

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT  
كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Projet de Fin D'étude

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

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### *Thème*

**Valorisation de l'activité antimicrobienne de quelques  
extraits de plantes régionales**

Présenté par :

**ZEDAIK Kheira Amina**

**SOUICI Bochra**

Soutenue publiquement le /06/2024 devant les membres de jury :

Mlle. ZAKHROUF Zohra

MAA (Université Amar TELIDJI Laghouat)

Présidente

M. SIFI Ibrahim

MCA (Université Amar TELIDJI, Laghouat)

Examinateur

Mme. NEBEG Halima

MCB (Université Amar TELIDJI, Laghouat)

Promoteur

Mlle. AISSAOUI Abir

Doctorante (Université Amar TELIDJI, Laghouat)

Co-Promoteur

**Année Universitaire : 2023-2024**

## Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antimicrobienne des deux extraits (acétate d'éthyle et méthanol) préparés à partir des parties aériennes de deux plantes régionales de la famille Thymelaeaceae : *Thymelaea virgata* Desf et *Thymelaea microphylla* Coss. L'étude de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose et méthode des dilutions sur milieu liquide pour trois souches bactériennes et une seule levure. Les extraits sont doués d'une activité antimicrobienne modérée. D'un côté, la première méthode a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle de *T. microphylla* Coss (10,67mm) plus actif contre les souches bactériennes et les extraits de *T. virgata* Desf ont l'activité antifongique importante contre *candida albicans* 26. D'un autre côté, les résultats de la deuxième méthode nous a été donné la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de *T. virgata* plus important (1,041 mg/ml) contre la souche fongique et Les extraits de *T. microphylla* Coss ont la meilleure l'activité antibactérienne par rapport aux extraits de *T. virgata*, vue la présence de CMB (16,66 mg/ml) contre *K. pneumoniae*. Les deux méthodes utilisées suggèrent le même résultat et nous pouvons conclure que *T. microphylla* Coss possède une activité antibactérienne contre les trois souches utilisés et *T. virgata* Desf possède une activité antifongique conte *candida albicans* 26.

**Mots clé :** *Thymelaea virgata* Desf, *Thymelaea microphylla* Coss, activité antimicrobienne, solvant organique, zones d'inhibitions, CMI, CMB.

## *Abstract*

Natural plant extracts contain a variety of biologically active molecules. In this context, we sought to evaluate the antimicrobial activity of two extracts (ethyl acetate and methanol) prepared from the aerial parts of two regional plants of the Thymelaeaceae family: *Thymelaea virgata Desf* and *Thymelaea microphylla Coss*. Antimicrobial activity was studied using the agar diffusion method and the liquid dilution method for three bacterial strains and a single yeast extract, showing moderate antimicrobial activity. On one hand, the first method showed that the ethyl acetate extract of *T. microphylla* (10.67mm) was more active against bacterial strains and the *T. virgata* extracts had significant antifungal activity against *candida albicans* 26. On the other hand, the results of the second method gave us the value of the minimum inhibitory concentration (MIC) of *T. virgata Desf* more important (1.041 mg/ml) against the fungal strain and *T. microphylla Coss* extracts have the best antibacterial activity compared to *T. virgate Desf* extracts, as a presence the CMB (16.66 mg/ml) against *K. pneumoniae* . The two methods used suggest the same result and we can conclude that *T. microphylla* has antibacterial activity against the three strains used and *T. virgata Desf* has antifungal activity against *candida albicans* 26.

**Key words:** *Thymelaea virgata Desf*, *Thymelaea microphylla Coss*, antimicrobial activity, organic solvent, zones of inhibition, MIC, MBC.

## ملخص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيًا. في هذا السياق، حاولنا تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصين (أسيئات الإيثيل والميثانول) تم تحضيرهما من الأجزاء الهوائية لنباتين إقليميين من عائلة: Thymelaeaceae: دُرس النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار الآجري وطريقة التخفيف السائل لثلاث سلالات بكتيرية وسلالة خميرة واحدة، وأظهرت المستخلصات نشاطاً معتدلاً مضاداً للميكروبات. فمن ناحية، أظهرت الطريقة الأولى أن مستخلص أسيئات الإيثيل من *T. microphylla* Cross (10.67) (مم) كان أكثر نشاطاً ضد السلالات البكتيرية وكان لمستخلص *T. virgata* Desf نشاط مضاد للفطريات بشكل كبير ضد سلالة الخميرة. من ناحية أخرى أعطتنا نتائج الطريقة الثانية قيمة الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) من *T. virgata* Desf أكثر أهمية (1.041 ملغم/مل) ضد السلالة الفطرية وكان لمستخلصات *T. microphylla* Cross أفضل نشاط مضاد للبكتيريا مقارنة بمستخلصات *T. virgata* Desf، وذلك لوجود تركيز CMB (16.66 ملغم/مل) ضد *K. pneumoniae*. تشير الطريقتان المستخدمتان إلى نفس النتيجة ويمكننا أن نستنتج أن *T. microphylla* Cross له نشاط مضاد للبكتيريا ضد السلالات الثلاث المستخدمة و *T. virgata* Desf له نشاط مضاد للفطريات ضد سلالة الخميرة.

**الكلمات المفتاحية:** *Thymelaea microphylla* Coss, *Thymelaea virgata* Desf ,مناطق التشبيط , التركيز المثبط الأدنى , نشاط مضاد للميكروبات , مذيب عضوي , التركيز المبيد للبكتيريا .

# Remerciement

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent*

*À M. Yousfi Mohamed, Directeur du Laboratoire des Sciences Fondamentales de l'Université AMAR TELIDJI de Laghouat, pour son accueil chaleureux et son soutien indéfectible. Sa bienveillance et sa disponibilité nous ont permis de mener à bien nos recherches dans un environnement propice à l'apprentissage et à la réussite.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à, notre encadrante Mme. Nebeg Halima, pour la confiance qu'elle nous a accordée en acceptant de diriger ce mémoire et pour avoir corrigé notre mémoire de manière exhaustive.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mlle Aïssaoui Abir, notre Co-encadrante, pour son implication précieuse dans ce travail de recherche. Son suivi régulier et ses conseils avisés ont été d'une grande importance pour la progression de notre projet.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Mm. Houiti Fatima pour son aide précieuse et sa disponibilité constante tout au long de ce travail de recherche. Sa contribution a été déterminante pour l'avancement de notre projet et la réussite de ce mémoire.*

*Un grand merci à Melle Zegrir Anfal, pour les efforts qu'elle a déployés pour nous aider et nous guider et sa disponibilité ont été des atouts précieux.*

*Nous remercions le président du jury, Melle Zakhrout Zohra d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions également M. Sifi Ibrahim de nous avoir honorés en examinant notre travail.*

*Nous remercions aussi tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant notre cursus.*

*Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.*

*Un grand merci à nos amies et camarades pour les moments agréables.*

# *Dédicace*

*A mes chères parent Ahmed et Aïcha*

*Je dédie ce travail à mes parents, qui sont mes plus grands soutiens dans la vie. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.*

*A mes chères frères et sœurs*

*Mouhamed, Ibrahim, Noussiba et Safia, avec qui j'ai grandi et partagé tant de souvenirs. Merci pour votre présence et votre soutien indéfectible.*

*A mes cousins Meriem et Maria et Fatima et tout la famille.*

*Je vous offre le fruit de mes efforts dans ce mémoire.*

*Merci pour votre soutien et votre encouragement indéfectibles.*

*A tous mes amies Aya, Bouchra, Bouchra, Amina et mes collègues.*

*Qui font partie de ces personnes rares par leur gentillesse, leur tendresse et leurs grands crus. Quelles trouvent ici, le témoignage de tout mon amour et toute ma reconnaissance pour leur inlassable soutien.*

*Amina*

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études.*

*En signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici, l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes études.*

*A toute ma famille Ma sœur Zahra et Amel et mon frère Mihoub. Et à tous ceux qui aiment le bon travail et ne reculent pas devant les obstacles de la vie*

*Bouchra*

# *Table des Matières*

## **Liste des Abréviation**

## **Liste des Tableaux**

## **Liste des figures**

Introduction générale : .....	1
I. Généralité sur les plantes médicinales .....	3
I.1 Plantes médicinales .....	3
I.1.1 Phytothérapie .....	3
I.1.2 Domaines d'utilisation des plantes médicinales .....	4
I.2 Substances bioactives (Métabolites secondaires) .....	5
I.2.1 Composés phénoliques.....	5
I.2.2 Alcaloïdes .....	6
I.2.3 Terpenoïdes.....	7
I.3 Aperçu des plantes étudiées .....	7
I.3.1 Systématique des plantes étudiée .....	7
I.3.2 Descriptions botaniques des espèces étudiées .....	8
I.3.3 Propriété thérapeutique du genre Thymelaea.....	11
I.3.4 Distribution géographique de la famille Thymelaeaceae.....	11
I.4 Travaux réalisés sur le genre Thymelaea.....	12
I.5 Activités antimicrobiennes.....	13
I.5.1 Activités antibactérienne.....	13
I.5.2 Activités antifongique.....	14
II.1 Matériel.....	15
II.1.1 Matériel végétale .....	15
II.1.1.1 Récolte des espèces étudiées .....	15
II.1.2 Matériels biologique (Les Souches étudiées) .....	16
II.1.2.1 Description des microorganismes étudiés .....	16

II.1.2.2 Source des souches microbiennes étudiées.....	17
II.2 Méthode.....	17
II.2.1 Méthode d'extraction.....	17
II.2.2 Etudes de l'activité antimicrobienne .....	18
II.2.2.1 Technique de diffusion en milieu solide.....	21
II.2.2.2 Technique de micro dilution en milieu liquide.....	23
III .1 Résultat et discussions de l'activité antimicrobienne.....	28
III.1.1 A partir de la méthode de diffusion sur gélose.....	28
III.1.2 A partir de la méthode micro dilution .....	39
Conclusion générale.....	45
Références bibliographiques : .....	46
Annexe .....	52

## Liste des abréviations

### A

**ATB** : Antibiotique

**ATF** : Antifongique

**ATCC** : American Type Culture Collection

**ADN** : Acide désoxyribonuclé

### C

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CMB** : Concentration Minimale Bactérienne

**CMF** Concentration Minimale fongique

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CIP** : Ciprofloxacine

### D

**DMSO** : Diméthyle su

**D** : Diamètre

### F

**FOX**: Foxitine

### H

**H**: Heure

### I

**IPM**: Imipenem

**INT**: Iodonitrotétrazolium

### M

**MH**: Mueller Hinton agar

**MHB**: Mueller Hinton Broth

**Min** : Minute

$\mu\text{m}$  : micromètre

$\mu\text{l}$  : microlitre

### O

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

### S

**SB**: Sabouraud agar

**SBB**: Sabouraud Broth

### T

**TSA** : Tests in vitro de sensibilité aux antimicrobiens

*T. virgate* : *Thymelaea virgata*

*T.microphylla* : *Thymelaea .microphylla*

### Z

**ZI**: Zones d'inhibition

## *Liste des tableaux*

Tableau 01: les domaines d'utilisation des plantes médicinales .....	4
Tableau 02: Effet thérapeutique des espèces du genre <i>Thymelaea</i> .....	11
Tableau 03: Quelques travaux réalisés sur le genre <i>Thymelaea</i> .....	12
Tableau 04: Régions et année de récolte des espèces étudiées.....	15
Tableau 05: Référence aux souches microbiennes étudiées .....	17
Tableau 06: Solvants utilisés pour l'extraction .....	18
Tableau 07 : Diamètres des zones d'inhibition pour la méthode de diffusion sur gélose avec des disques.....	29
Tableau 8: Les résultats dans tableau indiquent que les souches microbiennes testées ont montré diverses sensibilités aux antibiotiques et antifongiques standards utilisés. ....	30
Tableau 09: Diamètre des zones d'inhibitions des extraits de <i>Thymelaea virgata vis-à-vis</i> des souches étudiées .....	31
Tableau 10: Diamètre des zones d'inhibitions des extraits de <i>Thymelaea microphylla Coss</i> vis-à-vis des souches étudiées .....	33
Tableau 11:Diamètre des zones d'inhibitions des extraits de <i>T. microphylla Coss</i> et <i>T.tartonaيرا</i> et <i>T.hirsuta</i> vis-à-vis des souches étudiées .....	35
Tableau 12: Calculer les concentrations minimales inhibitrices CMI.....	39
Tableau 13 : Les Concentrations Minimales Inhibitrices des extraits de <i>T.virgata Desf</i> en (mg/ml).....	40
Tableau 14: Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricide des extraits de <i>T.microphylla Coss</i> en (mg/ml).....	41

## *Liste des figures*

Figure 01: Pour bien utiliser les plantes médicinales, des compétences pluridisciplinaires sont nécessaires .....	4
Figure 02: Différentes classes des composés phénoliques. ....	6
Figure 03: Structure d'isoprène .....	7
Figure 04: Photographie illustrant l'espèce <i>Thymelaea virgata Desf.</i> .....	9
Figure 05: Photographie illustrant l'espèce <i>Thymelaea microphylla Coss.</i> ....	10
Figure 06: La Distribution botanique des Thymelaeaceae .....	11
Figure 07: Nombre d'antibiotiques approuvés au cours des 30 dernières années .....	14
Figure 08: schéma représente les étapes d'extraction .....	18
Figure 9: Stérilisation du matériel par un four pasteur .....	19
Figure 10: Méthode de préparation de milieu de culture.....	19
Figure 11: Préparation et dépôt des disques de papier en milieu solide.....	20
Figure 12: Préparation des dilutions des extraits.....	21
Figure 13: Principe de la méthode de diffusion d'antibiotique sur milieu solide .....	21
Figure 14: Méthode de diffusion sur disque de papier en milieu de culture .....	22
Figure 15: La Méthode de micro dilution en milieu liquide .....	25
Figure 16: Effet de DMSO sur quelques souches étudiées. ....	28
Figure 17: Les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits de La plante <i>Thymelaea virgata Desf</i> vis-à-vis des souches étudiées. ....	31
Figure 18: Les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits de l'espèce <i>Thymelaea microphylla Coss</i> vis-à-vis des souches étudiées.....	33
Figure 19: Effet l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>T. virgata Desf</i> sur la croissance des souches microbiennes.....	37
Figure 20: Effet l'extrait méthanolique de <i>T. virgata Desf</i> sur la croissance des souches microbiennes.....	37
Figure 21: Effet l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>T. microphylla Coss</i> sur la croissance des souches microbiennes. ....	38

Figure 22: Effet l'extrait méthanolique de <i>T. microphylla Coss</i> sur la croissance des souches microbiennes .....	38
Figure 23: Les positions des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour <i>T .virgata Desf</i> .....	39
Figure 24: les positions des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour <i>T.microphylla Coss</i> .....	40
Figure 25:L'histogramme est montré les CMI des deux plantes <i>T .virgata Desf</i> et <i>T.microphylla Coss</i> sur les souches microbiennes étudiées .....	42
Figure 26: Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de <i>Thymelaea virgata Desf</i> contre des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution	43
Figure 27: Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de <i>Thymelaea microphylla Coss</i> contre des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution.....	44



# *Introduction* *générale*

## **Introduction générale :**

Depuis des siècles, les humains ont exploité les propriétés curatives des plantes médicinales pour soigner. Cette pratique, profondément ancrée dans les traditions populaires, continue de connaître un regain d'intérêt à l'heure actuelle. Aujourd'hui, les plantes médicinales occupent une place prépondérante dans le domaine des soins de santé, constituant un recours majeur pour de nombreuses personnes (Nasri, 2016). L'efficacité de ces derniers est due aux produits synthétisés par le métabolisme secondaire naturel qui se fait au niveau des cellules et des tissus de ces plantes (Ababsa, 2009).

De l'Orient à l'Occident, les plantes médicinales ont toujours joué un rôle crucial dans l'histoire de la médecine. En Chine et en Inde, des traditions millénaires ont permis de codifier et de transmettre un savoir précieux sur les propriétés curatives des plantes. Face aux déséquilibres engendrés par la vie moderne, comme le stress ou l'obésité, la phytothérapie retrouve aujourd'hui un intérêt grandissant dans les pays occidentaux. Elle n'est plus uniquement perçue comme un remède aux maladies, mais comme un outil de prévention à intégrer au quotidien (Seba, 2012). L'Algérie possède une gamme diversifiée de belles espèces florales, grâce à ses zones climatiques variées, qui s'étendent de la côte méditerranéenne au désert du Sahara, Parmi les plantes médicinales d'Algérie, *Thymelaea* une espèce endémique, se distingue par ses vertus curatives traditionnellement utilisées dans le sud du pays. (Sakhraoui et al.2020)

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques ont conduit les chercheurs à espèrent identifier des composés naturels capables de lutter contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques, responsables de maladies graves et potentiellement mortelles, De nombreuses études ont mis en évidence la présence de substances biologiquement actives ayant des activités antimicrobiennes, et cela a été réalisé grâce à des textes in vitro. Il existe deux techniques principales : La dilution en milieu liquide est la technique la plus couramment recommandée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricide/fongicide (CMB/CMF) des micro-organismes et La technique de diffusion en milieu gélosé, qui consiste à placer des disques imprégnés de substances testées sur une culture bactérienne, a connu une évolution notable au fil du temps (ZAHIR et al. 2018)

De ce fait, l'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne des parties aérienne de deux espèces, *Thymelaea virgata Desf* et *Thymelaea microphylla Coss*, en utilisant deux solvants de polarité croissante. Elle vise également à déterminer la

concentration minimale inhibitrice CMI, pour développer de nouveaux antibiotiques naturels qui ne présentent aucun effet néfaste sur la santé humaine par rapport à leurs homologues synthétiques.

