



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Ba
MOSTAGANEM

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abdel Hamid Ibn Badis, Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Domaine : S.N.V

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Ba
MOSTAGANEM

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME
DE DOCTORAT 3ème cycle LMD

Par

BOUSSENA Abdelhadi

THEME

**Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues
d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium***

Soutenu publiquement le : 13/11/2024

Membres de jury :

| | | | |
|---------------------------------|------------|---------------------------------|------------------------------|
| Cheriguene Abderahim | Pr | Université de Mostaganem | Président |
| Bahri Fouad | Pr | Université de Mostaganem | Directeur de thèse |
| Bouyahyaoui Ahmed | MCB | Université de Béchar | Co-directeur de thèse |
| Bekada Ahmed Mohamed Ali | Pr | Université de Tissemsilt | Examineur |
| Djibaoui Rachid | Pr | Université de Mostaganem | Examineur |

Laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale (LMBV)

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Je tiens tout d'abord, à exprimer ma profonde reconnaissance et mes remerciements à mon directeur de thèse, **Mr. Bahri F**, professeur à l'université de Mostaganem, de m'avoir accepté dans son équipe et de m'avoir fait l'honneur de diriger avec soin ce travail. Pour son intérêt et son soutien, sa disponibilité et ses conseils durant la rédaction de ma thèse. J'ai beaucoup appris à ses côtés.

J'adresse mes remerciements les plus respectueux à mon co-directeur de thèse **Mr. Bouyahyaoui A**, Maître de conférences classe B à l'université de Béchar pour m'avoir fait confiance, m'avoir dirigé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Je remercie grandement **Mr. Cheriguene A**, professeur à l'université de Mostaganem, de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ma thèse. **Mr. Bekada A.M.A**, professeur à l'université de Tissemsilt et **Mr. Djibaoui R** professeur à l'université de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail, je vous prierais de trouver ici l'expression de ma très haute considération.

Je tiens à remercier **Mr. Belhaçaini H**, Professeur à l'université de Sidi-Bel Abbés pour l'authentification des espèces étudiées.

Mes remerciements vont également à tous mes collègues du laboratoire pour leur aide et leur soutien pendant les moments difficiles. Merci Naas amina, Yesla Asmaa, Aberkane elalia et Amroune salah.

Je ne saurais oublier de remercier ma famille qui a toujours été présente à chaque fois que cela était nécessaire ; mes parents, J'espère vous rendre tous deux fiers de moi.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

A mes chers parents

A mes frères et mes sœurs

A toute la famille BOUSSENA

A ma femme et à mes enfants

A ceux, qui me sont chers

ملخص

يشكل انخفاض فعالية المضادات الحيوية المستخدمة حالياً وظهور بكتيريا متعددة المقاومة تهديدا خطيرا للصحة العامة في جميع أنحاء العالم. لذلك هناك حاجة ملحة لإنشاء فئات جديدة من مضادات الميكروبات، ولا تزال الأبحاث جارية في هذا المجال. تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم انتشار البكتيريا المعزولة من سلسلة من العينات السريرية في مستشفى الأخوات باج المركزي في الشلف (الجزائر)، على مدى 3 سنوات و3 أشهر (أكتوبر 2019 إلى ديسمبر 2022). تم استخدام طرق الانتشار البشري والتخفيف في وسط سائل لتقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات نباتين ينموان تلقائيا في جنوب غرب الجزائر، وهما الإيفيدرا ألاتا (ألندا) وهالوكسيلون سكوباريوم (ريمث) ضد العزلات السريرية متعددة المقاومة والسلالات المرجعية. خلال السنوات الثلاث والثلاثة أشهر من الدراسة بأثر رجعي، تم تحديد 424 عزلة من 1720 عينة. تم عزل غالبية هذه العزلات المحددة من مزارع البول (ن = 202، 47.64٪)، تليها القيح (ن = 98، 23.11٪)، القسطرة (ن = 37، 8.73٪) وعينات الرئة (ن = 24، 5.66٪). كانت معظم العزلات السريرية سالبة الجرام (ن = 318، 75٪). كانت الاشريكية القولونية هي السائدة (21.22٪)، تليها الكليسيلا الرئوية (18.16٪)، المكورات العنقودية الذهبية (13.92٪)، الراكدة البومانية (8.96٪) والزائفة الزنجارية (8.26٪). كشف نمط المقاومة أن الأمبيسيلين (80.86٪) كان أقل المضادات الحيوية فعالية، يليه تيكارسيلين/حمض كلافولانيك (78.54٪)، تيكارسيلين (77٪)، سيفازولين (73.83٪)، أموكسيسيلين/حمض كلافولانيك (72.04٪)، بيبيراسيلين (61.02٪) وحمض الناليديكسيك (59.39٪). كانت العزلات سالبة الجرام حساسة نسبيا للإيميبينيم والأميكاسين، بينما كانت العزلات إيجابية الجرام حساسة نسبيا للكلورامفينيكول والتيكوبلانين. من بين العزلات، كانت 120 (28.30٪) من البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة و95 (22.41٪) من البكتيريا شديدة المقاومة للأدوية و23 (5.42٪) من البكتيريا المقاومة للأدوية على نطاق واسع.

كشف الفحص الكيميائي النباتي وجود مجموعات مختلفة من الأيضات الثانوية في الأجزاء العلوية للنباتات مثل التانان، الفلافونويد، الالكالويد، الانتراكينون، الستيرويدات، المركبات المختزلة والكومارين. كشف تحليل القياس الطيفي الكمي أن مستخلص الميثانول من الإيفيدرا ألاتا وهالوكسيلون سكوباريوم يحتوي على أعلى مستويات الفينولات (214.92 و174.39 مغ من حمض الغاليك المكافئ/غ من المستخلص) والفلافونويد (30.74 و43.5 مغ من الكاتشين المكافئ/غ من المستخلص). اعتمادا على محتويات التانين، تم الكشف عن أعلى مستوى في مستخلص الميثانول في الإيفيدرا ألاتا (35.59 مغ من حمض التانيك المكافئ/غ من المستخلص) وفي مستخلص الميثانول المائي في هالوكسيلون سكوباريوم (16.13 مغ من حمض التانيك المكافئ/غ من المستخلص). كشف تحليل كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء مقترنة بكاشف داد للمستخلصات الميثانولية لـ الإيفيدرا ألاتا وهالوكسيلون سكوباريوم أن الإبيكاتشين هو المركب الفينولي الأكثر انتشاراً، بمستويات 12,116 و47,516 مغ/غ من المستخلص على التوالي.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات بطريقة الانتشار الجيد نشاط الإيفيدرا ألاتا ضد جميع الأنواع التي تم اختبارها، أحسن بتركيزات عالية، وتم تسجيل نشاط عالي ضد المكورات العنقودية الذهبية ATCC 25923 وباسيليس سيريس ATCC 10876 في جميع التراكيز. وبالمثل، فإن المستخلص الميثانولي لـ هالوكسيلون سكوباريوم أظهر نشاطا ضد معظم الأنواع التي تم اختبارها في جميع التراكيز، وسجل نشاط تثبيطي جيد ضد المكورات العنقودية الذهبية ATCC

25923، *باسيليس سيريس* ATCC 10876 ، *المكورات العنقودية الذهبية المعزولة (بكتيريا متعددة المقاومة)*، والزائفة الزنجارية ATCC 27857 بتركيز 100 مغ / مل. ومع ذلك، فإن المستخلص الهيد وميثانولي لـ هالوكسيلون سكوباريوم أظهر أقل نشاط ضد جميع السلالات عند التركيزات التي تم اختبارها، باستثناء سلالات *باسيليس سيريس* ATCC 10876 والمكورات العنقودية الذهبية ATCC 25923 عند 100 مغ / مل. أتاحت طريقة الميكرو تخفيف في الوسط السائل الحصول على أقل حد للتركيز المثبط والتركيز المبيد للجراثيم مع المستخلص الميثانولي ضد *المكورات العنقودية الذهبية* ATCC 25923 و*باسيليس سيريس* ATCC 10876 تتراوح من 4.17 إلى 8.33 مغ / مل و12.5 إلى 25 مغ / مل على التوالي. أظهر مستخلص الميثانول من *الإيفيرا / ألاتا وهالوكسيلون سكوباريوم* أعلى نشاط مضاد للجذور مع تركيز المثبط 50 من 226.58 و249.89 مغ/مل، على التوالي. أشارت دراسة السمية الحادة إلى أن المستخلصات الأربعة التي تم اختبارها كانت آمنة للفئران البيضاء السويسرية

الكلمات المفتاحية: مقاومة للأدوية المتعددة، *الإيفيرا / ألاتا*، هالوكسيلون سكوباريوم، مقتطفات، تأثير المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، السمية الحادة، كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء مقترنة بكاشف داد

Résumé

La diminution de l'efficacité des antibiotiques actuellement utilisés et l'émergence des bactéries multirésistantes (BMR) constituent une grave menace pour la santé publique dans le monde entier. Il est donc urgent de créer de nouvelles classes d'antimicrobiens, et la recherche se poursuit. La présente étude visait à évaluer la prévalence, l'étiologie et les profils de résistance aux antibiotiques des bactéries isolés à partir des échantillons cliniques à l'hôpital central les Sœurs Bedj *de* Chlef (Algérie), sur une période de 3 ans et 3 mois (octobre 2019 à décembre 2022). Les méthodes de diffusion sur puit et de microdilution en bouillon ont été utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de deux plantes poussant à l'état spontané au sud-ouest algérien, à savoir, *Ephedra alata* (Alenda) et *Haloxylon scoparium* (Rimth) contre des isolats cliniques multirésistantes (BMR) et des souches de référence (ATCC). Pendant les trois années et trois mois de l'étude prospective, 424 isolats sur 1720 échantillons ont été identifiés. La majorité de ces isolats identifiées ont été isolées à partir de cultures de l'urine (n= 202, 47,64 %), suivies de pus (n= 98, 23.11 %), des cathéters (n= 37, 8.73 %) et des prélèvements pulmonaires (n=24, 5.66 %). La plupart des isolats cliniques étaient à Gram négatif (n=318, soit 75 %). *E. coli* était l'espèce prédominante (21.22%), suivie de *K. pneumoniae* (18,16 %), *S. aureus* (13,92 %), *Acinetobacter* sp (8.96%) et de *P. aeruginosa* (8,26%). Le schéma de la résistance a révélé que l'ampicilline (80.86 %) était l'antibiotique le moins efficace, suivi de la ticarcilline/ acide clavulanique (78.54 %), la ticarcilline (77 %), le céfazoline (73.83%), l'amoxicilline/ acide clavulanique (72,04 %), la pipéracilline (61.02 %) et l'acide nalidixique (59.39 %). Les isolats à Gram négative se sont révélés relativement sensibles à l'Imipénème et à l'amikacine, tandis que Les Gram positif au chloramphénicol et à la teicoplanine. Parmi les isolats, 120 étaient MDR (28,30 %), 95 XDR (22,41%) et 23 PDR (5,42%).

Le screening phytochimique a révélé la présence de différents groupes de métabolites secondaires dans les parties aériennes des plantes tels que, les tannins, flavonoïdes, alcaloïdes, Stéroïdes, composés réducteurs et coumarines. L'analyse quantitative par spectrophotométrie a montré que l'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium* avait les teneurs les plus

élevées en phénols (214.92 et 174.39 mg AGE/g d'extrait) et en flavonoïdes (30.74 et 43.5 mg CE/g d'extrait). En fonction des teneurs en tannins, le niveau le plus élevé a été détecté dans l'extrait méthanolique chez *E. alata* (35,59 mg TAE/g d'Ext) et dans l'extrait hydro-méthanolique chez *H. scoparium* (16,13 mg TAE/g d'Ext). L'analyse par HPLC -DAD des extraits méthanoliques d'*E. alata* et d'*H. scoparium* a révélé que l'épicatéchine est le composé phénolique le plus répandu, à des niveaux de 12.116 et 47.516 mg/g d'Ext, respectivement.

L'étude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puit, a montré une activité des extraits d'*E. alata* contre toutes les espèces testées, bien qu'à des concentrations plus élevées, et une forte activité a été enregistrée contre *S. aureus* ATCC 25923 et *B. cereus* ATCC 10876 à toutes les concentrations. De même, l'extrait méthanolique d'*H. scoparium* a montré une activité contre la plupart des espèces testées à toutes les concentrations, et une bonne activité inhibitrice a été enregistrée contre *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 10876, l'isolat de *S. aureus* (BMR), et *P. aeruginosa* ATCC 27857 à la concentration de 100 mg/mL. Cependant, L'extrait hydrométhanolique d'*H. scoparium* a montré la plus faible activité contre toutes les souches aux concentrations testées, à l'exception les souches de *B. cereus* ATCC 10876 et de *S. aureus* ATCC 25923 à 100 mg/mL. La méthode de microdilution en milieu liquide a permis d'obtenir les CMI et CMB les plus faible avec l'extrait méthanolique contre *S. aureus* ATCC 25923 et *B. cereus* ATCC 10876 allant de 4,17 à 8.33 mg/mL et 12.5 à 25 mg/mL, respectivement.

L'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium* a présenté l'activité antiradicalaire la plus importante avec une IC50 de 226.58 et de 249.89 µg /mL, respectivement. L'étude de la toxicité aigüe a indiqué que les quatre extraits testés étaient sans danger pour les souris *Swiss albinos*.

Mots clés : multirésistantes, *Ephedra alata*, *Haloxylon scoparium*, extraits, HPLC-DAD, activité antimicrobienne, activité antiradicalaire, toxicité aigüe.

Abstract

The declining efficacy of currently used antibiotics and the emergence of multidrug-resistant (MDR) bacteria pose a serious threat to public health worldwide. New classes of antimicrobials are therefore urgently needed, and research is ongoing. The present study aimed to assess the prevalence, etiology and antibiotic resistance profiles of bacteria isolated from a series of clinical samples at the Sœurs Bedj Central Hospital in Chlef, Algeria, over a period of 3 years and 3 months (October 2019 to December 2022). Well diffusion and broth microdilution methods were used to evaluate the antimicrobial activity of extracts from two plants growing spontaneously in southwestern Algeria, namely *Ephedra alata* (Alenda) and *Haloxylon scoparium* (Rimth), against multidrug-resistant clinical isolates (MDR) and reference strains (ATCC). During the three years and three months of the prospective study, 424 isolates from 1,720 samples were identified. The majority of these identified isolates were isolated from urine cultures (n= 202, 47.64%), followed by pus (n= 98, 23.11%), catheters (n= 37, 8.73%) and lung specimens (n=24, 5.66%). Most clinical isolates were Gram-negative (n=318, 75%). *E. coli* was the predominant species (21.22%), followed by *K. pneumoniae* (18.16%), *S. aureus* (13.92%), *Acinetobacter* sp (8.96%) and *P. aeruginosa* (8.26%). The pattern of resistance revealed that ampicillin (80.86%) was the least effective antibiotic, followed by ticarcillin/clavulanic acid (78.54%), ticarcillin (77%), cefazolin (73.83%), amoxicillin/clavulanic acid (72.04%), piperacillin (61.02%) and nalidixic acid (59.39%). Gram-negative isolates were relatively sensitive to Imipenem and amikacin, while Gram-positive isolates were relatively sensitive to chloramphenicol and teicoplanin. Of the isolates, 120 were MDR (28.30%), 95 XDR (22.41%) and 23 PDR (5.42%).

