J Journal of medicinal plants research. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. 6(10), 2041-2050.
 62. **Rios, Jose-Luis, & Recio, Maria Carmen** %J Journal of ethnopharmacology. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. 100(1-2), 80-84.
 63. **Rouane, Mohamed Ilias.** (2023). *Contribution à l'étude de pouvoir thérapeutique de quelques plantes médicinales (Thymelaea et allium)*. Université Ibn Khaldoun,
 64. **Samiya, Boussaid.** (2017). Etude phytochimique et activité biologique des parties aériennes (feuilles, fleurs et brindilles) de *Thymelaea hirsuta*.
 65. **Sovrlić, M., Vasiljević, P., Jušković, M., Mašković, P., & Manojlović, N.** (2015). Phytochemical, antioxidant and antimicrobial profiles of extracts of *Daphne alpina* (Thymelaeaceae) L leaf and twig from Mt Kopaonik (Serbia). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(7), 1239-1248.
 66. **Scherrer, Ayalla M, Motti, Riccardo, & Weckerle, Caroline S** %J Journal of ethnopharmacology. (2005). Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (Campania, Southern Italy). 97(1), 129-143.
 67. **Soltani, Siwar, Koubaa, Imed, Cojean, Sandrine, Picot, Carine, Marchand, Pascal, & Allouche, Nouredine** %J Natural Product Research. (2024). Phytochemical, antileishmanial, antifungal and cytotoxic profiles of *Thymelaea tartonraira* (L.) All. extracts. 38(20), 3481-3487.
 68. **Soltani, Siwar, Koubaa, Imed, Dhouib, Ines, Khemakhem, Bassem, Marchand, Pascal, Allouche, Nouredine** %J Chemistry, & Biodiversity. (2023). New Specific α -Glucosidase Inhibitor Flavonoid from *Thymelaea tartonraira* Leaves: Structure Elucidation, Biological and Molecular Docking Studies. 20(3), e202200944.
 69. **Swidergall, Marc** %J Pathogens. (2019). *Candida albicans* at host barrier sites: pattern recognition receptors and beyond. 8(1), 40.
 70. **Talbaoui, Ahmed, Jamaly, Naoual, Aneb, M, Idrissi, A, Bouksaim, M, Gmouh, S, . . . Bakri, Y** %J Journal of Medicinal Plants Research. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. 6(31), 4593-4600.

71. **Trigui, Mohamed, Hsouna, Anis Ben, Tounsi, Slim, Jaoua, Samir** %J *Industrial Crops, & Products*. (2013). Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaea hirsuta* with special reference to its mode of action. *41*, 150-157.
72. **van der Graaf, Chantal AA, Netea, Mihai G, Verschueren, Ineke, van der Meer, Jos WM, Kullberg, Bart Jan** %J *Infection, & immunity*. (2005). Differential cytokine production and Toll-like receptor signaling pathways by *Candida albicans* blastoconidia and hyphae. *73*(11), 7458-7464.
73. **Vinatoru, Mircea** %J *Ultrasonics sonochemistry*. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *8*(3), 303-313.
74. **Webste, G.R. Barrie**. (2006). Soxhlet and Ultrasonic Extraction of Organics in Solids. doi:10.1002/9780470027318.A0864
75. **Weller, Lijun Wang and C.** (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants}. *Trends in Food Science and Technology*, *17*, 300-312. doi:10.1016/J.TIFS.2005.12.004
76. **Wikler, Matthew A** %J *Clsi*. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *26*.
77. **Wu, Weihui, Jin, Yongxin, Bai, Fang, & Jin, Shouguang**. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular medical microbiology* (pp. 753-767): Elsevier.
78. **Yahyaoui, Maroua, Bouajila, Jalloul, Cazaux, Sylvie, & Abderrabba, Manef** %J *Phytomedicine*. (2018). The impact of regional locality on chemical composition, anti-oxidant and biological activities of *Thymelaea hirsuta* L. extracts. *41*, 13-23.
79. **Zellagui, Amar, Gherraf, Noureddine, & Akkal, Salah**. (2012). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Enante virgata* Poiret aerial parts, endemic in North Africa.

Annexes

Annexes

Tableau 12: Préparation des milieux de culture.

Milieux de culture	Préparation de milieu solide	Préparation de milieu bouillon
Muller Hinton (pour les bactéries)	21g de la poudre du milieu de culture a été dissoute dans un litre d'eau distillée. On ajoute 10g d'agar-agar. Agiter tout en chauffant jusqu'à complète dissolution. Le milieu préparé est soumis à une stérilisation par autoclave à 120 °C pendant 20 minutes.	38g de la poudre du milieu de culture a été dissoute dans un litre d'eau distillée. Agiter tout en chauffant jusqu'à complète dissolution. Le milieu préparé est soumis à une stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.
Sabouraud (pour la levure)	65g de la poudre du milieu de culture a été dissoute dans un litre d'eau distillée. On ajoute 10g d'agar-agar. Agiter tout en chauffant jusqu'à complète dissolution. Le milieu préparé est soumis à une stérilisation par autoclave à 120 °C pendant 20 minutes.	28g de la poudre du milieu de culture a été dissoute dans un litre d'eau distillée. Agiter tout en chauffant jusqu'à complète dissolution. Le milieu préparé est soumis à une stérilisation par autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