Notre travail a été réalisé en trois parties :

- ✚ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, Nous avons entamé cette partie par une enquête ethnobotanique, en vue d'évaluer l'intérêt et l'usage des plantes médicinales et les deux plantes étudiées. Des généralités, sur les métabolites secondaires et sur les activités antimicrobiennes et antifongiques.

Dans cette partie, il y a trois chapitres :

- Chapitre 1 : Etude botanique.
- Chapitre 2 : Métabolites secondaires.
- Chapitre 3 : Activités biologiques

- ✚ La deuxième partie : étude expérimentale illustre le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes étapes de notre travail et les résultats et la discussion de l'étude de l'activité antimicrobienne contre les souches utilisées.

Dans cette partie, il y a deux chapitres :

- Chapitre 1 : Matériel et méthode.
- Chapitre 2 : Résultats et discussions.

- ✚ Enfin, notre manuscrit est ponctué d'une conclusion générale.



*Synthèse*

*bibliographique*

## **I. Généralité sur les plantes médicinales**

### **I.1 Plantes médicinales**

La médecine traditionnelle englobe un ensemble de connaissances et de pratiques, fondées ou non sur des explications scientifiques, qui sont utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou traiter les maladies physiques. (Sofowora, 2010)

Pour préserver la santé, certaines plantes possèdent des propriétés curatives ces propriétés sont dues à la présence de substances actives qui sont utilisées dans la médecine traditionnelle.

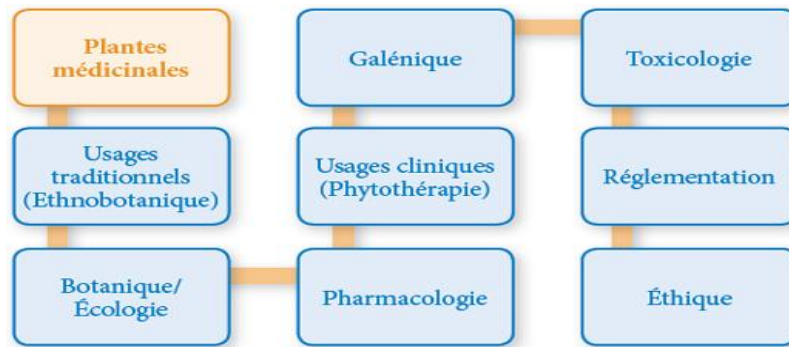
Selon la Xème édition de la Pharmacopée française les plantes médicinales sont des drogues végétales et L'OMS a recommandé d'utiliser l'expression « drogue végétale » pour désigner une partie de plante médicinale utilisée à des fins thérapeutiques. Un tel produit possédant une structure cellulaire est appelé en pharmacie une (drogue organisée), Les drogues végétales définies avec précision par la dénomination scientifique universelle selon le système binomial (genre, espèce, variété, auteur). (Ouedraogo et al , 2021) (Casanova, 1993)

#### **I.1.1 Phytothérapie**

D'origine grecque, le mot "phytothérapie" combine les termes "phyton" (plante) et "therapeia" (traitement). Cette pratique ancestrale vise à prévenir et soulager divers troubles et maladies grâce aux vertus des plantes.(Colmant, 2010)

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition et la nature de substances actives des plantes entière ; partout dans le monde, des milliers de plantes aux propriétés curatives sont utilisées. Leur champ d'action est large et leur puissance diverse. La plupart d'entre elles ont des effets spécifiques sur différentes parties du corps et sont reconnues pour leur efficacité dans le traitement de divers troubles. (La rousse, 2001)

- ❖ La maîtrise d'usage des plantes médicinales requiert une connaissance approfondie, acquise par l'expérience et la familiarisation progressive avec leurs propriétés. (figure 01)



**Figure 01:** Pour bien utiliser les plantes médicinales, des compétences pluridisciplinaires sont nécessaires

(Laurant , 2016)

### I.1.2 Domaines d’utilisation des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles pour traiter un large éventail de maladies et d’affections. Leur utilisation continue d’être répandue dans de nombreuses cultures du monde entier, et des recherches sont en cours pour explorer leurs avantages potentiels et leurs mécanismes d’action des principes actifs. (Chama, 2017)

**Tableau 01:** les domaines d’utilisation des plantes médicinales

Domaines d’utilisation	Quelque exemple	Références
<b>Médecine traditionnelle</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les soins de santé primaires jouent un rôle crucial dans les systèmes de santé de nombreux pays en développement.</li> <li>• Des recherches ethnobotaniques ont révélé l'utilisation des végétaux pour traiter les infections microbiennes et chroniques</li> </ul>	<p>(Organization, 2002)</p> <p>(El hilah et al., 2015)</p>
<b>Industrie pharmaceutique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Valorisation des plantes pour la production des compléments alimentaires</li> <li>• Découverte et production des substances actives pour fabriquer des nouveaux médicaments</li> </ul>	<p>(Etienneet al., 2021)</p> <p>(Chaachouay et al., 2024)</p>
<b>Produit cosmétiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• les huiles essentielles et les extraits de plantes utilisent dans parfums ; soins de la peau ; produits capillaires</li> <li>• Traitement de l'acné</li> </ul>	<p>(Hicham, 2001)</p>

		(Berthé, 2021)
<b>Industrie alimentaire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conservateurs des aliments naturels</li> <li>• Aliments et boissons fonctionnels aux bienfaits pour la santé</li> </ul>	(Nieto, 2020)  (Contreras-López <i>et al.</i> , 2021)
<b>Agriculture et médecines vétérinaire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Améliorer les caractéristiques sensorielles des aliments</li> <li>• Traitements vétérinaires pour le bétail et les animaux de compagnie</li> </ul>	(Licata <i>et al.</i> , 2022)  (Romero <i>et al.</i> , 2022)
<b>Protection de l'environnement</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phytoremédiation ; utilisation des plantes contre les contaminations du sol et l'eau</li> <li>• Bioremédiation ; utilisation des plantes pour éliminer la pollution</li> </ul>	(Mocek <i>et al.</i> , 2023)

## I.2 Substances bioactives (Métabolites secondaires)

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux Métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides, Ces composés diffèrent selon les espèces de plantes, Bien que leurs fonctions ne soient pas entièrement comprises, il est évident qu'ils jouent un rôle crucial dans les interactions entre les plantes et les organismes vivants qui les entourent. Ces métabolites secondaires sont probablement essentiels à la coévolution des plantes avec les organismes vivants. (Krief, 2003)

Les métabolites secondaires sont classés en trois catégories principales variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais don 't le niveau d'accumulation peut quelque fois atteindre des valeurs élevées. (Macheix *et al.*, 2005)

### I.2.1 Composés phénoliques

Sont des métabolites secondaires produits dans l'acide shikimique des plantes et le pentose phosphate par métabolisation des phénylpropanoïde. Constitués d'au moins un noyau aromatique de type benzène, possédant un ou plusieurs groupements hydroxyyles, et vont des molécules phénoliques simples aux composés hautement polymérisés. (Lin *et al.*, 2016)

Ces composés regroupent plusieurs classifications : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tanins, quinones, acides phénoliques, xanthones, où les flavonoïdes représentent le groupe le plus courant et le plus répandu (Figure 02)

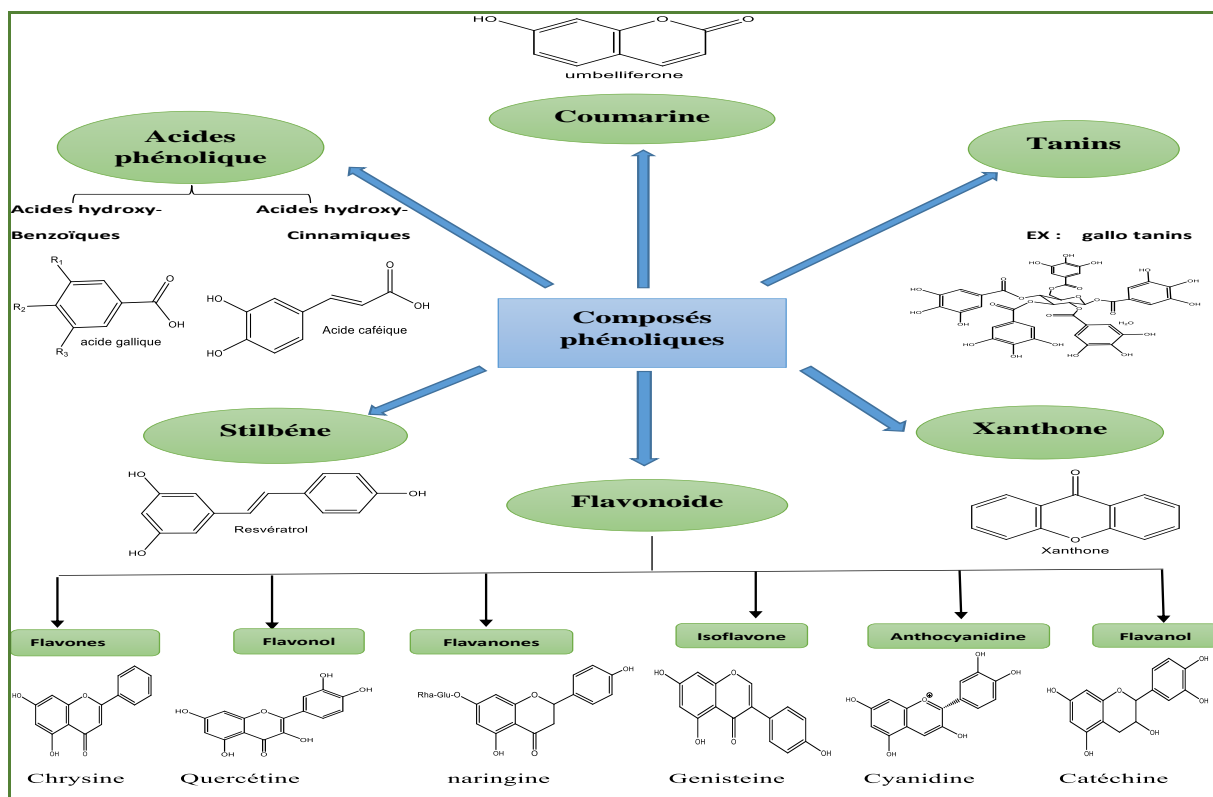


Figure 02: Différentes classes des composés phénoliques.

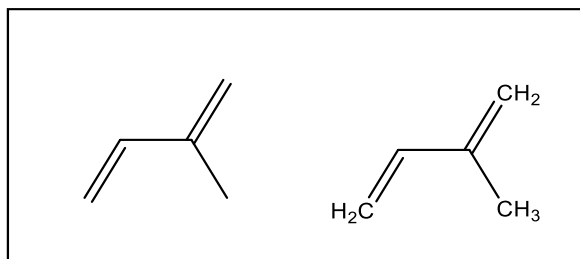
### I.2.2 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés naturels et organiques dérivés principalement des plantes, contenant au moins un atome d'azote dans leur structure chimique et présentant divers degrés de caractère basique. Depuis la découverte du premier alcaloïde, la morphine, extrait de l'opium en 1806, ces substances ont été étudiées pour leurs propriétés pharmacologiques et leur importance biologique. (Muniz, 2006)

- Les pseudo-alcaloïdes, qui présentent les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés d'acides aminés.
- Les alcaloïdes vrais, qui sont dérivés de la biosynthèse d'acides aminés et présentent au moins un hétérocycle contenant de l'azote.
- Les proto-alcaloïdes, qui dérivent également d'acides aminés mais dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique. (Bony, 2013)

### I.2.3 Terpenoïdes

Les terpènes, également connus sous le nom d'isoprénoïdes (**figure03**), constituent le groupe le plus important et le plus diversifié de composés naturels, présents principalement dans les plantes, mais également chez les animaux. Ils sont responsables du parfum, du goût et du pigment des plantes. (**cox-georgian et al. 2019**)



**Figure 03:** Structure d'isoprène

### I.3 Aperçu des plantes étudiées

#### I.3.1 Systématique des plantes étudiée

a)-Présentation de la famille Thymelaeaceae : (**GHANEM, 2015**)

- ❖ **Règne :** Plantae
- ❖ **Embranchement :** Spermatophyta
- ❖ **Sous-embranchement :** Angiospermae
- ❖ **Classe :** Eudicotyledonae
- ❖ **Sous-classe :** Rosidae
  - Eurosidae II
- ❖ **Ordre :** Malvales
- ❖ **Famille :** Thymelaeacea
- ❖ **Genre :** Thymelaea

b)-Systématique des deux espèces étudiées : (**Royal, 2002**)

- ❖ **Famille :** Thymelaeaceae
  - ❖ **Sous-famille :** Thymelaeoideae
    - ❖ **Genre :** Thymelaea
      - ❖ **Espèce I :** *T. microphylla* Coss
      - ❖ **Espèce II :** *T. virgata* Desf

Source : <https://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-inventaire.php?char=T&page=2>

c) – Nomenclature des espèces étudiées

Nom latin : *Thymelaea virgata* (Desf.)

Nom vernaculaire : *Passerina virgata* Desf

Nom arabe : Methnina, terzazi

Nom latin : *Thymelaea microphylla* Coss.

Nom vernaculaire : *Passerina microphylla* Coss. & Durieu

Nom arabe : Metenane abiadh

I.3.2 Descriptions botaniques des espèces étudiées

✚ Caractéristiques générales des Thymelaeaceae (Heywood, 1996).

- ❖ **Port** : peuvent être des arbres, des arbustes ou des plantes herbacées.
- ❖ **Feuilles** : simples, alterne
- ❖ **Fleurs** : généralement petites régulière, bisexuelle, pièces florale 4 ou 5
- ❖ **Fruits** : des drupes, des baies ou des capsules.
- ❖ **Graines** : possédant ou peu ou pas d'albumen

✚ *Thymelaea virgata* Desf

C'est un sous-arbrisseau vivace (en latin, *virgata* veut dire en forme de verge, de baguette). Noms communs : *Thymelaea* à fines branches, *Thymelaea* élancé, *Thymelaea* à tiges élancées, *Thymelaea* à feuilles élancées. (Figure 04)

✓ Caractéristiques morphologiques :

- **Port** : Arbuste à feuilles caduques, atteignant généralement 1 à 2 mètres de haut.
- **Tiges** : Minces, dressées et ramifiées, souvent de couleur brun rougeâtre.
- **Feuilles** : petites feuilles sessiles alternes, simples et linéaires-lancéolées, d'une longueur de 2 à 5 cm et d'une largeur de 2 à 5 mm. Les feuilles sont glabres (glabres) et ont une texture lisse. Les bords sont entiers (lisses) et le sommet est aigu (pointu). Les feuilles sont souvent décrites comme glauques, ce qui signifie qu'elles ont une couche cireuse vert bleuâtre.
- **Fleurs** : petites, bisexuées et disposées en grappes terminales ou axillaires. Les fleurs sont de couleur jaune à jaune verdâtre et ont une forme tubulaire à quatre lobes. Le calice est poilu et les pétales sont absents. Les fleurs fleurissent de mars à mai.

- **Fruits** : petites capsules sèches et indéhiscentes (ne s'ouvrant pas), contenant une seule graine. Les fruits sont de forme ovoïde et mesurent environ 3 à 4 mm de longueur.
- **Habitat** : *Thymelaea virgata* se trouve dans les habitats secs, rocheux et calcaires, notamment les prairies, les garrigues et les forêts ouvertes. Il est originaire de la région méditerranéenne et peut être trouvé dans des pays comme l'Espagne, la France, l'Italie, la Grèce et la Turquie.



**Figure 04:** Photographie illustrant l'espèce *Thymelaea virgata* Desf

Source : [https://www.atlasbota.com/wp-content/uploads/2021/06/passerine\\_passerine \(1\).pdf](https://www.atlasbota.com/wp-content/uploads/2021/06/passerine_passerine%20(1).pdf)

#### ✚ *Thymelaea microphylla* Coss

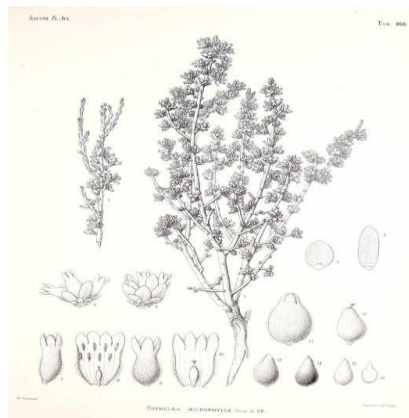
- ✓ Caractéristiques morphologiques :
- **Port** : Arbuste buissonnant pouvant atteindre 1 à 2 mètres de hauteur.
- **Feuilles** : Petites, de 5 à 10 mm de long, ovales à elliptiques, coriaces, vert foncé, glabres et disposées de manière alterne sur les rameaux.
- **Fleurs** : Petites, blanc-jaunâtres, Cette espèce présente deux types de fleurs (monoïque) : des fleurs mâles et des fleurs femelles. Ces fleurs sont regroupées en glomérules, les fleurs mâles étant plus grandes (4 à 6 mm) et possédant un calice cylindrique, tandis que les fleurs femelles sont plus petites (3 à 4 mm).
- **Fruits** : Petits, secs, ovoïdes, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur brun foncé à maturité. (Figure 05)

➤ **Particularités :**

- *Thymelaea microphylla* est une plante à croissance lente.
- Elle est résistante à la sécheresse et aux sols pauvres.
- Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques.
- Elle est également utilisée comme plante ornementale.