Phytochemical screening revealed the presence of various groups of secondary metabolites in aerial parts of plants such as tannins, flavonoids, alkaloids, steroids, reducing compounds and coumarins. Quantitative analysis by spectrophotometry revealed that the methanolic extract of *E. alata* and *H. scoparium* had the highest levels of phenols (214.92 and 174.39 mg AGE/g extract) and flavonoids (30.74 and 43.5 mg EC/g extract). In terms of tannin content, the highest level was detected in the methanolic extract of *E. alata* (35.59 mg TAE/g Ext) and in the hydromethanolic extract of *H. scoparium* (16.13 mg

TAE/g Ext). HPLC-DAD analysis of methanolic extracts of *E. alata* and *H. scoparium* revealed that epicatechin is the most prevalent phenolic compound, at levels of 12,116 and 47,516 mg/g Ext, respectively.

The study of antimicrobial activity by the well diffusion method, showed activity of *E. alata* extracts against all tested species though at higher concentrations, and higher activity was recorded against *S. aureus* ATCC 25923 and *B. cereus* ATCC 10876 at all concentrations. Similarly, the methanolic extract of *H. scoparium* showed activity against most species tested at all concentrations, and good inhibitory activity was recorded against *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* isolate (MDR), and *P. aeruginosa* ATCC 27857 at a concentration of 100 mg/mL. However, the hydromethanolic extract of *H. scoparium* showed the lowest activity against all strains at the concentrations tested, except against *B. cereus* ATCC 10876 and *S. aureus* ATCC 25923 at 100 mg/mL. The microdilution method in liquid medium led to obtain the lowest MICs and MBCs with methanolic extract against *S. aureus* ATCC 25923 and *B. cereus* ATCC 10876, ranging from 4.17 to 8.33 mg/mL and 12.5 to 25 mg/mL, respectively.

The methanolic extract of *E. alata* and *H. scoparium* showed the highest free radical scavenging activity, with IC₅₀s of 226.58 and 249.89 µg /mL, respectively. The acute toxicity study indicated that all four extracts tested were safe for Swiss albino mice.

Keyword : Multidrug resistance, *Ephedra alata*, *Haloxylon scoparium*, extracts, HPLC-DAD, antimicrobial effect, free radical scavenging activity, acute toxicity.

Table des matières

| | |
|------------------------------------|----------|
| Remerciement | I |
| Dédicace | II |
| ملخص | III |
| Résumé | V |
| Abstract | VII |
| Liste des tableaux | IX |
| Liste des figures | XI |
| Liste des abréviations | XIV |
| Introduction générale | 1 |

Partie I : Revue bibliographique

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| I.1 Introduction | 5 |
| I.2 Lutte contre les micro-organismes pathogènes par les antibiotiques..... | 5 |
| I.2.1 Classification des antibiotiques | 6 |
| I.2.1.1 Les antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne..... | 8 |
| I.2.1.2 Les antibiotiques actifs au niveau de la membrane plasmique | 10 |
| I.2.1.3 Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes | 11 |
| I.2.1.4 Les antibiotiques qui ciblent l'ARN | 13 |
| I.2.1.5 Les antibiotiques qui ciblent l'ADN | 14 |
| I.2.2 Les résistances aux antibiotiques..... | 16 |
| I.2.2.1 La résistance bactérienne naturelle | 16 |
| I.2.2.2 La résistance acquise | 16 |
| I.2.2.2.1 Résistance par mutation chromosomique | 17 |
| I.2.2.2.2 La résistance par acquisition de gènes | 17 |
| I.2.2.3 Evolution des bactéries résistantes aux antibiotiques | 18 |
| I.2.2.4 Epidémiologie des résistances bactériennes | 20 |
| I.2.2.4.1 Variabilité géographique des résistances | 20 |
| I.2.2.4.2 Impact de la consommation des antibiotiques | 21 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| I.2.2.4.3 Epuisement de l'arsenal thérapeutique | 23 |
| I.3 Lutte contre les pathogènes avec les plantes médicinales | 26 |
| I.3.1 Introduction | 26 |
| I.3.2 Le potentiel antimicrobien des plantes médicinales | 28 |
| I.3.2.1 Composés phénoliques | 29 |
| I.3.2.2 Terpènes et stéroïdes | 32 |
| I.3.2.3 Alcaloïdes | 32 |
| I.3.3 Les Espèces végétales étudiées | 35 |
| I.3.3.1 La famille des Ephedraceae (Genre Ephedra) | 35 |
| I.3.3.1.1 L'espèce <i>Ephedra alata alenda</i> | 38 |
| I.3.3.1.1.1 Synonymes et nomenclatures | 38 |
| I.3.3.1.1.2 Classification taxonomique | 38 |
| I.3.3.1.1.3 Description morphologique | 39 |
| I.3.3.1.1.4 Écologie et distribution | 40 |
| I.3.3.1.1.5 Utilisations ethnomédicales | 40 |
| I.3.3.1.1.6 Composition chimique et propriétés biologiques | 41 |
| A. Alcaloïdes | 42 |
| B. Flavonoïdes | 43 |
| C. Tanins | 43 |
| D. Huile essentielle | 44 |
| E. Autres composés..... | 44 |
| I.3.3.1.1.7 Applications cliniques (Traitement de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19)..... | 45 |
| I.3.3.1.1.8 Toxicité | 46 |
| I.3.3.2 La famille des Amaranthaceae | 47 |
| I.3.3.2.1 Genre <i>Haloxyton</i> | 49 |
| I.3.3.2.1.1 L'espèce <i>Haloxyton scoparium</i> | 49 |
| I.3.3.2.1.1.1 Synonymes et nomenclatures | 49 |
| I.3.3.2.1.1.2 Classification taxonomique | 50 |
| I.3.3.2.1.1.3 Description morphologique | 50 |

| | | |
|---------------|------------------------------------------------|----|
| I.3.3.2.1.1.4 | Écologie et distribution | 51 |
| I.3.3.2.1.1.5 | Utilisations ethnomédicales | 52 |
| I.3.3.2.1.1.6 | Composition chimique et propriétés biologiques | 53 |
| A. | Flavonoïdes | 53 |
| B. | Alcaloïdes | 53 |
| C. | Coumarine | 54 |

Partie II : Analyse rétrospective de la résistance bactérienne aux antibiotiques à l'EPH de Chlef d'octobre 2019 à décembre 2022

| | | |
|-------------|-------------------------------------------------|-----------|
| II.1 | Méthodes | 56 |
| II.1.1 | Cadre de l'étude | 56 |
| II.1.2 | Isolement et identification des souches | 56 |
| II.1.3 | Tests de sensibilité aux antibiotiques | 57 |
| II.1.4 | Contrôle de la qualité | 57 |
| II.1.5 | Traitement des données | 58 |
| II.2 | Résultats et discussion | 59 |
| II.2.1 | Epidémiologie des infections | 59 |
| II.2.2 | Résistance aux différents antibiotiques étudiés | 62 |
| II.2.2.1 | Résistance aux β -lactamines | 65 |
| II.2.2.2 | Résistance aux quinolones | 69 |
| II.2.2.3 | Résistance aux aminoglycosides | 72 |
| II.2.3 | Souches multi-résistantes | 75 |
| II.2.4 | Conclusion | 78 |

Partie III : Partie expérimentale

| | | |
|--------------|--------------------------------|-----------|
| III.1 | Matériel et méthodes | 79 |
| III.1.1 | Matériels végétal | 79 |
| III.1.2 | Extraction | 79 |
| III.1.3 | Screening phytochimique | 80 |
| III.1.4 | Teneur en composés phénoliques | 83 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III.1.4.1 Teneur en polyphénols totaux (TPT) | 83 |
| III.1.4.2 Teneur en flavonoïdes totaux (TFT)..... | 83 |
| III.1.4.3 Teneur en Tanins condensé totaux (TCT) | 84 |
| III.1.5 Chromatographie liquide à haute performance HPLC-DAD | 84 |
| III.1.6 Test d'activité antimicrobienne | 85 |
| III.1.6.1 Souches microbiennes testées | 85 |
| III.1.6.1.1 Réidentification par caractéristiques morphologiques et biochimiques des isolats multirésistantes (BMR)..... | 85 |
| III.1.6.1.2 Identification par caractéristiques moléculaires des isolats multirésistantes (BMR) | 86 |
| III.1.6.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puits en milieu gélosé | 88 |
| III.1.6.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de dilution en série en milieu liquide | 88 |
| III.1.7 Test d'activité antioxydant des extraits | 89 |
| III.1.8 Test de la toxicité aigüe des extraits | 91 |
| III.1.9 Analyse statistique | 92 |
| III.2 Résultats et discussion | 93 |
| III.2.1 Extractions | 93 |
| III.2.2 Screening phytochimique | 94 |
| III.2.3 Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins | 97 |
| III.2.4 Profil phénolique des espèces par HPLC-DAD | 99 |
| III.2.5 Etude de l'activité antimicrobienne | 106 |
| III.2.5.1 Caractérisation morphologique et biochimique des souches bactériennes multirésistantes isolées | 106 |
| III.2.5.2 Caractérisation moléculaire des souches bactériennes multirésistantes isolées | 109 |
| III.2.5.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puits en milieu gélosé | 110 |
| III.2.5.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de dilution en série en milieu liquide | 116 |
| III.2.5.4.1 Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)..... | 116 |

| | |
|--------------------------------------------------------|------------|
| III.2.6 Etude de l'activité antioxydant par DPPH | 120 |
| III.2.7 Evaluation in vivo de la toxicité aiguë | 125 |
| Conclusion générale et perspectives | 126 |
| Références bibliographiques | 129 |
| Annexes | 167 |

Liste des tableaux

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tableau n° 1 : Classification des antibiotiques qui ont pour cible la paroi bactérienne | 08 |
| Tableau n° 2 : Classification des antibiotiques qui ciblent les ribosomes | 12 |
| Tableau n° 3 : Structure et activités antimicrobiennes de quelques polyphénols..... | 29 |
| Tableau n° 4 : Structure et activités antimicrobiennes de quelques terpènes | 33 |
| Tableau n° 5 : Structure et activités antimicrobiennes de quelques alcaloïdes | 34 |
| Tableau n° 6 : Alcaloïdes de différentes espèces du genre <i>Ephedra</i> isolés autres que l'amphétamine..... | 42 |
| Tableau n° 7 : Utilisations ethnomédicales d' <i>H. scoparium</i> | 52 |
| Tableau n° 8 : Listes des antibiotiques utilisés | 58 |
| Tableau n° 9 : Listes des micro-organismes pathogènes isolés | 59 |
| Tableau n° 10 : Comparaison des pourcentages de résistance des souches communautaires à celles issues des hospitalisés | 62 |
| Tableau n° 11 : Profils de résistance des bactéries à Gram négatif aux antibiotiques sélectionnés | 63 |
| Tableau n° 12 : Profils de résistance des bactéries à Gram positif aux antibiotiques sélectionnés | 64 |
| Tableau n° 13 : Proportion des multi-résistants au niveau de chaque espèce isolée | 76 |
| Tableau n° 14 : Origines des microorganismes utilisés | 86 |
| Tableau n° 15 : Mélange de réaction PCR | 87 |
| Tableau n° 16 : Conditions de la PCR pour l'amplification du gène de l'ARNr 16S | 87 |
| Tableau n° 17 : Screening phytochimique préliminaire de Composés phytochimiques de la partie aérienne d' <i>E. alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> | 95 |
| Tableau n° 18 : Contenu en polyphénols totaux (CPT), en flavonoïdes (CFT) et en tanins (CTT) des extraits d' <i>E. alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> | 97 |
| Tableau n° 19 : Temps de rétention [Tr], l'absorbance [nm] et la quantification des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d' <i>E. alata</i> | 100 |
| Tableau n° 20 : Temps de rétention [Tr], l'absorbance [nm] et la quantification des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d' <i>H. scoparium</i> | 103 |
| Tableau n° 21 : Tests morphologiques et biochimiques primaires pour l'identification des isolats | 107 |
| Tableau n° 22 : Origine et profil de résistance aux antibiotiques des isolats | 108 |
| Tableau n° 23 : Zone moyenne d'inhibition de la croissance microbienne (DZI) en mm pour | |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| la partie aérienne de l'extrait méthanolique (EM) et hydrométhanolique (EHM) d' <i>E. alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> | 111 |
| Tableau n° 24 : Résultats de la CMI, CMB et la CMF des extraits d' <i>E. alata</i> exprimés en mg/mL | 116 |
| Tableau n° 25 : Résultats de la CMI, CMB et la CMF des extraits d' <i>H. scoparium</i> exprimés en mg/mL | 117 |
| Tableau n° 26 : Valeurs des IC50 des différents extraits d' <i>E. alata</i> et de <i>H. scoparium</i> | 122 |

