

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي - الأغواط -  
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI - LAGHOUAT -  
كلية العلوم  
FACULTÉ DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Projet de fin d'étude

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie appliquée*

**Thème :** \_\_\_\_\_

**Évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits  
végétaux de deux espèces locales**

**Présenté par :**

- Mlle. BENDELALA Fatima Zohra
- Mlle. BAADJ Amina

**Soutenu publiquement le 03/07/2024 devant les membres de jury :**

M. BOUBRIMA Youcef	Dr	Université Amar Telidji, Laghouat	Président
M. BENAMAR Ibrahim	Dr	Université Amar Telidji, Laghouat	Examinateur
M. OUINTEN Mohamed	Pr	Université Amar Telidji, Laghouat	Rapporteur
Mme EL-HOUITI Fatiha	Dr	Université Amar Telidji, Laghouat	Co-Rapporteur

**Année universitaire 2023-2024**

## ***Résumé***

*Thymelaea*, aussi connue sous le nom de « Methenane abiadh, Methnene el kharchi », est une plante médicinale très répandue dans le sud de l'Algérie. Cette étude vise à étudier les propriétés antimicrobiennes des extraits phénoliques des deux espèces *T. Microphylla* et *T. Tartonraira*. Plusieurs extractions sont réalisées avec des solvants à polarités croissantes (Acétate d'éthyle, Méthanol) sur les deux plantes.

On a évalué l'activité antimicrobienne des deux extraits pour trois souches bactériennes et une souche de levure en utilisant la méthode de diffusion sur un milieu solide et la méthode de micro dilution des deux extraits. Les diamètres des zones d'inhibition diffèrent en fonction de la sensibilité des souches à l'égard des deux extraits. Les résultats obtenus montrent que l'extrait de méthanol du *Thymelaea tartonraira* possède un pouvoir antibactérien plus ou moins élevé contre les bactéries Gram (-) *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* et *Y. Enterocolitica* et un pouvoir antifongique peu élevé contre *Candida albicans*.

**Mots clés :** *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea tartonraira*, extraits phénoliques, activité antibactérienne, activité antifongique, Acétate d'éthyle, Méthanol.

## ***Abstract***

*Thymelaea*, also known as «Methenane abiadh, Methnene el kharchi », is a very common medicinal plant in southern Algeria. This study aims to study the antimicrobial properties of phenolic extracts of the two species *T. Microphylla* and *T. Tartonraira*. Several extractions are made with solvents with increasing polarities (Ethyl Acetate, Methanol) on both plants.

The antimicrobial activity of the two extracts for three bacterial strains and one yeast strain was evaluated using the solid medium diffusion method and the two extract microdilution method. The diameters of the inhibition zones differ depending on the sensitivity of the strains to the two extracts. The obtained results show that the methanol extract of *Thymelaea tartonraira* has a more or less high antibacterial power against the bacteria Gram (-) *K. pneumoniae*, *S. enteritidis* and *Y. Enterocolitica* and a low antifungal power against *Candida albicans* .

**Key words:** *Thymelaea microphylla*, *Thymelaea tartonraira*, phenolic extracts, antibacterial activity, antifungal activity, Ethyl acetate, Methanol.

## المُلخَص

تيميلية (بالإنجليزية: Thymelaea)، المعروفة أيضاً باسم «ماتنان، ماتنان الخرشى». هي نبات طبي شائع جداً في جنوب الجزائر. تهدف هذه الدراسة إلى دراسة الخصائص المضادة للميكروبات للمستخلصات الفينولية للنوعين ماتنان أبيض و ماتنان الخرشى، يتم إجراء العديد من عمليات الإستخراج بالمذيبات ذات الإستقطابات المتزايدة (أستات الإيثيل، الميثانول) على كلا النباتين.

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصين على ثلاث سلالات بكتيرية وسلالة خميرة واحدة باستخدام طريقة الإنتشار المتوسطة الصلبة وطريقة التخفيف الدقيقة. تختلف أقطار مناطق التثبيط وفقاً لحساسية السلالات للمستخلصين. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص الميثانول من نوع ماتنان الخرشى لديه قوة مضادة للبكتيريا عالية إلى حد ما ضد البكتيريا سلبية الغرام (الكليسيلا الرئوية، السلمونيلا المعوية ويريديا القولون)، و قوة منخفضة مضادة للفطريات (المبيضات البيضاء).

**الكلمات المفتاحية:** ماتنان أبيض، ماتنان الخرشى، مستخلصات فينولية، النشاط المضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للفطريات، أستات الإيثيل، ميثانول.

## *Remerciement*

*Nous exprimons notre profonde et sincère gratitude envers le **professeur OUINTEN Mohamed** pour son encadrement, ses conseils et ses orientations tout au long de ce travail.*

*Nous exprimons également notre gratitude envers notre Co-encadreur, **Dr. EL-HOUITI Fatiha** pour avoir supervisé cette étude, nous lui exprimons notre profonde gratitude pour sa disponibilité constante, ses conseils et ses orientations tout au long de cette recherche.*

*Un grand merci pour le directeur du laboratoire des Sciences fondamentales, **professeur YOUSFI Mohamed**, de nous accepter dans son laboratoire de recherche durant la réalisation de notre projet de fin d'étude.*

*Nous remercions le président du jury, **Dr. BOUBRIMA Yousef**, d'avoir accepté de présider le jury. Nous remercions également **Dr. BENAMAR Ibrahim** de nous avoir honorés en examinant notre travail.*

*Nos sincères remerciements aux doctorantes **Mlle. ZEGRIR Anfal** et **Mlle. AISSAOUI Abir**, merci de nous avoir consacré votre temps et votre expertise ainsi que pour vos conseils précis, vos orientations lors de la réalisation du travail pratique.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude envers tous nos professeurs au sein du département des Sciences biologiques.*

*Finalement, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont*

*Soutenue toute la période de mes études :*

*À ma mère pour son dévouement afin d'assurer mon éducation et pour tous ses conseils précieux.*

*À mon père, qui a consacré sa vie à me rapporter tout le confort dont j'avais besoin pour avancer dans mes études.*

*À mes chères sœurs Khadidja et Soumia et frères Youcef et Mohamed, mes neveux Anes et Elbaraa et ma nièce Meriem Aridj.*

*À mes très chères amies Fatima Zohra, Bouchra, Soraya qui ne m'ont pas laissé tomber depuis notre rencontre.*

*À toutes les personnes qui ont participé à ce travail et à toute la promotion de Biochimie appliquée 2024.*

*Amina Baadj*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À mon cher père, tu as toujours été pour moi un exemple à travers tes actions et tes paroles. Tu m'as enseigné les valeurs de l'intégrité, du travail acharné. Ton amour inconditionnel et ton soutien constant ont été mes plus grandes forces tout au long de ma vie.*

*À ma chère mère, qui a toujours cru en moi et m'a encouragé : sans toi, je n'aurais pas acquis à ce stade. Ce travail est dédié à toi pour tous les sacrifices que tu as déployés pour moi.*

*À mes très chers frères pour leur présence, leurs encouragements, leurs aides.*

*À toute la famille Bendelala et Rezgallah.*

*À mes chères amies, merci pour votre présence, les rires partagés, les discussions profondes et les moments de complicité.*

*À tous ceux qui ont une place importante dans ma vie, je vous aime.*

***Fatima Zohra Bendelala***

## *Table de matière*

<i>Les abréviations</i> .....	<i>1</i>
<i>Liste des Tableaux</i> .....	<i>2</i>
<i>Liste des figures</i> .....	<i>3</i>
<i>Introduction</i> .....	<i>1</i>
<i>I. Étude bibliographique</i> .....	<i>4</i>
I.1. Généralités .....	4
<i>I.1.1. Les plantes médicinales</i> .....	4
I.1.2. La phytothérapie .....	5
I.1.2.1. Définition .....	5
I.1.2.2. Les différents types de la phytothérapie .....	5
I.1.2.2.1. La méthode classique traditionnelle de la phytothérapie .....	5
I.1.2.2.2. La pratique moderne de la phytothérapie.....	5
a. Aromathérapie : .....	6
b. La gemmothérapie : .....	6
c. L'homéopathie : .....	6
I.1.2.3. La phytothérapie en Algérie : .....	6
I.1.2.4. Les risques liés à la phytothérapie : .....	7
I.1.3. Métabolisme : .....	7
I.1.3.1. Métabolites.....	7
I.1.3.2. Métabolites primaires : .....	7
I.1.3.3. Les métabolites secondaires.....	8

I.2. Aperçu des plantes étudiées.....	8
I.2.1. Systématique du genre <i>Thymelaea</i> .....	8
I.2.2 La systématique du <i>Thymelaea Tartonraira</i> .....	10
I.2.3. Systématique du l'espèce <i>Thymelaea microphylla</i> .....	11
I.2.4. Propriété thérapeutique des espèces étudiées.....	12
I.2.4.1. Propriétés thérapeutiques de <i>Thymelaea Tartonraira</i> .....	12
A. Activité anti-leishmanienne : .....	12
B. Activité cytotoxique contre les macrophages Raw 264.7 :.....	12
C. Activité antifongique : .....	12
I.2.4.2. Propriétés thérapeutiques de <i>Thymelaea microphylla</i> .....	13
I.2.5. Travaux antérieurs .....	14
I.2.5.1. Travaux antérieurs sur <i>Thymelaea Tartonraira</i> .....	14
II.2.5.2. Travaux antérieurs sur <i>Thymelaea microphylla</i> .....	15
I.3. Activités biologiques .....	17
I.3.1. Activité antibactérienne .....	17
I.3.2. Activité antifongique .....	18
<b>II. Matériels et méthodes .....</b>	<b>19</b>
II.1. Matériels.....	19
II.1.1. Matériel végétal.....	19
II.1.1.1. Récolte des espèces étudiées.....	19
II.1.1.2. Description botaniques de plantes étudiées .....	19
III.1.1.2.1. Description botanique de <i>Thymelaea microphylla</i> .....	19
II.1.1.2.2. Description botanique de l'espèce <i>Thymelaea tartonraira</i> : .....	21
II.1.1.3. Répartition géographique .....	22
a. Répartition géographique de <i>Thymelaea microphylla</i> .....	22
b. Répartition géographique de <i>Thymelaea tartonraira</i> .....	22
II.1.2. Les souches microbiennes utilisés .....	23

II.1.2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	23
II.1.2.2. <i>Salmonella Enteritidis</i> .....	23
II.1.2.3. <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	23
II.1.2.4. <i>Candida albicans</i> .....	24
<b>II.2. Méthodes expérimentale</b> .....	<b>25</b>
II.2.1. Extraction de la plante (Soxhlet) .....	25
II.2.2. Étude des activités antimicrobienne .....	26
II.2.2.1. Préparation de milieu de culture solide : .....	27
II.2.2.2. Préparation des cultures microbiennes : .....	27
II.2.2.2.1. Préparation des souches :.....	27
II.2.2.2.2. Ajustement de l'inoculum : .....	27
II.2.2.2.3. Ensemencement : .....	28
II.2.2.3. Préparation des dilutions d'extraits des plantes.....	28
II.2.2.4. Technique de diffusion sur gélose .....	31
II.2.2.5. Technique de micro dilution sur milieu liquide (détermination du CMI et CMB).....	34
<b>III. Résultats et discussion</b> .....	<b>39</b>
III.1. Résultats de l'activité antimicrobienne .....	39
III.1.1. Résultat du contrôle positif (antibiogramme).....	39
III.1.2. Résultat du contrôle négatif.....	41
III.1.3. Résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de disque .....	42
III.1.4. les résultats de la détermination de la CMI par la méthode de la microdilution .....	47
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>53</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>64</b>

## *Les abréviations*

- ATCC:** American Type Culture Collection.
- C0 :** Concentration initiale.
- CI :** Concentration initiale.
- CIP :** Ciprofloxacine.
- CMB :** concentration minimale bactéricide.
- CMI :** concentration minimale inhibitrice.
- DMSO :** diméthyl sulfoxyde.
- DPPH :** Le radical libre 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.
- FOX :** Cefoxitin
- FRAP :** Capacité ferrique réductrice du plasma.
- HSV :** Le virus Herpès simplex.
- INT:** iodonitrotétrazolium chlorure.
- IPM:** Imipénem.
- Meoh:** méthanol.
- MH:** Muller Hinton.
- Mm :** millimètre.
- OMS :** organisation mondiale de la santé.
- SAB :** Sabouraud.
- Th.m :** *Thymelaea microphylla*.
- Th.t :** *Thymelaea tartonraira* .
- UFC :** Unité Formant Colonie.

## *Liste des Tableaux*

<b>Tableau 1:</b> La systematique botanique du genre <i>Thymelaea</i> .....	9
<b>Tableau 2:</b> La systematique botanique du l'espece <i>Thymelaea tartonraira</i> .....	10
<b>Tableau 3:</b> Systhematique botanique de l'espece <i>Thymelaea microphylla</i> .....	11
<b>Tableau 4:</b> Travaux anterieur sur <i>Thymelaea tartonraira</i> .....	14
<b>Tableau 5:</b> Travaux anterieurs sur <i>Thymelaea microphylla</i> .....	16
<b>Tableau 6:</b> References des souches microbiennes et leurs familles .....	24
<b>Tableau 7:</b> Les antibiotiques et antifongique utilises .....	30
<b>Tableau 8:</b> Resultats des tests antibiotiques et antifongiques. ....	39
<b>Tableau 9:</b> Les diametres des zones d'inhibition des extraits des plantes th.m et th.t vis-a-vis des souches etudiees. ....	44
<b>Tableau 10 :</b> Les dilutions des extraits et leurs positions dans la microplaque.....	48
<b>Tableau 11:</b> Les resultats des concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactericides de th.t en mg/ml.....	50
<b>Tableau 12 :</b> Les resultats des concentrations minimales inhibitrices les concentrations minimales bactericides de th.m en mg/ml.....	50

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> La repartition geographique du genre <i>thymelaea</i> . (gbif secretariat, 2023).....	9
<b>Figure 2:</b> <i>Thymelaea tartonraira</i> (pavon <i>et al.</i> , 2009).....	10
<b>Figure 3:</b> <i>Thymelaea microphylla</i> observee dans la region de bechar. (site web 2).....	11
<b>Figure 4:</b> Schema representatif des tiges feuillees et fleuries (fleurs males) de <i>thymelaea microphylla</i> . (gbif secretariat, 2023).....	20
<b>Figure 5:</b> Schema representatif de <i>Thymelaea microphylla</i> bien feuillee apres la pluie. (gbif secretariat, 2023) .....	20
<b>Figure 6:</b> <i>Thymelaea microphylla</i> de la region de M'sila . (bounab <i>et al.</i> ,2017) .....	21
<b>Figure 7:</b> Localisation de <i>Thymelaea microphylla</i> . (gbif secretariat, 2023).....	22
<b>Figure 8:</b> Schema du principe de l'extraction par soxhlet. (alexandre, 2017) .....	25
<b>Figure 9:</b> Organigramme des principales etapes de notre travail. ....	26
<b>Figure 10:</b> Les flacons contenant le milieu de culture Muller Hinton. ....	27
<b>Figure 11:</b> Etape d'ensemencement. ....	28
<b>Figure 12:</b> Préparation des dilutions d'extraits des plantes. ....	29
<b>Figure 13:</b> La structure du dmso .(realise par chemdraw) .....	30
<b>Figure 14:</b> Les antibiotiques et antifongique utilises.....	31
<b>Figure 15:</b> Principe de methode de diffusion par disque. ....	32
<b>Figure 16:</b> Schema de la methode de diffusion sur gelose en utilisant des disques. ....	33
<b>Figure 17:</b> Schema representatif d'une microplaque a 96 puits. ....	34
<b>Figure 18:</b> Structure du l'iodonitrotetrazolium chloride int. (realise par chem draw).....	36
<b>Figure 19:</b> Le reactif iodonitrotetrazolium chloride <b>INT</b> . ....	36
<b>Figure 20 :</b> La culture sur un milieu solide pour determiner la <b>CMB</b> . ....	37
<b>Figure 21 :</b> L'effet des antibiotiques sur differentes souches de bacteries et de levures....	40
<b>Figure 22:</b> Effet de <b>dmso</b> sur la croissance des bacteries et des levures. ....	41
<b>Figure 23:</b> L'effet des extraits du <i>Thymelaea microphylla</i> sur les quatre souches testees..	45
<b>Figure 24:</b> L'effet des extraits du <i>Thymelaea tartonraira</i> sur les quatre souches testees. ..	46
<b>Figure 25:</b> Representation graphique du test de sensibilite des souches microbiennes vis-a-vis les extraits th.t et th.m.....	47
<b>Figure 26:</b> Comparaison des valeurs de cmi entre les extraits <i>Thymelaea microphylla</i> et <i>Thymelaea tartonraira</i> . ....	51

# *Introduction*

## *Introduction*

L'Algérie, avec ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, regorge de plantes condimentaires et médicinales qui sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale (**Abdelguerfi et Ramdane., 2003**). Évaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture.

Depuis fort longtemps, les ressources naturelles constituent la source principale de remède pour soigner différentes maladies et infections, et demeure jusqu'au présent, la source principale pour l'obtention des nouvelles molécules actives dans le domaine pharmaceutique. Dans la tradition populaire, des plantes sont mentionnées pour être des remèdes de différentes maladies dont le diabète. Les recherches modernes ne font que redécouvrir ce savoir acquis au cours des siècles. ( **Josserand , 1970**)

L'Algérie, par sa situation géographique, bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels et peuvent être utilisées en traitement curatif et préventif. (**Mahmoudi .,1987 ; Belouad, ,1998**).

La plante, organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales. (**BRUNETON ,1987**)

Les végétaux sont capables de produire diverses molécules organiques appelées métabolites secondaires. Les propriétés essentielles des métabolites secondaires sont leur structure unique et leur squelette de carbone. Les métabolites secondaires ne sont pas indispensables pour la survie d'une cellule (organisme), mais interviennent dans l'interaction de la cellule (organisme) avec ses environnements, garantissant ainsi la pérennité de l'organisme dans ses écosystèmes. Leur rôle est de préserver les plantes des stress, qu'ils soient biotiques (bactéries, champignons, nématodes, insectes ou pâturages par les animaux) ou abiotiques (température et humidité, ombrage, blessures ou présence de métaux lourds). (**Pagare et al.,2015**)

Les dernières décennies ont été marquées par un grand intérêt pour les composés bioactifs provenant de sources naturelles. La biodiversité végétale est très variée, ce qui implique une grande diversité de composés bioactifs. La majorité des produits bioactifs sont des métabolites secondaires spécifiques qui possèdent des propriétés antioxydantes, inflammatoires, immunomodulatrices, antimicrobiennes, et ainsi de suite. (Sytar, & Smetanska, 2022).