**Habitat :**

Régions méditerranéennes, notamment en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Libye. Cette plante endémique d'Afrique du Nord est particulièrement répandue dans les Hauts-plateaux et les déserts d'Algérie. (GHANEM, H. 2015)



**Figure05:** Photographie illustrant l'espèce *Thymelaea microphylla* Coss.

**Source :**

<https://africanplantdatabase.ch/en>

<https://atlassahara.org/Thymelaeaceae/Thymelaea%20microphylla/Thymelaea%20microphylla.html?cat=Thymelaeaceae>

### I.3.3 Propriété thérapeutique du genre *Thymelaea*

**Tableau 02:** Effet thérapeutique des espèces du genre *Thymelaea*

<i>Espèce</i>	<i>Propriété thérapeutiques</i>	<i>Références</i>
<i>T.microphylla</i>	-Activité anti oxydante	(Kerbab et al. 2015)
<i>T. hirsluta</i>	-Activité antimicrobienne	(Kadi et al, 2017)
<i>T. lythkhoide</i>	-Activité antifongique	(Dohou et al. 2004)
<i>Dofphne gnidium</i>	-Activité antiseptique	(Mohammedi, 2013)

### I.3.4 Distribution géographique de la famille *Thymelaeaceae*

La distribution des *Thymelaeaceae* est majoritairement concentrée dans les zones tropicales et tempérées, avec une absence notable dans les régions aux climats les plus froids. (Borris et al, 1988) (Figure 06)



**Figure 06:** La Distribution botanique des *Thymelaeaceae*

(Heywood, 1996)

#### I.4 Travaux réalisés sur le genre *Thymelaea*

**Tableau 03:** Quelques travaux réalisés sur le genre *Thymelaea*

La famille Thymelaeaceae a plusieurs espèces, et lors de la recherche, nous avons obtenu certaines de ces recherches qui ont été menées sur ce sujet :

Travail Réalisé	Références
Valorisation du <i>Thymelaea hirsuta</i> de la région de Tiaret: étude de l'activité antibactérienne et du rendement en huile essentielle	(Mekadim et al., 2023)
Étude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes <i>Artemisia judaica</i> L. subsp. <i>sahariensis</i> et <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. & Dur	(Hanane, 2023)
Antioxidant and Anti-inflammatory Properties of Algerian <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. and Dur. Extracts	(Dehimi et al., 2016)
Chemical composition and antioxidant activity of a polar extract of <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. et Dur	(Kerbab et al., 2015)
Study of biological activities of extracts from <i>Thymelaea microphylla</i> Coss. and Dur	(Dehimi, 2018)
Tori in species of <i>Diarthron</i> , <i>Stellera</i> and <i>Thymelaea</i> (Thymelaeaceae)	(Dute, 2011)
Origin and diversification of <i>Thymelaea</i> (Thymelaeaceae): inferences from a phylogenetic study based on ITS (rDNA) sequences	(Galicia-Herbada, 2006)
Taxonomy of the genus <i>Passerina</i> (Thymelaeaceae)	(Bredenkamp, et al., (2003).
Anti-tumoral Effect of <i>Thymelaea hirsuta</i> L. Extracts in Colorectal Cancer Cells	(Toumi et al., 2023)
New Antiproliferative Triflavanone from <i>Thymelaea hirsuta</i> -Isolation, Structure Elucidation and Molecular Docking Studies	(Elhady et al., (2021)
<i>Etude de quelques propriétés des extraits de Thymelaea microphylla</i> Coss. et Dur	(Dehimi, 2011).
Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, <i>Thymelaea lythroides</i> . <i>Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux</i> ,	(Dohou, 2003)
Effet antibactérien des extraits de <i>Thymelaea hirsuta</i> L.	(Kadi et al., 2017)

## **I.5 Activités antimicrobiennes**

Les plantes aromatiques et médicinales sont reconnues pour la production de molécules bioactives qui interagissent avec d'autres organismes dans leur environnement, ce qui entraîne une inhibition de la croissance des bactéries ou des champignons. (Sengul et al., 2009)

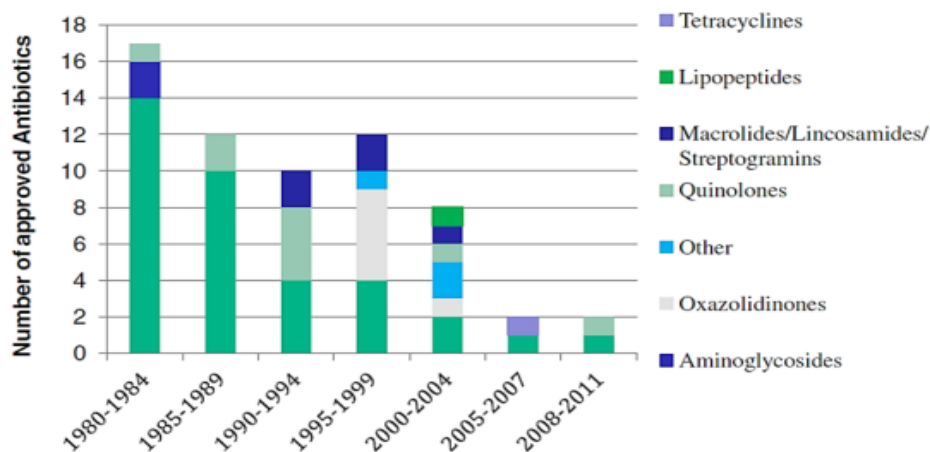
Le mode d'action des activités antimicrobiennes fait référence aux mécanismes par lesquels les agents antimicrobiens agissent pour tuer ou inhiber la croissance des micro-organismes tels que les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Il existe de nombreuses modes d'action peuvent inclure la perturbation de la paroi cellulaire, l'inhibition de la synthèse des protéines ou de l'ADN, ou encore la perturbation de la membrane cellulaire. (Baron, 1996).

### **I.5.1 Activités antibactérienne**

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les microorganismes.

Les infections bactériennes, un fléau aux multiples visages, menacent la santé publique. Causées par une diversité de micro-organismes, ces infections constituent la source de maladies parmi les plus meurtrières et d'épidémies dévastatrices. Bien que la découverte des antibiotiques ait révolutionné la lutte contre ces infections, leur utilisation excessive et inadéquate a engendré un phénomène inquiétant : l'émergence de bactéries résistantes aux traitements.

La lutte contre les infections bactériennes se heurte à un défi croissant : la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques, qui s'est transformée en une crise sanitaire mondiale de grande ampleur expliqué. (Figure 07) (ABDALLAH et al., 2019)



**Figure 07:** Nombre d'antibiotiques approuvés au cours des 30 dernières années

(Formosa, C. 2014)

### I.5.2 Activités antifongique

Les champignons pathogènes causent des infections généralisées et représentent un défi majeur de santé publique mondiale, affectant environ 2 millions de personnes chaque année. Les hôpitaux disposent d'un arsenal limité de médicaments antifongiques, comprenant quatre classes de molécules : les polyanes et les échinocandines qui ciblent respectivement la membrane cellulaire et la paroi des champignons, les azotés qui inhibent la synthèse de l'ergostérol, équivalent du cholestérol chez les cellules animales, et la flucytosine qui interfère avec la synthèse des acides nucléiques. (Petosa et al., 2018)

Les plantes médicinales sont une source abondante de composés organiques à faible poids moléculaire, notamment les métabolites primaires et secondaires, qui peuvent être utilisés dans la formulation de nouveaux agents antifongiques. (Cannas et al, 2014)



*Matériels*

*et méthodes*

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire des sciences fondamentales de l'Université Ammar Telidji de Laghouat.

Ce travail a pour but d'étudier l'activité antimicrobienne des deux extraits acétate éthyle et méthanol, obtenus des deux espèces du genre *Thymelaea* (*T. virgata Desf* et *T. microphylla Coss*), et ce dans le but trouver de nouveaux antibiotiques naturels avec moins d'effets nocifs sur l'homme par rapport à leurs homologues synthétiques.

## **II.1 Matériel**

### **II.1.1 Matériel végétale**

Ce travail se concentre sur l'étude des parties aériennes de deux espèces de *Thymelaea*, une plante peu explorée, découverte après une étude approfondie de la littérature. Les deux espèces étudiés *T. virgata Desf* et *T. microphylla Cross*, sont des plantes médicinales locales et l'objectif de ce choix est de bien contribuer dans leur connaissance.

Notre choix s'est porté sur une plante peu étudiée, identifiée après une revue bibliographique minutieuse. Ce choix vise à combler les lacunes actuelles dans la connaissance de cette espèce végétale.

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

La préparation des plantes médicinales avant utilisation est essentielle pour garantir leur efficacité et garder leurs métabolites actives, Cette préparation implique plusieurs étapes : Identification ; la récolte ; séchage ; broyage ; conservation etc.

**Tableau 04:** Régions et année de récolte des espèces étudiées

<b>Espèces</b>	<b>Région</b>	<b>L'année de récolte</b>
<i>Thymelaea virgata Desf</i>	<i>Tiaret</i>	<i>2023</i>
<i>Thymelaea microphylla Coss</i>	<i>Laghouat</i>	<i>2023</i>

## II.1.2 Matériels biologique (Les Souches étudiées)

### II.1.2.1 Description des microorganismes étudiés

#### ❖ *Klebsiella pneumonia*

Appartient à la famille des Enterobacteriaceae et est décrite comme une bactérie à Gram négatif, encapsulée et non mobile, La pneumonie à *Klebsiella* est une infection grave et, même avec un traitement adéquat, les taux de mortalité restent élevés. (Ashurst et al., 2023), Une souche pathogène, se trouve dans la bouche, la peau et les intestins, ainsi qu'en milieu hospitalier. Elle affecte principalement les personnes immunodéprimées. (Licata et al., 2014)

#### ❖ *Yersinia enterocolitica*

Est une bactérie de type coccobacilles, en forme de bacille à Gram négatif, Sa taille varie de 1 à 3 µm de longueur et de 0,5 à 0,8 µm de diamètre. (Blaylock et al., 2006), qui provoque une maladie zoonotique appelée yersiniose, le *Yersinia* sont classées en fonction de leurs caractéristiques biochimiques. (Aziz et al., 2023)

#### ❖ *Salmonella enteritidis*

Les salmonelles sont un groupe de bactéries à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. La taxonomie actuelle divise le genre *Salmonella* en 2 espèces (*Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*), Il provoque un certain nombre d'infections cliniques telles que la gastro-entérite, la fièvre entérique, la bactériémie et l'état de porteur chronique. (Ajmera et al., 2023)

#### ❖ *Candida albicans*

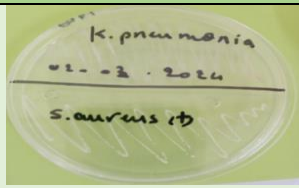



*Candida albicans* est un champignon unicellulaire, commensale de l'Homme, qui est aussi un pathogène opportuniste. Cette levure peut provoquer des infections superficielles des muqueuses ainsi que des infections systémiques graves, connues sous le nom de candidoses invasives, chez les individus immunodéficients. (Kukhaleishvili, 2020). Apparaît sous plusieurs formes morphologiques (blastospores, pseudohyphes et hyphes).

(Talapko, 2021)

### II.1.2.2 Source des souches microbiennes étudiées

Les souches microbiennes ont été obtenues de référence provenant de l'American Type Culture Collection (ATCC), appartenant à différentes familles et catégories tel qu'indiqué dans un tableau. Ces souches ont été collectées au laboratoire de microbiologie de l'université de Tlemcen et laboratoire vétérinaire de Laghouat.

**Tableau 05:** Référence aux souches microbiennes étudiées

Type de souche	Nom scientifique	Référence	Souche cultivée
Bactéries (Gram -)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70603	
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	
	<i>Salmonella enteritidis</i>	ATCC 13076	
Levure	<i>Candida albicans</i> 26	ATCC 26790	

## II.2 Méthode

Notre travail expérimental basé sur utilisation du deux méthodes principales :

- A) Méthode de diffusion sur gélose
- B) Méthode de micro dilution

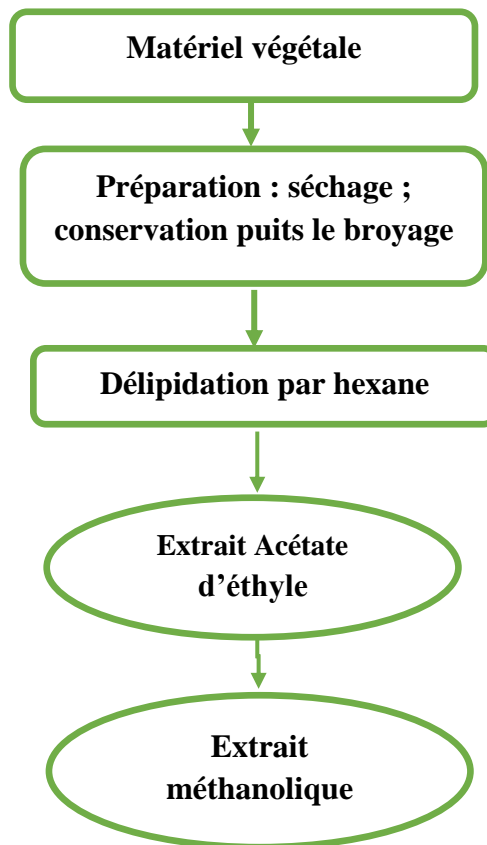
### II.2.1 Méthode d'extraction

L'extraction est un processus complexe qui vise à isoler les composés bioactifs responsables des propriétés thérapeutiques. Cette méthode est cruciale pour la production de médicaments de compléments alimentaires et de produits cosmétiques à partir des

plantes, Les extraits étudiés dans ce travail ont été obtenus à l'aide d'extraction par soxhlet, et par des solvants organiques de polarités distinctes. ( Figure08)

**Tableau 06:** Solvants utilisés pour l'extraction

Solvant	Polarité	Miscibilité
Méthanol	Polaire	Eau, solvants polaires
Acétate d'éthyle	Moyennement polaire	Eau, solvants polaires, certains solvants apolaires



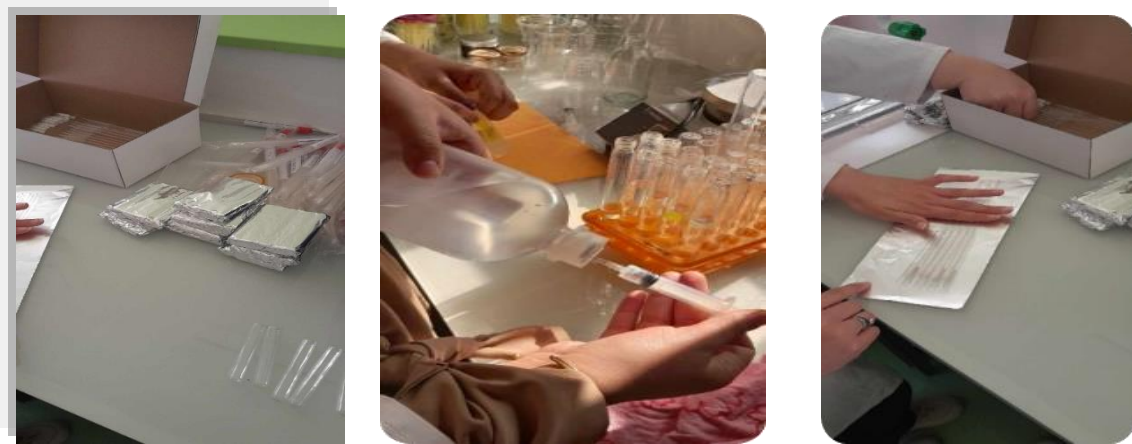
**Figure 08:** schéma représente les étapes d'extraction

## II.2.2 Etudes de l'activité antimicrobienne

### ▪ Stérilisation du matériel :

Pour la préparation des solutions bactériennes, tout le matériel a subi une stérilisation (figure 09) rigoureuse en deux étapes distinctes :

- Dans un premier temps, les tubes à essai ont été stérilisés à sec dans un four pasteur.

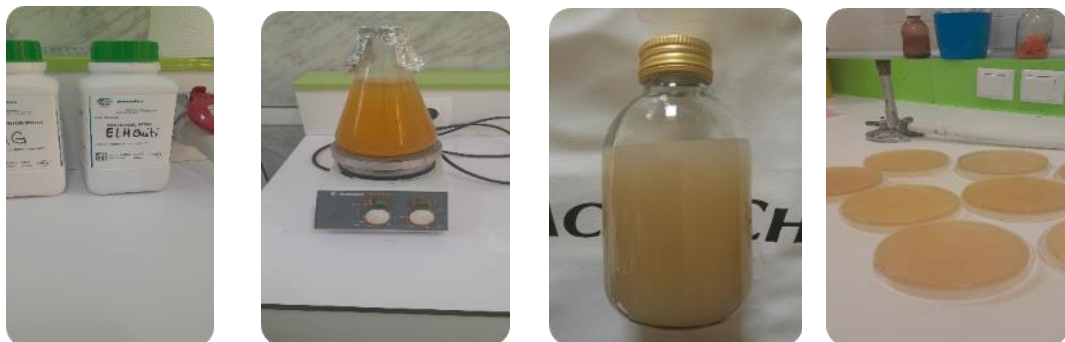


**Figure 9:** Stérilisation du matériel par un four pasteur

-Ensuite, les disques de papier Wh atman et la gélose nutritive ont été stérilisés à l'autoclave à une température de 121°C pendant 15 minutes.