Liste des figures

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure n° 1 : Chronologie montrant la décennie où de nouvelles classes d'antibiotiques sont arrivées à la clinique | 7 |
| Figure n° 2 : Structures de la polymyxine B1 et de la polymyxine E2 (colistine) | 10 |
| Figure n° 3 : Structure de la Gramicidine | 11 |
| Figure n° 4 : Structure de la rifampicine | 13 |
| Figure n° 5 : Principales structures des quinolones | 14 |
| Figure n° 6 : Régions fonctionnelles des quinolones | 15 |
| Figure n° 7 : Diagramme montrant la relation entre MDR, XDR et PDR les uns par rapport aux autres | 19 |
| Figure n° 8 : Prévalence mondiale du SARM. Le pourcentage d'isolats de <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à l'oxacilline (c'est-à-dire les isolats de <i>S. aureus</i> résistants à la méthicilline (SARM)) | 21 |
| Figure n° 9 : Pourcentage de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistant à la céftazidime dans huit hôpitaux américains participant au projet ICARE en fonction de la consommation de céphalosporines de troisième. DJ = dose journalière | 22 |
| Figure n° 10 : Spirale de la résistance de Carlet | 24 |
| Figure n° 11 : Coût de traitement du paludisme par divers type de soins au Ghana | 26 |
| Figure n° 12 : mise en évidence de l'efficacité de la médecine traditionnelle à partir de 50 ETR | 27 |
| Figure n° 13 : Recours à la Médecine Complémentaire Parallèle (MCP) par les patients vivant avec le VIH aux Etats Unis | 28 |
| Figure n° 14 : Ephedraceae | 36 |
| Figure n° 15 : Distribution des quelques espèces du genre Ephedra exploitées comme plante médicinale | 37 |
| Figure n° 16 : Aspect morphologique d' <i>Ephedra alata alenda</i> | 39 |
| Figure n° 17 : Amphétamine issues du genre Ephedra | 41 |
| Figure n° 18 : Flavonoïdes issus d' <i>Ephedra alata</i> | 43 |
| Figure n° 19 : Outre composés issue d' <i>Ephedra alata</i> | 44 |
| Figure n° 20 : Caryophyllales | 48 |
| Figure n° 21 : Distribution des espèces du genre Haloxylon exploitées comme plante médicinale | 50 |
| Figure n° 22 : Aspect morphologique d' <i>Haloxylon scoparium</i> | 51 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure n° 23 : Flavonoïdes isolées d' <i>Haloxylon scoparium</i> | 53 |
| Figure n° 24 : Alcaloïdes issus d' <i>Haloxylon scoparium</i> | 54 |
| Figure n° 25 : Coumarine isolée d' <i>Haloxylon scoparium</i> | 55 |
| Figure n° 26 : Acides phénols et phénol simple d' <i>Haloxylon scoparium</i> | 55 |
| Figure n° 27 : Schéma général de la démarche de l'analyse bactériologique | 59 |
| Figure n° 28 : Tendances de la résistance à certains bêtalactamines par des microorganismes spécifiques, Chlef 2019-2022 | 66 |
| Figure n° 29 : Comparaison des fréquences d'apparition de <i>E. coli</i> pathogène résistant à la céfotaxime et à la céftazidime | 68 |
| Figure n° 30 : Tendances de la résistance à certaine Quinolones par des microorganismes spécifiques, Chlef 2019-2022 | 70 |
| Figure n° 31 : Tendances de la résistance à l'amikacine et la gentamicine par des microorganismes spécifiques, Chlef 2019-2022 | 73 |
| Figure n° 32 : Comparaison des pourcentages des multi-résistants des souches communautaires à celles issues des patients hospitalisés | 77 |
| Figure n° 33 : <i>Ephedra alata</i> (A) et <i>Haloxylon scoparium</i> (B) (partie aérienne) (Photo Originale) | 79 |
| Figure n° 34 : Carte géographique des zones de collecte des espèces étudiées | 80 |
| Figure n° 35 : Réaction du radical DPPH avec le donneur d'hydrogène | 90 |
| Figure n° 36 : Rendement d'extraction de la partie aérienne d' <i>E. alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> en fonction de deux solvants d'extraction | 93 |
| Figure n° 37 : Étalonnage direct de l'acide gallique (A), de la catéchine (B) et de l'acide tannique (C)..... | 98 |
| Figure n° 38 : Chromatogramme des composés phénoliques de la partie aérienne d' <i>E. alata</i> enregistré à 360 nm (A), à 280 nm (B) et à 330 nm (C)..... | 101 |
| Figure n° 39 : Chromatogramme des composés phénoliques de la partie aérienne d' <i>H. scoparium</i> enregistré à 360 nm (A), à 280 nm (B) et à 330 nm (C) | 104 |
| Figure n° 40 : Bactéries isolées à partir des patients hospitaliser sur milieu gélosé Hektoen (A, B et C), Gélose nutritif (D), Gélose au cétrimide (E) et Chapman (F) à 37°C pendant 24 heures | 107 |
| Figure n° 41 : Sensibilité aux antibiotiques des isolats de <i>K. pneumoniae</i> et de <i>P. aeruginosa</i> | 108 |
| Figure n° 42 : Séquence des bases azotées séquencées à partir de bactéries multirésistantes isolées, A = adénine, T = thiamine, G = guanine, C = cytosine | 109 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure n° 43 : Inhibition par diffusion des souches multirésistantes en milieu gélosé de l'extrait méthanolique et hydrométhanolique (100 mg/mL) de la partie aérienne d' <i>E alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> | 112 |
| Figure n° 44 : Inhibition par diffusion des souches ATCC en milieu gélosé de l'extrait méthanolique (EM) et hydrométhanolique (EHM) (100 mg/mL) de la partie aérienne d' <i>E alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> | 113 |
| Figure n° 45 : Pourcentage d'inhibition de DPPH des différents extraits de la partie aérienne d' <i>E. alata</i> et d' <i>H. scoparium</i> par rapport au Trolox et l'Acide ascorbique (contrôle positif).121 | |

Liste des Abréviations

- ADN** : Adénoside désoxy ribonucléique
- ARN** : Adénoside ribonucléique
- ARN** : Adénoside ribonucléique
- ATCC** : American Type Culture Collection
- CI50** : Concentration inhibitrice à 50%
- CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- DL50** : Dose létale 50
- DO** : Densité optique
- DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines
- ECDC** : European center for disease prevention and control
- EPH** : Etablissement publique hospitalier
- ERO** : Espèce réactive oxygénée
- HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance
- KCl** : Chlorure de potassium
- MDR** : Multiple Drug-Resistant
- mg** : milligramme
- ml** : millilitre
- mM** : milimolaire
- Na₂HPO** : Hydrogénophosphate de sodium
- NAG** : N-acétylglucosamine
- NAM** : Acide N-acétylmuramique
- NaOH** : hydroxide de sodium
- OMS** : Organisation mondiale de la santé
- OECD** : Organization for Economic Co-operation and Development
- PDR** : Pandrug-Resistant
- PI** : Pourcentage d'inhibition
- pH** : Potentiel hydrogène
- SARM** : Staphylococcus aureus resistant à la méthicilline

SM : Spectrométrie de masse

TR : Temps de rétention

UFC : Unité formant colonie

UV : ultraviolet

XDR : Extensive drug-resistant

Introduction générale

Les bactéries pathogènes, sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques. Dès lors, la recherche d'agents anti-infectieux est devenue un intérêt de santé publique. La recherche a abouti à la découverte des antibiotiques grâce à une série d'observations et aux travaux de nombreux chercheurs, dont Pasteur, Joubert, Duchesne et Fleming (**Pasteur et Joubert, 1877 ; Duchesne, 1897 ; Fleming, 1929 ; Rosset, 2003**).

Après la Seconde Guerre mondiale, L'avènement de ces nouvelles molécules a donné à l'homme un avantage considérable dans la lutte contre les maladies infectieuses. Elles ont permis d'éviter de nombreux décès. Ainsi, plus que toute autre forme de soins médicaux, l'utilisation des antibiotiques en thérapeutique a probablement augmenté l'espérance de vie humaine de plus de dix ans (**McDermott et Rogers, 1982**).

Après moins de 50 ans d'existence, ce brillant tableau affiché par ces anti-infectieux s'assombri progressivement. Les infections microbiennes ont augmenté en fréquence au cours de 30 dernières années en raison de l'apparition progressive de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. L'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques a permis aux bactéries extraordinairement adaptables de supplanter progressivement les antibiotiques (**Prestinac et al., 2015 ; Crits-Christoph et al., 2022**).

Le déclin de la recherche en antibiothérapie depuis les années 1980 peut également contribuer à expliquer cette situation. Les compagnies pharmaceutiques ont progressivement diminué l'introduction de nouvelles molécules antimicrobiennes depuis cette période (**Bush, 2004**). Aux Etats-Unis d'Amérique, 16 nouveaux antibiotiques ont été mis sur le marché entre 1983 et 1987. Ce nombre est tombé à quatorze entre 1988 et 1992, puis à dix sur la période de 1993 à 1997, et enfin à sept entre 1998 et 2002. (**Andremont et Tibon-Cornillot, 2007**). Les bactéries qui ont été exposées de manière répétée aux mêmes molécules dans le cadre d'une antibiothérapie ne peuvent que développer des résistances et devenir multi-résistantes de type MDR : Multi Drug Resistant, XDR : Extensively Drug Resistant et PDR : Pan Drug Resistant. (**Magiorakos et al., 2012**)

La résistance aux antibiotiques est devenue une menace majeure pour la santé publique (**Dupuis et al., 2022**). On estime que les infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques entraîneront 10 millions de décès par an d'ici à 2050 (**Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022**), et qu'elles provoqueront également une grave crise économique (**McEwen et al., 2018**).

L'émergence de bactéries multirésistantes limite l'utilisation clinique des antibiotiques, car il ya moins, voire parfois, aucun antibiotique efficace disponible pour les infections causées par ces bactéries (**Magiorakos et al., 2012**). Afin d'orienter la recherche, la découverte et le développement de nouveaux antibiotiques, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a dressé en 2017 une liste prioritaire mondiale des bactéries résistantes aux antibiotiques, notamment *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp. et *Shigella* spp. et ainsi de suite (**De Oliveira et al., 2020**). Cela signifie qu'il est urgent de trouver de nouveaux antibiotiques pour ces bactéries. Cependant, un investissement coûteux (des centaines de millions de dollars), un délai imprévisible (dix ans en moyenne), un manque de succès commercial (seuls 17 nouveaux antibiotiques ont été approuvés entre 2010 et 2021), tout cela a limité le développement de nouveaux antibiotiques (**Safir et al., 2020 ; Berini et al., 2022**). La charge croissante oblige les chercheurs à trouver de nouvelles voies. Les produits naturels dérivés des plantes, dans l'espoir de contrôler les bactéries résistantes aux antibiotiques, attirent l'attention des chercheurs (**Subramani et al., 2017**).

A l'instar de microorganismes spécifiques comme *Penicillium* ou *Streptomyces*, qui ont été utilisés comme source d'antimicrobiens, certaines plantes sont utilisées en tant que source de médicaments pour traiter les maladies humaines depuis longtemps, et environ 70 à 95 % des personnes dépendent encore des plantes comme principale forme de médecine dans certaines parties du monde en développement (**Chassagne et al., 2020**). Le processus d'évolution à long terme favorise la survie compétitive entre les plantes et les bactéries pathogènes. Dans ce processus, les plantes produisent divers métabolites secondaires pour se défendre contre l'infection des bactéries pathogènes (**Kessler et al., 2018**). La grande diversité chimique et structurelle des plantes se traduit par des récepteurs de ciblage et des bioactivités multiples, qui peuvent pallier le manque de nouveaux antibactériens (**Chassagne et al., 2020 ; Porras et al., 2021**).

Les plantes médicinales traditionnelles algériennes ont été décrites comme des sources de composés bioactifs précieux (**Ziani et al., 2018**). Outre ses zones désertiques et semi-désertiques, l'Algérie contient un grand réservoir de plantes, avec un potentiel bioactif élevé qui peut être utilisé pour des applications médicinales, et pour lesquelles beaucoup d'entre elles n'ont pas été explorées, alors que de nombreuses approches ethnobotaniques indiquent

que la flore saharienne locale a été traditionnellement utilisée dans de nombreuses cultures comme source d'agents médicinaux (**Ziani et al., 2018**).

De nombreuses études se sont intéressées à ces plantes dont les composés pharmacologiquement actifs présentent un intérêt thérapeutique potentiel (**Benarba, 2016 ; Ziani et al., 2018 ; Ouguirti et al., 2021**). La famille des chénopodiacées est fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle et fait partie de la vie quotidienne des gens (**Gelin et al., 2003**). Elle compte 98 genres et environ 1400 espèces. *Haloxylon scoparium* [= *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin., *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin., *Salsola articulata* Cav., *Haloxylon articulatum* (Cav.)] (**Täckholm et al., 1974 ; Boulos et al., 1999**), appartient à la famille des chénopodiacées. Elles sont réparties dans le monde entier, en particulier dans les zones désertiques et semi-désertiques, sur des sols contenant beaucoup de sel. En Algérie, la plante pousse spontanément dans le sud et connue localement sous le nom de "rimth". Elle est bien connue pour ses propriétés thérapeutiques dans la médecine traditionnelle nord-africaine, telles que le cancer, l'hépatite, l'inflammation et la prévention de l'obésité (**Ezzeddine et al., 2016**). Les recherches sur l'espèce *H. Scoparium* ont montré que cette dernière est riche en alcaloïdes (**Benkrief et al., 1990**), en saponosides (**Aynehchi et al., 1982**) et en flavonoïdes (**Farnsworth et al., 1966**). Récemment, deux alcaloïdes, la carnégine et la N-méthylisosalsoline, ont été isolés à partir d'extraits de feuilles de cette espèce (**Bouaziz et al., 2016**). Traditionnellement, l'infusion de poudre de la partie aérienne de *H. Scoparium* est utilisée pour ses effets antidiabétiques, antiseptiques et anti-inflammatoires (**Bellakhdar et al., 1997**). La plante est utilisée pour traiter les troubles oculaires. Elle est également utilisée contre les piqûres de scorpion. Les tiges sont utilisées comme mordant pour la teinture de la laine dans le tissage traditionnel (**Salah et al., 2002**). Les chercheurs ont démontré que *H. Scoparium* a une activité antiproliférative et un effet larvicide (**Lamchouri et al., 2012**).

Ephedra alata (*E. alata*), également connue sous le nom d'Alanda en arabe, fait partie de la famille des Ephedracées. Cette espèce d'*Ephedra* est originaire d'Iran, d'Algérie, d'Égypte, de Palestine, Liban, Jordanie, Irak, Arabie Saoudite, Maroc, Libye, et de Tunisie (**Jaradat et al., 2015**). La décoction de la tige d'*E. alata* est utilisée dans la médecine populaire comme stimulant potentiel, désobstruant, pour traiter différents troubles (par ex. les reins, les bronches, le système circulatoire, les troubles du système digestif), pour soulager les crises d'asthme, ainsi que pour le traitement du cancer. Les tiges de la plante sont également mâchées pour traiter les infections bactériennes et fongiques, en particulier les infections

bactériennes et fongiques buccales (Al-Qarawi *et al.*, 2012 ; Jaradat *et al.*, 2015). Les branches d'*E. alata* semblent également être mastiquées pour la céphalée, utilisées dans les fausses couches et comme bronchodilatateur, agents naturels antifongiques et antimicrobiens (Ghanem *et al.*, 2008 ; Parsaeimehr *et al.*, 2010). L'effet pharmacologique des différentes espèces d'*Ephedra* dépend des phytoconstituants de chacune d'entre elles. Comme le montrent les études générales, les espèces d'*Ephedra* se caractérisent par leur teneur en alcaloïdes et en composés phénoliques, tels que l'acide trans-cinnamique, la catéchine, l'épicatéchine, le symplocoside, les flavonol-3-O-glycosides et les proanthocyanidines (Al-Rimawi *et al.*, 2017).

L'objectif principal de la présente thèse est de réaliser une analyse rétrospective de la résistance bactérienne aux antibiotiques en Algérie et cherche à approfondir les connaissances sur les espèces *Ephedra alata* et *Haloxylon scoparium*, et à les valoriser en évaluant les activités

antimicrobiennes, afin de détecter de nouvelles sources d'agents antimicrobiens, l'activités antioxydantes, mais aussi leur toxicité afin s'assurer de leur innocuité.