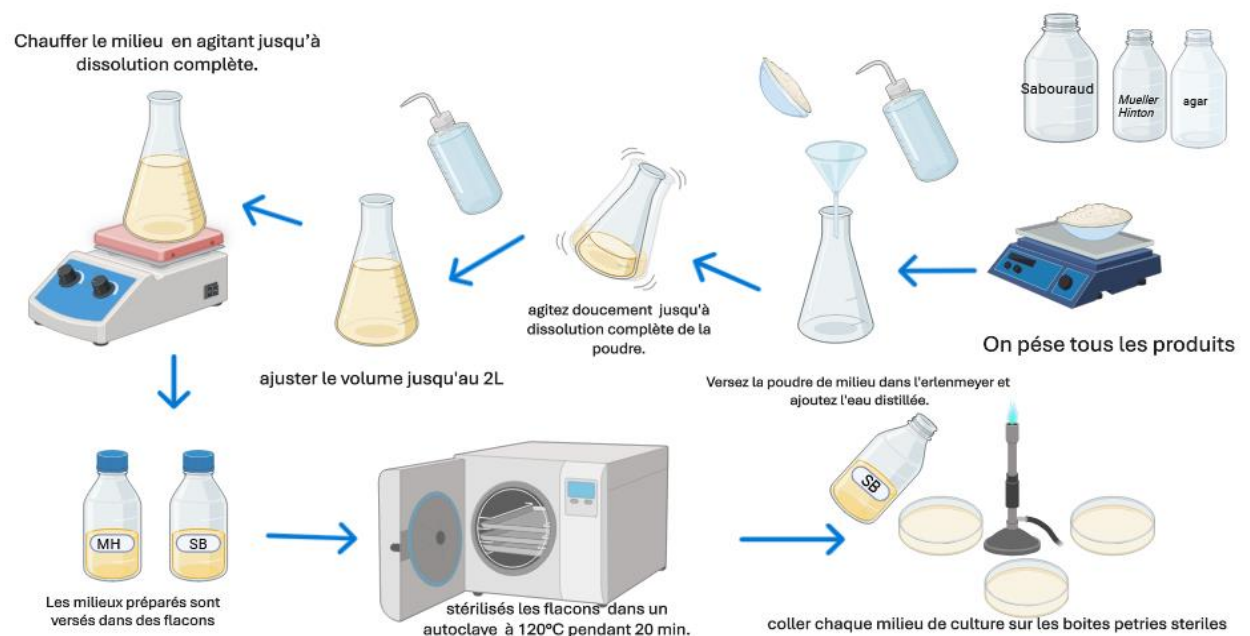


Figure 18: Schéma représentatif de préparation des milieux de culture



Figure 19 : photo illustrant de préparation de milieu de culture

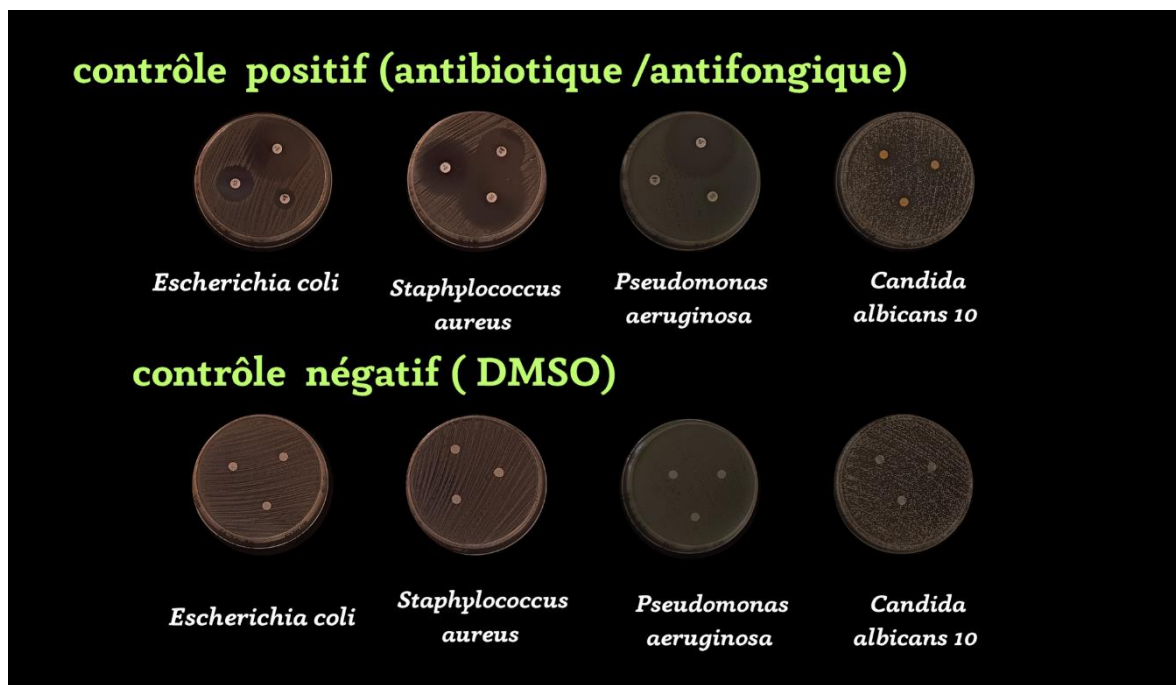


Figure 20: Effet du DMSO et l'antibiotique et l'antifongique sur les souches microbiennes