▪ **Préparation de milieu de culture :**

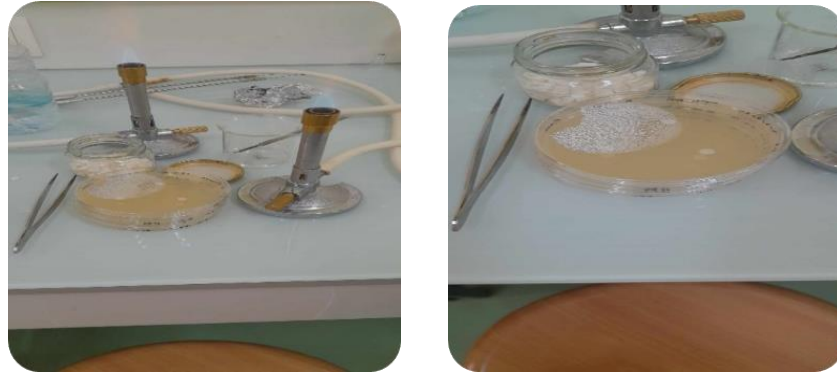
Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu : Muller-Hinton et Sabouraud, il faut faire bouillir la gélose dans l'eau distillée jusqu'à dissolution totale par agitateur magnétique chauffant. Puis une stérilisation à l'autoclave est nécessaire avant utilisation. Enfin le milieu est coulé dans les boites de pétri et laissé pour refroidir. (Figure10) (Annexe 02)



**Figure 10:** Méthode de préparation de milieu de culture

▪ **Préparation et dépôt des disques :**

Dans cette méthode, on utilise 3 disques circulaires de papier filtre d'environ 6 mm de diamètre pour créer une zone d'inhibition facilement mesurable, les disques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. (Figure11)



**Figure 11:** Préparation et dépôt des disques de papier en milieu solide.

- La préparation des contrôles positive et négative : Nous utilisons le DMSO et de ATB et des ATF.

- **Revivification des souches conservées :**

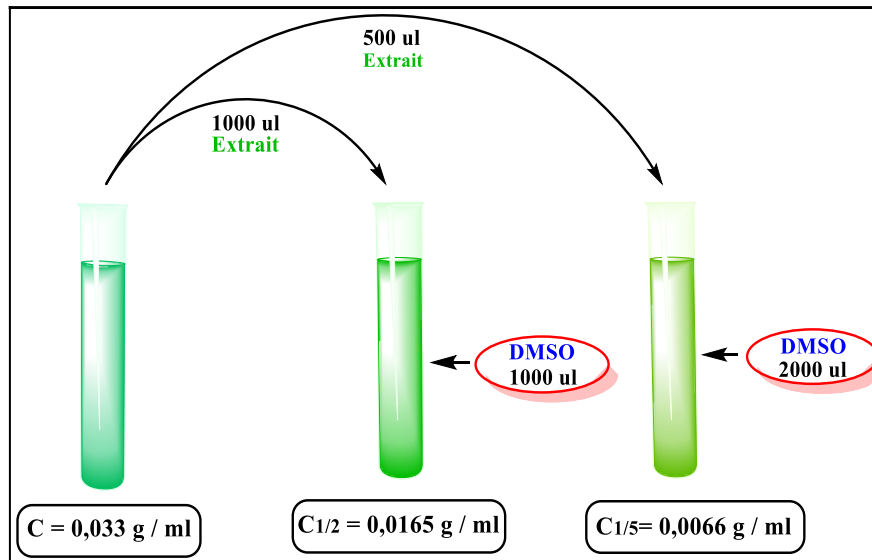
Des souches microbiennes ont été extraites d'un milieu de conservation et déposées sur des boîtes de Pétri contenant un gel nutritif (gélose). Ces boîtes ont ensuite été incubées pendant 18 heures à 37°C afin de favoriser la croissance des bactéries et d'obtenir de jeunes cultures. À partir de ces cultures jeunes, quelques colonies ont été prélevées et diluées dans de l'eau salée stérile (eau physiologique), pour obtenir une densité optique (mesure de la lumière absorbée) comprise entre 0,08 et 0,1, à une longueur d'onde de 625 nanomètres. Cette dilution correspond à une concentration approximative de  $10^8$  cellules bactériennes par unités formant colonies (UFC) /millilitre.

-Ensemencement en tapie des boit :

Ensemencer les suspensions bactériennes a été étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide de l'écouvillon ou inoculent dans les 4 bores

- **Préparation des dilutions des extraits de la plante :**

0,1g de chaque extrait est ajouté dans un tube à essai contenant 3ml de DMSO. On obtient une solution mère de concentration (0.033 g/ml), puis 1000µl est prélevé de la solution mère et ajouté à un tube à essai contenant 1000 µl de DMSO pour obtenir une dilution (0,0165 g/ml). Une troisième dilution est préparée par l'ajout de 500 µl de la solution mère un autre tube contenant 2000 µl de DMSO. (Figure 12)

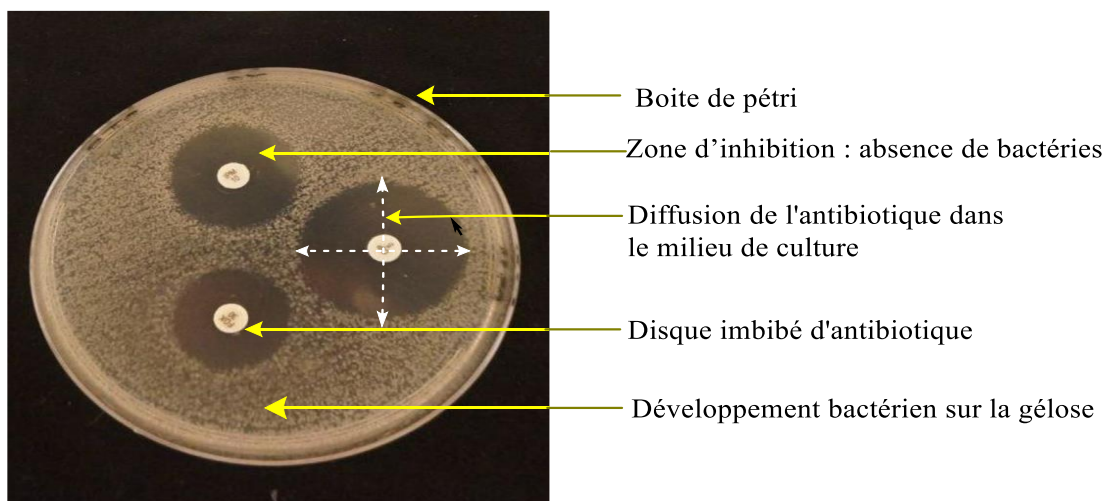


**Figure 12:** Préparation des dilutions des extraits

### II.2.2.1 Technique de diffusion en milieu solide

La méthode de diffusion à partir de disques de papier, qui permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des divers extraits bruts et vérifier leurs capacités à inhiber l'action des micro-organismes sur surface de gélose. (Yakhlef, 2011)

Le principe de cette méthode repose sur un disque de papier imprégné de l'extrait brut ou d'antibiotique. Pour étudier son activité, le disque est ensuite placé directement sur la surface de la gélose, la zone d'inhibition est alors observée autour du disque. Les limites de la zone d'inhibition sont détectées à l'œil nu. (BENLAHRACH, R 2022) (Figure13)



**Figure 13:** Principe de la méthode de diffusion d'antibiotique sur milieu solide

### ❖ Étapes d'application de la méthode de diffusion sur milieu solide

**Étape 01 :** Les milieux de culture solides (Mueller Hinton\ Sabouraud) est coulée dans des boites de pétri 90 mm de diamètre, à l'intérieur de la zone stérile proche du le bec bunsen.

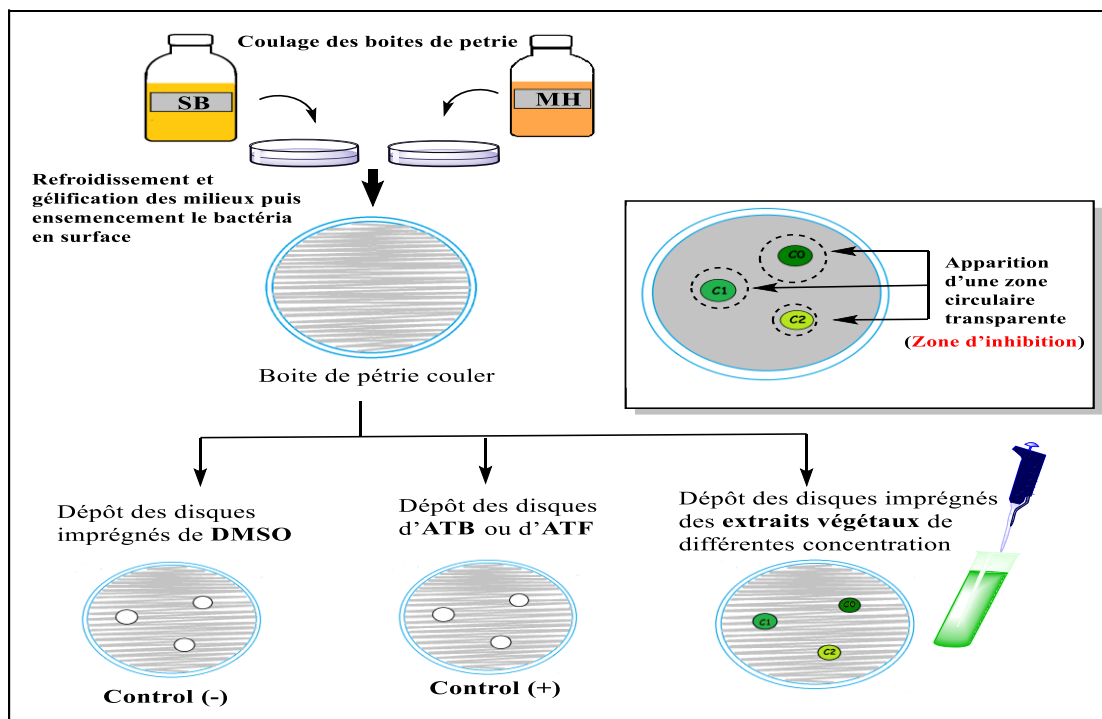
Les boîtes coulées doivent être étiquetée (le type de milieu de croissance, la date d'ensemencement, la souche, la plante, la concentration de l'extrait)

**Étape 02 :** Préparation d'eau physiologique contenant un échantillon de la souche réactivée dans des cultures jeunes incubées de 18 h à 24 heures à 37°C, L'ensemencement des souches ajustées a été réalisé en surface du milieu approprié (MH pour les bactéries et SB pour la levure) par des écouvillons stériles

**Étape 03 :** Des disques de 5 mm de diamètre en papier Whatman n°3 stérilisé ont été déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ensemencée ,10UL de chaque concentration sont prélevés 3 fois dans un seul boite de pétri, Le processus est répété pour chaque extrait

**Étape 04 :** Laissez les boîtes de Pétri fermées pendant un certain temps sans les déplacer afin de permettre une bonne diffusion.

**Étape 05 :** Dans les boîtes de Pétri séparées de celles contenant l'extrait, des disques imprégnés de DMSO sont utilisés comme contrôle négatif pour toutes les colonies, tandis que des disques d'antibiotiques ou d'antifongiques sont utilisés comme contrôle positif. (Figure14)



**Figure 14:** Méthode de diffusion sur disque de papier en milieu de culture

### **II.2.2.2 Technique de micro dilution en milieu liquide**

La méthode de micro dilution en milieu liquide est une technique microbiologique utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) d'un antimicrobien vis-à-vis d'un micro-organisme. Elle repose sur le principe de la dilution en série d'un antimicrobien dans un milieu de culture liquideensemencé avec le micro-organisme à tester.

Cette La méthode été réalisée dans des microplaques en plastique, stérile à 96 puits à fond rond. Les puits sont alignés en 8 lignes (A à H) et 12 colonnes (1 à 12).

#### **❖ Étapes de la méthode :**

Nous avons préalablement préparé des extraits bruts des deux plantes étudiées en dissolvant les extraits dans une solution pure de DMSO, la concentration obtenue est 0.033 g/ml.

#### **1) La dilution des extraits sur microplaque**

- 100µL de milieu de culture liquide approprié (MH pour les bactéries et SB pour les levures) est introduit dans tous les puits.
- 100µl d'extraits ( $C_0 = 0.033$  g/ml) est ajouté dans la colonne 1 puis dilués en série de la colonne 1 à 6, tous les puits doivent contenir 100ul de l'extrait dilué avec un milieu de culture liquide.

#### **2) La dilution des antibiotique et antifongique :**

Les puits de la colonne 7 à la colonne 12 sont conservés pour le contrôle positif, où les puits de la colonne 7 de A à C et de E à G contiennent (100 µl de milieu MH + 100 µl d'antibiotique) pour les souches bactériennes. Tandis que Les puits de colonne 7 D et H contiennent (100 µL de milieu SB + 100 µL d'antifongique) pour la souche fongique, Puis diluée en série jusqu'aux puits de la colonne 12.

#### **3) Préparation de l'inoculum bactérien :**

- Un inoculum standardisé a été préparé, 50 UI d'une suspension microbienne d'une concentration de  $10^8$  cellules/ml est ajoutée dans tous les puits chargés préalablement.

- Chaque ligne contenait les différentes dilutions d'un extrait avec une seule souche microbienne.

#### **4) Incubation :**

- Les microplaques sont incubés e à 37°C pendant 24 heure.
- Après une période d'incubation de 24 h, 40 µl de solution d'indicateur de croissance microbienne (INT à 0,2 mg/ml) est ajouté à chaque puits.  
(L'INT sert de révélateur pour la viabilité des cellules microbiennes)
- Après une période d'incubation de 15 minutes, un changement de couleur est observé dans les puits. L'apparition d'une couleur violette indique la présence d'une croissance microbienne.

#### **5) Lecture des résultats :**

- La concentration minimale inhibitrice CMI correspond à la concentration du puits incolore (transparent) situé juste avant le premier puits coloré. Nous avons ensuite procédé à la détermination de la concentration minimale bactéricide en transférant les puits sans croissance visible à l'œil nu en les inoculant à la micropipette. Après 24 h d'incubation à 37°C, les plaques sans croissance microbienne correspondent aux concentrations d'extraits représentatifs de CMB

#### **6) Interprétation des résultats :**

En résumé, la méthode de micro dilution en milieu liquide est une technique microbiologique importante utilisée pour déterminer la sensibilité des micro-organismes aux antimicrobiens. Elle fournit des informations précieuses pour le choix de l'antimicrobien approprié et la détermination de la dose efficace. (Figure15)





*Résultat*

*et discussions*

### III .1 Résultat et discussions de l'activité antimicrobienne

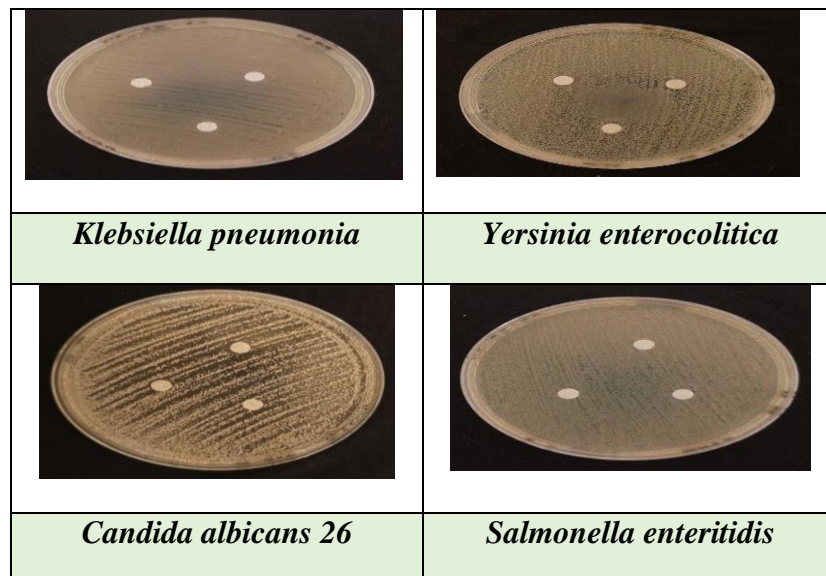
La résistance aux antimicrobiens constitue un problème majeur de santé humaine et animale, nécessitant des méthodes de test efficaces pour déterminer la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens. Les tests in vitro de sensibilité aux antimicrobiens (TSA) jouent un rôle crucial dans la sélection des traitements empiriques appropriés, la surveillance de la résistance et l'élaboration de stratégies d'utilisation des antimicrobiens. ( Dehaumont, 2004).