Pour ce faire, Nous avons envisagé d'organiser cette étude en trois parties. La première partie se veut une synthèse bibliographique sur la lutte contre les pathogènes avec les antibiotiques puis avec les plantes médicinales ; la deuxième partie est consacrée à une Analyse rétrospective de la résistance bactérienne aux antibiotiques à l'EPH de Chlef (Sœur Bedj) de 2019 à 2022, tandis que la troisième est une partie expérimentale qui regroupe les objectifs suivants :

- ✚ Extractions par solvants (méthanol et hydro-méthanol 70%), screening phytochimique et evaluation de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*
- ✚ Caractérisation chimique de l'extrait qui présente la meilleure activité antimicrobienne par HPLC-DAD
- ✚ Isolement des bactéries multirésistantes chez des patients hospitalisés et leur identification moléculaire basée sur des fragments d'ADNr 16S
- ✚ Mise en évidence de l'effet antimicrobien des extraits par la méthode de diffusion en milieu gélosé et par microdilution en milieu liquide
- ✚ Évaluation d'autre activité biologique telle que l'activité antioxydante des extraits par le test de DPPH ainsi que la toxicité aigüe *in vivo* de l'extrait d'intérêt.

Partie I :

Revue bibliographique

I.1 Introduction

Les bactéries commencent à coloniser l'homme dès sa naissance afin de créer une interaction à long terme entre la flore microbienne en développement et le corps humain. Cette interaction est toujours essentielle à sa santé et à son équilibre métabolique (**Doré et al., 2010**). Le corps d'un humain adulte contient environ 10^{14} bactéries commensales et mutualistes (soit 10 fois le nombre de ses cellules) dont certaines lui fournissent des composés difficiles ou impossibles à synthétiser. Parmi les contributions bactériennes, on trouve la synthèse de vitamines (thiamine, riboflavine, vitamine B12 et vitamine K), la production d'acides organiques (acide butyrique et acide propionique), l'apport d'enzymes (β -galactosidase, β -glucosidase, α -glucosidase et α -galactosidase) (**Madigan et Martinko, 2006**).

Par ailleurs, la présence des bactéries pathogènes, perturbent le fonctionnement de l'organisme. Les maladies infectieuses sont causées par des bactéries pathogènes. *Escherichia coli* pathogène, par exemple, est la principale cause d'entérite en raison de son pouvoir entéropathogène (ex : O119 B14), entérohémorragique (ex : O157 H7), entérotoxigène (ex : O104 H4), entéroaggrégatif et entéroinvasif, responsable aussi d'infections urinaires (la plus fréquente), de septicémies et d'autres infections cliniques, telles que la méningite néonatale (**Kaper et al., 2004**).

Même si le corps humain dispose d'un système de défense sophistiqué, ces micro-organismes au taux de multiplication élevé peuvent le submerger.

Face à ce problème d'infections bactériennes, la recherche de nouvelles substances actives capables d'empêcher la croissance et la propagation de ces bactéries pathogènes sans être toxiques pour l'organisme de l'homme est devenue une nécessité.

I.2 Lutte contre les micro-organismes pathogènes par les antibiotiques

Dans les années qui ont suivi la seconde guerre mondiale, les antibiotiques ont été utilisés dans le milieu médical pour combattre les maladies infectieuses. Cette découverte est le résultat d'un certain nombre d'observations faites par différents auteurs lors de leurs recherches en microbiologie.

En 1877, Pasteur et Joubert après des études sur la cristallographie, la fermentation, les "maladies" des vins, la soie et la bière (**Rosset, 2003**) observent qu'une bactérie se développe moins dans un bouillon envahi de moisissures. Grâce à cette observation, les moisissures sont maintenant utilisées progressivement face aux infections microbiennes. Ces observations ont incité Ernest Duchesne à écrire dans sa thèse en 1897 que les palefreniers appliquaient des moisissures sur les plaies des chevaux pour les empêcher de s'infecter (**Duchesne, 1897**).

En 1929, après cette importante remarque, Alexander Fleming découvre de façon fortuite l'inhibition de Staphylocoque dans une boîte de Pétri contaminée par un champignon (*Penicillium notatum*). Il émet alors l'hypothèse que ce champignon est capable de synthétiser une molécule aux propriétés antimicrobiennes. Il s'agit de la pénicilline. L'utilisation thérapeutique de cette substance débute qu'après leur isolement et caractérisation par les chimistes Chain et Florey. En 1940, La forme stable de ce premier antibiotique et utilisable *in-vivo* sur des souris infectées par des streptocoques a été élaborée (**Chain et al., 1940**).

En 1941, cette substance naturelle antimicrobienne est utilisée avec succès thérapeutique au bout de 4 jours sur un patient (Albert Alexander) infectée par un Staphylocoque après divers traitements inefficaces (**Andremont et Tibon-Cornillot, 2007**).

Dès 1942, Les grandes sociétés pharmaceutiques américaines (Merck, Pfizer, Lederle...) commencent à produire la pénicilline en grandes quantités à l'échelle industrielle (**Lerner, 2004**).

C'est le début de l'ère des antibiotiques. De nombreuses études sur les molécules naturelles et synthétiques permettant de lutter efficacement contre les infections microbiennes ont été déclenchées par cette découverte et son utilisation.

I.2.1 Classification des antibiotiques

En 1941, Selman Waksman, un chercheur dans le domaine des actinobactéries au début du XXe siècle est découvreur de la streptomycine, a décrit le terme antibiotique pour désigner toute substance naturelle produite par un micro-organisme et qui a le pouvoir d'inhiber ou détruit la croissance d'un autre micro-organisme (**Hopwood, 2007 ; Davies et Davies, 2010**). Aujourd'hui, ce concept inclut les molécules ayant la même fonction qui sont semi-synthétiques ou même synthétiques.

Qu'un antibiotique soit naturel ou semi-synthétique, il doit répondre aux critères énoncés dans la définition de la chimiothérapie de Paul Ehrlich avant d'être utilisé en médecine thérapeutique. Selon ce dernier, "une substance chimiothérapeutiques qui peut être utilisé par voie générale dans le traitement des maladies infectieuses doit être toxique pour les le microorganisme pathogène mais non toxique pour le tissu cellulaire de l'hôte." De ce fait, seuls 150 antibiotiques sur les 10 000 découverts ont été utilisés en médecine thérapeutique à ce jour (Walsh, 2003). La majorité de ces antibiotiques naturels (80 %) sont produits par des bactéries, tandis que les 20 % restants sont produits par les moisissures.

Chronologie montrant la décennie où de nouvelles classes d'antibiotiques sont arrivées à la clinique est fournie par la **figure n°1**.

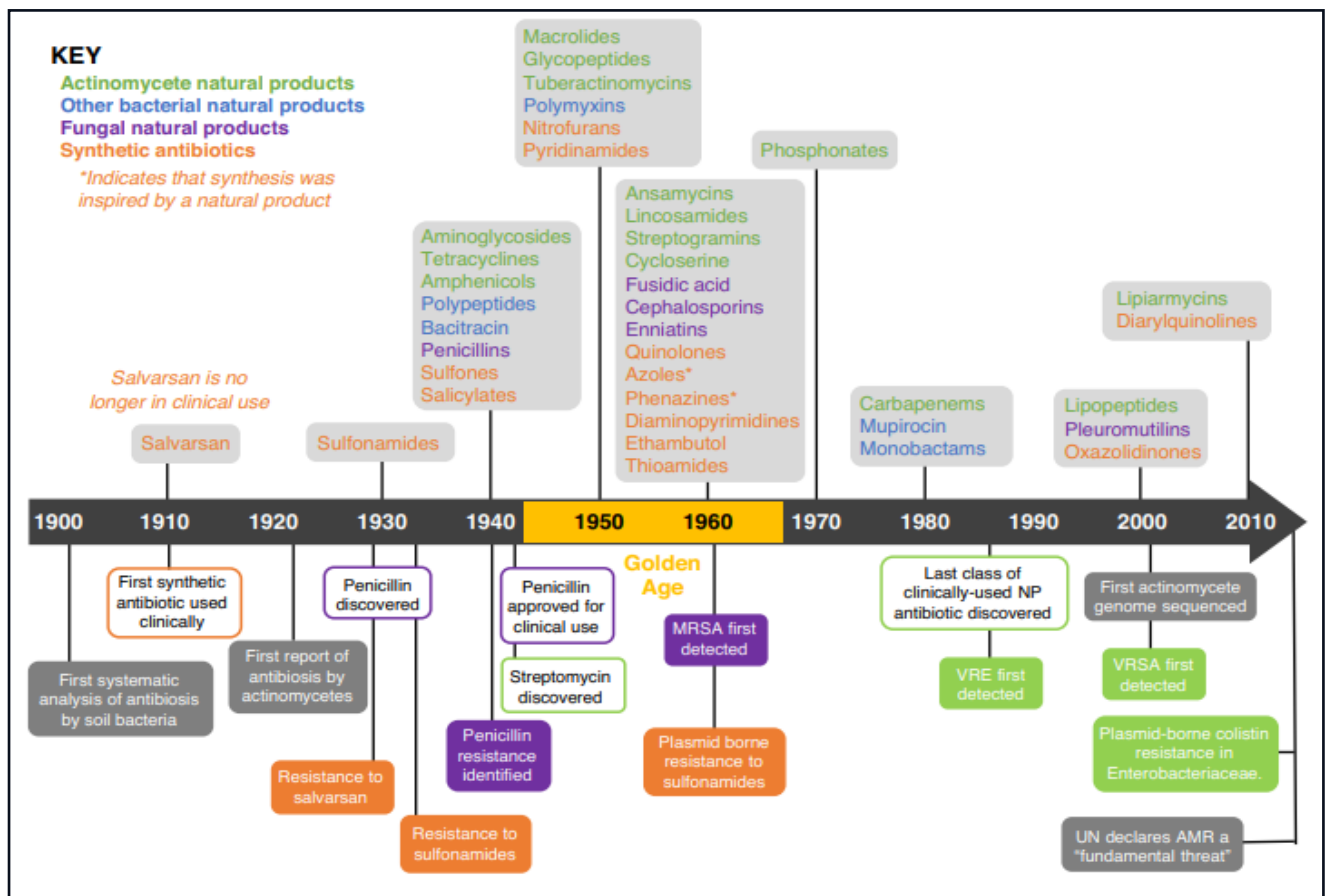


Figure n°1 : Chronologie montrant la décennie où de nouvelles classes d'antibiotiques sont arrivées à la clinique (Hutchings *et al.*, 2019)

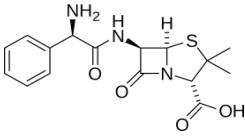
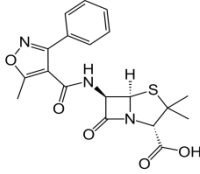
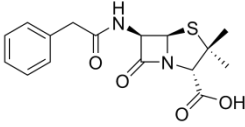
Les antibiotiques utilisés en médecine thérapeutique peuvent être divisés en groupes en fonction de leur famille chimique et de leur mécanisme d'activité. Les principaux groupes sont : les agents qui inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, dépolarisent la membrane cellulaire,

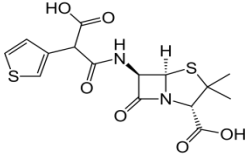
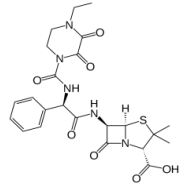
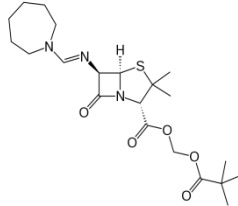
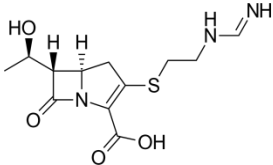
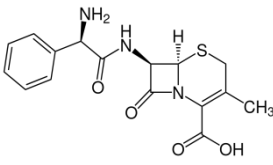
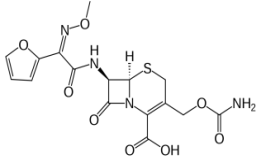
inhibent la synthèse des protéines (en ciblant les ribosomes), inhibent la synthèse des acides nucléiques et inhibent les voies métaboliques des bactéries.

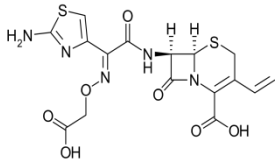
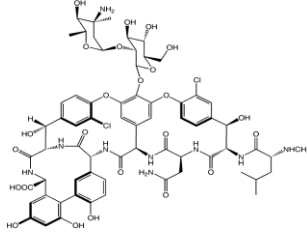
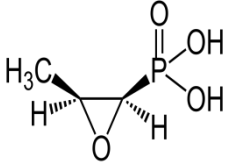
I.2.1.1 Les antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne

La paroi bactérienne est un élément de l'enveloppe cellulaire constituée principalement de peptidoglycane (PG), un hétéropolymère composé de glucides polymères et d'acides aminés. Le polymère glucidique consiste en une alternance de résidus de N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM) liés par des liaisons β -(1,4). Les résidus d'acide N-acétylmuramique sont généralement attachés à trois à cinq acides aminés qui sont souvent réticulés par leurs chaînes latérales. Trois modes d'action sont utilisés par les antibiotiques présentés par le **tableau n°1**.

Tableau n°1 : Classification des antibiotiques qui ont pour cible la paroi bactérienne (Perronne, 1999 ; Bégué et Astruc, 1999)

| Mode d'activité | Famille | Sous-famille | Exemple d'Antibiotiques | Spectre d'activité |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Inhibiteurs de la transpeptidase (enzyme indispensable aux bactéries pour la synthèse de leurs parois cellulaires) | Pénicillines | Pénicilline du type A |  Ampicilline | Bactéries à Gram positif et certaines bactéries à Gram négatives |
| | | Pénicillines du type M |  Oxacilline | Germes aérobies à Gram positif |
| | | Pénicillines du type G |  Pénicilline G = benzylpénicilline sodique | Germe à Gram positif |

| | | | | |
|--|-----------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| | | Carboxypénicillines |  <p>Ticarcilline</p> | Germes à Gram positif et à Gram négatif |
| | | Uréidopénicillines |  <p>Pipéracilline</p> | |
| | | Amidopénicillines |  <p>Pivmecillinam</p> | Germes aérobies à Gram à négatif |
| | | Carbapénèmes |  <p>Imipenème</p> | Germes aérobies et anaérobie à Gram positif et à Gram négatif |
| | Céphalosporines | 1 ^{er} génération (C1G) |  <p>Céfalexine</p> | Germes à Gram positif et à Gram négatif |
| | | 2 ^{ème} génération (C2G) |  <p>Céfuroxime</p> | |

| | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | 3 ^{ème} génération (C3G) |  <p>Céfixime</p> | Germes à Gram positif et à Gram négatif y compris les anaérobies sauf <i>Prevotella</i> et <i>Fusobacterium</i> . |
| Inhibiteurs de la polymérisation du peptidoglycane (Inhibent la transglycolysation) | Glycopeptides | |  <p>Vancomycine</p> | Germes à Gram positif |
| Inhibiteurs de la formation d'acide N-Acétyle Muramique (NAM) (Action sur la pyruvyl transférase) | Fosfomycine | |  <p>Fosfomycine</p> | Germes à Gram positif et négatif |

I.2.1.2 Les antibiotiques actifs au niveau de la membrane plasmique

Certains antibiotiques ont un effet bactéricide en ciblant la membrane plasmique de la bactérie. L'administration par voie générale de ces antibiotiques polypeptidique est extrêmement toxique. Ce sont des substances naturelles produites par des bactéries du genre *Bacillus*.