La classification des métabolites secondaires comprend trois groupes principaux : les terpènes (substances volatiles végétales, glycosides cardiaques, caroténoïdes et stérols), les composés phénoliques (composés phénoliques). Les composés contenant de l'azote comprennent des acides, des coumarines, des lignanes, des stilbènes, des flavonoïdes, des tanins et de la lignine. ( Agostini-Costa *et al* ,2012)

Dans le but de valoriser les plantes médicinales algériennes, nous sommes intéressés dans ce travail à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de deux espèces locales Il s'agit de *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea microphylla*.

Notre travail est subdivisé en trois sections :

- La première est concernée par l'étude bibliographique sur les plantes médicinales, notions sur les plantes étudiés, les métabolites et les activités biologiques.
- La deuxième section est en deux parties : la première partie, les matériaux et méthodes détaillant les procédures expérimentales y compris la récolte et la description botanique des plantes, la préparation des cultures microbiennes, les techniques d'extraction.

Après dans la deuxième partie on a évalué l'activité antibactérienne et antifongique des extraits méthanoïques et d'acétate d'éthyle du *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea microphylla* vis-à-vis des souches microbiennes (bactéries : *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, champignons : *Candida albicans*).

- La troisième partie présentera et discutera les résultats obtenus à partir des expériences menées, notamment les résultats des tests d'activité antimicrobienne, les comparaisons entre les différentes espèces étudiées, l'efficacité des extraits

testés, on finira avec une conclusion de l'étude et discussion des implications de ces résultats, ainsi que des perspectives pour des recherches futures dans ce domaine.

*Étude*  
*Bibliographique*

## I. Étude bibliographique

### I.1. Généralités

#### I.1.1. Les plantes médicinales :

Les plantes médicinales ont été reconnues depuis longtemps par leur capacité à améliorer et guérir la santé de l'homme. Aujourd'hui, elles sont utilisées dans différents domaines, notamment dans le domaine thérapeutique. Les récentes études scientifiques n'ont fait que confirmer l'efficacité des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées de manière empirique depuis des millénaires. De nos jours, malgré l'évolution de la chimie de synthèse, l'emploi des plantes médicinales a maintenu une place très grande et importante en raison de leur fiabilité dans différentes approches thérapeutiques. Elles forment un ensemble numérique vaste et renferment des composants actifs employés dans le traitement de différentes maladies. En plus de servir de remède direct, ils sont également utilisés dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique. (**Volak et Stodola, 1983**).

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, La pharmacopée européenne définit les plantes médicinales comme des drogues végétales dont au moins une partie présente des propriétés médicamenteuses. L'emploi de ces plantes médicinales peut aussi être alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Debuigne et Couplan, 2019**).

De nombreuses recherches prestigieuses ont révélé l'activité biologique et les propriétés thérapeutiques des métabolites provenant des plantes. Grâce à elles, Les traitements peuvent être abordés de manière globale et moins agressive en éliminant le maximum des effets secondaires connus chez certains médicaments dits modernes (**Josserand, 1970**), pourtant en France la jurisprudence attribue une définition officielle : "*une plante est dite médicinale lorsqu'elle est décrite dans la pharmacopée et qu'elle est utilisée uniquement pour des fins médicinales, c'est-à-dire que les plantes sont présentées pour leurs propriétés préventives ou soignantes à l'égard des maladies humaines ou animales.*" (**Cox et Balick, 1994**).

En d'autres termes on peut affirmer qu'une plante médicinale est une plante dont l'un des organes, comme la feuille ou l'écorce, a des particularités curatives lorsqu'il est utilisé à une certaine posologie et de manière précise (**Moreau, 2003**).

Les propriétés médicinales des plantes proviennent de molécules chimiques. Les plantes produisent divers composés connus sous le nom de métabolites primaires qui sont

obligatoires à leur survie, ainsi qu'une diversité exceptionnelle d'autres composés appelés métabolites secondaires. La fonction capitale de ces derniers est de protéger contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes. Ces métabolites jouent donc un rôle très important dans la lutte contre différentes maladies et herbivores (Cox & Balick, 1994).

De plus, Les utilisateurs sont préoccupés par les effets secondaires provoqués par les médicaments et se tournent vers des traitements moins agressifs pour leur organisme. Toutefois, l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques diminuent en raison de la résistance et l'adaptation des microorganismes aux médicaments (Andrew, *et al.* 2001).

### **I.1.2.La phytothérapie :**

#### **I.1.2.1. Définition :**

D'origine grecque, le terme « phyton » signifie « plante » et « *therapein* » signifie « soigner ». La phytothérapie consiste à utiliser des plantes dans des thérapies et elle présente aujourd'hui une diversité de méthodes, (JORITE *et al.* ,2015). La phytothérapie est l'une de médecine les plus ancienne utilisés par toutes les ethnies à travers le monde, L'OMS estime que 70 % de la population mondiale utilise les plantes médicinales. (EISENBERG *et al.*,1998).

#### **I.1.2.2. Les différents types de la phytothérapie :**

On distingue ;

##### **I.1.2.2.1.La méthode classique traditionnelle de la phytothérapie :**

C'est une méthode de traitement alternative des symptômes d'une maladie, dont l'origine peut être très ancienne et qui repose sur l'utilisation de plantes. Elle est particulièrement adaptée aux maladies saisonnières, allant des problèmes légers de santé mentale aux maladies du foie et du foie, en passant par les problèmes gastro-intestinaux et cutanés. (Jean-Yves.,2010)

##### **I.1.2.2.2.La pratique moderne de la phytothérapie :**

Il s'agit d'une pratique fondée sur les progrès scientifiques : cette méthode repense les soins thérapeutiques de manière originale, bien qu'elle utilise des plantes médicinales selon des usages validés par les données traditionnelles et les connaissances scientifiques actuelles. Pour identifier les espèces, mesurer la contamination bactérienne, évaluer l'efficacité et

générer un certificat d'analyse pour le matériau, on utilise généralement la chromatographie liquide HPLC et la chromatographie en phase gazeuse CPG. (GAD *et al.* , 2013)

Parmi les pratiques modernes de la phytothérapie il y a :

**a. Aromathérapie :**

L'aromathérapie est une méthode thérapeutique naturelle qui est basé sur l'emploi d'huiles essentielles provenant de plantes fraîches. En aromathérapie, les substances utilisées ne sont pas des parfums ou des mélanges aromatiques, mais plutôt des huiles essentielles pures volatiles obtenues par distillation à partir des différentes parties des plantes. (DELGARO.,2005)

**b. La gemmothérapie :**

Les plantes étaient principalement utilisées en phytothérapie à l'état adulte, les tissus embryonnaires des végétaux sont utilisés dans la gemmothérapie. Depuis lors, ces auteurs ont développé l'idée que les tissus embryonnaires renferment des substances plus actives que les plantes adultes, ce qui leur a permis d'ajouter l'avantage de nécessiter des doses moins élevées que dans la phytothérapie traditionnelle. (ELLIE.,2022)

**c. L'homéopathie :**

Samuel Hahnemann a développé l'homéopathie, elle est basée sur la loi des analogies, ou loi des identiques (c'est-à-dire qu'une substance peut guérir, chez un patient, les symptômes mêmes qu'elle cause chez un sujet sain). On sélectionne une plante, un minéral ou un autre produit car il peut entraîner les premiers symptômes du patient chez un volontaire sain.

Par exemple, une solution homéopathique issue des coquerelles peut être utilisée pour soigner une forme d'asthme qui se manifeste par une suffocation due à une accumulation de mucus. Il serait possible de traiter une autre forme d'asthme en utilisant une autre méthode (Paediatrics & child health.,2005) .

**I.1.2.3. La phytothérapie en Algérie :**

L'Algérie dispose d'une grande richesse en plantes médicinales et de la médecine traditionnelle. Le marché pharmaceutique algérien connaît une croissance importante car la

plupart de sa part de marché repose sur les importations. L'Algérie a pour objectif de développer la production locale et de devenir une plateforme de production nationale en organisant les aspects réglementaires de tous les produits pharmaceutiques. **(BOUZABTA.,2016)**

#### **I.1.2.4. Les risques liés à la phytothérapie :**

Les thérapies complémentaires à base de plantes peuvent avoir un risque accru d'effets secondaires et d'interactions par rapport aux médicaments à base de plante. La plupart du temps, l'herbe a été prescrite par soi-même, achetée en vente libre ou obtenue d'une autre source que celle d'un médecin. Outre leur impact direct sur la santé, les produits à base de plantes peuvent être contaminés, frelatés et mal identifiés, ce qui rend essentiel de bien identifier la plante utilisée. La phytothérapie est actuellement utilisée par environ 80 personnes dans le cadre de leurs soins médicaux de base. D'après l'OMS, la sécurité et l'efficacité de l'utilisation des plantes restent des préoccupations majeures. **(Abdel-Aziz et al.,2016)**

#### **I.1.3. Métabolisme :**

Le métabolisme englobe toutes les transformations chimiques qui se produisent dans les cellules des organismes vivants et ces transformations sont essentielles pour la vie d'un organisme.**(Anonyme)**

##### **I.1.3.1. Métabolites :**

Le produit final des processus métaboliques et des intermédiaires formés lors des processus métaboliques est appelé métabolites. **.(Anonyme)**

##### **I.1.3.2.Métabolites primaires :**

Un métabolite primaire correspond à un métabolite qui joue un rôle direct dans la croissance, l'évolution et la reproduction normale. Il joue généralement un rôle physiologique dans l'organisme (c'est-à-dire un rôle intrinsèque), on le trouve souvent dans de nombreux organismes ou cellules. Il est également appelé métabolite fondamental, qui a une signification encore plus limitée (présent dans toute cellule ou organisme à croissance autonome). Quelques exemples fréquente de métabolites primaires comprennent : l'éthanol, l'acide lactique et certains acides aminés. Dans les plantes supérieures, ces

composés sont généralement présents dans les graines et les plantes. Ils sont essentiels au développement physiologique en raison de leur rôle dans le métabolisme cellulaire de base.

Une plante synthétise des métabolites primaires qui sont impliqués dans la croissance et le métabolisme. Un métabolite primaire assure un rôle très important dans le métabolisme des plantes, il est indispensable à leur survie. Certains métabolites primaires sont des précurseurs de métabolites secondaires. **.(Anonyme)**

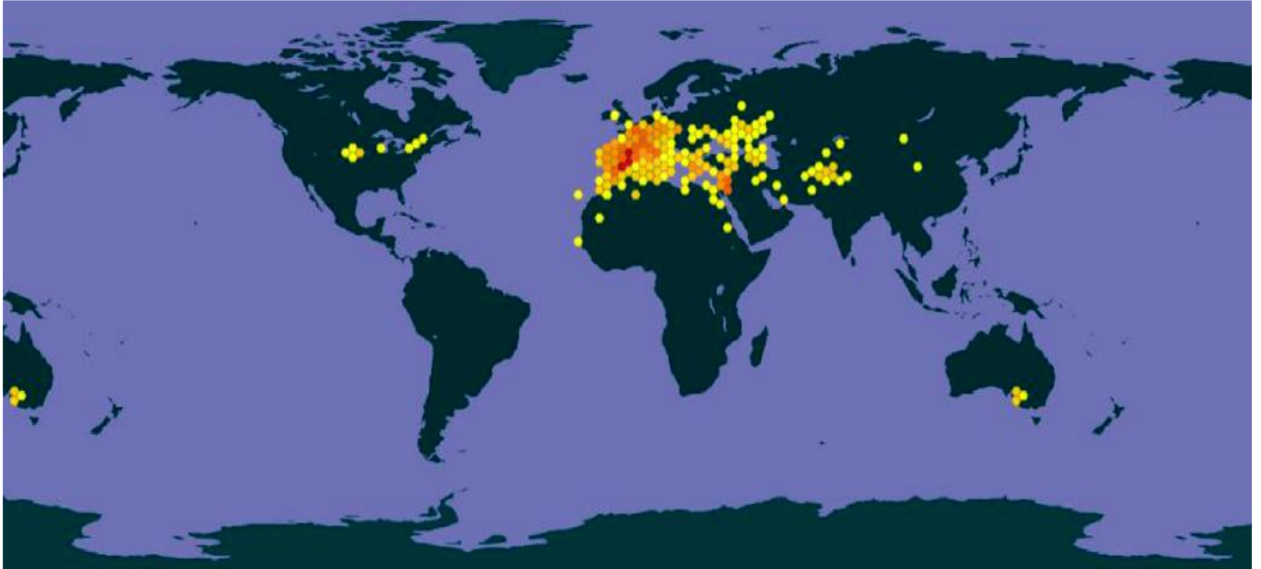
### **I.1.3.3. Les métabolites secondaires :**

Les métabolites secondaires ne sont pas vraiment importants en tant que métabolites primaires car ils ne participent pas à la croissance, le développement et la reproduction des organismes. Il s'agit de substances organiques qui ne jouent pas un rôle direct dans la survie des plantes, mais ils synthétisent des substances qui favorisent leur croissance et leur développement normaux. Les métabolites secondaires sont des composés bio synthétiquement dérivés de métabolites primaires. **.(Anonyme)**

## **I.2. Aperçu des plantes étudiées :**

### **I.2.1. Systématique du genre *Thymelaea* :**

*Thymelaea* est un genre méditerranéen appartenant à une famille essentiellement tropicale et subtropicale. Ce genre est ici présenté comme un cas particulier sur lequel l'hypothèse d'une évolution in situ de la flore méditerranéenne à partir d'un stock subtropical tertiaire peut être testée phylogénétiquement. Le genre *Thymelaea* est l'un des genres les plus connus, qui regroupe environ 31 espèces d'arbustes et d'herbes xérophylls à feuilles très-petites et à fleurs jaunâtres ou verdâtres. **(GALICIA -HERBADA ., 2006)**



**Figure 1:** La répartition géographique du genre *Thymelaea*. (GBIF Secretariat, 2023)

La classification botanique classique donné par (MARMOUZI *et al.*, 2021) :

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnoliopsida</b>
<b>Division</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Rosidae</b>
<b>Ordre</b>	<b>Myrtales</b>
<b>Famille</b>	<b>Thymelaeaceae</b>

**Tableau 1:** La systématique botanique du genre *Thymelaea*.

### I.2.2 La systématique du *Thymelaea Tartonraira* :

La classification botanique classique est donnée par (Bean,2023):

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	<b>Streptophyta</b>
<b>Classe</b>	<b>Equisetopsida</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Magnoliidae</b>
<b>Ordre</b>	<b>Malvales</b>
<b>Famille</b>	<b><i>Thymelaeaceae</i></b>
<b>Genre</b>	<b><i>Thymelaea</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Thymelaea tarton-raira</i></b>

Tableau 2: La systématique botanique du l'espèce *Thymelaea tartonraira*.



Figure 2: *Thymelaea tartonraira* . (Pavon et al ., 2009)

### I.2.3. Systématique de l'espèce *Thymelaea microphylla* :

*Thymelaea microphylla* est une espèce endémique du désert, qui se développe dans des conditions difficiles dans la région saharienne, fait partie du genre *Thymelaea*, avec des feuilles et des fleurs plus petites, sous le nom vernaculaire « *Methnane* ». (BENCHEIKH *et al.*,2022).

La classification botanique c'est après est donné par (GBIF Secrétariat, 2023).

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Classe	magnoliopsida
Famille	Thymeleaceae
Genre	Thymeleaea
Espèce	<i>Thymelaea microphylla</i> Coss.et Durieu

Tableau 3: Systématique botanique de l'espèce *Thymelaea microphylla*.



Figure 3: *Thymelaea microphylla* observée dans la région de Béchar. (Site web 2)

## I.2.4. Propriété thérapeutique des espèces étudiées :

### I.2.4.1. Propriétés thérapeutiques de *Thymelaea Tartonraira* :

#### A. Activité anti-leishmanienne :

Selon l'Organisation mondiale de la Santé en 2023, la leishmaniose est une maladie animale qui affecte plus de 98 pays. On le considère comme un problème de santé publique majeur qui entraîne des décès et des maladies catastrophiques dans les régions méditerranéennes, en Afrique, en Amérique latine et en Asie. Les extraits de *Thymelaea tartonraira* ont été évalués biologiquement contre deux types de parasites leishmanial, appelés *L. donovani* 9 axenic amastigote et *L. donovani* 9 forme intramacrophage amastigote. Tous les extraits, à l'exception de l'extrait de dichlorométhane, ont une activité modérée contre les deux formes de parasite *Leishmania*, selon les résultats. Les extraits polaires des feuilles ont été proposés comme plus actifs que ceux des tiges (Soltani, et al.2023).

#### B. Activité cytotoxique contre les macrophages Raw 264.7 :

L'activité cytotoxique des extraits de *Thymelaea tartonraira*. A été testée contre les cellules Raw 264,7. Les résultats indiquent que tous les extraits testés présentent une faible cytotoxicité contre Raw 264,7. L'obtention d'extraits sûrs est une caractéristique intéressante lors du développement d'agents anti-infectieux dans le contexte de l'interaction hôte-pathogène (Soltani, et al.2023).

#### C. Activité antifongique :

Des extraits de feuilles et de tiges de *Thymelaea tartonraira*. Ont été testés contre *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* souches. Les résultats proposent que seul l'extrait de dichlorométhane des tiges soit efficace contre *Candida albicans*, les autres extraits n'ont pas montré d'activité contre les deux micro-organismes (Soltani, et al.2023).

**I.2.4.2. Propriétés thérapeutiques de *Thymelaea microphylla* :**

Le genre *Thymelaea* est utilisé pour ses nombreuses et bien documentées propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires, anti-mélanogénèse et antihypertensives. L'ensemble de l'extrait a démontré une activité intéressante pour capturer les radicaux libres in vitro, qui est liée à la présence de dérivés des acides phénoliques et chlorogéniques.

(KERBAB.,2015)

La pratique médicinale traditionnelle de cette plante n'est pas fondée sur des études scientifiques et il existe peu de données concernant sa composition phytochimique et ses propriétés biologiques. Des flavonoïdes, une bis-coumarine, une lignine, une huile essentielle (NOMAN *et al.* ,2015).