Notre étude s'inscrit dans une démarche scientifique rigoureuse pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de deux espèces *Thymelaea virgata* Desf et *Thymelaea microphylla* Coss. La combinaison de la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de la détermination de la CMI offre une analyse complète et nuancée de l'efficacité des extraits de ces plantes contre les souches microbiennes ciblées.

#### III.1.1 A partir de la méthode de diffusion sur gélose

##### ➤ Control négative

La solubilisation des extraits de plantes testées par le DMSO est un outil essentiel, car il présente une activité antimicrobienne limitée et son utilisation en tant que contrôle négatif assure que les résultats observés sont attribuables à l'activité antimicrobienne des extraits testés plutôt qu'à d'autres facteurs (Prasetya, 2019). Les résultats obtenus montrent que le DMSO n'a aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes. (Diamètre 5mm) (Figure16)



**Figure 16:** Effet de DMSO sur quelques souches étudiées.

➤ **Control positive**

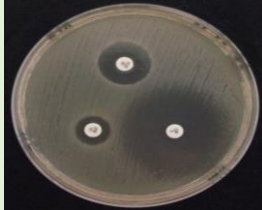
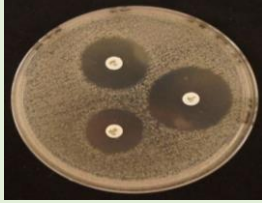
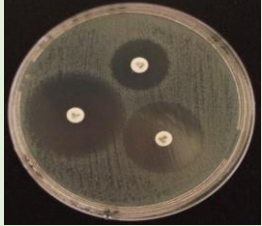

Le contrôle positif joue un rôle crucial. Il s'agit d'un échantillon de micro-organismes connus pour être sensibles à l'antibiotique testé. En comparant les résultats du test avec le contrôle positif, les chercheurs peuvent s'assurer que les micro-organismes testés sont effectivement sensibles à l'antibiotique et que le test est fiable.

Voici un résumé des diamètres optimaux des zones d'inhibition pour la méthode de diffusion sur gélose avec des disques, basé sur les directives de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) :

**Tableau 07** : Diamètres des zones d'inhibition pour la méthode de diffusion sur gélose avec des disques

<b>Antibiotique</b>	<b>Diamètre de la zone d'inhibition (mm)</b>
<b>FOX (Céfoxitine)</b>	<p>Souches sensibles : <math>\geq 22</math> mm</p> <p>Souches à sensibilité intermédiaire : 17 à 21 mm</p> <p>Souches résistantes : <math>\leq 16</math> mm</p>
<b>CIP (Ciprofloxacine)</b>	<p>Souches sensibles : <math>\geq 21</math> mm</p> <p>Souches à sensibilité intermédiaire : 16 à 20 mm</p> <p>Souches résistantes : <math>\leq 15</math> mm</p>
<b>IPM (Imipénème)</b>	<p>Souches sensibles : <math>\geq 19</math> mm</p> <p>Souches à sensibilité intermédiaire : 16 à 18 mm Souches résistantes : <math>\leq 15</math> mm</p>

**Tableau 8:** Les résultats dans tableau indiquent que les souches microbiennes testées ont montré diverses sensibilités aux antibiotiques et antifongiques standards utilisés.

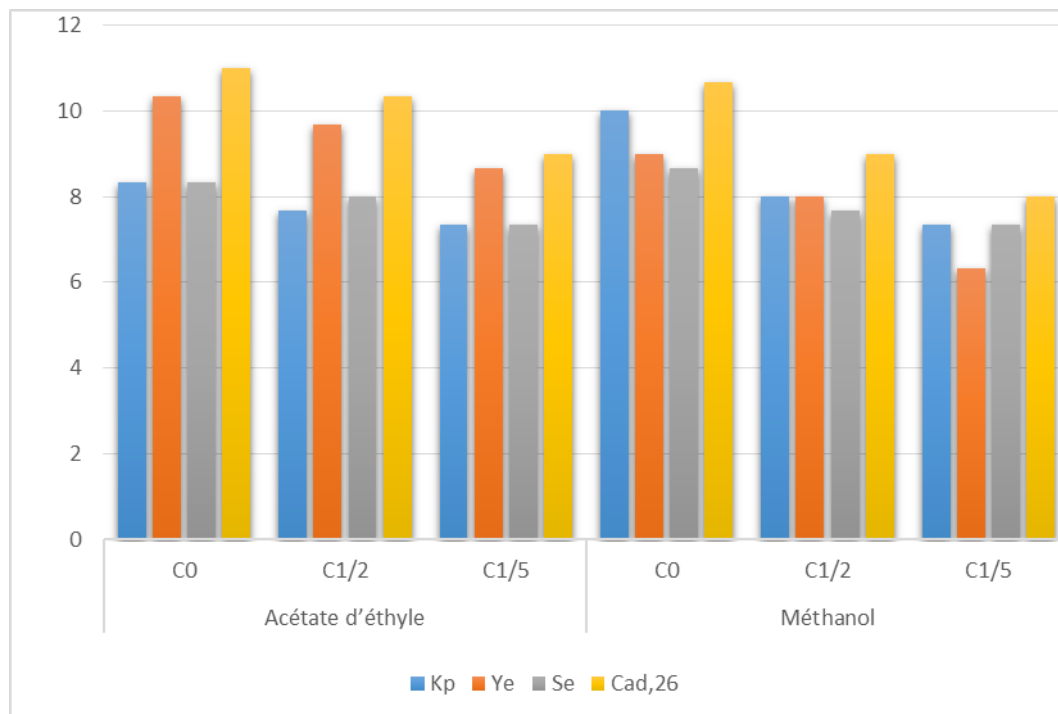
Les Souches microbiennes	Les Diamètres (mm) des antibiotiques			Les résultats
	Bactéries	FOX	CIP	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	17	34	12	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	22	31	26	
<i>Salmonella enteritidis</i>	30	36	20	
Levure	Les diamètres (mm) des antifongiques			Les résultats
<i>Candida Albicans 26</i>	14mm			

a) Activité des extraits testés :

Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante *Thymelaea virgata* sont présentés dans le (tableau 09) et (figure 17)

**Tableau 09:** Diamètre des zones d'inhibitions des extraits de *Thymelaea virgata* vis-à-vis des souches étudiées

Extraits	Acétate d'éthyle			Méthanol		
	C <sub>0</sub>	C <sub>1/2</sub>	C <sub>1/5</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>1/2</sub>	C <sub>1/5</sub>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	8,33±0,47	7,67±0,47	7,33±0,47	10±00	8±20	7,33±0,57
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10,33±1,15	9,67±0,57	8,67±1,15	9±10	8±10	6,33±0,57
<i>Salmonella enteritidis</i>	8,33±20	8±00	7,33±0,58	8,67±1,15	7,67±1,2	7,33±0,47
<i>Candida albicans</i> 26	10,67±0,57	10,33±0,57	9±10	10±00	9,6±0,58	8,6±0,58



**Figure 17:** Les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits de La plante *Thymelaea virgata* Desf vis-à-vis des souches étudiées.

✚ Le graphique de la figure 17 représente les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits de la plante *Thymelaea virgata Desf vis à vis* quatre micro-organismes : *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis* et *Candida albicans* 26. Pour chaque solvant, trois concentrations différentes ont été testées : C<sub>0</sub>, C<sub>1/2</sub> et C<sub>1/5</sub>. Les résultats montrent que l'effet des extraits varie en fonction du solvant d'extraction, de concentration et la souche étudiée.

❖ ***Klebsiella pneumoniae***

- Les extraits méthanoliques ont une activité antibactérienne plus élevée que les extraits acétate d'éthyle contre *Klebsiella pneumoniae*.
- La ZI la plus importante est observée avec l'extrait méthanolique C<sub>0</sub>, suivie de l'extrait méthanolique C<sub>1/2</sub> et l'extrait méthanoïque C<sub>1/5</sub>.
- Cela indique que *Klebsiella pneumoniae* est plus sensible aux extraits méthanolique que les extraits acétate d'éthyle

❖ ***Yersinia enterocolitica***

- L'extrait acétate d'éthyle présent une activité antibactérienne supérieure à l'extrait méthanolique contre *Yersinia enterocolitica*.
- La ZI la plus importante est observée avec l'extrait acétique C<sub>0</sub>, suivie de l'extrait acétique C<sub>1/2</sub> et de l'extrait méthanolique C<sub>1/5</sub>.
- Il a été observé que *Yersinia enterocolitica* présente une sensibilité différentielle aux extraits, étant plus sensible à l'extrait acétate d'éthyle qu'à l'extrait méthanolique.

❖ ***Salmonella enteritidis***

- Les extraits méthanoliques et acétate d'éthyle ont des activités antibactériennes similaires contre *salmonella enteritidis*.
- La ZI la plus importante est observée avec l'extrait méthanolique C<sub>0</sub>, suivie de l'extrait acétique C<sub>0</sub> et C<sub>1/2</sub>

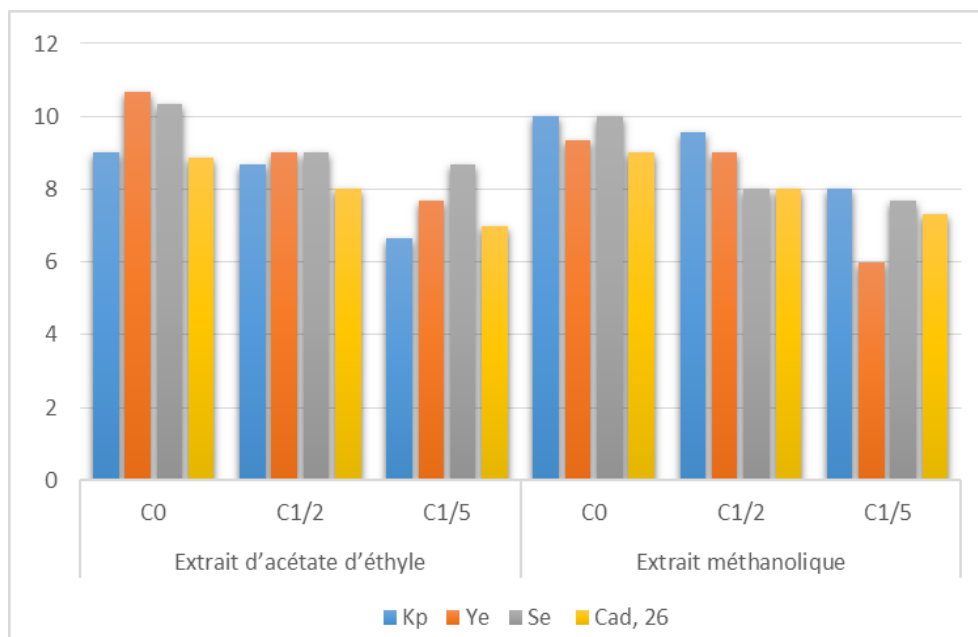
❖ ***Candida albicans 26***

- L'efficacité antifongique de l'extrait acétate d'éthyle contre *Candida albicans 26* est supérieure à celle de l'extrait méthanolique.
- La ZI la plus importante est observée avec l'extrait acétate d'éthyle C<sub>0</sub>, suivie de l'extrait acétate d'éthyle C<sub>1/2</sub> puis C<sub>1/5</sub>.
- La sensibilité de *Candida albicans 26* est plus élevée vis-à-vis des extraits acétate d'éthyle que des extraits méthanoliques.

✚ Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante *Thymelaea microphylla* Coss sont présentés dans le tableau 10 et (figure 18)

**Tableau 10:** Diamètre des zones d'inhibitions des extraits de *Thymelaea microphylla* Coss vis-à-vis des souches étudiées

Extraits Les souches	Extrait acétate d'éthyle			Extrait méthanol		
	C <sub>0</sub>	C <sub>1/2</sub>	C <sub>1/5</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>1/2</sub>	C <sub>1/5</sub>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	9±00	8,67±0,57	6,67±0,57	10±00	9,57±0,57	8±0,2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10,66 ± 0,57	9±1	7,67±0,57	9,33 ± 1,15	9±1	7,67±0,57
<i>Salmonella enteritidis</i>	10,33±0,58	8±00	8,67±0,52	10±00	8±1	7,67±00
<i>Candida albicans</i> 26	8,87±0,40	8±0,1	7±00	9±00	8±00	9±1



**Figure 18:** Les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits de l'espèce *Thymelaea microphylla* Coss vis-à-vis des souches étudiées

✚ Le graphique de la figure 19 représente les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits de la plante *Thymelaea microphylla* Coss vis à vis quatre micro-organismes : *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis* et *Candida albicans* 26. Pour chaque solvant, trois concentrations différentes ont été testées : C<sub>0</sub>, C<sub>1/2</sub> et C<sub>1/5</sub>. Les résultats montrent que l'effet des

extraits varie en fonction du solvant d'extraction, de concentration et la souche étudiée.

❖ ***Klebsiella Pneumoniae***

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques contre *Klebsiella pneumoniae* est supérieure à celle des extraits acétate d'éthyle.

- L'extrait méthanolique C<sub>0</sub> se distingue par l'indice d'activité (ZI) le plus important, surpassant les extraits C<sub>1/2</sub> et C<sub>1/5</sub>.
- Cela indique que *Klebsiella pneumoniae* est plus sensible aux extraits méthanoliques que les extraits acétate d'éthyle.

❖ ***Yersinia Enterocolitica***

- L'extrait méthanolique est moins efficace que l'extrait à l'acétate d'éthyle pour inhiber la croissance de *Yersinia enterocolitica*.
- La ZI la plus importante est observée avec l'extrait acétate d'éthyle C<sub>0</sub>, suivie de l'extrait acétique C<sub>1/2</sub>.
- L'efficacité des extraits acétate d'éthyle contre *Yersinia enterocolitica* est supérieure à celle des extraits méthanoliques.

❖ ***Salmonella Enteritidis***

- L'extrait acétate d'éthyle est légèrement plus actif que l'extrait méthanoliques contre *salmonella enteritidis*.
- La ZI la plus importante est observée avec l'extrait méthanolique et acétate d'éthyle C<sub>0</sub>, suivie de acétate d'éthyle C<sub>1/5</sub> et C<sub>1/2</sub>.
- Cela indique que *salmonella enteritidis* est également sensible aux extraits méthanoliques et acétate d'éthyle.

❖ ***Candida albicans 26***

- Les extraits méthanoliques et acétate d'éthyle ont des activités antifongiques similaires contre *Candida albicans 26*.
- Cela indique que *Candida albicans 26* est sensible aux extraits méthanoliques et acétate d'éthyle

**b) Comparaison de l'activité des deux espèces avec d'autres espèces du même genre :**

Nous comparerons nos extraits de plantes étudiées *Thymelea virgata* et *Thymelea microphylla* à ceux de nos concurrents *Thymelea tartonriara* et *Thymelea hirsuta*. Les travaux ont été réalisés dans le même palliase

La comparaison des résultats obtenus pour les deux espèces *Thymelaea virgata Desf* et *Thymelaea microphylla Coss*, avec ceux de *Thymelaea tartonriara* et *Thymelaea hirsuta*, montre l'existence d'une relation **positif et directe** entre les zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne et la concentration des extraits. Cela signifie que plus la concentration de l'extrait n'est élevée, plus la zone d'inhibition n'est grande. Autrement dit, une augmentation de la concentration de l'extrait entraîne une augmentation du nombre de micro-organismes tués ou inhibés (**tableau11**)

**Tableau 11:**Diamètre des zones d'inhibitions des extraits de *T. microphylla Coss* et *T.tartonairra* et *T.hirsuta* vis-à-vis des souches étudiées

Extraits	Extrait Méthanoliques				Extrait Acétique			
	Th .v	Th .m	Th.t	Th .h	Th .v	Th .m	Th.t	Th .h
<b>Souches</b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>	<b>C<sub>0</sub></b>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	10±00	10±00	10.33±0.57	7±0,67	8,33±0,47	9±00	8.67±0.57	8±1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	9±00	9,33±1,15	10±1	9±0,33	10,33±1.15	10,66±0,57	10.33±1.15	9±1
<i>Salmonella enteritidis</i>	8,67±0,5 8	10±00	10.33±1.15	8±0,33	8,33±0,57	10,33±00	9±0	9±00
<i>Candida albicans 26</i>	10±00	9 ±0.57	9.67±0.57	8,33±0,47	10,67±0,57	8,87±0.40	9±1	9,33

Le tableau 11 montre les zones d'inhibition (ZI) en fonction de la concentration des extraits des différentes espèces étudiées *T. virgata Desf* et *T. microphylla Coss* et *T. tartonairra* et *Thymelaea hirsuta* vis à vis de quatre micro-organismes : *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis* et *Candida albicans 26*. Deux solvants ont été utilisés pour l'extraction : le méthanol et l'acétate d'éthyle. Pour chaque solvant, plusieurs concentrations ont été testées :

Tout d'abord, on remarque que tous les extraits ont donné des D du ZI comprises entre (**8 mm < D < 10,67 mm**)