- Polymyxine B et colistine

La polymyxine B ou colistine (polymyxine E) sont des antibiotiques polypeptidiques cycliques (**figure n°2**) produits par *Bacillus polymyxa*. Cinq classes chimiques (A, B, C, D et E) sont décrites, mais seule la polymyxine B et la polymyxine E sont utilisés en thérapeutique.

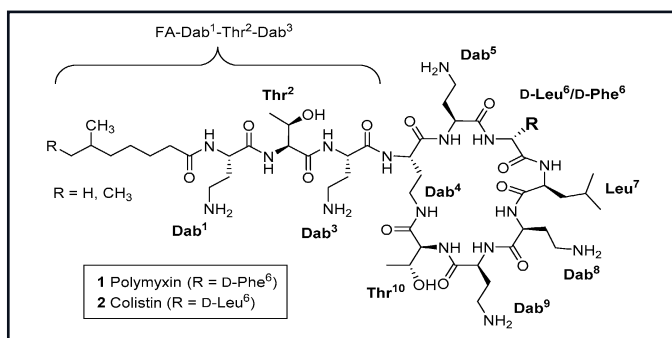


Figure n°2 : Structures de la polymyxine B1 et de la polymyxine E2 (colistine) (Benedict et Langlykke, 1947)

Ces antibiotiques provoquent des modifications de la membrane plasmique en s'intégrant à celle-ci et en générant des pores qui entraînent des échanges anormaux, notamment la libération de phosphate. Les bactéries à Gram négatif comme *Escherichia coli* sont particulièrement sensible à ces antibiotiques.

- **Gramicidine**

La gramicidine (**figure n°3**), est un mélange hétérogène de trois composés d'antibiotiques, les gramicidines A, B et C, représentant respectivement 80 %, 6 % et 14 %, isolés de *Bacillus brevis* et appelés collectivement gramicidine D. Les gramicidine sont des peptides de 15 résidus avec des acides aminés D et L alternés, qui s'assemblent à l'intérieur de l'intérieur hydrophobe de la bicouche lipidique cellulaire pour former une β -hélice (Nagy *et al.*, 2004). Active contre la plupart des bactéries Gram-positives et certains organismes Gram-négatifs

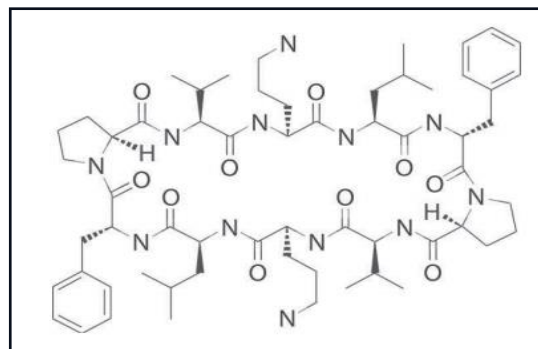


Figure n°3 : Structure de la Gramicidine

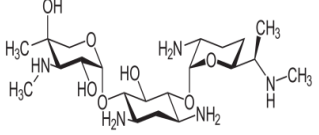
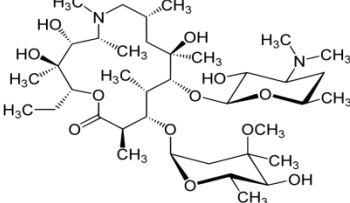
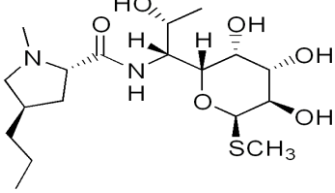
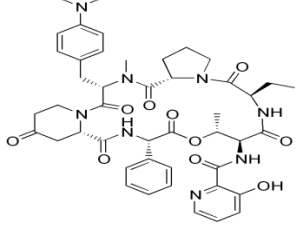
La gramicidine D se lie et s'insère dans les membranes bactériennes (avec une forte préférence pour les membranes des cellules à Gram positif). Il en résulte une perturbation et une perméabilisation de la membrane (elle agit comme un canal). Il en résulte (i) une perte de solutés intracellulaires (par exemple, K^+ et acides aminés) ; (ii) une dissipation du potentiel transmembranaire ; (iii) une inhibition de la respiration ; (iv) une réduction des réserves d'ATP ; et (v) une inhibition de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines, ce qui entraîne la mort cellulaire (Borgia *et al.*, 1996).

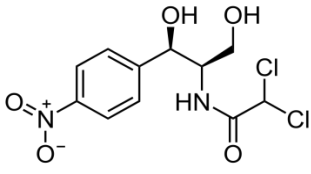
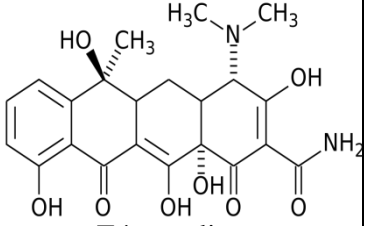
I.2.1.3 Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes

Le ribosome bactérien cytoplasmique, est le site où se déroule le processus de synthèse des protéines. Il est nécessaire que ces antibiotiques traversent le peptidoglycane ainsi que les

différentes membranes afin de pénétrer dans le cytoplasme et d'arriver à leur cible, le ribosome, qui sont des assemblages macromoléculaires présents dans toutes les cellules (eucaryotes et procaryotes), composée à la fois d'ARN et de protéines. Les ribosomes constituent de deux sous-unités, la petite lit la séquence d'ARN messager (ARNm) et la grande traduit ce code génétique en une chaîne spécifique d'acides aminés, qui se développent en longues chaînes qui se replient pour former des protéines. Le **tableau n°2** énumère les familles des antibiotiques concernées et leurs mécanismes d'actions.

Tableau n°2 : Classification des antibiotiques qui ciblent les ribosomes (Le Minor et Véron, 1989 ; Houvenaeghel, 1992 ; Thévenot, 2003)

| Mécanismes d'actions | Famille | Sous famille | Exemple d'Antibiotiques | Spectre d'activité |
|------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Inducteur d'erreurs de décodage | Aminosides | |  Gentamicine | Les coques et les bacilles à Gram positif + et Gram négatif |
| Inhibition de l'élongation par le site P | Macrolides, Lincosamides Synergistines (MLS) | Macrolides |  Azithromycine | Germe à Gram positif et négatif sauf <i>Enterobacter</i> et <i>Pseudomonas</i> |
| | | Lincosamides |  Lincomycine | |
| | | Synergistines |  | |

| | | | | |
|----------------------------------------------------|------------|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | Pristinamycine | |
| Inhibition de l'activité de la peptidyltransferase | Phénicoles | |  <p>Chloramphénicol</p> | Germe à Gram positif et négatif y compris <i>Neisseria</i> , streptocoque, <i>Haemophilus</i> et <i>Salmonelle</i> |
| Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert | Cyclines | |  <p>Tétracycline</p> | |

I.2.1.4 Les antibiotiques qui ciblent l'ARN

Les rifamycines appartiennent à un groupe de composés anti-infectieux produits par *Amycolatopsis rifamycinica*. La découverte de cette souche d'actinomycète dans *Streptomyces mediterranei* (plus tard *Amycolatopsis mediterranei*) en 1957 a permis la production par fermentation de substances intéressantes actives contre les bactéries Gram-positives. L'extrait brut de cette fermentation était composé de cinq substances, qui ont été nommées rifamycines A, B, C, D et E. Toutes les rifamycines (**figure n°4**) utiles en thérapeutique sont des dérivés semi-synthétiques de la rifamycine B (**Parenti *et al.*, 2010**).

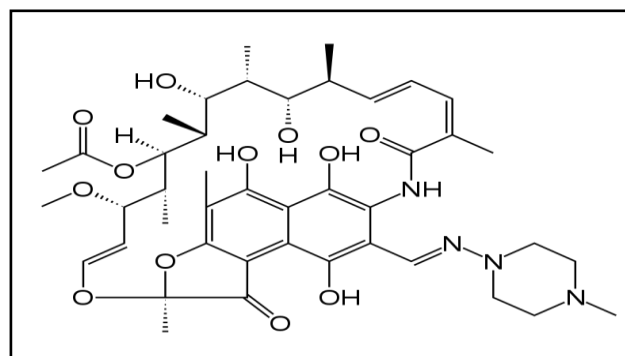


Figure n°4 : Structure de la rifampicine

Structurellement, cette classe de composés est caractérisée par une structure cyclique à 25 chaînons dans laquelle une chaîne aliphatique forme un pont entre deux positions non adjacentes d'un cycle naphthalène. Cette classe de composés antibactériens agit par inhibition

de la synthèse de l'ARN bactérien en se liant à la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN-dépendante (Chopra, 2007)

I.2.1.5 Les antibiotiques qui ciblent l'ADN

Sans la synthèse de l'ADN et de l'ARN, les cellules ne peuvent pas se diviser ou produire des protéines. Un certain nombre d'antibiotiques peuvent perturber directement ou indirectement ces voies de biosynthèse des acides nucléiques, il s'agit principalement des quinolones, qui sont des antibiotiques synthétiques et dérivent de l'acide nalidixique. Les molécules de cette famille sont regroupées par génération (figure n°5) comme les céphalosporines (Andriole, 2000 ; Hooper et Rubinstein, 2003).

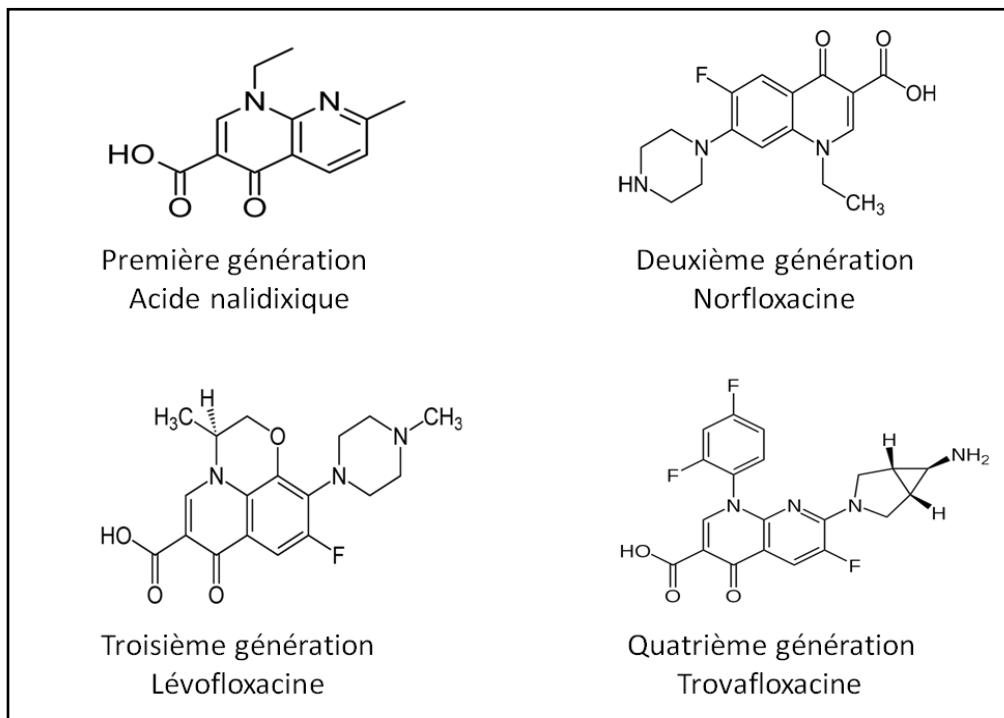


Figure n°5 : Principales structures des quinolones (Andriole, 2000)

L'acide nalidixique et d'autres composés apparentés (l'acide pipémidique, l'acide oxolinique et la fluméquine) font partie des quinolones de la première génération. Ils ont un effet sur les bactéries Gram-négatives sauf le genre *Pseudomonas*. Leur mauvaise diffusion tissulaire limite leur usage aux infections urinaires non compliquées.

La norfloxacine, un antibiotique de deuxième génération, renforce son action antibactérienne en ajoutant un atome de fluor à l'acide nalidixique en position C6 et à la pipérazine en position C7. Le fluor est caractéristique des fluoroquinolones. La ciprofloxacine est dérivée de

la norfloxacine par l'introduction d'un radical (cyclopropyl) sur l'azote N 1, ce qui améliore sa biodisponibilité. Ces modifications chimiques à partir des quinolones de la première génération ont étendu leur spectre sur les bactéries à Gram négatif, et elles ont également une activité contre *Pseudomonas aeruginosa*. Leur spectre d'activité inclut les bactéries Gram-positives dont *Staphylococcus aureus* mais pas *Streptococcus pneumoniae*.

En raison de leur biodisponibilité limitée, Certains antibiotiques de ce groupe comme la norfloxacine, la loméfloxacine et l'énoxacine ne sont utilisées que pour traiter les infections des voies urinaires. Les autres antibiotiques tels que La ciprofloxacine et l'ofloxacine, dont les taux sériques et la diffusion tissulaire sont plus élevés, peuvent traiter divers sites d'infection.

Les quinolones de troisième génération ciblent les bactéries à Gram positif incluant les streptocoques (*pneumoniae* et *pyogènes*), *Klebsiella pneumoniae* et *Moraxella catarrhalis*. Elles sont parfois dites "quinolones respiratoires", par opposition aux "quinolones urinaires" des générations précédentes. Ce groupe renferme la grépafloracine, la témafloracine, la lévofloxacine, la balofloxacine, la sparfloxacine, la tosufloxacine et la pazufloxacine.

Les quinolones dites de "quatrième génération" ont un spectre d'activité plus large que les quinolones de troisième génération. Elles ont également une activité qui s'étend aux bactéries anaérobies, y compris *Bacteroides fragilis*.