En médecine traditionnelle *Thymelaea microphylla* a été utilisé pour traiter le diabète type 2 et comme remède anti-inflammatoire, l'étude de (DAHAMNA *et al.* ,2015) a montré que l'extrait de la plante a un bon potentiel antioxydant et son extrait aqueux avait un léger effet hypoglycémiant in vivo. Et selon (TELLI *et al.*,2016) la décoction de la partie aérienne de *Thymelaea microphylla* avait des propriétés antidiabétiques élevées.

Les extraits d'huile essentielle de *Thymelaea microphylla* ont montré une bonne activité antioxydante. La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne sur cinq souches différentes. L'huile a montré un effet significatif contre les bactéries Gram-négatives et positives. (BOUNAB *et al.* ,2017)

En outre, la présence de terpénoïdes peut être responsable à l'activité *Thymelaea microphylla* sur HSV-1 plus précisément Les diterpènes de type daphnane qui appartiennent à la famille *Thymelaeaceae* ont démontré une capacité antivirale puissante. (BEN MANSOUR *et al.* ,2022)

(Chermat *et al.* , 2015) ont montrés quelques propriétés médicinales de *Thymelaea microphylla*. Les feuilles avaient une grande capacité antiparasitaire et étaient employées pour traiter les problèmes de cheveux et la chute des cheveux, ainsi que pour traiter la dépression. L'infusion de la partie aérienne séchée de *Thymelaea microphylla* a été utilisé pour traiter les crises hémorroïdaires (YABRIR *et al.*,2018). La plante entière était utilisée pour soigner les infections des voies urinaires (MOUHADJIR *et al.* ,2001).

**I.2.5. Travaux antérieurs :****I.2.5.1. Travaux antérieurs sur *Thymelaea tartonraira* :**

Travail réalisé	Référence
Une étude réalisée sur les feuilles, tiges et racines de <i>Thymelaea tartonraira</i> et isolement des lipides, des sucres libres et de l'amidon .	(Meletiou-Christou <i>et al.</i> 1998)
Une étude phytochimique sur les parties aériennes de la plante <i>Thymelaea tartonraira</i> et identification des composés suivants: orientine, iso-orientine, vitexine, vicénine-2, kaempférol, daphnorétine, genkwanine, 5-O-D-primevérosylgenkwanine .	(Meletiou-Christou <i>et al.</i> 1998)
L'étude phytochimique des feuilles de <i>Thymelaea tartonraira</i> et isolement et caractérisation de six composés .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)
Teste de la propriété antioxydante de tous les composés isolés sur la base de tests de DPPH, FRAP et de capacité antioxydante totale .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)
L'extraction des feuilles séchées et pulvérisées de <i>T. tartonraira</i> par l'hexane, le dichlorométhane, acétone et méthanol à l'aide d'un appareil Soxhlet .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)
L'isolement d'un nouveau flavonoïde identifié sous le nom d'hypolaetine 8-O-β-D-galactopyranoside avec cinq composés connus des feuilles .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)
L'évaluation de l'activité antioxydante des isolats de <i>T. tartonraira</i> en utilisant trois méthodes .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)
Identification des acides phénoliques et les flavonoïdes .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)
Isolement et identification de 7 composés: orientine, isoorientine, vitexine, 2-vitexine, kampeferol, genkwanine, 5-O-beta-D-primenerosyl .	(Soltani <i>et al.</i> 2023)

**Tableau 4:** Travaux antérieur sur *Thymelaea tartonraira*.

II.2.5.2. Travaux antérieurs sur *Thymelaea microphylla* :

Travail réalisé	Référence
11 composés volatils ont été identifiés dans l'huile essentielle de <i>T. microphylla</i> , avec la D-menthone (41,86 %), suivie de la 2-undécanone (23,74 %), la pulégone (11,94 %) et le périllal (9,34 %). La majorité des composés volatils étaient composés de monoterpènes, en particulier les composés oxygénés (62,94 % de l'huile totale).	(Labib ,et al., 2010)
La chimio-analyse des racines et des parties aériennes de <i>T. microphylla</i> , deux glycosides de spiro- $\gamma$ -lactone (microphynolides (A et B) ont été identifiés.	(Ghanem ,et al. ,2014)
L'isolement de de six composés:vanilline 1, (+)- syringaresinol 2, daphnorétine 3, (Z)- 8-hydroxylinalol 4, chrysoériol 5, lutéoline 6 et un mélange de trans-tiliroside7 et cistiliroside 8 (respectivement 97 et 3 %) de la partie aérienne de <i>Thymelea microphylla</i> .	(Mekhelfi ,et al.,2014)
Un nouveau composé (microphybenzimidazole, 7) ainsi que les six composés connus matairesinol (1), prestegane B (2), umbelliférone (3), daphnorétine (4), microphynolide A (5) et microphynolide B (6) ont été isolés de <i>Thymelaea microphylla</i> .	(NOMAN,et al.,2017)
Selon la phytochimie de <i>Thymelaea microphylla</i> il a été démontré que la partie aérienne renferme une grande quantité de composés phénoliques tels que le tésorcinol,la cathéchine , l'acide chlorogénique,l'acide syringique,l'acide sinapique,l'acide tras-3-hydroxycinnamique,l'isoquercitrine,l'acide ellagique,laméricétine, le kaemférol3-o-rutinoside,l'acide tras-cinnamique,lutéolineet apigénine.	(Allam ,et al.,2020)

L'effet antiviral potentiel de différentes fractions de <i>T. microphylla</i> a été déterminé in vitro contre le virus de l'herpès simple de type 1.	<b>(Benmansour, et al.,2022)</b>
L'extrait de partie aérienne <i>Thymelaea microphylla</i> a un effet néphroprotecteur, les résultats biochimiques et histologiques ont démontré qu'il améliore les paramètres altérés lors de la néphrotoxicité .	<b>(bencheikh, et al.,2022)</b>
L'isolement de prestegane B de <i>Thymelaea microphylla</i> , l'a évalué pour ses propriétés antiprolifératives contre les lignées cellulaires C6 et Hela et a découvert qu'il présentait une capacité antiproliférative et de piégeage des radicaux plus élevée que certains des autres médicaments connus.	<b>(NAEEM,et al.,2022)</b>

**Tableau 5:** Travaux antérieurs sur *Thymelaea microphylla*.

### I.3. Les activités biologiques :

Les plantes aromatiques et médicinales ont des propriétés biologiques très importantes et sont largement utilisées dans différents domaines tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie, l'agriculture et l'agro-alimentaire (AMMARA, *et al.*, 2019). Les extraits des plantes possèdent des propriétés antifongiques, anti bactériennes et antivirales ont été étudiées à travers le monde comme des sources potentielles de nouveaux composés antimicrobiens, d'agents de conservation des aliments et d'alternatives pour le traitement des maladies tel que les maladies infectieuses. (SAFAEI-GHOMI, *et al.*, 2010)

#### I.3.1. L'activité antibactérienne :

Les industries pharmacologiques ont développé plusieurs nouveaux antibiotiques, ce qui a entraîné une augmentation de la résistance des micro-organismes à ces médicaments, entraîne des situations cliniques préoccupantes dans le traitement des infections. Les bactéries ont généralement la capacité génétique de transmettre et de développer une résistance aux drogues synthétiques qui servent de médicaments. (TOWERS *et al.*, 2001)

Les composés naturels provenant de plantes supérieures peuvent représenter une nouvelle source d'agents antimicrobiens possédant des mécanismes d'action potentiellement innovants. Un grand nombre de chercheurs dans diverses régions du monde ont étudié les effets des extraits de plantes sur les bactéries (BHALODIA, *et al.*, 2011)

Selon (DZOTAM *et al.*, 2016), l'activité n'est pas seulement conditionnée par la présence de métabolites secondaires dans les extraits de plantes, mais également par leur concentration et leur éventuelle interaction avec d'autres composants.

Les plantes produisent plusieurs métabolites secondaires de structures relativement complexes, ces structures sont responsables de leurs propriétés antimicrobiennes. En plus, les flavonoïdes ont une activité antibactérienne en se liant aux protéines intracellulaires solubles et en se liant aux parois cellulaires bactériennes (HEMEG *et al.*, 2020).

Les alcaloïdes ont un effet antibactérien en s'intercalant avec l'ADN des bactéries Gram positif et négatif, ce qui interfère avec la division cellulaire (BUKAR, 2015), la capacité des tanins à réagir avec les protéines pour créer des composants stables et insolubles dans l'eau est expliquée par leur effet antibactérien, car la paroi cellulaire des bactéries est composée de protéines (DANGOGGO *et al.*, 2012).

### **I.3.2. L'activité antifongique :**

Les propriétés fongicides des métabolites secondaires permettent une activité biologique contre les champignons phytopathogènes, ce qui en fait une option de contrôle viable. Ce sont des produits non toxiques qui peuvent être biodégradables et qui pourraient servir de biopesticides durables dans les programmes de lutte intégrée contre les ravageurs (Hernández-Ceja *et al.* ,2021).

*Candida albicans* est la principale cause des infections fongiques invasives, qu'elles soient localisées ou systémiques (HORN *et al.* ,2009). Le secteur de la santé publique est sérieusement menacé par ces infections, tant sur le plan économique que médical, car elles entraînent des taux de mortalité élevés, une augmentation des dépenses et une durée d'hospitalisation accrue (LAI *et al.* ,2012) .

Parmi les éléments de virulence responsables de la pathogénicité des espèces fongique tel que *Candida* sont : leur adhésion, la promotion des hyphes, la formation de biofilms (tissus de l'hôte et dispositifs médicaux) et la production d'enzymes hydrolytiques causant des dommages aux tissus, comme les protéases. (PFALLER , *et al.*,2001)

Les polyènes, les pyrimidines, les échinocandines et les triazoles sont des agents antifongiques qui ont été identifiés et sont utilisés pour traiter les infections fongiques invasives. Les antifongiques les plus fréquemment employés sont le fluconazole et le voriconazole. Mais les micro-organismes pathogènes sont en constante évolution et développent une résistance à ces agents. (SANGLARD.,2016)

Les médicaments antifongiques ont la capacité de provoquer des effets secondaires ou d'être très toxiques, de provoquer des interactions médicamenteuses ou de favoriser la formation de résistances. Certains médicaments sont également inefficaces et méritent moins de succès en tant que traitements. Ainsi, la recherche de médicaments antifongiques alternatifs a été très préoccupante ces dernières années. (De las Mercedes *et al.* ,2011)

Plusieurs plantes médicinales ont été étudiées de manière approfondie afin de trouver des médicaments sûrs, moins toxiques et plus efficaces. Il est essentiel de trouver de nouveaux agents antifongiques plus efficaces et moins toxiques afin de surmonter ces désavantages. (ALYOUSEF, *et al.* , 2021)

# *Matériels et Méthodes*

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Matériels

#### II.1.1. Matériel végétal :

##### II.1.1.1. Récolte des espèces étudiées :

L'objectif de notre étude est d'évaluer les propriétés antimicrobiennes de l'extrait phénolique de *Thymelaea microphylla* et *Thymelaea tartonraira*, deux espèces de la famille des Thymelaeaceae, provenant de la wilaya de Djelfa, située dans la partie centrale au cœur de l'Algérie. Elles ont été testées sur trois souches de bactéries pour leur activité antibactérienne et sur un seul champignon pour leur activité antifongique. Les vertus médicinales de ces deux espèces endémiques sont très communes dans la flore algérienne.

##### II.1.1.2. Description botanique de plantes étudiées

###### III.1.1.2.1. Description botanique de *Thymelaea microphylla*

**Nom scientifique :** *Thymelaea microphylla*.

**Nom en français :** Thymelée ou passerine à petites feuilles.

**Nom vernaculaire :** 'Methnane', 'Methnane Ghazal' ou 'Methnane Labiadh' (BelKrarroubi, Boussaid, 2017)

Les feuilles mâles ont un calice cylindrique de 4 à 6 mm et les femelles ont un calice cylindrique de 3 à 4 mm sur des pieds distincts. Cette espèce est très répandue dans les Hauts-plateaux et les zones désertiques de l'Algérie (plante endémique de l'Afrique du Nord) (GHANEM, 2015).



**Figure 4:** Schéma représentatif des tiges feuillées et fleuries (fleurs mâles) de *Thymelaea microphylla*. (GBIF Secretariat, 2023)



**Figure 5:** Schéma représentatif de *Thymelaea microphylla* bien feuillée après la pluie. (GBIF Secretariat, 2023)



**Figure 6:** *Thymelaea microphylla* de la région de M'Sila . (bounab *et al.* ,2017)

#### II.1.1.2.2. Description botanique de l'espèce *Thymelaea tartonraira* :

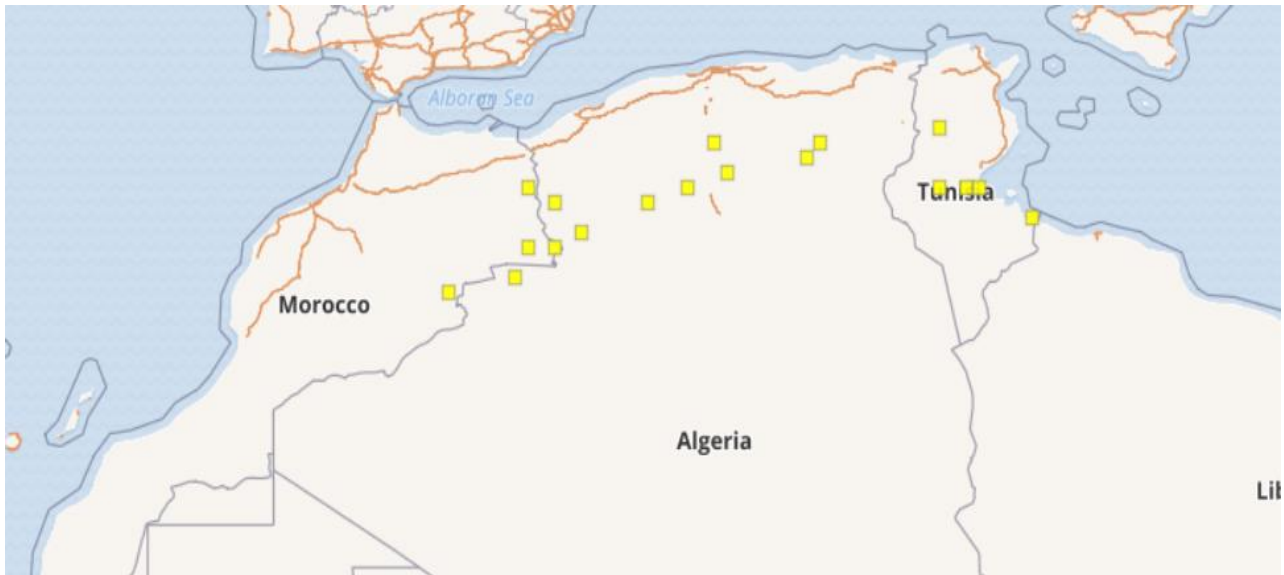
Sur toute son aire, le *Thymelaea Tartonraira* présente des variations morphologiques aisément décelables (Gerard.,2014). *Thymelaea tartonraira* est un arbuste nanophanérophite dit trimonoïque (TAN ., 1980), car présentant parfois des fleurs mâles, femelles et hermaphrodites sur un même individu. Cette espèce fréquente des garrigues généralement littorales, souvent nommées « phryganes ». Xérophile et héliophile, elle se développe préférentiellement sur des sols rocailloux à sablonneux, voire totalement sableux, et semble plutôt indifférente à la nature chimique du substrat (MALCUIT,1942 ; RAMEAU *et al.*, 2008) .

**Nom scientifique :** *Thymelaea tartonraira*

**Nom en français :** Passerine tartonraira (AYMONIN, 1971 et 1974).

### II.1.1.3.Répartition géographique :

#### a. Répartition géographique de *Thymelaea microphylla* :



**Figure 7:** Localisation de *Thymelaea microphylla*. (GBIF Secrétariat, 2023)

#### b. Répartition géographique de *Thymelaea tartonraira* :

Le tarton-raire (*Thymelaea tartonraira*) habite la zone de la sablière de manière tout à fait particulière, car c'est une plante habituellement liée à l'arrière littoral (zone faiblement soumise aux embruns). Il trouve dans cette station des conditions de sol (sable) compensatoire (COULOMB,1995) est une espèce polymorphe (AYMONIN, 1971 et 1974) qui présente une aire de répartition globale méditerranéenne. Ainsi, elle a été signalée en Espagne, en France continentale, en Corse, en Italie continentale et insulaire, en Tunisie, en Algérie, au Maroc, en Grèce et en Turquie (Bolos et Vigo, 1984).

### II.1.2. Les souches microbiennes utilisés :

Les souches microbiennes utilisés sont des souches (ATCC) .

#### II.1.2.1. *Klebsiella pneumoniae* :

*Klebsiella pneumoniae* est une bactérie à Gram négatif, encapsulée et non mobile de la famille des *Enterobacteriaceae*. La bactérie est très virulente en raison de divers facteurs qui peuvent entraîner une infection et une résistance aux antibiotiques. *Klebsiella pneumoniae* est l'une des rares bactéries qui présentent actuellement une forte résistance aux antibiotiques due à des modifications du génome central de l'organisme. (Rønning *et al.*, 2019)

#### II.1.2.2. *Salmonella Enteritidis* :

*Salmonella enterica* serovar Enteritidis a été une cause mondiale d'épidémies majeures d'entérocolite, qui ont été fortement associées à l'élevage intensif de volailles et à la production d'œufs. Ce sérovar est généralement considéré comme un généraliste en termes de gamme d'hôtes et a un faible indice d'invasivité humaine, provoquant généralement une entérocolite auto-limitante (Nicholas, *et al.*, 2016), Le sérotype de *Salmonella enterica* Enteritidis est l'un des sérotypes de *Salmonella* les plus courants dans le monde, en particulier dans les pays développés. Au cours des années 1980, *S. Enteritidis* est devenue une cause importante de maladie humaine aux États-Unis (Patrick, 2004).

#### II.1.2.3. *Yersinia enterocolitica* :

L'organisme maintenant appelé *Yersinia enterocolitica* était Première déclaration en 1934 (McIver, *et al.* 1934). La première description reconnue était que par Schleifstein et Coleman en 1939, de cinq humains isolats. En tant que pathogène humain, *Y. enterocolitica* est le plus souvent associé à la diarrhée aiguë, à l'iléite terminale, à la lymphadénite mésentérique et à la pseudoappendicite. *Y. enterocolitica* se trouve dans l'environnement et dans un large éventail d'hôtes animaux, y compris la nourriture, chinchilla, vison, chien, galago, vache, castor, et de nombreuses espèces de petits rongeurs (Bottone, *et al.* 1977). *Y. enterocolitica* a été isolé dans tous les pays où il a été recherché (Bercovier, *et al.* 1980) .