- Les extraits acétate d'éthyle sont plus actifs que les extraits méthanolique contre *Yersinia enterocolitica* et *Candida albicans* 26.
- Les extraits méthanoliques du plantes plus élevés qu'extrait méthanolique contre *Klebsiella pneumonia* et *Salmonella enteritidis*.
- l'extrait acétate d'éthyle de *T. microphylla* Coss possède le diamètre le plus élevé (10,66 mm). alors que les autres extraits de *T. virgata* Desf et *T. tartonriara* ont des valeurs similaires contre *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumonia*
- L'extrait acétate d'éthyle de *T. virgata* Desf possède le diamètre le plus élevé (10,67mm) par rapport aux autres extraits contre *Candida albicans* 26.
- L'extrait méthanolique de *T. tartonriara* posséd le diamètre le plus élevé (10,33mm) par rapport aux autres plantes contre *Salmonella enteritidis* et *Klebsiella pneumonia*
- L'extrait méthanolique de *T. microphylla* et *T. virgata* possède le diamètre le plus élevé (10mm) par rapport aux autres plantes contre *Candida albicans* 26.
- L'extrait méthanolique et acétate d'éthyle du *T. hirsuta* possèdent les diamètres le plus faible

**A partir des résultats de tableau nous concluons :**

- ✓ L'extrait acétate d'éthyle de *T. microphylla* Coss a l'activité antibactérienne la plus élevée contre les trois souches bactériennes
- ✓ L'extrait acétate d'éthyle *T. virgata* Desf a l'activité antifongique la plus élevée contre la souche fongique

### C) Efficacité des différents extraits testés vis-A-vis les souches utilisées

La zone d'inhibition est une zone autour du disque d'extrait, où la croissance du micro-organisme est empêchée. La taille de la zone d'inhibition est un indicateur de l'activité antimicrobienne de l'extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus l'extrait est actif contre le micro-organisme. (ABDALLAH et al., 2019)

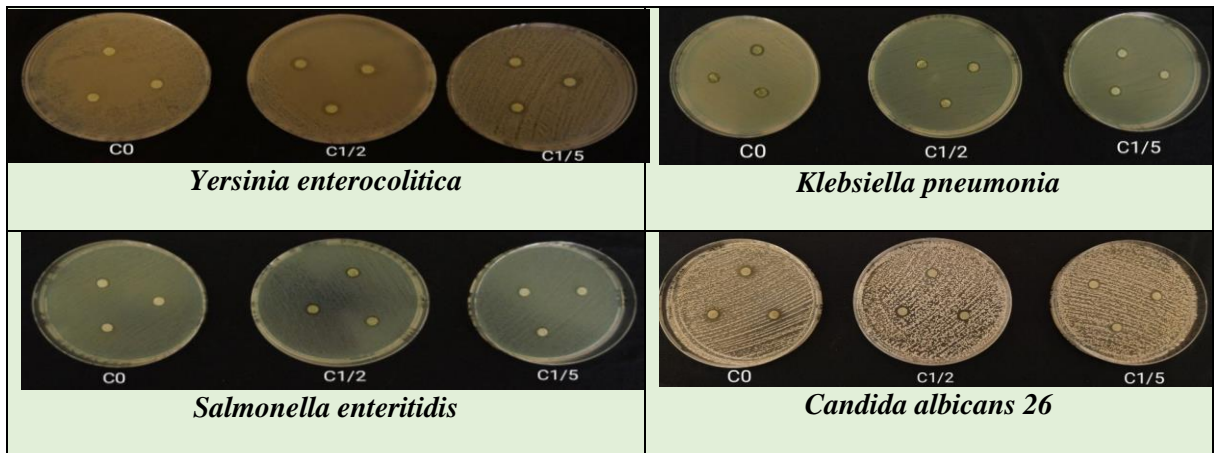
L'effet antimicrobien a été évalué selon trois niveaux de sensibilité :

- ✓ Forte activité (D > 13 mm) : la souche est sensible à l'agent antimicrobien testé.

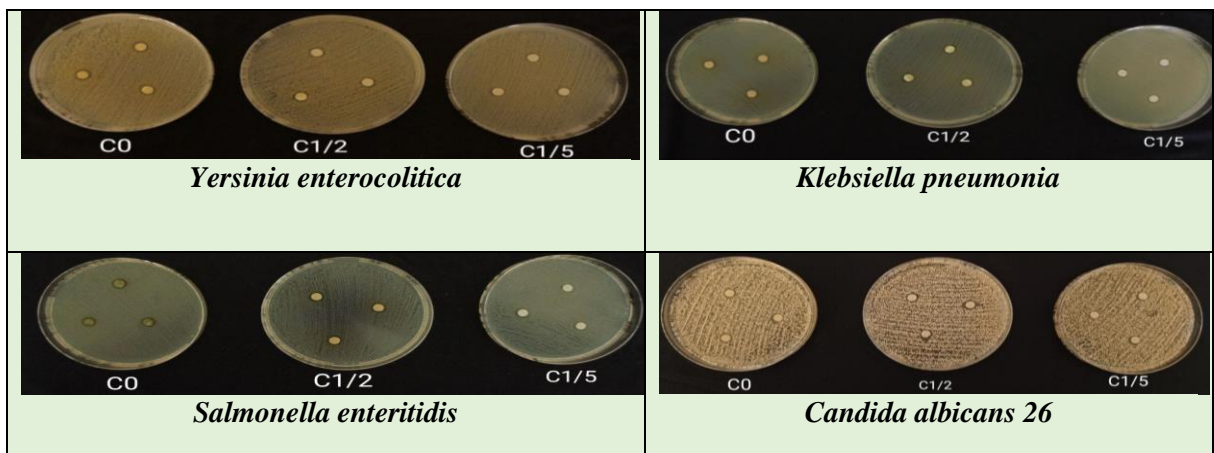
- ✓ Activité modérée ( $5 \text{ mm} < D < 13 \text{ mm}$ ) : la sensibilité de la souche à l'agent antimicrobien est intermédiaire.
- ✓ Faible activité ( $D < 5 \text{ mm}$ ) : la souche est résistante à l'agent antimicrobien testé. (Billerbeck, 2007)

A partir du tableau a et b et les D les valeurs varient de 8mm à 10,67 mm et donc nous concluons :

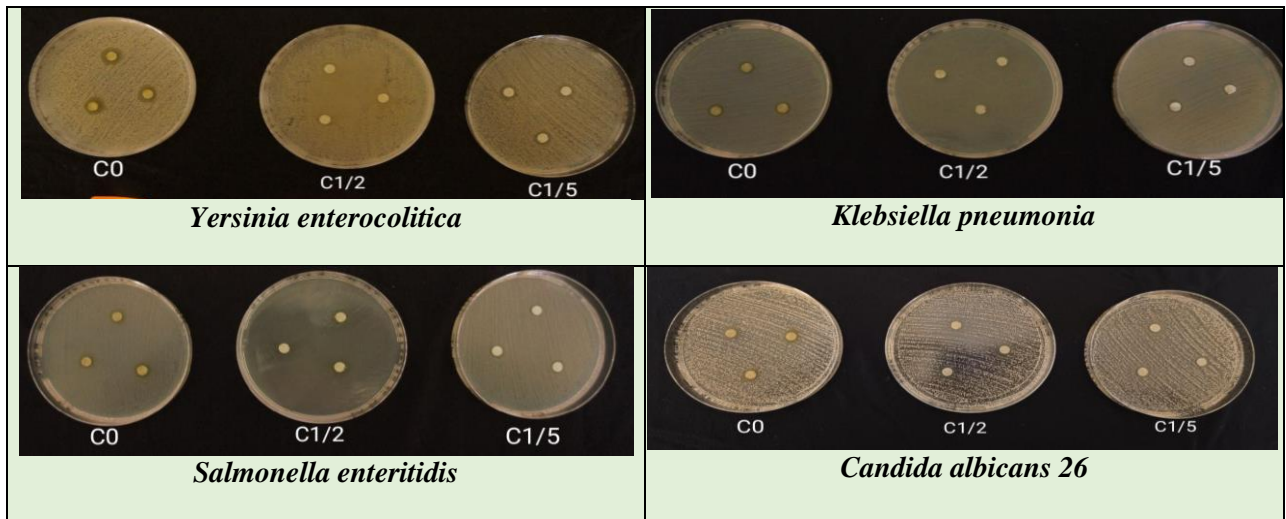
- ✓ la sensibilité de la souche à l'agent antimicrobien est intermédiaire.
- ✓ L'effet de l'agent antimicrobien sur la croissance de la souche est incertain et nécessite des analyses complémentaires.



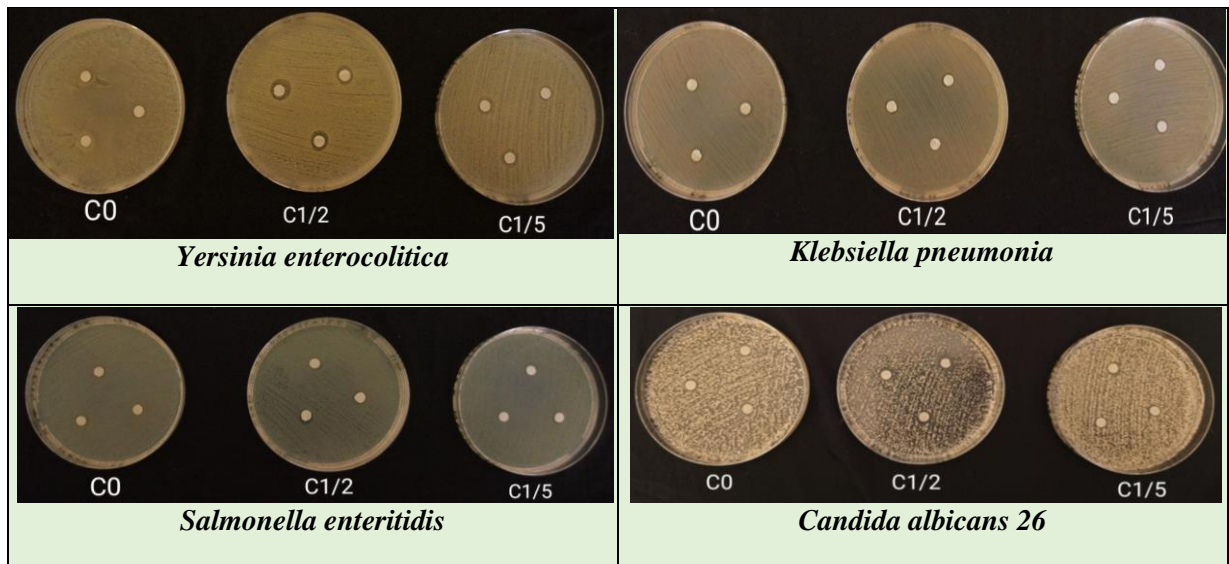
**Figure 19:** Effet l'extrait d'acétate d'éthyle de *T. virgata Desf* sur la croissance des souches microbiennes



**Figure 20:** Effet l'extrait méthanolique de *T. virgata Desf* sur la croissance des souches microbiennes



**Figure 21:** Effet l'extrait d'acétate d'éthyle de *T. microphylla* Coss sur la croissance des souches microbiennes.



**Figure 22:** Effet l'extrait méthanolique de *T. microphylla* Coss sur la croissance des souches microbiennes

### III.1.2 A partir de la méthode micro dilution

#### Les résultats de la détermination de la CMI :

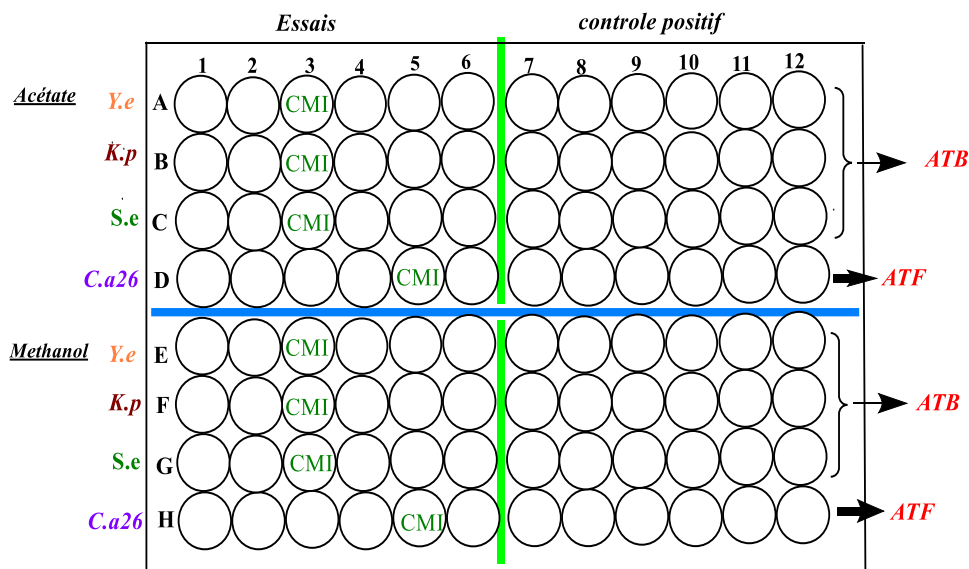
Après détection de l'activité antimicrobienne des extraits étudiés par la méthode de diffusion Sur gélose, nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par Méthode de dilution partielle dans microplaque en milieu liquide. Après avoir mis en évidence le MIC, nous avons procédé à la détermination CMB et CMF.

**Tableau 12:** Calculer les concentrations minimales inhibitrices CMI

Position (puits)		01	02	03	04	05	06
Concentration	C <sub>0</sub>	C <sub>1/2</sub>	C <sub>1/4</sub>	C <sub>1/8</sub>	C <sub>1/16</sub>	C <sub>1/32</sub>	C <sub>1/64</sub>
Unité : mg /ml	33,33	16,66	8,33	4,16	2,083	1,041	0,52

- ✚ Résultats de recherche pour les concentrations minimales inhibitrices CMI et CMB sont regroupés dans les deux tableaux suivants: Les figures 23 et 24 montrent les effets antimicrobiens de nos extraits sur les souches.

✓ Détermination de la CMI pour *Thymelaea virgata* :



**Figure 23:** Les positions des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour *T.virgata*

Desf

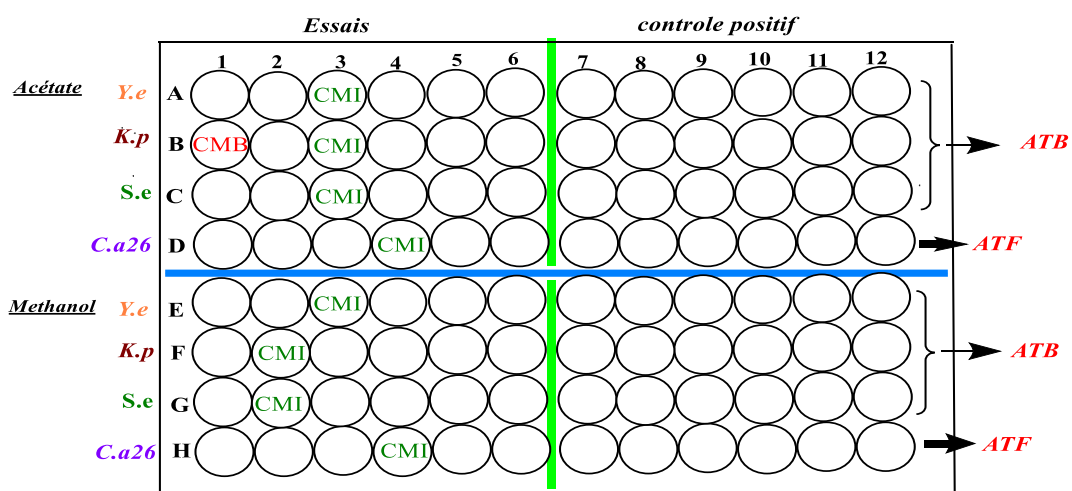
**Tableau 13 :** Les Concentrations Minimales Inhibitrices des extraits de *T. virgata Desf* en (mg/ml)

	Extraits Les souches	Acétate d'éthyle	Méthanol
		CMI (mg/ml)	CMI (mg/ml)
Bactéries	<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,16	4,16
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,16	4,16
	<i>Salmonella enteritidis</i>	4,16	4,16
Levure	<i>Candida albicans 26</i>	1,041	1,041

Le tableau (13) est montré que les valeurs de CMI sont similaires dans toutes les souches bactériennes pour les extraits à l'acétate d'éthyle et méthanol de la plante *T. virgata Desf* avec une valeur de 4,16 mg/ml. Tandis que la souche fongique CMI sa valeur de 1,041 mg/ml pour les deux extraits.

❖ La souche fongique *Candida albicans 26* une valeur CMI est plus faible par rapport à tous les souches bactériennes pour les plantes *T. virgata Desf*. Se trouve activité antifongique importante dans chez les extraits contre *candida albicans 26* (Forte Inhibition).

✓ Détermination de la CMI et CMB pour *T. microphylla Coss* :



**Figure 24:** les positions des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour *T. microphylla Coss*

**Tableau 14:** Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricide des extraits de *T.microphylla Coss* en (mg/ml)

	Extraits Les souches	Acétate d'éthyle		Méthanol
		CMI (mg/ml)	CMB (mg /ml)	CMI (mg/ml)
Bactéries	<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,16		4,16
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,16	16,66	8,33
	<i>Salmonella enteritidis</i>	4,16		8,33
Levure	<i>Candida albicans</i> 26	2,083		2,083

Dans le tableau (14), on trouve ça que les souches bactériennes ont la même valeur de CMI, estimée à 4,16mg/ml, pour l'extrait acétate d'éthyle de la plante *T.microphylla Coss*.