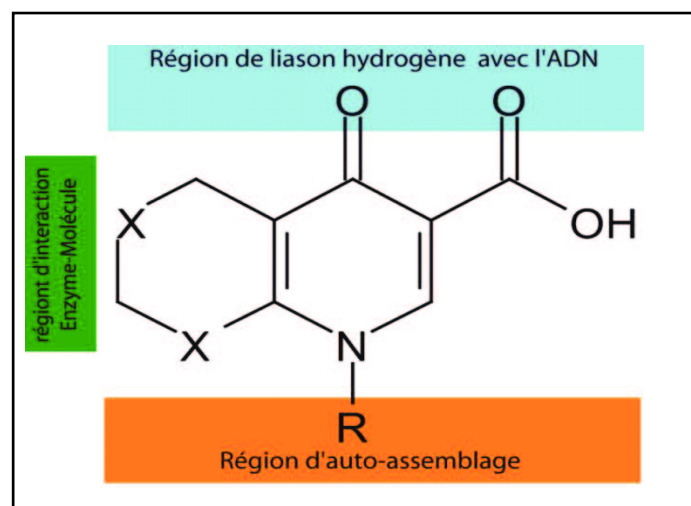


Figure n°6 : Régions fonctionnelles des quinolones

Les antibiotiques de la famille des quinolones agissent en inhibant deux enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien, qui sont l'ADN gyrase et la topoisomérase. Ces antibiotiques ont une région qui se lie à l'ADN bactérien par des liaisons hydrogène. Le

groupe carbonyle de la quinone est situé dans cette partie de la molécule. Cette molécule forme également une liaison spécifique avec les topoisomérases (**figure n°6**). Ces enzymes déroulent l'ADN pour la transcription ou enroulent l'ADN après sa transcription. Elles régulent ainsi la synthèse des protéines et la division cellulaire bactérienne.

I.2.2 Les résistances aux antibiotiques

Après une période d'efficacité significative contre les maladies infectieuses, les antibiotiques deviennent moins efficaces face à certaines infections bactériennes. Abraham et Chain ont montré que *Escherichia coli* présentait une résistance à la pénicilline dès 1940, peu après la découverte de cet antibiotique (**Abraham et Chain, 1940**). Les bactéries s'adaptent aux antibiotiques et deviennent résistantes. Cette résistance peut être naturelle ou acquises.

I.2.2.1 La résistance bactérienne naturelle (ou intrinsèque).

La plupart des microorganismes dans un environnement donné produisent des antibiotiques, qui sont des composés naturels, pour supplanter d'autres micro-organismes présents dans leur environnement. Cependant, ces molécules peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. On dit que ces micro-organismes ont une résistance naturelle contre cette molécule. Ce caractère de résistance naturelle à un antibiotique donné est présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (**Courvalin et al., 2001**). On peut citer, à titre d'exemple Les mycoplasmes (bactéries dépourvues de parois) sont naturellement résistants aux β -lactames, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane. Chez les bacilles à Gram négatif, la présence d'une membrane externe confère une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes par imperméabilité (**Normak et Normak, 2002**).

I.2.2.2 La résistance acquise

La résistance d'une bactérie à un antibiotique peut également être acquise. Elle apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, qu'est normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui entraîne une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Dans ce cas, la résistance peut être acquise par deux voies distinctes. Soit par mutation chromosomique (évolution verticale) soit l'acquisition des gènes étrangère entre bactéries via des éléments génétiques mobiles (transfert horizontal).

I.2.2.2.1 Résistance par mutation chromosomique (évolution verticale)

En clinique, Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont peu répandues. Elle présente moins de 20% des résistances acquises. Sont induites par des modifications structurales qui soit entraînent une diminution de la perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit rendent non pertinentes les cibles spécifiques de ces antibiotiques. Ces résistances mutationnelles présentent plusieurs caractères. C'est un phénomène rare (taux de mutation de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-9}). Elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique ne provoque pas de mutation. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en participant à la sélection des bactéries mutantes. Elle est spécifique (n'intéressent qu'un seul antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. On note aussi sa stabilité et son aspect héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles) (**Courvalin et al., 2001**).

I.2.2.2 La résistance par acquisition de gènes (évolution horizontale)

Il s'agit ici de la résistance par des éléments génétiques mobiles (gain d'ADN extra-chromosomique) dont les transposons ou les intégrons, les plasmides sont le plus fréquent. Le plasmide est un fragment d'ADN indépendant du chromosome circulaire, biacténaire, cytoplasmique et capables de se répliquer de manière autonome. Il peut porter un ou plusieurs gènes de résistance ou apporter de la virulence aux bactéries qui les reçoivent. Ces fragments d'ADN peuvent être passés d'une bactérie donatrice (male : F⁺) à une autre réceptrice (femelle : F⁻). Ce transfert peut se faire entre deux bactéries de sexe différent

La résistance bactérienne par acquisition de gènes exogènes représente la majorité des cas isolés en clinique. Elle concerne en effet plus de 80% des résistances acquises. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire de plusieurs façons dont la conjugaison, la transformation et la transduction (**Baudry et Brézellec, 2006**).

A. Conjugaison

Transfert d'ADN au sens unique d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente par contact direct via des plasmides ou des transposons. (Transfert inter-espèce, souvent à partir de bactéries non pathogènes de l'environnement).

B. Transformation

L'intégration d'un fragment d'ADN libre (par lyse, ou libération active) d'une bactérie dans une autre qui soit en état de compétence. Cette intégration d'ADN est suivie d'une recombinaison génétique.

C. Transduction

Transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre via un bactériophage ou phage transducteur (transfert intra-espèce).

I.2.2.3 Evolution des bactéries résistantes aux antibiotiques

Les différents mécanismes d'acquisition de la résistance permettent de mieux comprendre leur apparition ainsi que des activités qui les favorisent. Deux mécanismes génétiques fondamentalement différents dont la résistance acquise par la transmission des gènes qu'est le plus souvent et la résistance acquise par mutation chromosomique. Lorsque ces deux mécanismes sont combinés, la fréquence de la résistance augmente. La résistance a d'abord été observée chez les staphylocoques, les streptocoques et les gonocoques ; après l'introduction du tout premier antibiotique commercial, la pénicilline, sur le marché en 1941, le *S. aureus* résistant à la pénicilline est apparu un an plus tard, en 1942 (**Crits-Christoph et al., 2022**). De même, la méthicilline, un antibiotique semi-synthétique apparenté à la pénicilline qui a été introduit sur le marché en 1960 pour combattre les *S. aureus* résistants à la pénicilline, est devenue résistante à la méthicilline la même année (**Uddin et al., 2021**). Il est important de souligner que ces résistances croisées ont commencé à s'apparue progressivement après l'utilisation de différents antibiotiques pour le traitement des infections à *Staphylococcus aureus*. La seule façon dont la bactérie a réussi à s'adapter aux nouvelles méthodes de traitement est de développer des résistances.

Le développement de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries est de plus en plus fréquent, ce qui est très préoccupant. Les bactéries qui sont résistantes à plusieurs antibiotiques sont classées en fonction du nombre de familles d'antibiotiques contre lesquelles elles n'ont plus d'effet. On distingue les bactéries multirésistantes de type MDR (Multidrug resistant), XDR (Extensively Drug resistant), et PDR (Potentially Drug Resistant) en utilisant le mode de classification qui est basé sur le phénotype de la bactérie

Selon la terminologie internationale normalisée créée par le Centre européen de contrôle des maladies (ECDC) et le Centre de contrôle et de prévention des maladies (CDC) d'Atlanta, les

bactéries multirésistantes de type (MDR), (XDR) et (PDR) ont été bien définies (**Magiorakos et al., 2011**). La MDR a été définie comme une non-susceptibilité acquise à au moins un agent dans trois catégories antimicrobiennes ou plus.

XDR a été définie comme la non-susceptibilité à au moins un agent dans toutes les catégories d'antimicrobiens sauf deux ou moins (c'est-à-dire que les isolats bactériens restent sensibles à une ou deux catégories d'antimicrobiens seulement).

PDR a été définie comme la non-susceptibilité à tous les agents de toutes les catégories d'antimicrobiens. Ainsi, un isolat bactérien qui est caractérisé comme XDR sera également caractérisé comme MDR. De même, un isolat bactérien devrait être XDR pour qu'il soit défini comme PDR. La **figure n° 7** montre que XDR est un sous-ensemble de MDR, et que PDR est un sous-ensemble de XDR. Les bactéries qui sont PDR portent le type le plus absolu de résistance aux antimicrobiens possibles, ce qui implique qu'il n'y a aucun agent antimicrobien approuvé qui ont une activité contre ces souches.

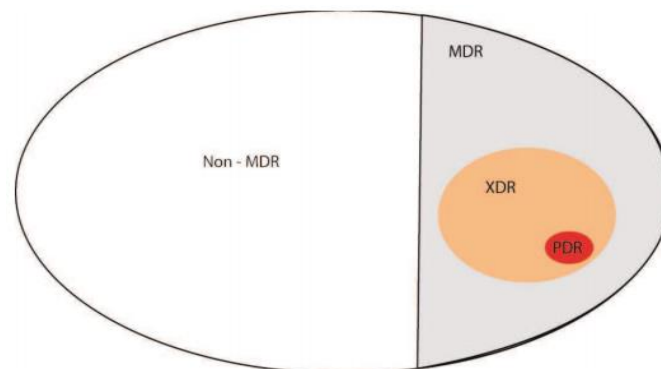


Figure n°7 : Diagramme montrant la relation entre MDR, XDR et PDR les unes par rapport aux autres. (Magiorakos et al., 2012)

L'acquisition des gènes de multirésistance antibactérienne portés souvent par des plasmides conférant une résistance à plusieurs antibiotiques semble être le mécanisme génétique clé qui a permis la dissémination de ces superbactéries répandues dans le monde entier (**Uddin et al., 2021**). En outre, il arrive que dans le cas d'une mutation chromosomique, la mutation affecte les porines, ce qui entraîne des résistances simultanées dans les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, comme la résistance aux aminoglycosides et aux -lactamines, par exemple. Par le même processus, des isolats de *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* et *Serratia spp* peuvent être

simultanément résistants aux β -lactamines, aux quinolones, au chloramphénol et au triméthoprim.

I.2.2.4 Épidémiologie des résistances bactériennes

Une consommation accrue d'antibiotiques est généralement à l'origine d'une augmentation de la fréquence d'apparition de souches bactériennes résistantes et multirésistantes. Il est prouvé que ces composés exercent une pression sur les bactéries, entraînant le développement d'une résistance aux antibiotiques (Jan *et al.*, 2000). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a donc préconisé la mise en place d'institutions et de réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques ainsi que des comités sur le bon usage de ces substances, dont l'objectif est de dresser périodiquement l'état des lieux des résistances bactériennes en vue de mieux adapter l'antibiothérapie.

I.2.2.4.1 Variabilité géographique des résistances

La prévalence des résistances aux antibiotiques varie géographiquement en fonction des habitudes des populations locales du pays telles que la perte de la sensibilité des patients et de l'automédication, la surconsommation et de l'abus d'antibiotiques, les précautions contre les infections nosocomiales, le mauvais environnement de soins, la mauvaise hygiène personnelle et l'utilisation agricole généralisée, etc. la prévalence du *staphylocoque aureus* résistant à la méticilline (SARM) a été mesurée dans différents pays (figure n°8) (Lee *et al.*, 2018). Dans les pays Africaines, la prévalence du SARM varie de 10 % à <25 en Tunisie, au Maroc, en Sénégal, en Côte d'Ivoire et en Cameroun, à <50% en Algérie, en Egypte, en Kenya, au Nigeria, en République centrafricaine et en Afrique du Sud. La prévalence du SARM en Afrique au cours de la dernière décennie semble être plus élevée qu'avant 2000, du moins dans certaines régions (Kesah *et al.*, 2003). Dans certaines régions d'Asie, le SARM représente jusqu'à 50 % des infections sanguines à *S. aureus*. Dans les pays européens, la prévalence des SARM montrent un gradient du Nord vers le Sud, avec moins de 5 % dans le nord (par exemple, les Pays-Bas, la Norvège, Suède et Danemark) contre 25 à 50 % dans le Sud (par exemple, Portugal, Espagne, Italie et Grèce).

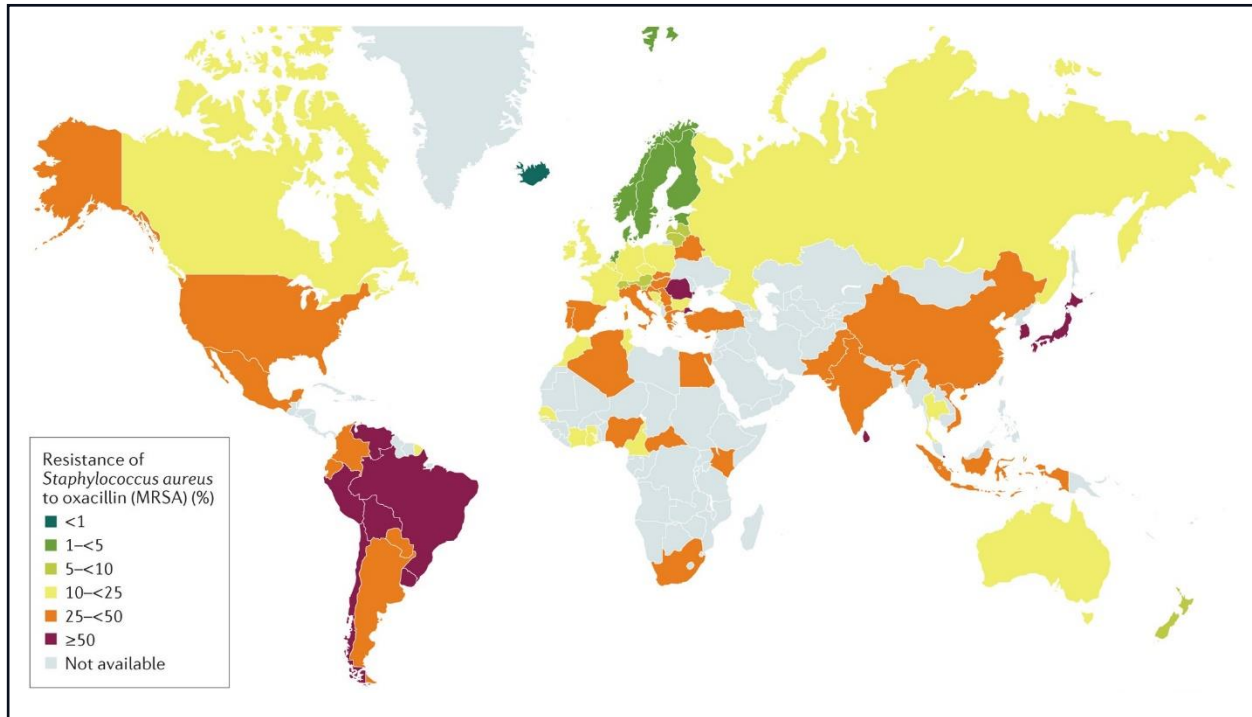


Figure n°8 : Prévalence mondiale du SARM. Le pourcentage d'isolats de *Staphylococcus aureus* résistants à l'oxacilline (c'est-à-dire les isolats de *S. aureus* résistants à la méthicilline (SARM)) (Lee et al., 2018).