**II.1.2.4. *Candida albicans* :**

L'agent commensal inoffensif *Candida albicans* est un pathogène fongique opportuniste présent dans les voies gastro-intestinales et génito-urinaires chez environ 70 % des individus, tandis que 75 % des femmes sont infectées par *Candida* au moins une fois dans leur vie. (KABIR ,*et al.*,2012). L'espèce *Candida albicans* est principalement liée aux infections systémiques des muqueuses causées par les levures. (MARTINS ,*et al .*,2016)

Le tableau ci-dessus présente les souches microbiennes et leurs familles.

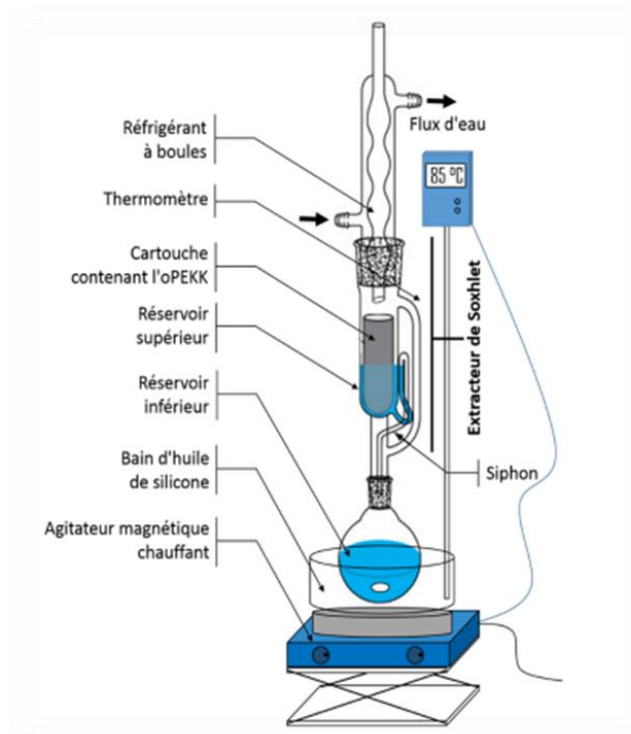
	Nom scientifique		Code	Famille
<b>Bactéries</b>	Gram (-)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>ATCC 70603</b>	Enterobacteriaceae
		<i>Salmonella Enteritidis</i>	<b>ATCC 13636</b>	
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	<b>ATCC 9610</b>	
<b>Levures</b>		<i>Candida albicans</i>	<b>ATCC 26790</b>	Saccharomycetaceae

**Tableau 6:** Références des souches microbiennes et leurs familles.

## II.2. Méthodes expérimentales :

### II.2.1.Extraction de la plante (Soxhlet) :

En 1879, Franz von Soxhlet a proposé et développé la méthode de l'extraction Soxhlet. Il s'agit d'une méthode fréquemment utilisée, dans laquelle le matériau végétal est placé dans un support en papier filtre ou en cellulose, appelé "cartouche". Par la suite, ce support est placé dans un porte-dosette contenant du solvant d'extraction. On chauffe le solvant dans un ballon situé en dessous. Lorsque le solvant est chauffé, les vapeurs s'échappent dans le sac d'échantillon, puis se condensent sous l'effet du système de refroidissement et retournent dans le support pour être extraites. Lorsque le niveau de liquide atteint le niveau de débordement, un siphon se forme. On utilise ce dispositif afin de déplacer le liquide présent dans la cartouche vers le ballon de distillation. Dans ce processus, les substances extraites sont entraînées dans le liquide. L'opération se poursuit jusqu'à obtenir une extraction complète. (Handa *et al.*, 2008) .

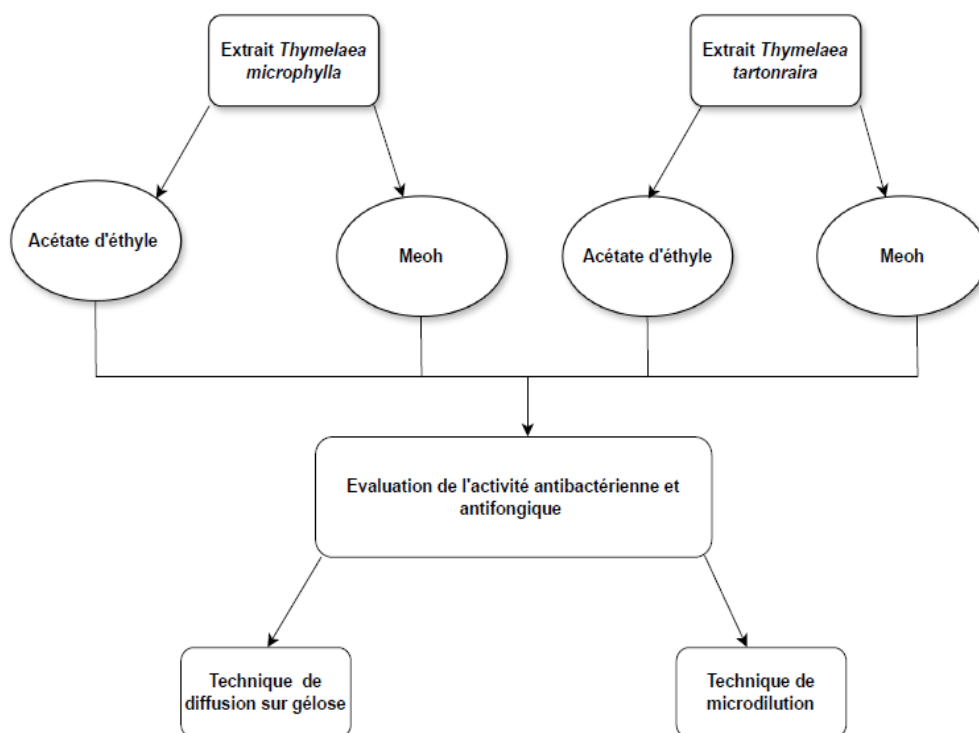


**Figure 8:**Schéma du principe de l'extraction par Soxhlet. (Alexandre, 2017)

### II.2.2. Étude des activités antimicrobienne :

Nous avons pour objectif principal l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits phénoliques de *Thymelaea microphylla* et *Thymelaea tartonraira* par deux méthodes :

- La méthode de diffusion sur milieu solide
- La méthode de diffusion en milieu liquide.



**Figure 9:** Organigramme des principales étapes de notre travail.

### II.2.2.1. Préparation de milieu de culture solide :

Dans un erlenmeyer de 2 L, nous avons mis 500 ml d'eau distillée avec 42 g de poudre de Muller-Hinton sur un agitateur magnétique à 225°C. Nous avons ensuite versé la quantité d'eau jusqu'à ce qu'elle atteigne les 2 L. Afin de solidifier le milieu, il sera nécessaire d'ajouter 40 g d'agar jusqu'à ce que la mousse apparaisse à la surface du liquide, accompagnée d'un changement de couleur. Les milieux préparés sont versés dans des flacons, puis stérilisés dans un autoclave semi-automatique à une température de 120 °C pendant une durée de 20 minutes.



**Figure 10:** Les flacons contenant le Milieu de culture Muller Hinton.

### II.2.2.2. Préparation des cultures microbiennes :

#### II.2.2.2.1. Préparation des souches :

Les souches ont été prises dans des tubes de conservation, puis elles ont été ensemencées sur une gélose MH, puis incubées pendant 24 heures. Ensuite, nous avons commencé à travailler avec directement le lendemain.

#### II.2.2.2.2. Ajustement de l'inoculum :

À partir de la surface des boîtes de pétri ensemencées avec un écouvillon, on prélève environ 3 à 4 colonies microbiennes, puis on les dissout dans des tubes stériles contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. On a mesuré l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm, avec une DO comprise entre 0,08 et 0,1. La charge bactérienne est environ  $10^8$  UFC/ml.

### II.2.2.3. Ensemencement :

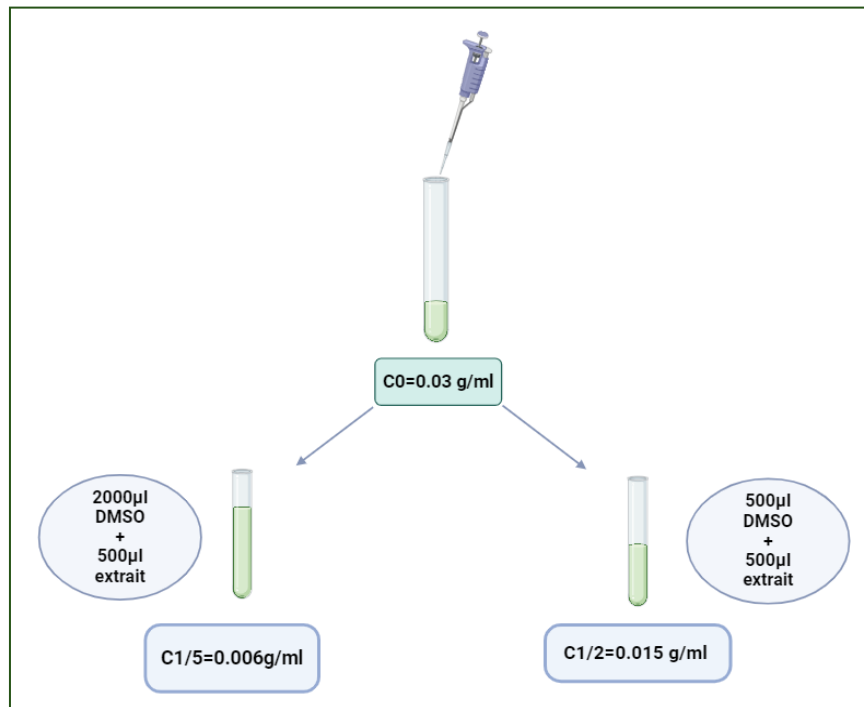
Nous avons fait fondre les flacons de milieu de culture dans un bain mari ou dans un micro-ondes, puis les boîtes de pétri sont coulées à seulement le quart, les boîtes ont été placées au réfrigérateur jusqu'à ce qu'elles deviennent rigides, ensuite nous avons effectué des mouvements en forme de tapis à l'aide d'un écouvillon. Une fois que la masse s'est solidifiée, les boîtes de pétri sont incubés dans l'étuve à une température de 37 °C pendant 24 heures.



**Figure 11:** Etape d'ensemencement.

### II.2.2.3. Préparation des dilutions d'extraits des plantes

A l'aide d'une balance analytique, nous pesons 100 mg de chaque extrait des deux plantes ( Meoh , Acétate d'éthyle) et on les solubilise dans un 3ml de DMSO . On obtient ainsi une solution mère C0 (33,33 mg/ml). Ensuite, on introduit 1 ml de la solution mère dans des tubes contenant 0,5 ml et 2 ml de DMSO pour obtenir respectivement des dilutions de 0,015g/ml et 0,006g/ml.



**Figure 12:** préparation des dilutions d'extraits des plantes.

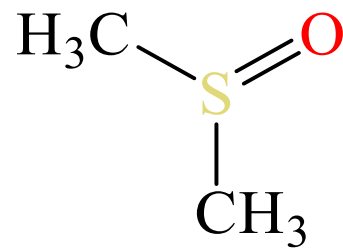
### Préparation des disques :

Le papier Wattman N°3 a été utilisé pour préparer des disques de 5 mm de diamètre en utilisant un emporte-pièce en se basant sur les diamètres des disques d'antibiotiques disponibles sur le marché.

### Le dimethyl sulfoxide 'DMSO' :

**DMSO** « Dimethyl sulfoxide » est un soufre organique de formule  $C_2H_6OS$ , ce liquide transparent est un solvant aprotique polaire essentiel qui permet de dissoudre les composés polaires et non polaires. Il est miscible avec de nombreux solvants organiques ainsi que l'eau (HASSAN.,2014).

Le DMSO a été choisi pour diluer les extraits naturels en raison de son absence de réaction et d'activité sur la souche microbienne.



**Figure 13:** La structure du DMSO .(réalisé par chemDraw)

Le test d'antibiogramme est utilisé pour tester la sensibilité des souches microbiennes en comparant avec nos extraits, le choix a été selon le type des souches, le spectre d'activité et la disponibilité.

	Nom	Dose
<b>Antibiotique</b>	Ciprofloxacin <b>CIP-5</b>	5µg
	Cefoxitin <b>FOX -30</b>	30 µg
	Imipenem <b>IPM-10</b>	10 µg
	Céfazoline	1 g
<b>Antifongique</b>	Fluconazole	200 mg/100ml

**Tableau 7:** Les antibiotiques et antifongique utilisés .



**Figure 14:** Les antibiotiques et antifongique utilisés.

#### II.2.2.4. Technique de diffusion sur gélose :

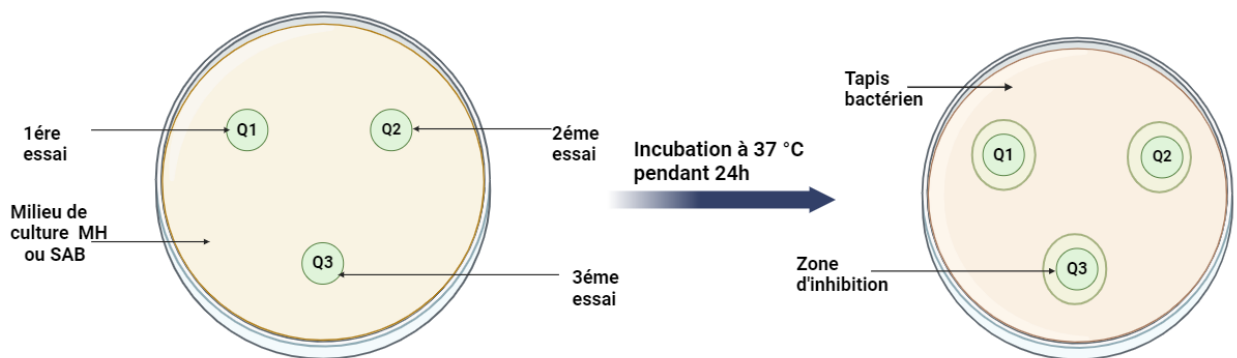
La méthode de diffusion sur gélose est une approche qualitative qui permet d'évaluer la sensibilité et la résistance des micro-organismes aux extraits des plantes.

Après l'assurance d'un champ stérile (mains, surface du travail bien nettoyés et flamme stérile pour éviter les contaminations).

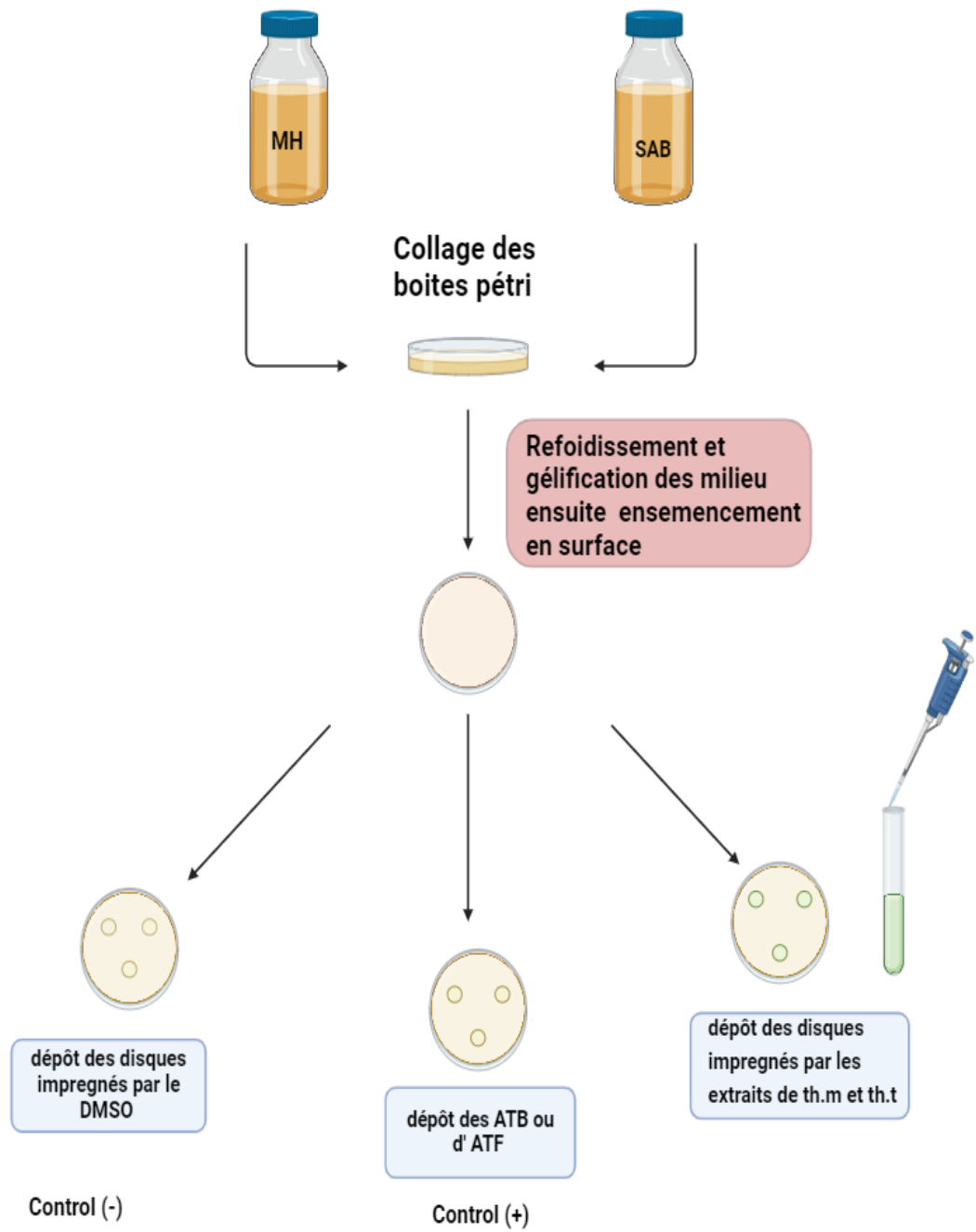
- Le disque papier Wattman N°3 est disposé sur le tapis bactérien et fongique à l'aide d'une pince stérile et puis l'ajout délicate de d'extrait (**10 µl /disque**) et faut laisser le disque se sécher avant l'incubation.
- Le test est réalisé 3 fois (**C0, C1/2, C1/5**) pour chaque échantillon, faut séparer les dilutions chacun dans une boite pétrie pour avoir une bonne moyenne parce que l'extrait est volatil.
- On utilise le DMSO comme control négatif (-) et les antibiotiques (**IPM-10, CIP-5, FOX-30**) et l'antifongique (**fluconazole**) comme control (+) .
- Les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures . Après l'incubation, nous avons enregistré l'activité des extraits en mesurant les zones d'inhibition claires autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats de la lecture se manifestent à travers trois niveaux d'activité :

- Résistant ( $D = 6 \text{ mm}$ )
- Intermédiaire ( $6 \text{ mm} < D < 13 \text{ mm}$ )
- Sensible ( $D > 13 \text{ mm}$ ) (**Billerbeck, 2007**).