Dans l'extrait méthanol une valeur CMI sont plus élevée (8,33 mg/ml) pour les deux souches *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enteritidis* que la souche *Yersinia enterocolitica* (4,16 mg/ml). Tandis que la souche fongique CMI sa la valeur de 2,083 mg/ml pour les deux extraits.

La présence de CMB sa valeur 16,66 mg/ml dans l'extrait acétate d'éthyle des plantes *T.microphylla Coss* contre la souche bactérienne *Klebsiella pneumoniae*.

- ❖ L'extrait acétate d'éthyle plus active que de l'extrait méthanol, parce que possède CMB et CMI est faible (forte inhibition)
- ❖ *Candida albicans* 26 une valeur CMI est plus faible par rapport à tous les souches bactériennes pour chaque extrait, dans la plante *T.microphylla Coss*, possède l'activité antifongique importante.

L'effet antibactérien a été jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport : CMB/CMI en effet, si CMB/CMI = 1 à 2, l'effet est bactéricide et si CMB/CMI = 4 à 16, l'effet est bactériostatique (EL Amri et al. 2014)

- ❖ *Klebsiella pneumoniae* a un rapport de CMB (16,66 mg/ml) /CMI (4,16 mg/ml) = 4 (acétate d'éthyle), le extrait de cette plante peuvent être classés comme bactériostatique, car le rapport CMB/ CMI varie entre 4 et 16.

Comparaison des valeurs de CMI entre des deux espèces étudiées :

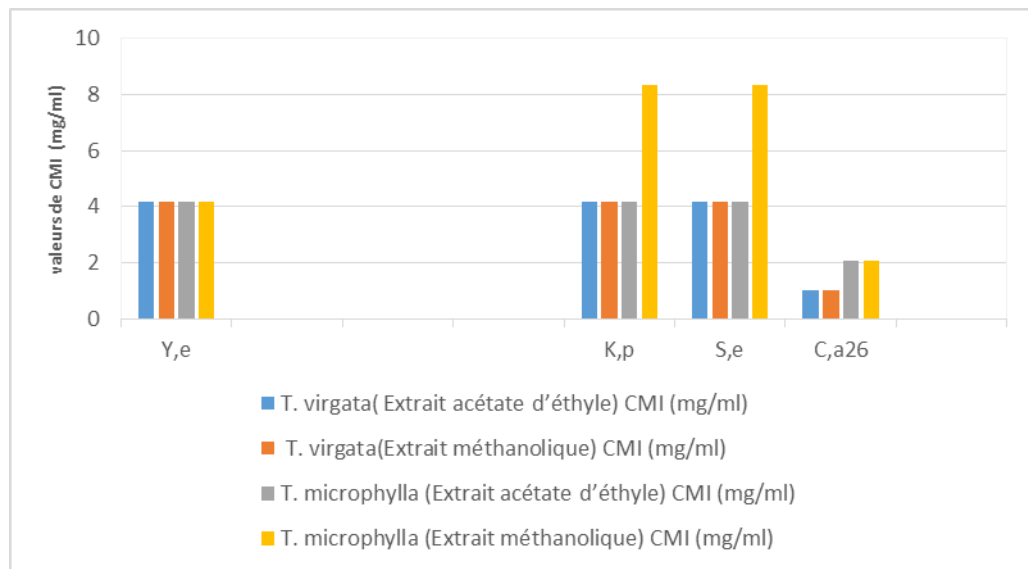
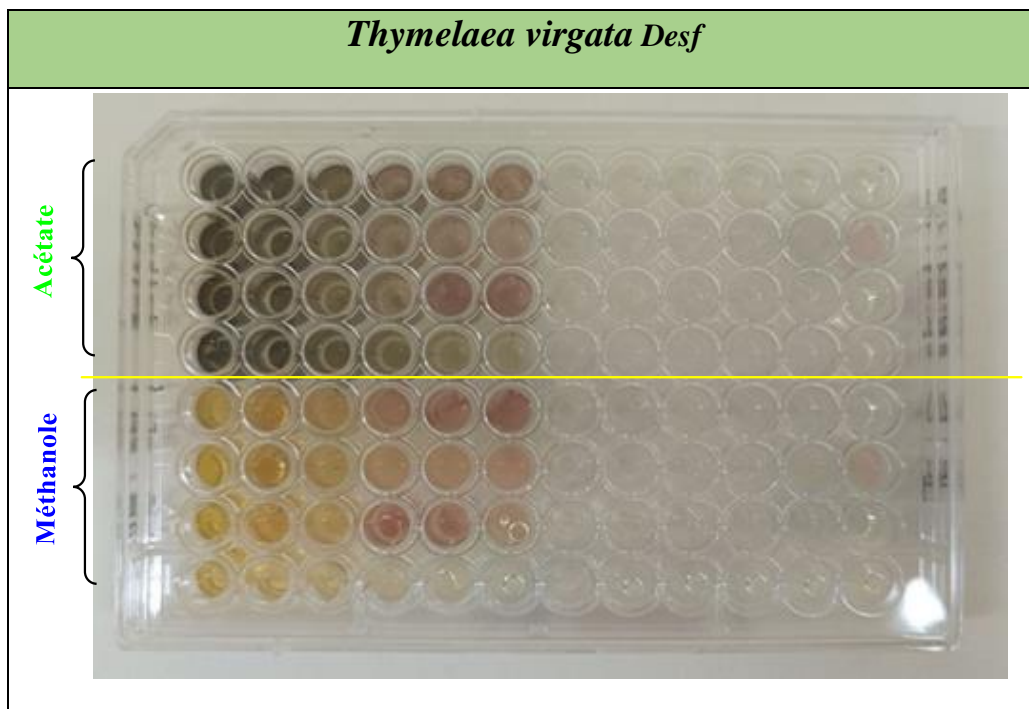


Figure 25: L'histogramme est montré les CMI des deux plantes *T. virgata Desf* et *T. microphylla Coss* sur les souches microbiennes étudiées

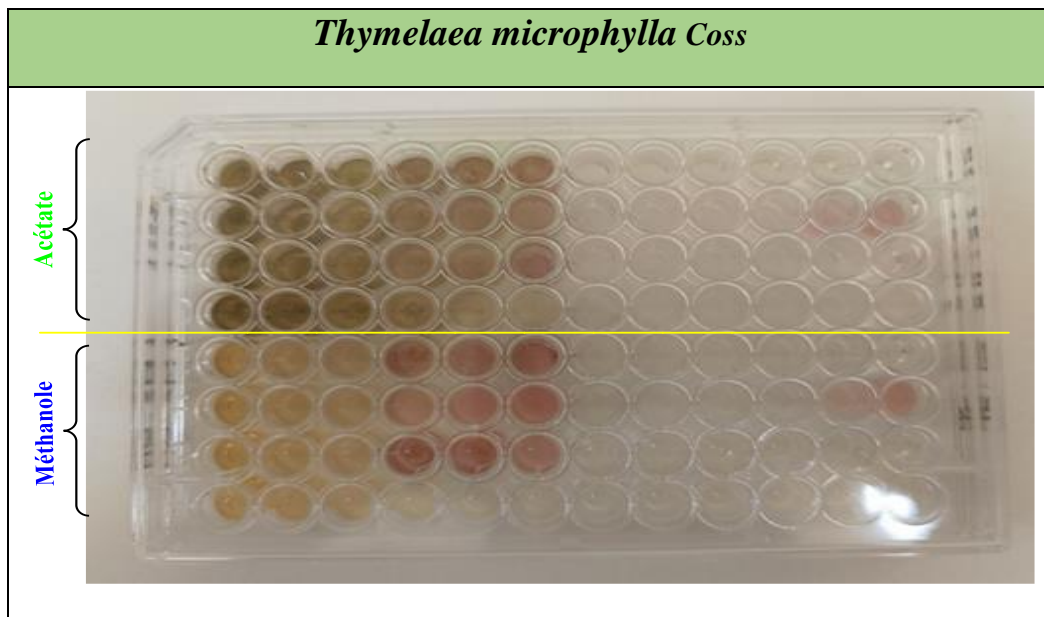
- ✚ Le graphique de la figure 26 représente les valeurs de CMI des deux plantes *T. virgata Desf* et *T. microphylla Coss* sur les souches microbiennes étudiées
- ✓ Nous avons observé que les CMI d'une l'extraits des deux plantes *T. virgata Desf* et *T. microphylla Coss* sur les bactéries testée, Sa valeur est comprise entre 4.16 et 8.33 mg/ml. Alors que la levure estimée à 1,041 mg/ml pour l'extraits de *T. virgata Desf* et 2,083mg/ml pour l'extraits de *T. microphylla Coss*.
- ✓ Pour l'extraits de *T. virgata Desf* la même valeur de CMI été noté pour les trois souches bactérienne. Mais pour l'extraits de *T. microphylla Coss*, nous avons obtenu différentes valeurs de CMI, nous enregistre augmentation de la valeur CMI pour extrait méthanolique de *T. microphylla Coss* à *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enteritidis*.
- ✓ Le *Candida albicans 26* sont plus sensibles aux extraits des deux plantes car leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont plus faibles par rapport les souches bactériennes. Ainsi, nous concluons que les souches bactériennes étudiées sont résistantes à nos extraits, ce qui indique leur faible effet.
- ✓ L'extraits des *T. virgata Desf* possède le même effet contre la souche *Candida albicans 26*, il est fort Par rapport à l'extraits des *T. microphylla Coss*.

**Conclusion générale de CMI :**

- Les extraits de *T.microphylla Coss* ont la meilleure l'activité antibactériennes Par rapport aux extraits de *T. virgata Desf*, et ce car une présence le CMB (16,66 mg/ml) après le calcul du rapport, Il se trouve que le extrait de cette plante peuvent être classés comme bactériostatique
- Les plantes *T. virgata Desf* ont l'activité antifongique importante contre *candida albicans 26*, parce que nous avons obtenu une CMI (1,041 mg/ml) faible par apport *T.microphylla Coss*.
- Dans notre étude aucune CMF n'a été observée, mais elle a été estimée lorsqu'elle est supérieure à la CMI des différents extraits des deux plantes.
- La relation inverse entre la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et le pouvoir antimicrobien des substances est confirmée par les sources fournies. Une CMI plus faible indique une plus grande richesse en principes actifs antimicrobiens dans les échantillons, ce qui les rend plus efficaces contre les souches pathogènes.



**Figure 26:** Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de *Thymelaea virgata Desf* contre des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution



**Figure 27:** Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de *Thymelaea microphylla* Coss contre des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution.



# *Conclusion* *générale*

## Conclusion générale

Les plantes médicinales sont une source riche des molécules actives connues pour leurs propriétés thérapeutiques naturelles.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet antimicrobienne des extraits bruts des deux plantes *Thymelaea virgata* (Desf.) et *Thymelaea microphylla*(Coss) contre trois souches bactériennes (*Klebsiella pneumoniae*) (*Yersinia enterocolitica*) et (*Salmonella enteritidis*) et une seule souche fongique (*Candida albicans* 26) et évaluer leur capacité à inhiber l'action des micro-organismes par deux méthodes différentes.

La méthode de diffusion sur gélose a montré une activité inhibitrice modérée contre les souches microbiennes, l'activité la plus importante a été enregistrée sur la souche de *candida albicans* par les extraits de *Thymelaea virgata* (Desf.) et L'extrait *Thymelaea microphylla*(Coss) a une activité antibactérienne plus élevée qu'extrait acétate d'éthyle contre les trois souches bactériennes.

La méthode du micro dilution a montré une concentration minimale inhibitrice inférieure (forte inhibition) et plus importante sur la souche de *candida* par les extraits de *Thymelaea virgata* (Desf.). Cette est plus précise que la méthode de diffusion sur disque de papier, car elle permet de déterminer la concentration exacte CMI de l'extrait nécessaire pour inhiber la croissance microbienne.

En effet, à la suite de ce travail, de nombreuses perspectives peuvent être suggérées comme :

- ✓ L'isolement et le test des molécules antimicrobiennes de *Thymelaea virgata* (Desf.) et *Thymelaea microphylla*(Coss) pourraient offrir de nouvelles opportunités thérapeutiques pour lutter contre les infections et protéger la santé humaine et animale.
- ✓ Les composés antimicrobiens de ces plantes pourraient être utilisés pour développer de nouveaux médicaments ou compléments alimentaires pour traiter les infections. Cela pourrait inclure des infections bactériennes, virales, fongiques et parasitaires.



*Références*

*bibliographiques*

Références bibliographiques :

**A**

**Abdallah, R., Frikha, D., & Sassi, S. M. E. S. J. J. D. L. I. M. D. S.** (2019). Evaluation In Vitro De L'activite Antibacterienne Et Antifongique De Quatre Especies Algales Marines In Vitro Evaluation Of The Antibacterial And Antifungal Activities Of Marine Algae. 38-44.

**Ajmera A, Shabbir N** (2023) Salmonella In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555892/>

**Aziz M, Yelamanchili VS** (2023) Yersinia Enterocolitica. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499837/>

**Abdalah, R., Frikha, D., & SASSI, S. M. E. S.** (2019). EVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE ET ANTIFONGIQUE DE QUATRE ESPECES ALGALES MARINES IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF MARINE ALGAE. Journal de l'Information Médicale de Sfax, 38-44.

**Ababsa, Z.** (2009). Caractérisation pharmaco toxicologique et étude phytochimique de: Centaurea dimorpha. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 81, 82.

**Ashurst JV, Dawson A.** (2023) Klebsiella Pneumonia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>

**B**

**Baron, S. (Ed)** (1996). Medical Microbiology. (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston

**Basid Adiwibawa Prasetya, N., & Ria Sarjono, P.** (2019, April). Synthesis and study of antibacterial activity of polyeugenol. In Materials Science and Engineering Conference Series (Vol. 509, No. 1, p. 012101)

**BENLAHRACH, R. BOUKERZAZA, S, B.** (2022) Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante Centaurea dimorpha. Master 02 (Université Frères Mentouri, Constantine)

**Berthé, K. S.** (2021). Etudes des plantes Utilisées dans le traitement de l'acné en Afrique de l'Ouest. USTTB,

- Betina-Bencharif, S. B.** (2014). Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales: *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. Université de Bourgogne; Université Mentouri-Constantine,
- Billerbeck, V.** (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Pharmacognosie phytothérapie.*, 5, 249-253.
- Blaylock, B., KE Riordan, DM Missiakas, & Schneewind , O.** (2006). Caractérisation de la *Yersinia enterocolitica* Sécrétion de type III ATPase YscN et son régulateur, YscL. *Journal of Bacteriology*, 188(10).
- Bony, N. F.** (2013). Stratégie analytique des tradimédicaments: établissement de profils chromatographiques des métabolites phytochimiques apolaires (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI; Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire))
- Borris, R. P., Blaskó, G., & Cordell, G. A.** (1988). Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 24(1), 41-91.
- Bouharb, H., El Badaoui, K., Zair, T., Chakir, S., & Alaoui, T. J. J. o. A. B.** (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. 78, 6685-6693.

## C

- Cannas, S., Molicotti, P., Usai, D., Maxia, A., & Zanetti, S.** (2014). Antifungal, anti-biofilm and adhesion activity of the essential oil of *Myrtus communis* L. against *Candida* species. *Natural Product Research*, 28(23), 2173-2177.
- Casanova, M. V.** (1993). La Phytothérapie de demain: les plantes médicinales au cœur de la pharmacie.
- Chaachouay, N., Zidane, L. J. D., & Candidates, D.** (2024). Plant-Derived Natural Products: A Source for Drug Discovery and Development. 3(1), 184-207.
- Chama, E. J. I. J. A. A. S.** (2017). The study on medicinal plants and their uses to treat human ailments in Damot-Gale district, Wolaita Zone, South Ethiopia. 2017(30), 88-96.
- Colmant, M.** (2010). Université Henri Poincaré, Nancy I.
- Contreras-López, E., Ramirez-Godinez, J., García-Martínez, M. M., Gutiérrez-Salomón, A. L., Gonzalez-Olivares, L. G., & Jaimez-Ordaz, J. J. A. S.** (2021). Low-calorie beverages made from medicinal plants, flowers and fruits: characteristics and liking of a population with overweight and obesity. 11(9), 3766.
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C.** (2019). Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. *Medicinal Plants: From Farm to Pharmacy*, 333–359. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5_15)

## D

- Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., & Lagarde, B. J.** (2011). Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37(9), 2496-2507.
- Dohou, N., Yamni, K., Badoc, A., Douira, A.** (2004). Activité antifongique d'extraits de *Thymelaea lythroides* sur trois champignons pathogènes du Riz, *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, vol(143), pp31-38.
- Dehaumont, P.** (2004). OIE international standards on antimicrobial resistance. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 51(8-9), 411-414.

## E

- El Amri, J., Elbadaoui, K. H. A. L. I. D., Zair, T., Bouharb, H. A. Y. A. T. E., Chakir, S. A. Ĩ. D., & Alaoui, T. I.** (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences*, 82, 7481-7492
- El Hilah Fatima, F. B. A., Dahmani, J., Belahbib, N., Zidane, L. J. J. o. A., & Sciences, P.** (2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. 25(2), 3886-3897.
- Etienne, O. K., Dabé, D., Bernadine, O. B. A. M., & Noël, Z. G.** (2021). Plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies microbiennes dans la région du hambol, nord de la Côte d'Ivoire.

## G

- GHANEM, H.** (2015). Constituants phytochimiques de l'espèce *Thymelaea microphylla* (Doctoral dissertation, University of batna 1).