I.2.2.4.2 Impact de la consommation des antibiotiques

La mauvaise utilisation des antibiotiques peut être un facteur majeur à la mise en place des bactéries pathogènes résistantes dans un environnement donné. Cette observation a conduit à l'identification des gestes incorrects qui facilitent ces événements. Ces gestes sont généralement attribuables à l'utilisation incorrecte de ces composés antimicrobiens.

Le premier est lié à la consommation accrue et inappropriée des antibiotiques. Il existe un paradoxe : plus les antibiotiques sont utilisés, plus leur efficacité diminue (Monnet, 2000). Il a été établi que leur usage intensif est un facteur d'émergence des bactéries résistantes, notamment par utilisation non conforme.

Certains auteurs affirment qu'un patient qui prend une dose élevée d'antibiotiques sur une période prolongée est plus susceptible de contracter une infection ou de voir des bactéries résistantes coloniser sa flore (McGowan, 1987). De même, l'administration d'une dose insuffisante à un patient augmente la probabilité que les bactéries développent une résistance chez ce patient (Guillemot et al., 1998).

Une étude menée par le projet ICARE en partenariat avec huit hôpitaux des États-Unis d'Amérique démontre le lien entre l'utilisation d'antibiotiques et l'émergence de souches bactériennes résistantes. Cette étude a été effectuée sur l'évolution des *Pseudomonas* résistants à la céftazidime (une céphalosporine de la troisième génération) en fonction de la consommation de cet antibiotique. La **figure n°9** montre que le pourcentage de *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la céftazidime augmente avec le nombre de doses quotidiennes par millier de jours d'hospitalisation dans les hôpitaux participant à ce projet (Monnet *et al.*, 1995).

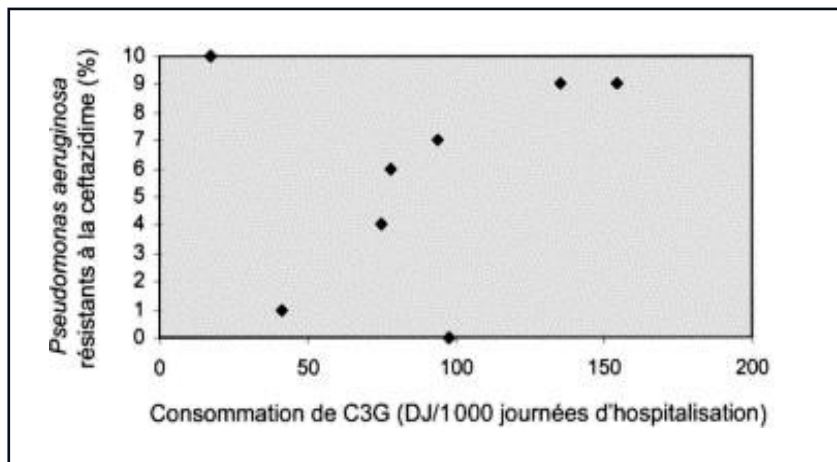


Figure n°9 : Pourcentage de *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la céftazidime dans huit hôpitaux américains participant au projet ICARE en fonction de la consommation de céphalosporines de troisième. DJ = dose journalière (Monnet *et al.*, 1995)

Une autre étude menée dans des hôpitaux des États-Unis a mis en évidence une corrélation entre la consommation des antibiotiques et le développement des souches bactériennes résistantes. Selon les résultats de cette étude, il y a eu une augmentation alarmante du taux des souches de *Staphylococcus* qui étaient auparavant résistantes à la méthicilline mais qui ont maintenant développé une résistance à la vancomycine en raison d'une augmentation de l'utilisation de cet antibiotique (Schentag *et al.*, 1998). En outre, ces observations ont été faites sur le développement de la résistance à l'imipénème chez des souches de *Klebsiella* qui étaient initialement résistantes aux céphalosporines. Cette résistance a évolué en fonction de la quantité de cet antibiotique qui était prise (Rahal *et al.*, 1998).

L'évolution des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques est également facilitée par d'autres formes d'utilisation des antibiotiques. Il s'agit de La médecine vétérinaire, l'élevage agricole et l'agriculture.

Leur utilisation en médecine vétérinaire présente des impacts aussi comparables à ceux rencontrés en médecine humaine. Environ 40 % des antibiotiques utilisés chaque année sont administrés aux animaux, ce qui rend cette pratique loin d'être négligeable. Ces composés trouvent leur application dans l'industrie de l'élevage, où ils sont utilisés pour le traitement ou la prévention de certaines maladies. C'est cette dernière raison qui pousse les éleveurs à un usage systématique même en absence d'infection microbienne car selon eux, les antibiotiques auraient des caractéristiques de " stimulateur de croissance " chez ces animaux (**Guillot et Lafont, 1989**).

De plus, l'utilisation de ces composés en agriculture a un effet important sur l'environnement, même si elle ne concerne qu'un petit nombre de familles d'antibiotiques. Il s'agit d'une procédure qui concerne la streptomycine et un dérivé de la tétracycline et qui représente 0,1 % du total des antibiotiques consommées aux États-Unis. Même si les antibiotiques ne sont utilisés qu'en petites quantités, les micro-organismes du sol et de l'environnement y sont toujours exposés (**Andremont et Tibon-Cornillot, 2007**). Il existe donc un risque important de sélection de souches résistantes de diverses espèces bactériennes par ce mode d'utilisation.

Quelle que soit la forme dont les antibiotiques sont utilisés (en médecine humaine, en médecine vétérinaire, en agriculture ou en élevage), ils finissent par se retrouver dans l'environnement (eaux usées, déversoirs et nappes souterraines). Une étude réalisée aux États-Unis d'Amérique sur des échantillons d'eaux usées provenant de trente États différents a révélé la présence de vingt-deux antibiotiques différents à des concentrations de l'ordre du microgrammes par litre (**Kolpin et al., 2002**). Une étude similaire menée en Côte d'Ivoire a révélé la présence de trois antibiotiques et d'autres produits pharmaceutiques dans les eaux usées et des déversoirs d'Abidjan, à des concentrations du même ordre de grandeur que les valeurs trouvées dans l'étude précédente (**Kouadio et al., 2009**). Les quantités semblent faibles, mais certains auteurs affirment qu'elles seraient suffisantes pour sélectionner les bactéries résistantes (**Corpet et al., 1989**).

I.2.2.4.3 Epuisement de l'arsenal thérapeutique

Nous aurons contraint sans doute plusieurs cas d'impasses thérapeutiques si les bactéries développent une multirésistance de type XDR ou PDR par rapport aux antibiotiques dont nous disposons. Ces dernières années, nous assistons un déclin dans la production de nouveaux antimicrobiens. Les sociétés pharmaceutiques ont cessé de vendre de nouvelles molécules

antibiotiques de plus en plus au fil du temps. Ce déclin a évolué de façon continue entre 1980 et 2000 (Bush, 2004). Avant 1980, le " linézolide " était le dernier antibiotique appartenant à une famille nouvelle (Leach *et al.*, 2011). La recherche en antibiothérapie n'est plus un investissement compétitif, car l'identification des cibles moléculaires au sein des bactéries deviennent de plus en plus difficile (Andremont et Tibon-Cornillot, 2007).

D'autre part, on estime que les antibiotiques ont une valeur de production nette (NPV) de cent millions de dollars. Comparée aux anticancéreux (300 millions de dollars), aux médicaments pour le système nerveux central (720 millions de dollars) et aux médicaments pour le système musculosquelettique (estimés à un milliard et cent cinquante millions de dollars), sa valeur est nettement inférieure (Wenzel, 2004).

En outre, depuis les années 1980, la réduction de notre arsenal antimicrobien a entraîné une exposition prolongée des bactéries aux mêmes composés par le biais de l'antibiothérapie.

Le résultat est que la bactérie, quel que soit l'antibiotique auquel elle sera soumise pour l'éradiquer, finira par s'adapter au fil du temps, soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de gènes de résistance. Pour lutter avec succès contre les bactéries pathogènes et infectieuses, il faut avoir en permanence une longueur d'avance sur les nouvelles souches de bactéries qui ont développé une résistance.

Selon la spirale de la résistance proposée par Carlet et ses collègues (2004) (figure n°10), l'émergence de souches bactériennes résistantes ou multirésistantes inquiète les cliniciens et les chercheurs.

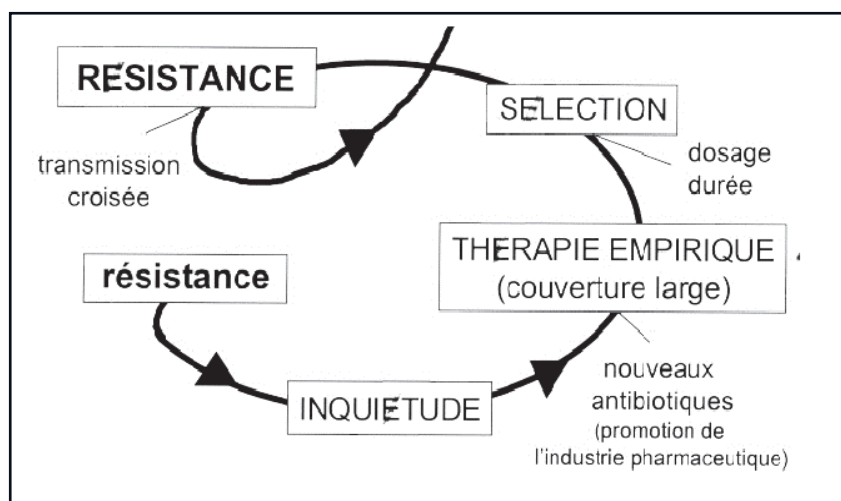


Figure n°10 : Spirale de la résistance de Carlet (Carlet *et al.*, 2004)

L'industrie pharmaceutique répond à cette inquiétude en développant de nouveaux antibiotiques qui sont efficaces contre le nouveau type de bactérie résistante. L'utilisation constante de ce nouveau composé créera systématiquement de nouvelles formes de résistance, ce qui entraînera une nouvelle source d'inquiétude.

En attendant la découverte et l'optimisation d'autres méthodes alternatives pour lutter contre les pathogènes, il est évident que la seule approche pour anticiper l'adaptation des bactéries est de mettre à jour l'arsenal thérapeutique des composés antimicrobiens. Par conséquent, la recherche de ces composés dans les plantes médicinales pourrait être une option intéressante à développer.

I.3 Lutte contre les pathogènes avec les plantes médicinales

I.3.1 Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, « La médecine traditionnelle est très ancienne : elle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques reposant rationnellement ou non sur des théories, des croyances et des expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, améliorer ou traiter des maladies physiques et mentales ». Dans certains pays industrialisés, les appellations médecine complémentaire, parallèle, alternative, non conventionnelle sont synonymes de médecine traditionnelle qui existe depuis des millénaires (WHO, 2002).

Cette médecine est encore aujourd'hui largement utilisée dans les pays en développement, en raison de l'insuffisance et, par conséquent, de l'inaccessibilité des centres de santé modernes pour les populations des campagnes isolées, ainsi que du coût plus élevé du traitement d'un patient avec la médecine moderne comme l'illustre la **figure n°11**. Selon une étude réalisée par Ahorlu en 1997 en Afrique de l'Ouest (Ghana), le traitement du paludisme à base des plantes est pratiquement gratuit et trois fois moins chers qu'un traitement à domicile (automédication) par l'utilisation de médicaments achetés en pharmacies sans ordonnance et seize fois moins chers qu'un traitement aux cliniques.

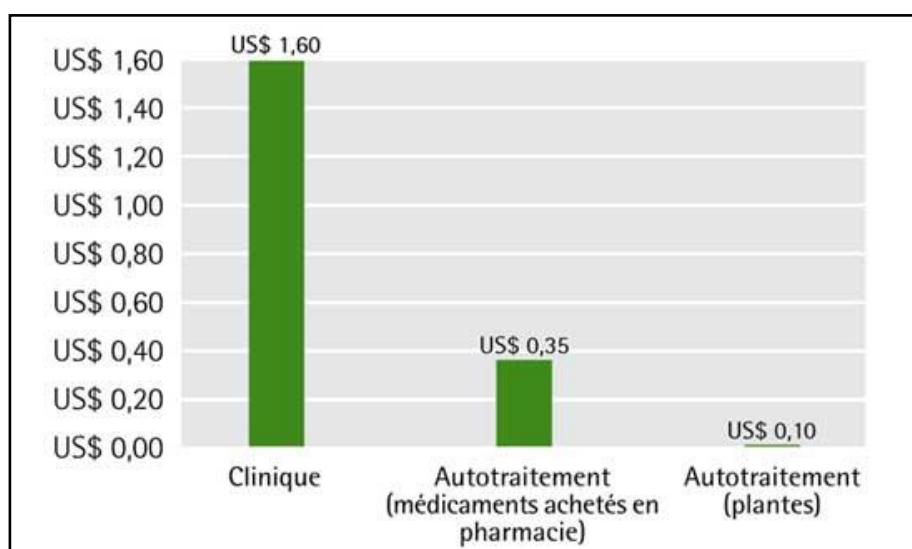


Figure n°11 : Coût de traitement du paludisme par divers type de soins au Ghana (Ahorlu, 1997)

Au Ghana, au Mali, au Nigéria et en Zambie, plus de 60 % des enfants ayant une forte fièvre sont d'abord traités avec des remèdes à base de plantes.

Depuis les années 1990, Le recours à cette médecine a connu aussi un succès croissant dans les pays développés. En Australie, en Belgique, en France, aux Etats-Unis d'Amérique et au Canada, 48 %, 31 %, 49 %, 42 % et 70 % de la population, respectivement, ont recours à la médecine traditionnelle au moins une fois (Fisher P & Ward A, 1999 ; Santé Canada, 2001, OMS, 1998)

Les populations dans de nombreux pays en voie de développement, selon les rapports de gouvernements à l'Organisation mondiale de la Santé, ont continué d'utiliser les préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de divers problèmes de santé parce qu'elles enregistrent des succès thérapeutiques. C'est ainsi que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a prouvé leur efficacité à travers 50 essais thérapeutiques randomisés (ETR) basés sur les travaux de différents auteurs publiés dans la revue "Therapeutics Letter" (figure n°12) (Therapeutics Letter, 1998 ; OMS, 2002).