**Figure 15:** Principe de méthode de diffusion par disque.



**Figure 16:** Schéma de la méthode de diffusion sur gélose en utilisant des disques.

### II.2.2.5. Technique de micro-dilution sur milieu liquide (détermination du CMI et CMB) :

La micro-dilution sur milieu liquide est utilisée pour déterminer **CMI** (concentration minimale inhibitrice), **CMB** (concentration minimale bactéricide) à partir des extraits de plantes. La micro-dilution est réalisée dans des microplaques transparentes de 96 puits en polystyrène de haute qualité.

La **CMI** de chaque composé est égale à la concentration du premier puits où il n'y a pas de croissance bactérienne observée (absence du couleur rose).

Nous avons préparé une solution mère en faisant dissoudre notre extrait dans une solution de DMSO, pour obtenir une concentration de C0 (33,33 mg/ml). La solution obtenue est agitée au vortex pour avoir une bonne homogénéisation, une dilution successive de (16.66 à 0.52 mg/ml) est réalisée puits par puits avec le milieu MH et SAB.

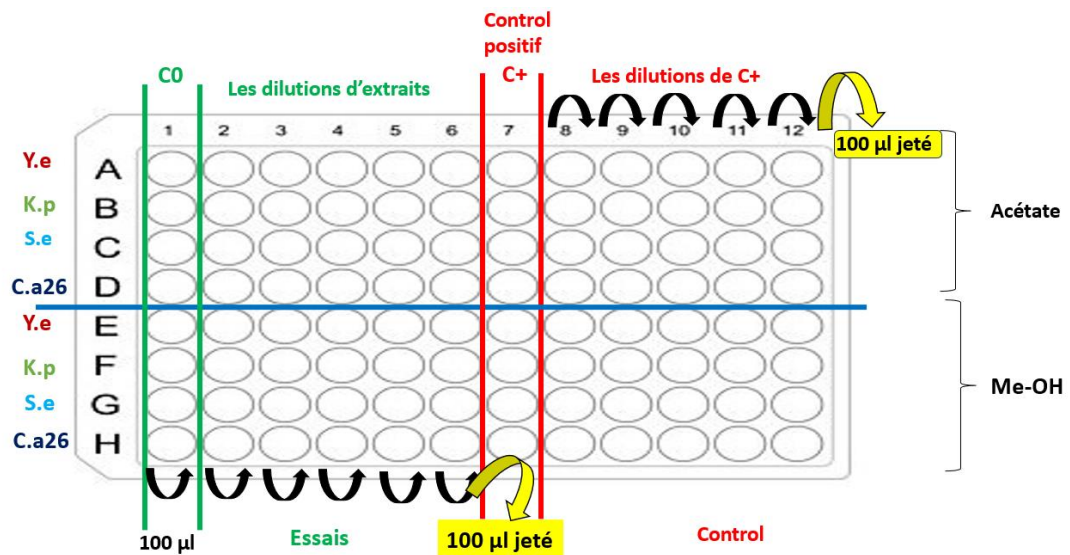


Figure 17: Schéma représentatif d'une microplaque à 96 puits.

## Protocol

### Première étape :

100 µl de milieu de culture ont été distribués dans tous les puits . Les rangés (**A ,B,C, E,F,G** ) bouillon MH pour les souches bactériennes et rangés (**D et H**) bouillon SAB pour la souche fongique.

### Deuxième étape :

Ajout de 100 µl de la solution mère d'extrait à une concentration de  $C=33,33\text{g/ml}$ , Dans les puits de la première colonne, de **A** à **D**. l'extrait acétate dans **A** à **D** et l'extrait MeOH de **E** à **H** .

Par la suite, une série de dilutions successives a été réalisée de la colonne 2 à 6 à l'aide du milieu de culture liquide comme un diluant. Pour maintenir une concentration constante de 100 µl dans chaque puits, l'excédent de la dernière concentration (100 µl) a été éjecté.

Pour le control positif, l'ajout de 100 µl d'antibiotique céfazoline (1g) en poudre diluée dans le solvant chlorhydrate de lidocaïne (0.04g) pour les puits de rangés (**A, B ,C E ,F, G** ),et l'antifongique fluconazole ( 200mg /100ml )pour les puits de rangés **D** et **H** de ,colonne 7 diluée en série jusqu'aux puits de la colonne 12 (on jette 100 µl du dernier puits).

### Troisième étape :

L'ajout de 50 µl de suspension microbienne ajustées avec une charge de  $10^8$  UFC/ml dans tous les puits. (Les suspensions ont été préparées de la même manière décrite précédemment et dilué dans du bouillon MH et SAB).

Le volume total de chaque puit est 150 µl.

### Quatrième étape :

Après une incubation de 24h à 37 °C de la microplaque dans l'étuve microbienne. On ajout 40 µl dans chaque puit le réactif iodonitrotétrazolium chloride **INT** de concentration 0.2 mg/ml , et on attend 30min .

On utilise l' **INT** « iodonitrotétrazolium chloride » un sel de tétrazolium, comme indicateur de croissance bactérienne il forme un colorant formazan stable lors de la réduction par les micro-organismes , ce qui le rend adapté pour évaluer la croissance microbienne afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice **CMI** des extraits de plantes pour les bactéries et même les champignons.(**ELOFF, 2019**)

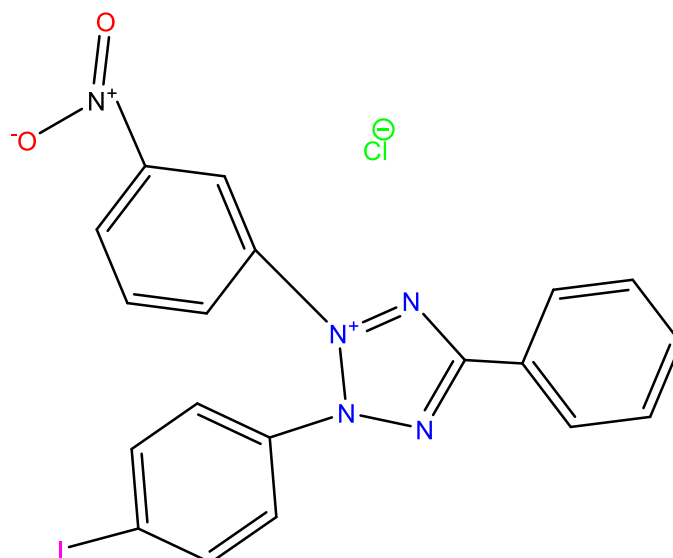
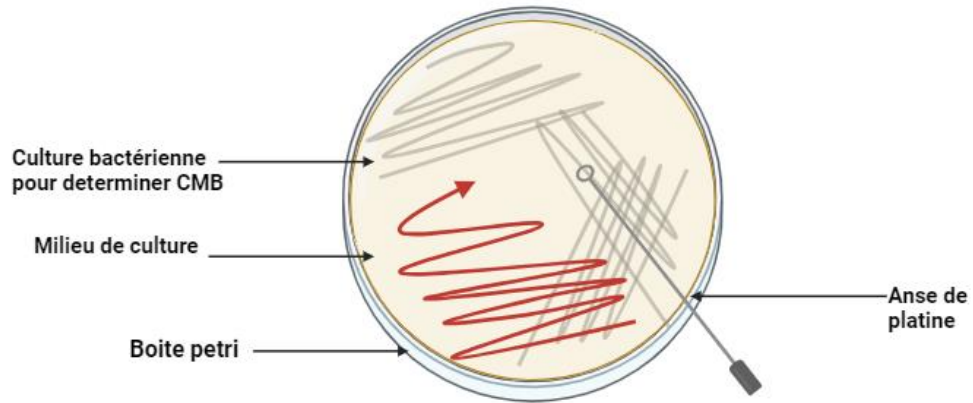


Figure 18: Structure du l'iodonitrotétrazolium chloride INT. (Réalisé par chem Draw)



Figure 19: Le réactif Iodonitrotétrazolium chloride INT.

On procède à la lecture à l'œil nu afin de déterminer la **CMI**. Ensuite, on repiquant sur un milieu solide des puits non colorés pour déterminer la **CMB**.



**Figure 20:** La culture sur un milieu solide pour déterminer la **CMB**.

# *Résultats et discussions*

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Résultats de l'activité antimicrobienne :

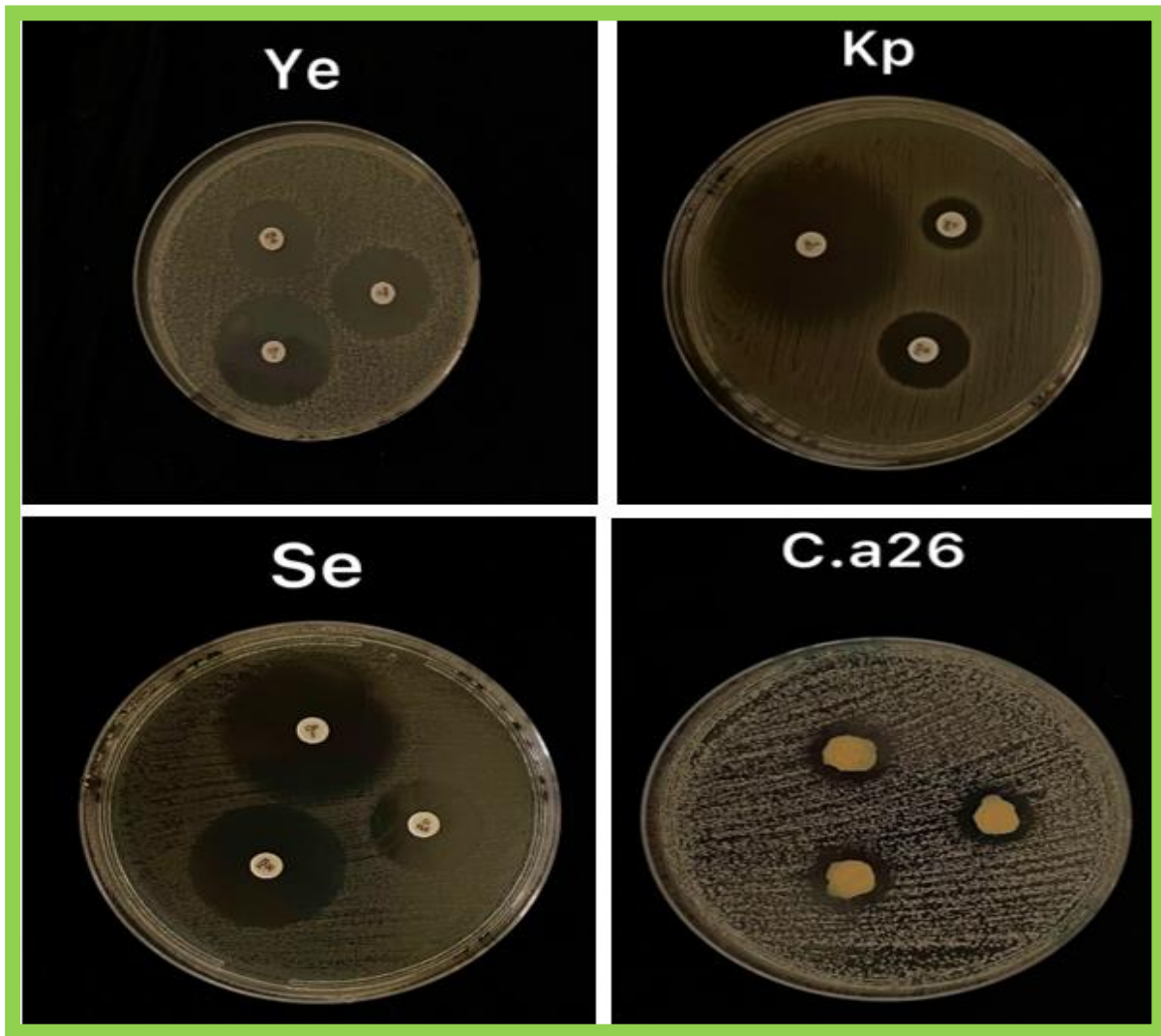
Nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de micro dilution sur microplaque pour examiner l'efficacité antimicrobienne des extraits des plantes *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea microphylla* contre trois bactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, et *Yersinia enterocolitica*) et une levure (*Candida albicans* 26). L'évaluation du potentiel antimicrobien a été réalisé en mesurant les diamètres des zones d'inhibition et les valeurs de CMI.

##### III.1.1. Résultat du contrôle positif (antibiogramme) :

L'analyse de sensibilité aux antibiotiques est réalisée par l'utilisation de l'antibiogramme. Cette technique permet d'évaluer la réaction des souches bactériennes en la comparant à des antibiotiques de référence. Cette réaction se traduit par la formation de zones d'inhibition autour des disques (**Figure 21**). Les résultats de l'effet antimicrobien de nos extraits sont présentés dans le **tableau 8**.

Souches testés	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)			
	Antibiotiques			Antifongique
	FOX	IPM	CIP	Fluconazole
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	12	34	
<i>Salmonella enteritidis</i>	30	20	36	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	22	26	31	
<i>Candida albicans</i> 26				14

**Tableau 8:**Résultats des tests antibiotiques et antifongiques.



**Figure 21** : L'effet des antibiotiques sur différentes souches de bactéries et de levures.

**Y.e** : *Yersinia enterocolitica*

**K.p** : *Klebsiella pneumoniae*

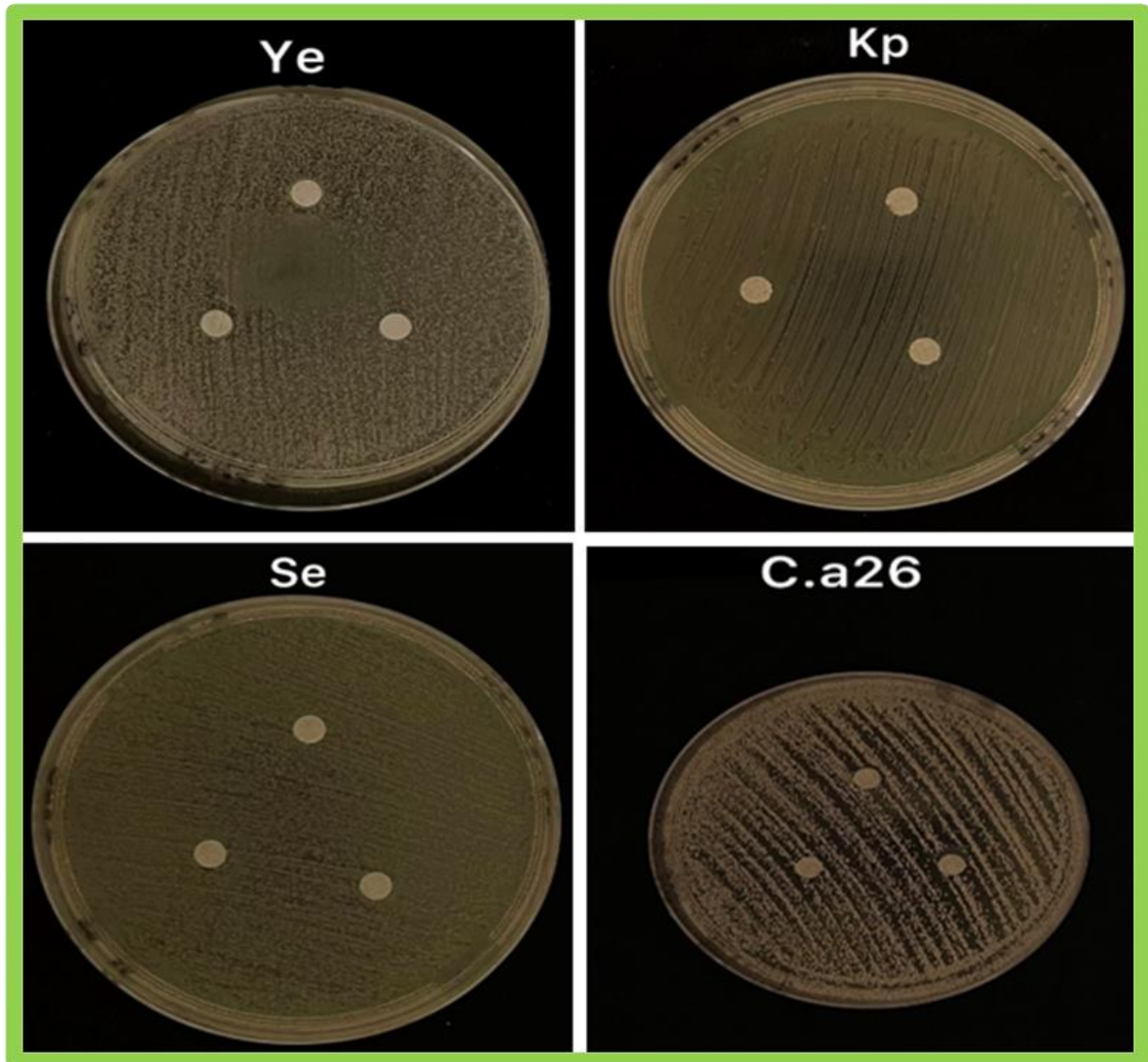
**S.e** : *Salmonella enteritidis*

**C.a 26** : *Candida albicans*

26

**III.1.2. Résultat du contrôle négatif :**

Le DMSO ne modifie pas la prolifération des bactéries et des levures, dans le milieu gélosé. (La figure 22) illustre les résultats des contrôles négatifs.