## H

- Haddouchi, F., Chaouche, T., & Halla, N. J. P.** (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. 16(S1), S254-S262.
- Heywood, V.H.** ( 1996). *Les Plantes à Fleurs*, éd Nathan, Paris, pp159-160.
- Hicham, B.** (2001). Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau: Inventaire et extraction des principes actifs de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum*. Université Badji Mokhtar,

## J

**Jorite, S.** (2015). La Phytothérapie, une discipline entre passé et futur: de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel.

## K

**Krief, S.** (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS)

**Kukhaleishvili, N.** (2020). Biophysique de la croissance filamenteuse fongique et mécanique de perforation dans des élastomères (Doctoral dissertation, Université Côte d'Azur).

## L

**LALAMI, A. E. O., Fouad, E.-A., OUEDRHIRI, W., CHAHDI, F. O., GUEMMOUH, R., & GRECHE, H. J. L. t. d. I.** (2013). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis*. 8(31).

**Laurant-Berthoud, C., Mollet, C., & Quemoun, A.-C.** (2016). Du bon usage des plantes médicinales: Éditions Jouvence.

**Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., & Zhou, D.** (2014). Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiology*, 9(9), 1071–1081.

**Licata, M., Maggio, A. M., La Bella, S., & Tuttolomondo, T. J. A.** (2022). Medicinal and aromatic plants in agricultural research, when considering criteria of multifunctionality and sustainability. In (Vol. 12, pp. 529): MDPI.

**Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., & Chen, S.** (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.

## M

**Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques

**Muniz, M. N.** (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

**Mohammedi, Z.** (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie (Doctoral dissertation), pp27.

**Mocek-Plócinia, A., Mencil, J., Zakrzewski, W., & Roszkowski, S. J. P.** (2023). Phytoremediation as an effective remedy for removing trace elements from ecosystems. 12(8), 1653

## *N*

**Nieto, G. J. M.** (2020). How are medicinal plants useful when added to foods? In (Vol. 7, pp. 58): MDPI.

**Nasri, I.** (2016). Etude phytochimique et activités biologiques de : diplotaxissp. Application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Thèse de doctorat.

## *O*

**Organization, W. H.** (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Retrieved from

**Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R., Tibiri, A., Hay, A.-E., Koudou, J., Guissou, I. P. J. P.** (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir.(Fabaceae). 10(5), 286-292.

**Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., . . . Sciences, C.** (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. 15(2), 750-772.

## *P*

**Petosa, C., Govin, J., & Mietton, F.** (2018). Champignons pathogènes-Un nouvel espoir de traitement des infections généralisées. *médecine/sciences*, 34(2), 123-125.

## *R*

**Romero, B., Susperregui, J., Sahagún, A. M., Díez, M. J., Fernández, N., García, J. J., . . . Díez, R. J. F. i. V. S.** (2022). Use of medicinal plants by veterinary practitioners in Spain: A cross-sectional survey. 9, 1060738.

## *S*

**Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S.** (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*,

**Sofowora, A.** (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*: KARTHALA Editions. Sebai & Boudali, M. (2012). *La phytothérapie entre la confiance et la méfiance*. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA (Algérie).

**Sakhraoui, N., Boussouak, R., Metallaoui, S., Chefrour, A., & Hedef, A.** (2020). La flore endémique du Nord-Est algérien face à la menace des espèces envahissantes. *Acta Botanica Malácitana*, 45, 67-

## *T*

**Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I.** (2021). *Candida albicans-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection*. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 7(2), 79.

## *Y*

**Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A.** (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.

## *Z*

**ZAHIR, I., HOUARI, A., IRAQUI, M., & IBNSOUDA, S.** (2018). Valorisation de l'activité antibactérienne des microorganismes isolés à partir des biotopes marocains et caractérisation partielle de leurs principes actifs. *Proceedings BIOSUNE*, 1-2018



# *Annexes*

## Annexe 01

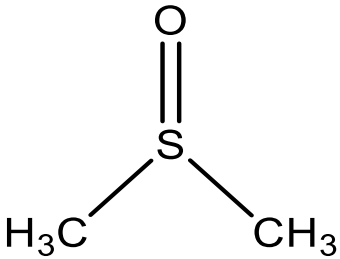
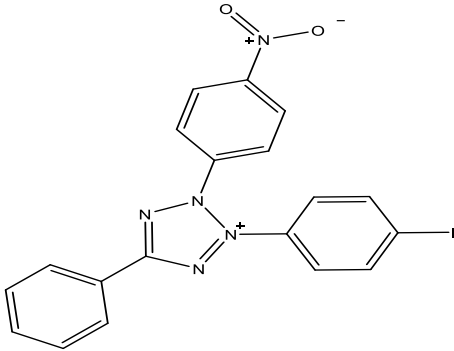
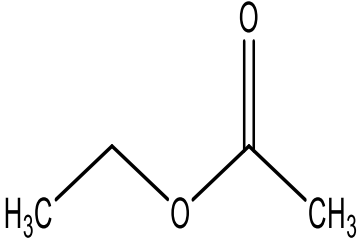
Tableau 01 : Matériels de laboratoire

Agitateur magnétique chauffant	Autoclave
Etuve	Bec bunsen
Tube a essaie	Flacon
Boîtes pétrie / Boites de pétrie petites	Papier filtre
Micropipette	Papier Whatman° 3
Balance	Un bain- marie
Portoirs	Mixeur de tube a essaie
Ecouvillon	Pissette
Erlenmeyer	Etiquettes
Papier aluminium	Papier cellophane
Pied à coulisse	Pince
Entonnoir	Microplaque
Barreau magnétique	Cuvette
Spectrophotomètre SHIMADZU 1800	Spatule
Soxhlet	Appareil rotavapeur

Tableau 02 : Les produits chimiques utilisés

DMSO : Diméthylsulfoxyde	Iodonitrotétrazolium (INT)
Méthanol	Acétate d'éthyle
Mueller Hinton agar/ Mueller Hinton broth	Eau physiologique
Sabouraud agar/ Sabouraud broth	Eau distillée

Tableau 03 : Structures des produits chimiques

		
DMSO : diméthylsulfoxyde	Iodonitrotétrazolium (INT)	Acétate d'éthyle

## Annexe 02

### Préparation des milieux de culture (MH / SB) solide et liquide :

#### 1)-Milieu muller Hinton gélose

38g de poudre de milieu de culture solide (Mueller-Hinton ) ont été dissous dans 1 L d'eau distillée. On fait fondre le mélange avec agitateur magnétique chauffant jusqu'à ce qu'il se dissolve complètement. Le milieu préparé est stérilisé par autoclavage Température 120°C pendant 20 minutes.

#### 2) - Milieu sabouraud gélose

65g de poudre de milieu de culture solide (sabouraud) ont été dissous dans 1 L d'eau distillée. On fait fondre le mélange avec agitateur magnétique chauffant jusqu'à ce qu'il se dissolve complètement. Le milieu préparé est stérilisé par autoclavage Température 120°C pendant 20 minutes.

#### 3) - Milieu muller Hinton bouillon

21g de poudre de milieu de culture liquide (Meuller Hinton Bouillon ) ont été dissous dans 1 L d'eau distillée. On fait fondre le mélange avec agitateur magnétique chauffant jusqu'à ce qu'il se dissolve complètement. Le milieu préparé est stérilisé par autoclavage Température 120°C pendant 20 minutes.

#### 4) - Milieu sabouraud bouillon

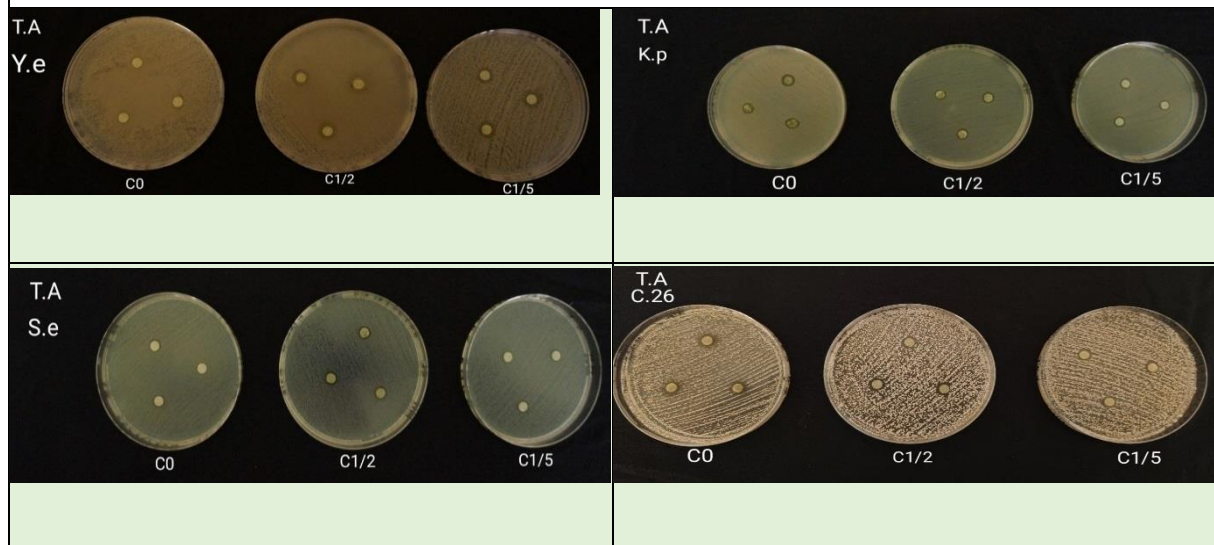
28g de poudre de milieu de culture liquide (sabouraud Bouillon ) ont été dissous dans 1 L d'eau distillée. On fait fondre le mélange avec agitateur magnétique chauffant jusqu'à ce qu'il se dissolve complètement. Le milieu préparé est stérilisé par autoclavage Température 120°C pendant 20 minutes.

**Annexe 03**

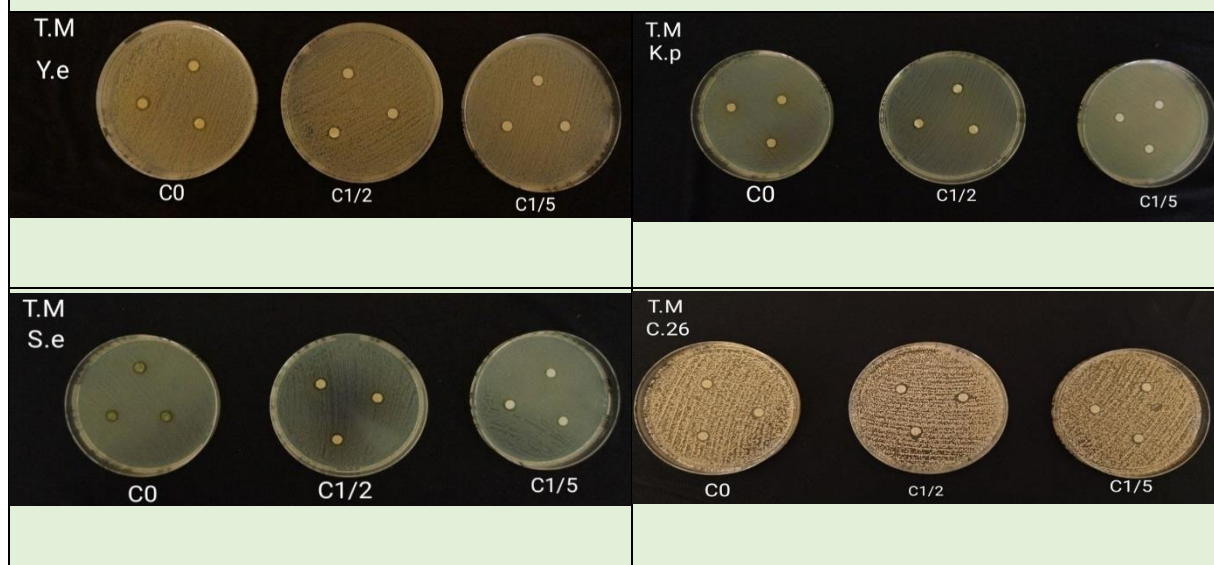
Effet de différents extraits des plantes étudiées dans de la croissance des souches microbiennes

***Thymelaea virgata* Desf**

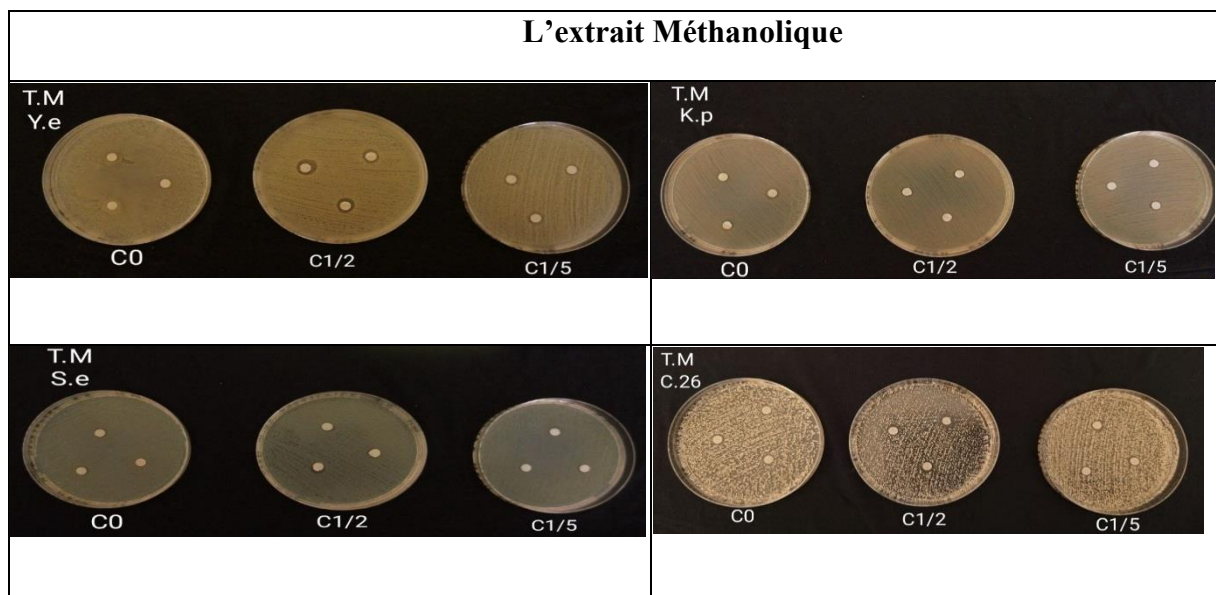
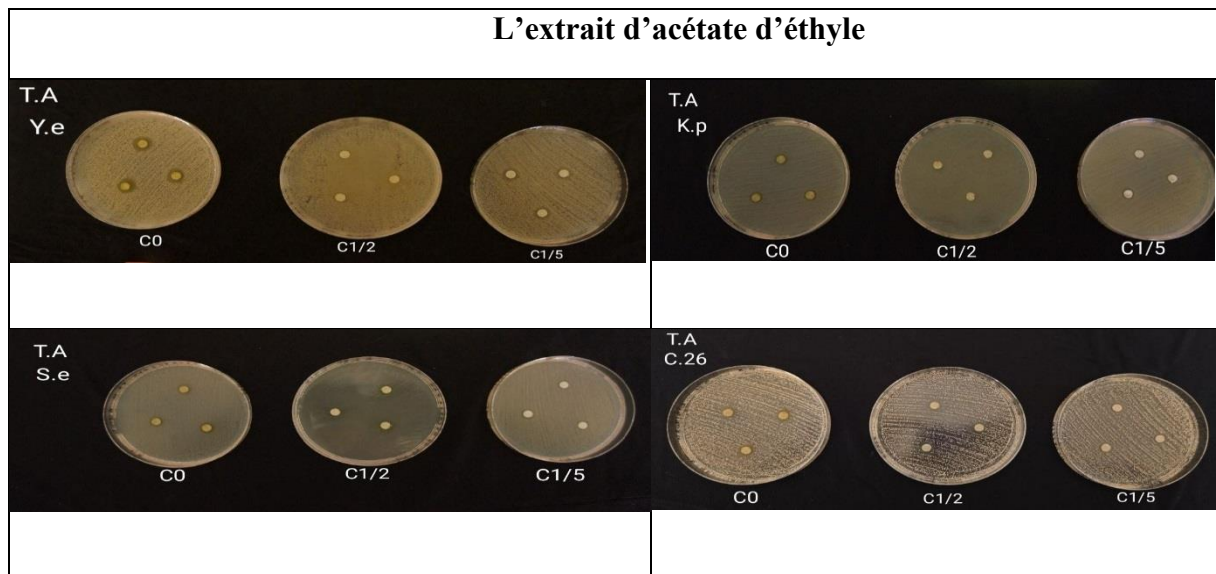
**L'extrait d'acétate d'éthyle**



**L'extrait Méthanolique**



### Thymelaea microphylla Coss



Y.e : *Yersinia enterocolitica*, K.p : *Klebsiella pneumoniae*, S.e : *Salmonella enteritidis*,  
C.26 : *Candida albicans* 26

T.A : *T. (virgata Desf ou microphylla Coss)*. Acétate d'éthyle

T.M : *T. (virgata Desf ou microphylla Coss)*.Méthanol

Annexe 04

*Thymelaea microphylla* Coss : Résultats CMI et CMB