**Figure 22:** Effet de DMSO sur la croissance des bactéries et des levures.

**Y.e :** *Yersinia enterocolitica*

**K.p :** *Klebsiella pneumoniae*

**S.e :** *Salmonella enteritidis*

**C.a 26 :** *Candida albicans*

### III.1.3. Résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de disque

Nous avons utilisé la méthode de Vincent pour évaluer la sensibilité de trois souches bactériennes et d'une souche de levure à nos extraits (Acétate d'éthyle, méthanol) de *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea microphylla*. Des disques en papier de 5 ou bien 6 mm de diamètre imbibés avec 10 µl d'extrait (pure, dilution 1/2 et dilution 1/5) sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension microbienne ajustée. Trois disques ont été disposés par boîte et pour chaque concentration. Après incubation pendant 18 à 24 heures, des zones transparentes se sont formées autour des disques indiquant une inhibition de la croissance des micro-organismes (bactéries et levures) due aux propriétés antimicrobiennes de nos extraits. Les diamètres des zones d'inhibition exprimés en millimètres autour des disques pour les trois concentrations d'extraits ont été mesurés et présentés dans le **tableau 09**, la **figure 23** et la **figure 24**.

Les variations dans la composition chimique des extraits expliquent la variation de leur activité antimicrobienne ; ce qui entraîne une variation du diamètre des zones d'inhibition de l'extrait d'acétate d'éthyle de Th.m sur *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica* et *Candida albicans* 26. Les diamètres varient de 6,67 à 9,3 mm, de 9 à 9,33 mm, de 7,33 à 10,67 mm, et de 8,66 à 10 mm, respectivement. Et de 8 à 10 mm, de 8,33 à 9,6 mm, de 6 à 10 mm, et de 8,3 à 9,67 mm pour l'extrait au méthanol.

Le diamètre des zones d'inhibition de l'extrait acétate du Th.t sur *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica* et *Candida albicans* 26 sont de 6,66 à 8,67 mm, de 8,33 à 9 mm, de 8,8 à 10,33 mm, 8,33 à 9 mm, respectivement. Pour l'extrait méthanol, ils sont de 8 à 10,33 mm, de 8 à 10,33 mm, de 7,67 à 10 mm, et de 8,67 à 8,33 mm, respectivement.

D'après les résultats obtenus, l'extrait d'acétate d'éthyle de Th.m présente un meilleur pouvoir antimicrobien à l'encontre de *Y. enterocolitica* (7,33 mm, 10,67 mm). Suivi par l'extrait méthanol sur *K. pneumoniae* (8, mm, 10 mm). Les autres souches ont été les moins sensibles, avec des zones d'inhibition inférieures à 10 mm.

Pour Th.t, l'extrait acétate a montré un pouvoir antimicrobien puissant à l'encontre de *Y. enterocolitica* (8,8 mm, 10,33 mm), comparées aux autres souches. Quant à l'extrait méthanol, la zone d'inhibition mesurée est de 8 mm et 10,33 mm, sur *K. pneumoniae* et *S. enteritidis*.

Les bactéries à Gram négatif (*K. pneumoniae* et *S. enteritidis*) ont présenté une grande sensibilité à l'extrait méthanoïque du Tht Les diamètres d'inhibition sont très élevés (10,33 mm) par rapport. Les souches *Y. enterocolitica* et *C. albicans* 26 sont les moins sensibles vis-à-vis des deux extraits (Acétate d'éthyle et méthanol) et pour les trois dilutions, avec des zones d'inhibition ne dépassent pas 9,67 mm. Cependant, ces deux espèces présentent une grande sensibilité à l'extrait acétate d'éthyle, concentration C0. Les diamètres des zones d'inhibition sont de 10,67 mm et 10 mm, respectivement.

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des plantes *Thymelaea microphylla* et *Thymelaea tartonraira*, nous avons effectué une comparaison de nos résultats avec ceux de (ZEDAÏK , SOUICI) réalisé dans le même laboratoire de recherche (Laboratoire des Sciences Fondamentales, Université Telidji Amar, Laghouat). Ils ont mis en évidence l'effet antibactérien de différents extraits (acétate d'éthyle, méthanol) de *Thymelaea virgata* vis-à-vis de trois souches bactériennes et une levure. Ils ont révélé une activité moyennement importante avec des zones d'inhibition de 7,33 mm à 10,33 mm sur des bactéries à Gram négative (*K. Pneumoniae*, *S. Enteritidis* et *Y. enterocolitica*) et de 10 mm à 10.67 mm sur un champignon (*Candida albicans* 26), pour *Thymelaea virgata*.

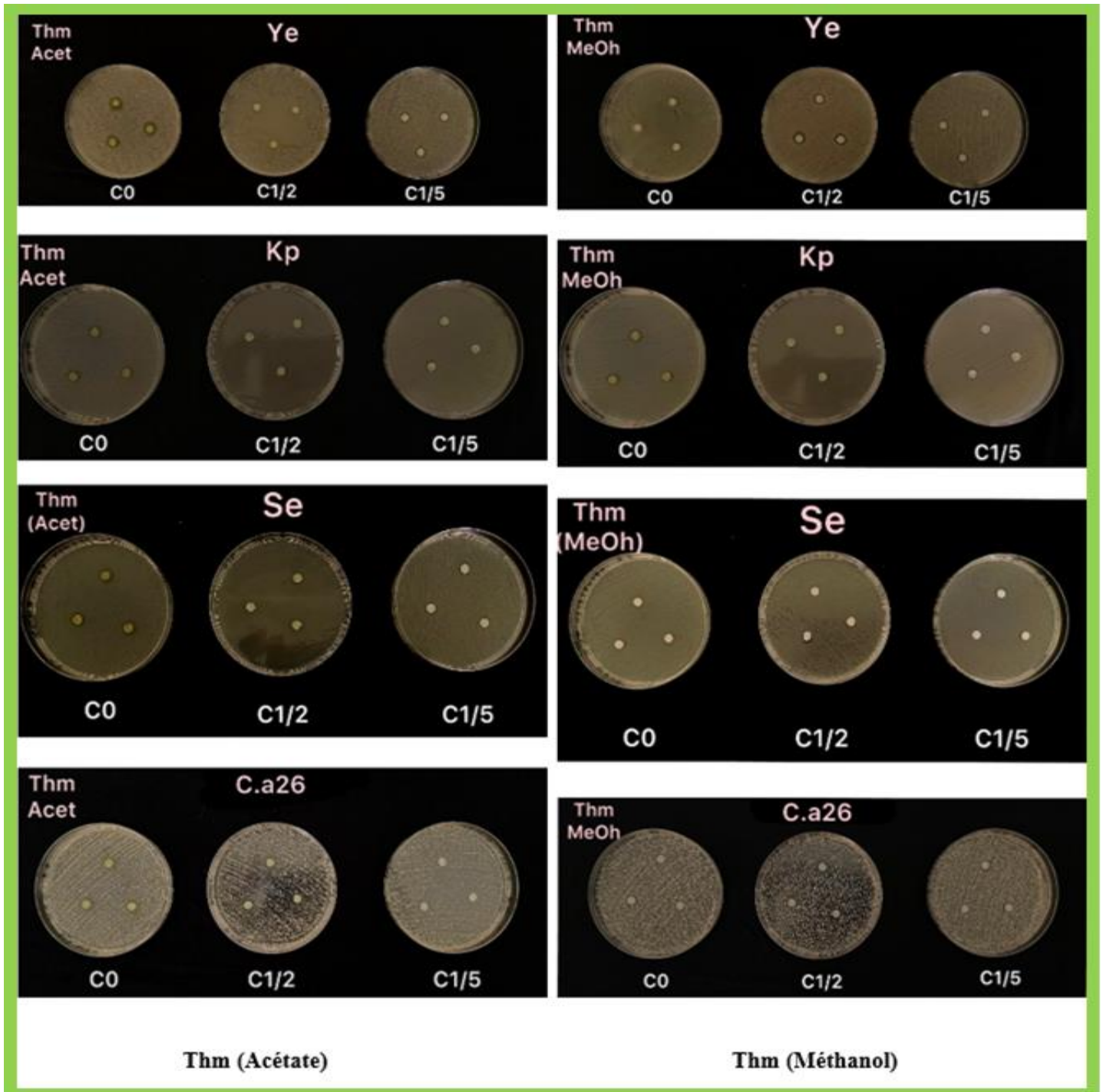
Pour *Thymelaea hirsuta*, le travail de (ZEKKAD et SELLAH ) ont obtenu des diamètres d'inhibition de 7 mm à 9 mm, pour les souches bactériennes, et 8 à 9 mm pour *Candida albicans* 26. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans notre étude.

(**ADDA et al.,2022**) ont mis en évidence l'effet antibactérien de différents extraits (Acétate d'éthyle et méthanol) des organes aériens de *Thymelaea virgata*, vis-à-vis de cinq souches bactériennes, qui ont révélées une activité plus importante contre la bactérie à Gram négative (*K. Pneumoniae*) . Ces résultats sont presque similaires à ceux obtenus dans notre

Tableau 9: Les diamètres des zones d'inhibition des extraits des plantes Th.m et Th.t vis-à-vis des souches étudiées.

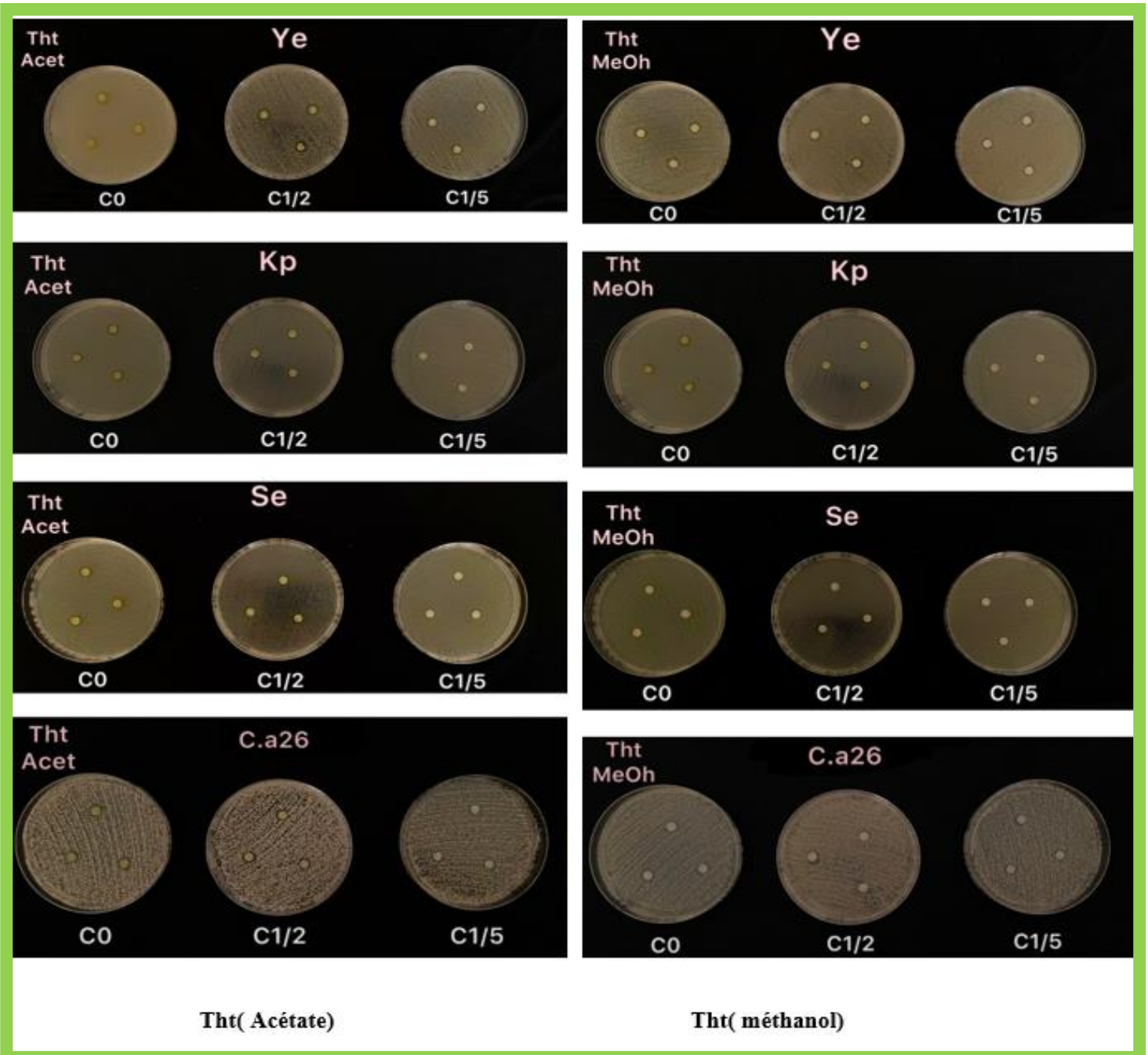
Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)												
Extraits	<i>Thymelaea microphylla</i>						<i>Thymelaea tartonraira</i>					
	Acétate d'éthyle			Meoh			Acétate d'éthyle			Meoh		
Souches	C0	C1/2	C1/5	C0	C1/2	C1/5	C0	C1/2	C1/5	C0	C1/2	C1/5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.3±0.57	9±00	6.67±0.57	10±00	8.67±00	8±1.15	8.67±0.57	8.67±0.57	6.66±0.57	10.33±0.57	9±00	8±00
<i>Salmonella enteritidis</i>	9.3±2.1	9.33±1.83	9±1.73	9.6±0.57	9±00	8.33±0.57	9±00	9±00	8.33±0.57	10.33±1.15	8±00	8±00
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10.67±0.57	9.67±0.58	7.33±0.58	10±1	8.67±0.57	6±00	10.33±1.15	9.33±1.53	8.8±1.15	10±1	9±3	7.67±0.57
<i>Candida albicans</i> 26	10±00	9±1	8.66±0.57	9.67±0.57	9±1	8.3±0.57	9±1	8.67±0.57	8.33±0.57	9.67±0.57	9±1	8.67±0.57

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD (n = 3 essais pour chaque concentration).



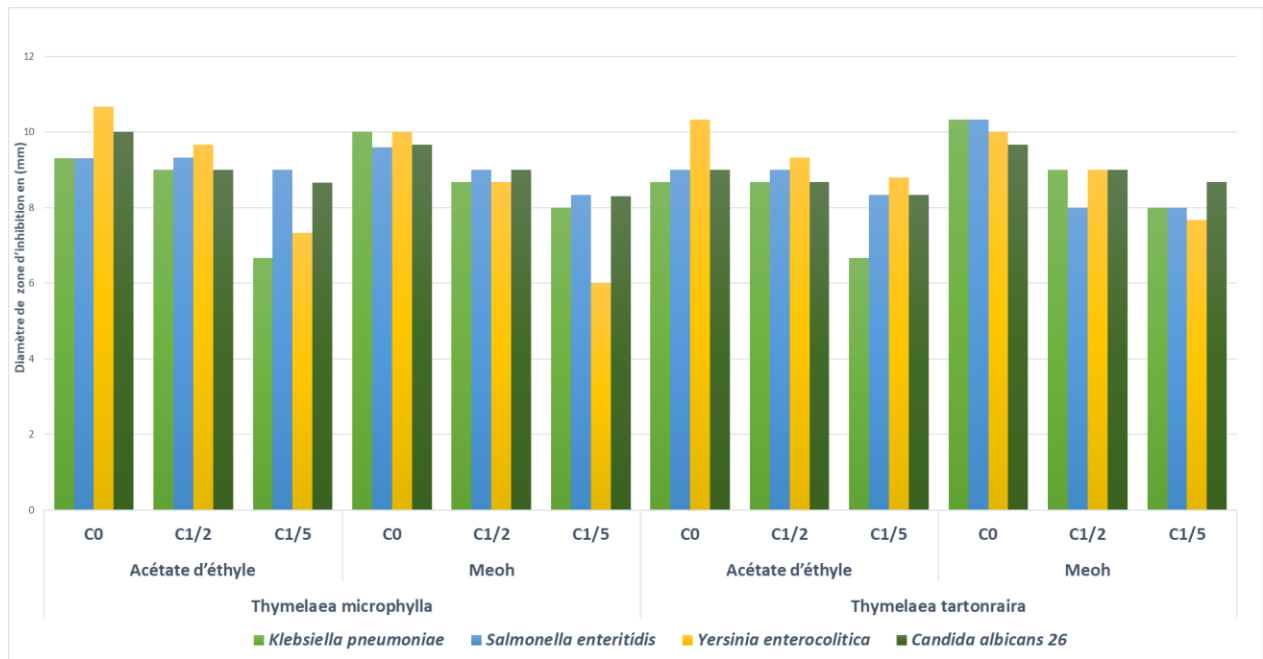
**Figure 23:** L'effet des extraits du *Thymelaea microphylla* sur les quatre souches testées.

**Y.e :** *Yersinia enterocolitica*    **K.p :** *Klebsiella pneumoniae*    **S.e :** *Salmonella enteritidis*  
**C.a 26 :** *Candida albicans* 26    **Th.m :** *Thymelaea microphylla*    **Acet :** Acétate d'éthyle  
**Meoh :** méthanol.



**Figure 24:** L'effet des extraits du *Thymelaea tartonraira* sur les quatre souches testées.

**Y.e :** *Yersinia enterocolitica*    **K.p :** *Klebsiella pneumoniae*    **S.e :** *Salmonella enteritis*  
**C.a 26 :** *Candida albicans 26*    **Th.t :** *Thymelaea tartonraira*    **Acet :** Acétate d'éthyle  
**Meoh :** méthanol.



**Figure 25:** Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis les extraits th.t et th.m.

#### III.1.4.les résultats de la détermination de la CMI par la méthode de la micro-dilution :

Une fois que l'activité antibactérienne a été déterminée sur un milieu solide, une étude supplémentaire a été menée pour mesurer la **CMI** et la **CMB** de nos extraits, vis-à-vis des quatre souches microbiennes testées, en présence du réactif coloré (INT), avec différentes concentrations des extraits (**Tableau 11 et 12**).

La concentration la plus faible de l'inhibition de la croissance bactérienne **CMI** est mesurée par micro-dilutions sur des microplaques. On y distingue des puits transparents et d'autres teintés de rose violet. La raison de cette coloration résulte d'une concentration insuffisante de l'extrait végétale qui empêche la croissance bactérienne ; ce qui signifie que la bactérie est toujours en vie.

Le tableau suivant présente les concentrations des extraits utilisés.

Position (puits)		01	02	03	04	05	06
Les concentration	$C_0$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$
Concentration de l'extrait (mg/ml)	33,33	16,66	8,33	4,16	2,08	1,04	0,52

**Tableau 10** : Les dilutions des extraits et leurs positions dans la microplaque.

D'après (Djabou *et al.*, 2013) les valeurs de la **CMI** en mg/ml sont évaluées de la manière suivante :

- Insensible (-) pour des valeurs allant de 25,0 à 50.0 mg/ml,
- Moyennement sensible (+) pour des valeurs allant de 3,0 à 12,5 mg/ml.
- Sensibilité (++) pour une valeur allant de 0,4 à 2 mg/ml et
- Sensibilité extrême (+++) pour une valeur inférieure ou égale à 0.2 mg/ml

Les résultats des extraits de plantes sur les souches étudiées ont été alors déterminés et regroupés dans les deux **tableaux 11 et 12** .

Plus la CMI est faible, plus le microorganisme est sensible à l'extrait de plante.

Ce qui pourrait constituer une option thérapeutique. Cependant, des valeurs élevées de la CMI reflètent l'ampleur de la résistance des microorganismes et la faible activité de l'extrait.

Les concentrations minimales d'inhibition déterminées dans cette étude varient entre 2,08 mg /ml et 8,33mg/ml, chez *Thymelaea microphylla* et entre 1,04mg/ml et 8,33mg/ml, chez *Thymelaea tartonraira*.

Une inhibition importante est constatée chez les deux extraits acétate d'éthyle et méthanol pour l'espèces *Thymelaea tartonraira* contre une CMI de 1,04 mg/ml, pour *Candida albicans*. Quant à *Thymelaea microphylla*, la CMI est de 2,08 mg/ml.

*Yersinia enterocolitica* est la souche bactérienne la plus sensible à l'extrait de *Thymelaea tartonraira* (Extrait acétate) comparée aux autres souches bactériennes.

Selon le rapport **CMB/CMI**, l'effet antibactérien a été considéré comme bactéricide ou bactériostatique.

En effet, nous avons l'interprétation, selon la référence ci-après :

- **L'effet est bactéricide** lorsque le rapport de **CMB/CMI** est compris entre 1 et 2 ;
- **L'effet est bactériostatique** lorsque le rapport de **CMB/CMI** est compris entre 4 et 16 (**BOUHARB et al .,2014**).

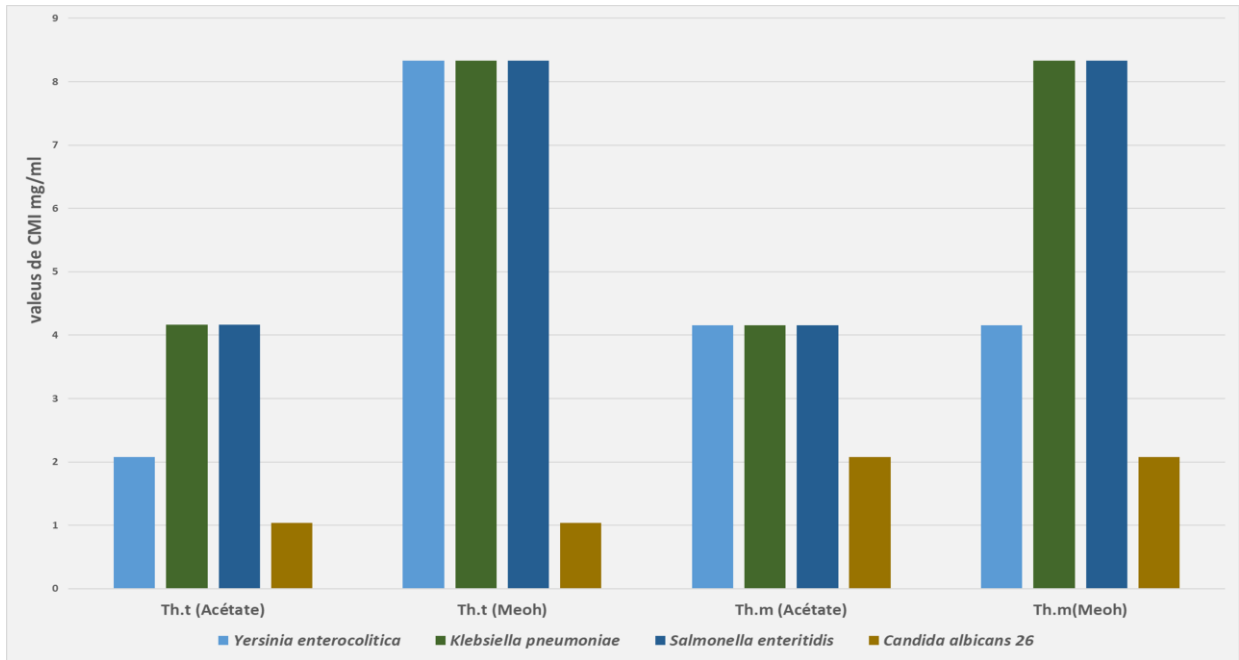
Dans notre cas, nous avons révélé une seule **CMB** de l'extrait acétate de la plante *Thymelaea microphylla* contre la souche bactérienne *Klebsiella pneumoniae*. Le rapport CMB /CMI correspondant est  $16,665/4,16 = 4$ . Ainsi, l'effet de l'extrait **Th.m** acétate est **bactériostatique**.

	Extrait de Th.t	Acétate d'éthyle		Méthanol
	Souches	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)
Bactéries	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<b>2,08</b>		<b>8,332</b>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>4,166</b>		<b>8,332</b>
	<i>Salmonella enteritidis</i>	<b>4,166</b>		<b>8,332</b>
Levures	<i>Candida albicans 26</i>	<b>1,04</b>		<b>1,04</b>

**Tableau 11:** Les résultats des concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides de Th.t en mg/ml.

	Extrait de Th.m	Acétate d'éthyle		Méthanol
	Souches	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)
Bactéries	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<b>4,166</b>		<b>4,166</b>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>4,166</b>		<b>8,332</b>
	<i>Salmonella enteritidis</i>	<b>4,166</b>		<b>8,332</b>
Levures	<i>Candida albicans 26</i>	<b>2,08</b>		<b>2,08</b>

**Tableau 12 :** Les résultats des concentrations minimales inhibitrices les concentrations minimales bactéricides de Th.m en mg/ml.



**Figure 26:** Comparaison des valeurs de CMI entre les extraits *Thymelaea microphylla* et *Thymelaea tartonraira*.

*Conclusion et  
perspectives*

### Conclusion et perspectives

Le travail présent nous a été réalisé afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des plantes locales de la région de la famille Thymelaeaceae sont la *Thymelaea tartonraira* et *Thymelaea microphylla*.

Le test antimicrobien *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu gélosé a permis d'estimer l'action de nos extraits vis-à-vis les trois souches bactériennes (*Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella Enteritidis*) et la levure *Candida albicans* 26 avec différentes concentrations.

Cette évaluation indiquant des zones d'inhibition moyennes montre bien que ,cette plante possède une activité antimicrobienne modéré . La souche bactérienne la plus sensible été la *Yersinia enterocolitica* avec des zones d'inhibition allant de 8.8 jusqu'à 10.33 pour l'extrait *Thymelaea tartonraira* (acétate).

Ces tests antimicrobiens ont également permis de mesurer les CMI en utilisant la méthode de micro-dilution sur les mêmes souches microbiennes, ce qui suggère que nos extraits possèdent un pouvoir bactériostatique sur une seule souche bactérienne c'est la *Klebsiella pneumoniae*.

La souche de *Candida albicans* 26 présentent de faibles concentrations minimales de inhibitrices des deux extraits. Elle a montré une meilleure sensibilité à nos extraits par rapport aux bactéries.

Les résultats obtenus ne représentent qu'un premier pas dans la recherche de substances biologiquement actives d'origine naturelle. Des études supplémentaires seront nécessaires après avoir isolé et identifié les différentes molécules responsables des activités biologiques. Cela aidera à valoriser les plantes médicinales de la région algérienne.

Dans le cadre des perspectives de ce travail, il serait intéressant :

- D'analyser de manière approfondie la composition chimique des divers extraits obtenus, dans le but de déterminer les espèces chimiques qui sont responsables de leurs activités biologiques pour trouver une utilisation thérapeutique.
- Valorisation des extraits obtenus par d'autres tests biologiques telles que l'activité antioxydante , antidiabétique ,antitumorale , antiinflammatoire ... etc.
- Augmenter de la variété des espèces microbiennes testées (bactéries, levures et moisissures, hospitalières et de référence), testés autres espèces pathogènes.

- Actuellement, de nombreuses recherches se tournent vers d'autres méthodes nouvelles dont l'efficacité serait plus élevée, parmi lesquelles nous pouvons citer, par exemple, la méthode d'extraction par microonde qui semble moins destructive vis-à-vis des métabolites secondaires.



*Références*  
*Bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

### A

1. Abdel-Aziz, S., Aeron, A., & Kahil, T. (2016). Health Benefits and Possible Risks of Herbal Medicine. In.
2. Abdelguerfi et Ramdane, 2003 évaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à l'évaluation et la réduction des risques menaçant les éléments de la diversité biologique en Algérie bilans des expertises ministères de l'aménagement du territoire et de l'environnement FEM/PNUD Projet ALG/97/G31 Plan d'Action et Stratégie Nationale sur la Biodiversité page 63.
3. Adda F et Bellakhdar N ; 2022. Contribution à l'étude des activités antimicrobiennes et antioxydantes de la partie aérienne des deux espèces *Thymelea virgata* et *Nolletia chrysocomoides* (Mémoire de master. Université Ammar Thledji - Laghouat).
4. Agostini-Costa, T., Vieira, R., Bizzo, H., Silveira, D., & Gimenes, M. (2012). Secondary Metabolites. In.
5. Allam, H., Bennaceur, M., Riadh, K., Sahki, R., Abderrazak, M., & Benamar, H. (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). *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 363-377.
6. Alyousef, A. A. (2021). Antifungal Activity and Mechanism of Action of Different Parts of *Myrtus communis* Growing in Saudi Arabia against *Candida* Spp. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 3484125. doi:10.1155/2021/3484125
7. Amamra, A., Amira, K., Besma, B., Chahinez, S., Réggami, Y., & Hajira, B. (2019). Etude préliminaire de l'activité anti-microbienne de l'extrait aqueux de l'*Artemisia blanche* de la région de Boussaada.
8. Andew, C., Iserin, P., & et al. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Paris: Larousse.

9. anonyme. PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES. 73p.  
<file:///C:/Users/Admin/Downloads/amina's%20memoire/les%20metabolites.pdf>
10. Aymonin, G. G. (1971). Chorologie régionale et chorologie générale. Intérêt pour l'étude du polymorphisme : un exemple chez les Thyméléacées méditerranéennes. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 118, 827-834.
11. Aymonin, G. G. (1974). Polymorphisme chez le *Thymelaea tartonraira* (L.) All. et position du « *Passerina* » thomasii Duby de la Corse. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 95<sup>ème</sup> session extraordinaire, 121, 41-43.
- B**
12. Bean, W. (2023). *The Royal Botanic Gardens, Kew*. Paris : Legar Street Press.
13. Belouad, A. (1998). Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications Universitaires.
14. Bencheikh, N., Ouahhoud, S., Cordero, M. A. W., Alotaibi, A., Fakchich, J., Ouassou, H., . . . Elachouri, M. (2022). Nephroprotective and Antioxidant Effects of Flavonoid-Rich Extract of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur Aerial Part. 12(18), 9272.
15. Bercovier, H., Brenner, D. J., Ursing, J., Steigerwalt, A. G., Fanning, G. R., Alonso, J. M., . . . Mollaret, H. H. (1980). Characterization of *Yersinia enterocolitica* sensu stricto. *Current Microbiology*, 4(4), 201-206. doi:10.1007/BF02605857
16. Bhalodia, N. R., & Shukla, V. J. (2011). Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. *J Adv Pharm Technol Res*, 2(2), 104-109. doi:10.4103/2231-4040.82956
17. Billerbeck, V. (2008). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5, 249-253. doi:10.1007/s10298-007-0265-z
18. Bolòs, O. de, & Vigo, J. (1984). \*Flora dels països Catalans. Vol. III\*. Barcino édit., Barcelona, 736 p.
19. Bottone, E. J., & Mollaret, H. H. (1977). *Yersinia Enterocolitica*: A Panoramic View of a Charismatic Microorganism. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 5(2), 211–241.
20. Bouharb, H., Badaoui, K., Zair, T., Amri, J., Chakir, S., & Alaoui, T. (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour

- l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*, 78, 6685. doi:10.4314/jab.v78i0.3
21. Bounab, S., Lograda, T., Messaoud, R., Chalard, P., & Figueredo, G. (2017). PHYTOCHEMICAL INVESTIGATIONS AND ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF THYMELAEA MICROPHYLLA ESSENTIAL OIL. *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*, 4, 1205-1215. doi:10.21276/irjps.2017.4.4.7
22. Bouzabata, A. (2017). Les médicaments à base de plantes en Algérie : réglementation et enregistrement. *Phytothérapie*, 15(6), 401-408. doi:10.1007/s10298-016-1089-5
23. Bruneton, J. (1987). *Éléments de phytochimie et des pharmacognosies*. Tec & Doc Lavoisier.
24. Bukar, A. (2014). Evaluation of phytochemical and potential antibacterial activity of *Ziziphusspina-christi* L against some medically important pathogenic bacteria obtained from University of Maiduguri Teaching Hospital, Maiduguri, Borno State – Nigeria. 3, 98-101.

### C

25. Chermat, S., & Gharzouli, R. J. J. M. S. E. (2015). Ethnobotanical study of medicinal flora in the Northeast of Algeria-An empirical knowledge in Djebel Zdimm (Setif). 5, 50-59.
26. Cox, P. A., & Balick, M. J. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Sci Am*, 270(6), 82-87.

### D

27. Dahamna, S., Dehimi, K., Merghem, M., Djarmouni, M., Bouamra, D., Harzallah, D., & Khennouf, S. J. I. J. P. N. I. (2015). Antioxidant, antibacterial and hypoglycemic activity of extracts from *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. 2, 15.
28. Dangoggo, S. M., Hassan, L. G., Shina, S., & Manga, S. B. (2012). Phytochemical analysis and antibacterial screening of leaves of *Diospyros mespiliformis* and *Ziziphus spina-christi*. *Journal of Chemical Engineering*, 1, 31-37.
29. De las Mercedes Oliva, M., Carezzano, M. E., Gallucci, M. N., & Demo, M. S. (2011). Antimycotic Effect of the Essential Oil of *Aloysia Triphylla* against

- Candida Species Obtained from Human Pathologies. Natural Product Communications, 6(7), 1934578X1100600729. doi:10.1177/1934578X1100600729
30. Debuigne, G., & Couplan, F. (2019). *Le petit Larousse des plantes qui guérissent*. Paris: Larousse.
31. Delgado Ayza, C. (2005). [What is aromatherapy?]. Rev Enferm, 28(5), 55-58, 61-54.
32. Dzutam, J. K., Touani, F. K., & Kuete, V. (2016). Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. BMC Complement Altern Med, 16, 9. doi:10.1186/s12906-016-0990-7

### E

33. Eisenberg, D. M., Davis, R. B., Ettner, S. L., Appel, S., Wilkey, S., Van Rompay, M., & Kessler, R. C. (1998). Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. Jama, 280(18), 1569-1575. doi:10.1001/jama.280.18.1569
34. Elie, F. (2022). Les plantes : leurs effets bénéfiques, et leurs risques.
35. Eloff, J. N. (2019). Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. BMC Complement Altern Med, 19(1), 106. doi:10.1186/s12906-019-2519-3

### F

36. Feasey, N. A., Hadfield, J., Keddy, K. H., Dallman, T. J., Jacobs, J., Deng, X., . . . Thomson, N. R. (2016). Distinct *Salmonella* Enteritidis lineages associated with enterocolitis in high-income settings and invasive disease in low-income settings. Nat Genet, 48(10), 1211-1217. doi:10.1038/ng.3644

### G

37. Gad, H. A., El-Ahmady, S. H., Abou-Shoer, M. I., & Al-Azizi, M. M. (2013). Application of chemometrics in authentication of herbal medicines: a review. Phytochem Anal, 24(1), 1-24. doi:10.1002/pca.2378
38. Galicia-Herbada, D. (2006). Origin and diversification of *Thymelaea* (*Thymelaeaceae*): inferences from a phylogenetic study based on ITS (rDNA) sequences. Plant Systematics and Evolution, 257(3), 159-187. doi:10.1007/s00606-005-0371-z

39. GBIF Secretariat. (2023). *GBIF Backbone Taxonomy. Jeu de données de la liste de contrôle*. <https://doi.org/10.15468/39omei>. Consulté sur GBIF.org le 19 juin 2024.
40. Gérard, L. (2014). Gerard, L. (2014). Le doctorat: un rite de passage. Analyse du parcours doctoral et post doctoral. Téraèdre: Paris.
41. Ghanem, H., Haba, H., Marcourt, L., Benkhaled, M., & Wolfender, J. L. (2014). Microphynolides A and B, new spiro- $\gamma$ -lactone glycosides from *Thymelaea microphylla*. *Nat Prod Res*, 28(20), 1732-1738. doi:10.1080/14786419.2014.942662

## H

42. Handa, S. S., Khanuja, S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *International centre for science and high technology*, 21-25.
43. Hasna, G. (2015). Constituants phytochimiques de l'espèce *Thymelaea microphylla*. (Doctorat), UNIVERSITE EL HADJ LAKHDAR BATNA,
44. Hassan, A. (2014). The Antibacterial Activity of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) with and without of Some Ligand Complexes of the Transitional Metal Ions of Ethyl Coumarin against Bacteria Isolate from Burn and Wound Infection.
45. Hemeg, H. A., Moussa, I. M., Ibrahim, S., Dawoud, T. M., Alhaji, J. H., Mubarak, A. S., . . . Marouf, S. A. (2020). Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3221-3227. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.015>
46. Hernández-Ceja, A., Loeza-Lara, P. D., Espinosa-García, F. J., García-Rodríguez, Y. M., Medina-Medrano, J. R., Gutiérrez-Hernández, G. F., & Ceja-Torres, L. F. (2021). In Vitro Antifungal Activity of Plant Extracts on Pathogenic Fungi of Blueberry (*Vaccinium* sp.). *Plants (Basel)*, 10(5). doi:10.3390/plants10050852
47. Horn, D. L., Neofytos, D., Anaissie, E. J., Fishman, J. A., Steinbach, W. J., Olyaei, A. J., . . . Webster, K. M. (2009). Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clinical Infectious Diseases*, 48(12), 1695-1703. doi:10.1086/599039 %J Clinical Infectious Diseases

## J

48. Jean-Yves, C. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*.

49. Jorite, S. (2015). La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. Retrieved from <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01188820> Mem-univ-bordeaux.
50. Josserand, M. (1970). P. Schauenberg et F. Paris. — Guide des plantes médicinales., 1969. *Publications de la Société Linnéenne de Lyon*, 48-48.

### K

51. Kabir, M. A., Hussain, M. A., & Ahmad, Z. (2012). *Candida albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *ISRN Microbiology*, 2012, 538694. doi:10.5402/2012/538694
52. Kerbab, K., Mekhelfi, T., Zaiter, L., Benayache, S., Benayache, F., Picerno, P., . . . Rastrelli, L. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of a polar extract of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. *Nat Prod Res*, 29(7), 671-675. doi:10.1080/14786419.2014.979422

### L

53. Labib, S., Zellagui, A., Khaled, M., Gherraf, N., Mesbah, L., & Rhouati, S. (2010). Essential oil Composition of *Thymelaea microphylla* Coss et Dur. *Der Pharmacia Lettre*, 2, 428-431.
- Lai, C. C., Wang, C. Y., Liu, W. L., Huang, Y. T., & Hsueh, P. R. (2012). Time to positivity of blood cultures of different *Candida* species causing fungaemia. *J Med Microbiol*, 61(Pt 5), 701-704. doi:10.1099/jmm.0.038166-0
54. Lopez, A., Hudson, J. B., & Towers, G. H. (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 77(2-3), 189-196. doi:10.1016/s0378-8741(01)00292-6

### M

55. Mahmoudi, Y. (1987). La thérapeutique par les plantes les plus communes en Algérie. Palis des livres.
56. Malcuit, G. (1942). Le *Thymelaea tartonraira* en Corse. *Bulletin de la Société Linnéenne de Provence*, 23, 5-7.
57. Mansour, R., Chaouachi, F., Falleh, H., Pichette, A., Legault, J., & Riadh, K. (2022). Powerful anti-inflammatory, anti-Herpes and anticancer capacities of *Thymelaea microphylla* L. and TLC phenolic identification. *Journal of Natural Product Research and Applications*, 1, 1-16. doi:10.46325/jnpra.v1i03.24

58. Marmouzi, I., Bouchmaa, N., Kharbach, M., Ezzat, S. M., Merghany, R. M., Berkiks, I., & El Jemli, M. (2021). *Thymelaea* genus: Ethnopharmacology, Chemodiversity, and Bioactivities. *South African Journal of Botany*, 142, 175-192. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.014>
59. Martins, C. H. G., Pires, R. H., Cunha, A. O., Pereira, C. A. M., Singulani, J. d. L., Abrão, F., . . . Mendes-Giannini, M. J. S. (2016). *Candida/Candida* biofilms. First description of dual-species *Candida albicans/C. rugosa* biofilm. *Fungal Biology*, 120(4), 530-537. doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.013>
60. McIver, M. A., & Pike, R. M. (1934). Chronic glanders-like infection of the face caused by an organism resembling *Flavobacterium pseudomallei* Whitmore. In *Clinical Miscellany, Mary Imogene Bassett Hospital*, Vol. 1, (pp. 16-21). Cooperstown, NY: New York.
61. Meletiou-Christou, M., Banilas, G. P., Diamantoglou, S. J. E., & botany, e. (1998). Seasonal trends in energy contents and storage substances of the Mediterranean species *Dittrichia viscosa* and *Thymelaea tartonraira*. 39(1), 21-31.
62. Moreau, B. (2003). *Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie*. Nancy, France: Faculté de Pharmacie de Nancy.
63. Mouhajir, F., Hudson, J., Rejdali, M., & Towers, G. J. P. b. (2001). Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by Berber peoples of Morocco. 39(5), 364-374.

## N

64. Naeem, A., Hu, P., Yang, M., Zhang, J., Liu, Y., Zhu, W., & Zheng, Q. (2022). Natural Products as Anticancer Agents: Current Status and Future Perspectives. 27(23), 8367.
65. Nassim, D., Lorenzi V, Guinoiseau, E., Andreani, S., Giuliani, M.-C., Desjobert, J.-M., . . . Muselli, A. (2013). Phytochemical composition of Corsican *Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. *Food Control*, 30, 354-363. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.06.025
66. Noman, L., Oke-Altuntas, F., Zellagui, A., Sahin Yaglioglu, A., Demirtas, I., S, M. C., . . . Rhouati, S. (2017). A novel benzimidazole and other constituents with antiproliferative and antioxidant properties from *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. *Nat Prod Res*, 31(17), 2032-2041. doi:10.1080/14786419.2016.1274888
67. Noman, L., Zellagui, A., Sahin yaglioglu, A., Demirtas, I., & Rhouati, S. (2015). Antimicrobial activity of essential oil components and antiproliferative activity of

trans-tiliroside compound from an endemic desert species *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6, 671-676.

## P

68. Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9, 293-304.
69. Patrick, M. E., Adcock, P. M., Gomez, T. M., Altekrose, S. F., Holland, B. H., Tauxe, R. V., & Swerdlow, D. L. (2004). *Salmonella enteritidis* infections, United States, 1985-1999. *Emerg Infect Dis*, 10(1), 1-7. doi:10.3201/eid1001.020572
70. Pavon, D., Tranchant, Y., Delauge, J., & Michaud, H. (2009). Statut du *Thymelaea tartonraira* (L.) All. subsp. *Tartonraira* en France continentale. *Le Monde des plantes*, 498, 3-8.
71. Pavon, D., Tranchant, Y., Delauge, J., & Michaud, H. (2009). Statut du *Thymelaea tartonraira* (L.) All. subsp. *Tartonraira* en France continentale. *Le Monde des plantes*, 498, 3-8.
72. Pfaller, M., Diekema, D., Jones, R., Sader, H. S., Fluit, A., Hollis, R., . . . Microbiology, S. P. G. J. J. o. C. (2001). International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *39(9)*, 3254-3259.

## R

73. Rameau, J. C., Mansion, D., Dumé, G., & Gauberville, C. (2008). *Flore forestière française tome 3, région méditerranéenne: Guide écologique illustré*: Institut pour le développement forestier.
74. Rønning, T. G., Aas, C. G., Støen, R., Bergh, K., Afset, J. E., Holte, M. S., & Radtke, A. (2019). Investigation of an outbreak caused by antibiotic-susceptible *Klebsiella oxytoca* in a neonatal intensive care unit in Norway. *Acta Paediatr*, 108(1), 76-82. doi:10.1111/apa.14584

## S

75. Safaei-Ghomi, J., & Ahd, A. A. (2010). Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacogn Mag*, 6(23), 172-175. doi:10.4103/0973-1296.66930
76. Samiya, B. a. B. (2017). Etude phytochimique et activité biologique des parties aériennes (feuilles, fleurs et brindilles) de *Thymelaea hirsuta*. (master),mostaganem,
77. Sanglard, D. (2016). Emerging Threats in Antifungal-Resistant Fungal Pathogens. *Front Med (Lausanne)*, 3, 11. doi:10.3389/fmed.2016.00011
78. Soltani, S., Koubaa, I., Cojean, S., Picot, C., Marchand, P., & Allouche, N. J. N. P. R. (2023). Phytochemical, antileishmanial, antifungal and cytotoxic profiles of *Thymelaea tartonraira* (L.) All. extracts. 1-7.
79. Sytar, O., & Smetanska, I. (2022). Special Issue “Bioactive Compounds from Natural Sources (2020, 2021)”. 27(6), 1929.

## T

80. Tan, K. (1980). Studies in the Thymeleaceae. II: A revision of the genus *Thymelaea*. *Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh*, 38, 189-246.
81. Telli, M. L., Timms, K. M., Reid, J., Hennessy, B., Mills, G. B., Jensen, K. C., . . . Richardson, A. L. (2016). Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Cancer Res*, 22(15), 3764-3773. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-15-2477

## V

82. Volák, J., & Stodola, J. (1983). *Plantes médicinales / texte de Jan Volák et Jiří Stodola*: Gründ.

## Y

83. Yabrir, B., Touati, M., Adli, B., Bezini, E., Ghafoul, M., Khalifa, S., & Guit, B. J. J. P. P. R. (2018). Therapeutic use of spontaneous medicinal flora from an extreme environment (dune cordon) in Djelfa region, Algeria. 6(5), 358-373.

## **Sites web**

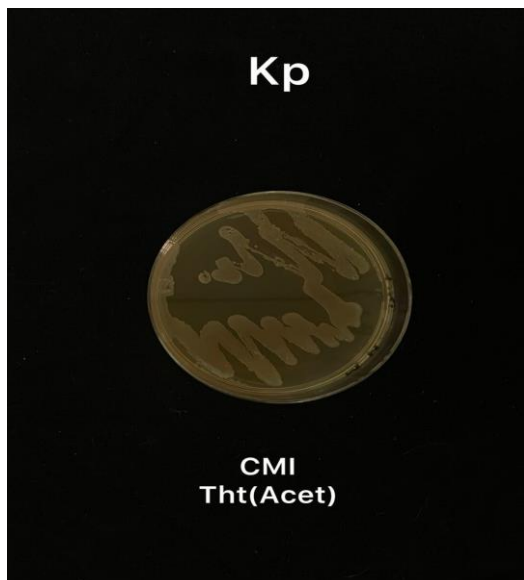
1. Secrétariat GBIF. (2023). *Thymelaea microphylla* Coss. & Durieu. Taxonomie de base de GBIF. Jeu de données de la liste de contrôle.
2. <https://www.inaturalist.org/observations/71510825>

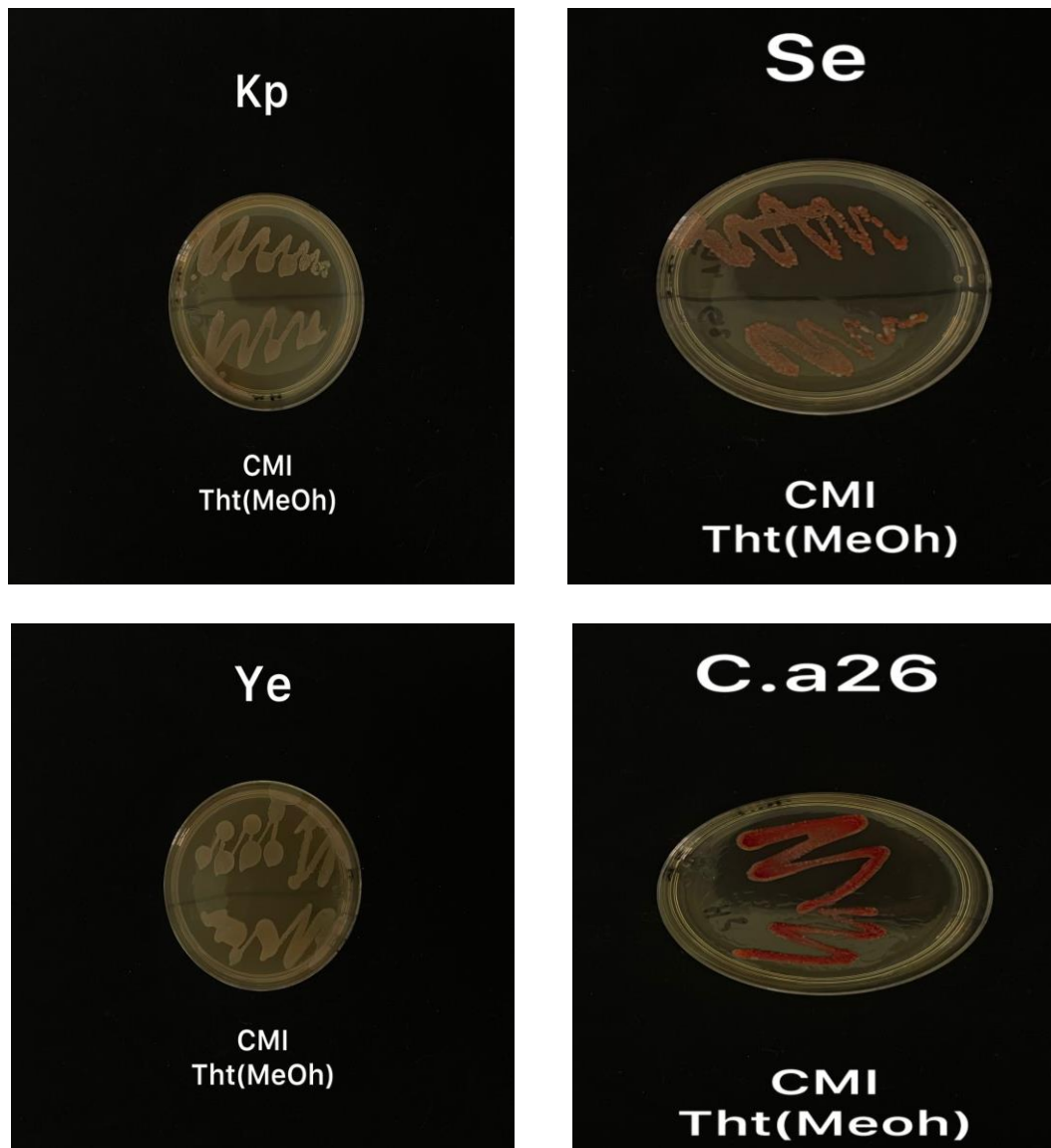
# *Annexes*

## Annexes

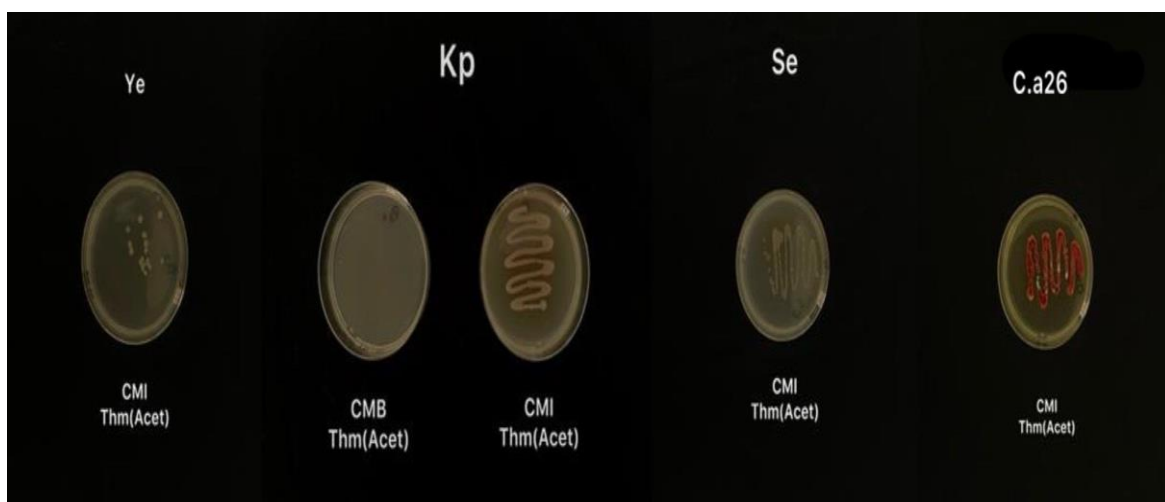
Résultats du control de CMI sur milieu solide :

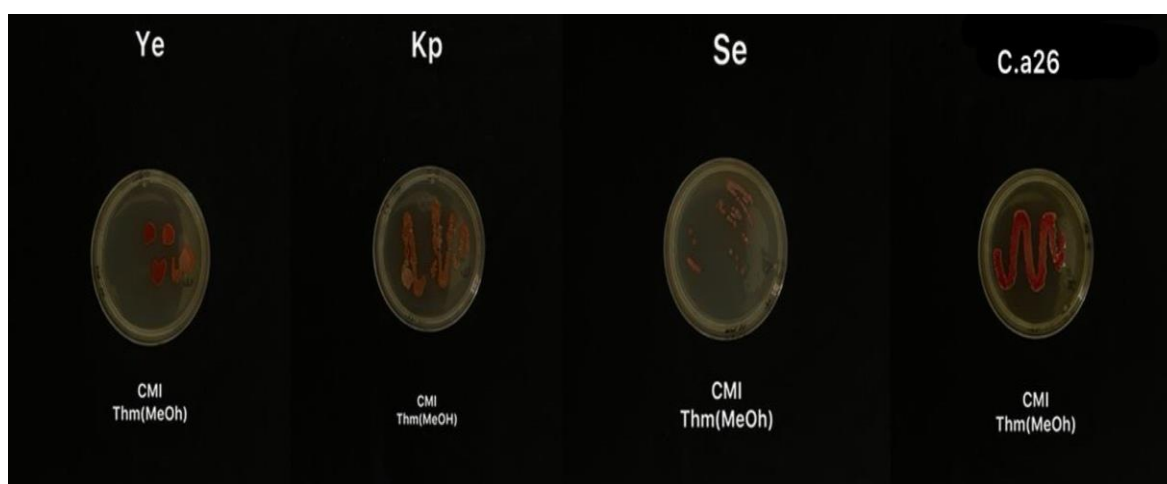
*Thymelaea tartonraira* :





*Thymelaea microphylla* :





**Y.e** : *Yersinia enterocolitica* **K.p** : *Klebsiella pneumoniae* **S.e** : *Salmonella enteritidis*

**C.a 26** : *Candida albicans* 26 **Th.m** : *Thymelaea microphylla* **Meoh** : méthanol

**Acet** : Acétate d'éthyle

Bécher	Once de platine	Tube à essai
Agitateur magnétique / Barreau magnétique	Erlenmeyer	Spectrophotomètre
Autoclave	Micropipette	Portoirs
Spatule	Papier aluminium	Microplaques
Balance	Pince	Papier transparent
Ecouvillon	Pied à coulisse	Bec bunsen
Boite pétri	Pipette pasteur	Vortex
Flacons	Les embouts de micropipette (bleu / jaune )	Etuve

**Tableau 1** : Equipement et matériels utilisés.

DMSO	Sabouraud broth
Eau distillé	Muller Hinton agar
Eau physiologique Nacl 0.9%	Muller Hinton broth
Sabouraud agar	INT

**Tableau 2 :** Les produits chimiques utilisés.

### Méthodes de Stérilisation du matériel