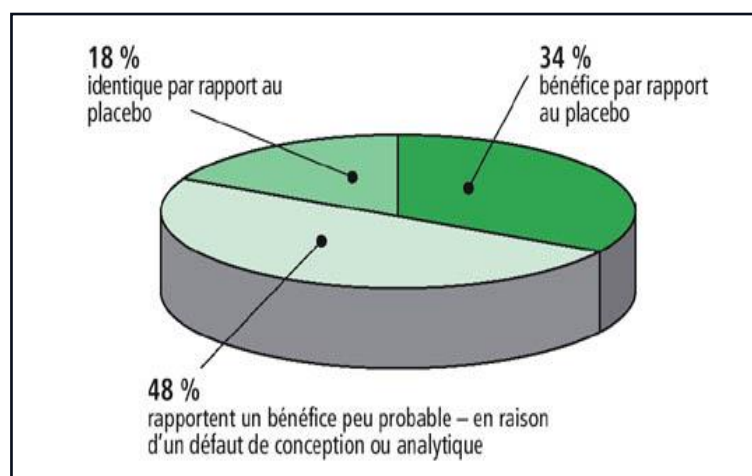


Figure n°12 : mise en évidence de l'efficacité de la médecine traditionnelle à partir de 50 ETR (WHO, 2002)

Certains patients aient recouru aux phytothérapies après une série d'échecs thérapeutiques avec la médecine moderne ou dans le cas où la médecine moderne semble impuissante (figure n°13). Selon une étude récente menée aux États-Unis a montré que 78% des patients porteuses du VIH/SIDA ont recours à la médecine traditionnelle, exclusivement ou en combinant avec la médecine moderne, pour plusieurs symptômes ou maladies (Ostrow *et al.*, 1997 ; WHO, 2002).

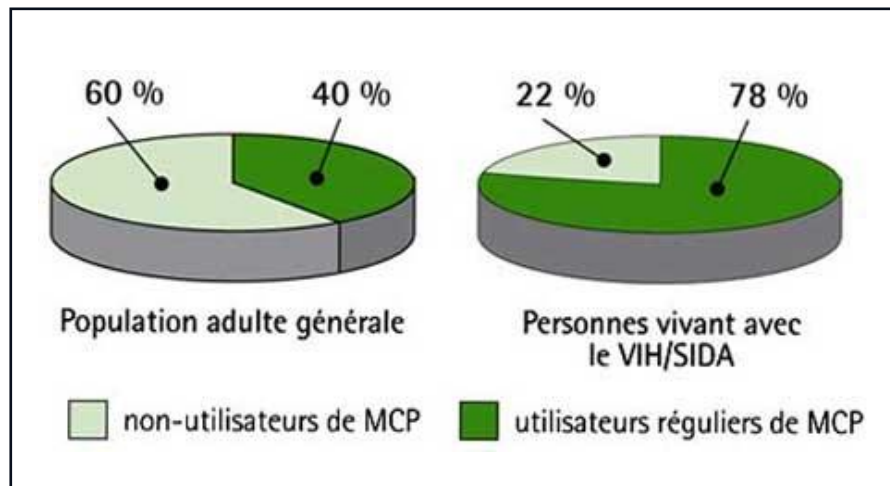


Figure n°13 : Recours à la Médecine Complémentaire Parallèle (MCP) par les patients vivant avec le VIH aux Etats Unis (Ostrow *et al.*, 1997 ; WHO, 2002)

On note toujours dans la même étude que 40 % de la population générale des adultes ont recours à la médecine complémentaire.

I.3.2 Le potentiel antimicrobien des plantes médicinales

Les plantes sont des êtres vivants capables de produire naturellement une variété de produits de différentes natures chimiques, qui sont utilisés pour la croissance et le développement des plantes. Elles synthétisent dans une première étape les glucides qui sont utilisés pour la synthèse de métabolites primaires (**Dewick, 2011**). Il s'agit de petites molécules telles que les sucres, les acides aminés, les acides tricarboxyliques ou les intermédiaires du cycle de Krebs, les protéines, les acides nucléiques et les polysaccharides, qui sont des composés essentiels à l'activité et au métabolisme des cellules végétales. Finalement, les métabolites primaires sont similaires dans toutes les cellules vivantes (**Seigler DS, 1995**).

A partir de ces métabolites primaires, la plante synthétise une grande variété de métabolites dits secondaires, plus complexes. Aujourd'hui, plusieurs de ces phytomolécules ont déjà été décrites mais un grand nombre reste encore mal connu et non caractérisé. Ces composés constituent les principes actifs des plantes médicinales exploités dans la médecine traditionnelle.

Les phytomolécules issues des métabolites secondaires sont classés en fonction de leur structure chimique en quatre grandes classes :

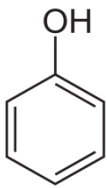
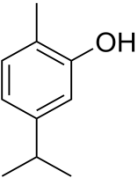
- Composés phénoliques ;
- Alcaloïdes ;
- Terpènes et Stéroïdes ;
- Autres constituants (dérivés simples des métabolites primaires).

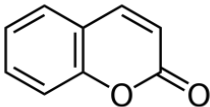
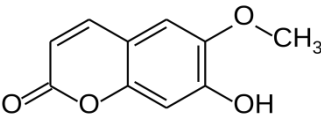
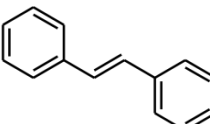
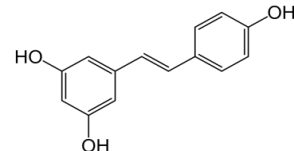
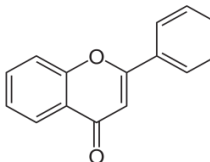
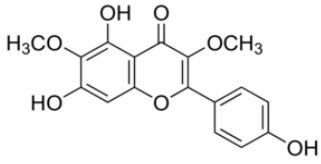
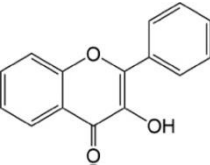
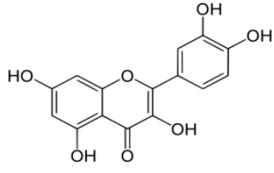
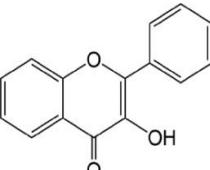
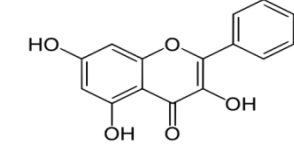
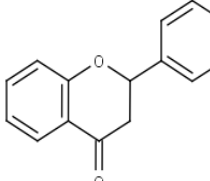
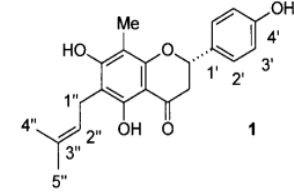
I.3.2.1 Composés phénoliques

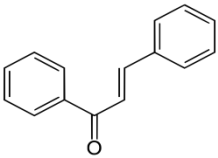
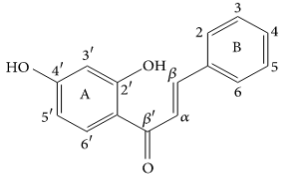
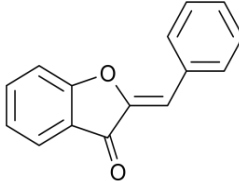
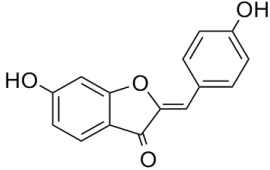
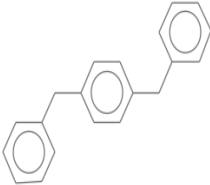
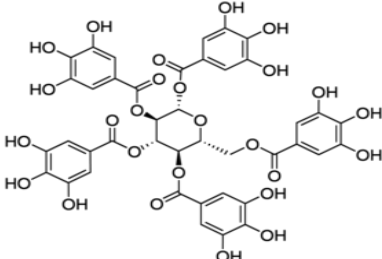
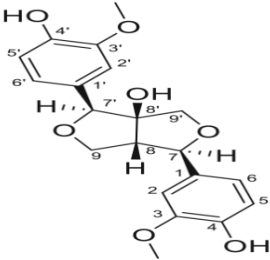
Les composés phénoliques ou polyphénols regroupent un vaste ensemble de molécules chimiques qui possèdent au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ce noyau porte d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH), libre ou engagé dans une autre fonction, éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 2009**). Les phytomolécules phénoliques correspondent à une très large gamme de structures allant des plus simples (acide gallique) aux plus complexes (les tanins). Les composés phénoliques sont une famille thérapeutiquement intéressante. Ils sont également dotés de nombreuses activités biologiques dont des activités antimicrobiennes (**Rath et al., 1995 ; Xiang et al., 2008 ; Cushnie et al., 2011 ; Basli et al., 2012 ; Ziani et al., 2018 ; Manso et al., 2022**).

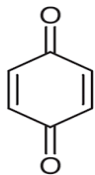
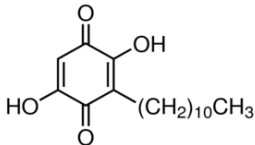
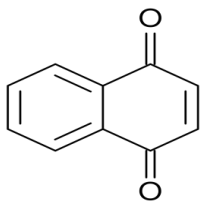
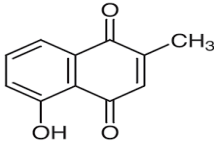
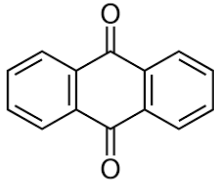
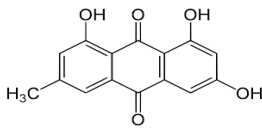
Il existe de nombreuses classes de polyphénols en fonction de leur voie de biosynthèse. On distingue ainsi les phénols simples, les coumarines, les stilbénoides, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les lignanes, les quinones... (**tableau n°3**).

Tableau n°3 : Structure et activités antimicrobiennes de quelques polyphénols

| Groupe | Sous-groupe | Structure de base | Exemple d'antimicrobien et leur Structure | Origine et références |
|---------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Phénol simple | |  |  Carvacrol | Antifongique et antibactérien, isolé de <i>Micromeria nervosa</i> . (Ali-Shtayeh et al., 1997) |

| | | | | |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Coumarine |  |  Scopoletin | Antifongique, isolé de <i>Melia azedarach</i> (Carpinella <i>et al.</i> , 2005) | |
| Stilbènes |  |  Resveratrol | Antifongique et antibactérien, isolé de <i>Polygonum japonicum</i> (Docherty <i>et al.</i> , 2001 ; Kukrić et Topalić Trivunović, 2006) | |
| Flavonoïdes | Flavone |  |  4',6,7-trihydroxy-3',5'- Dimethoxyflavone | Antibactérien isolé de <i>Artemisia giralda</i> (Zheng <i>et al.</i> , 1996) |
| | Flavonone |  |  Quercétine | Antiparasitaire, isolé de <i>Morinda morindoides</i> (Cimanga <i>et al.</i> , 2006) |
| | Flavononol |  |  Galangine | Antibactérien et antifongique isolé d' <i>Helichrysum aureonitens</i> (Afolayan, 1997) |
| | Flavanone |  |  5,7,4'-Trihydroxy-8- methyl-6 prenylflavanone | Antibactérien et antifongique isolé d' <i>Eysenhardtia texana</i> (Wachter <i>et al.</i> , 1999) |

| | | | | |
|-----------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Chalcone |  |  | Antibactérien isolé de <i>Flourensia oolepis</i> (Mariana Belén Joray et al., 2015) |
| | Aurone |  |  | Antifongique isolé de <i>Medicago truncatula</i> (Farag et al., 2009) |
| Saponines | | |  | Antibactérien, isolé d' <i>Abutilon indicum</i> (Lokesh ravi et al., 2016) |
| Tanins | | |  | Antibactérien, isolé de <i>Cytinus hypocistis</i> (Giuseppantonio Maisetta et al., 2019) |
| Lignanés | | |  | Antibactérien et antifongique, isolé de <i>Strombosia grandifolia</i> (Ekalu et al., 2019) |

| | | | | |
|----------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Quinones | Benzoquinone |  |  Embelin | Antibactérien, isolé de <i>Embelia ribes</i> (Radhakrishnan <i>et al.</i> , 2011) |
| | Naphtoquinone |  |  Plumbagin | Antifongique, isolé de <i>Nepenthes gracilis</i> (Gwee <i>et al.</i> , 2014) |
| | Anthraquinone |  |  Emodin | Antibactérien et Antifongique isolé de <i>Vismia laurentii</i> (Kemegne <i>et al.</i> , 2017) |

I.3.2.2 Terpènes et stéroïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, produits par de nombreuses plantes. Ils sont volatils et composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine de pin. Sur le plan structural, la particularité des terpènes la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à cinq atomes de carbone (C₅H₈) (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011). Les terpènes sont classés selon le nombre d'unités isopréniques qui constituent la molécule. On les classe en monoterpènes (2 unités : C₁₀), sesquiterpènes (3 unités : C₁₅), diterpènes (4 unités : C₂₀), triterpènes (6 unités : C₃₀) et carotènes (8 unités : C₄₀). Des activités antimicrobiennes des terpénoïdes ont été mises en évidence (Bourkhiss *et al.*, 2007 ; Goetz et Ghedira, 2012). Tableau n°4 donne quelques exemples de structures antimicrobiennes isolées chez certaines plantes.

I.3.2.3 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules organiques d'origine végétale. Représentent un Groupe de substances naturelles le plus vaste dont la structure comporte au moins un hétérocycle azoté. Ce sont des composés qui possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques significatives

telles qu'analgésique (la morphine, scopolamine), stimulants (caféine), Sympathomimétiques (éphédrine), antimicrobienne (imidazole, chloroquine, quinine), Anesthésiques locaux (cocaïne), anticancéreux (vinblastine, vincristine, ellipticine) (Bruneton, 2009).

On les classe en sous-groupes en fonction de leur précurseur biosynthétique (la plupart du temps des acides aminés) et de la nature des hétérocycles azotés dont les principales classes : les tropanes et les pyrrolizidines, les isoquinoléines, les indoles, les imidazoles, les pipéridines, les quinolizidines et les indolizidines, les purines, les tropolones, les pyridines et les alcalamines (tableau n°5).

Tableau n°4 : Structure et activités antimicrobiennes de quelques terpènes

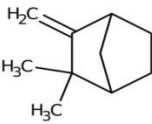
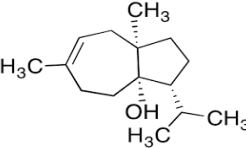
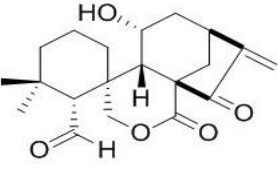
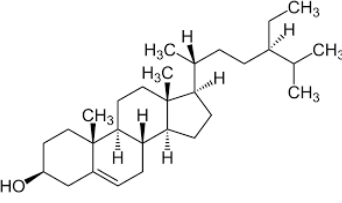
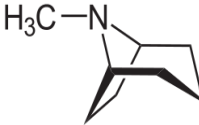
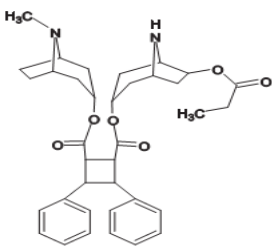
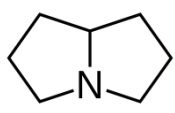
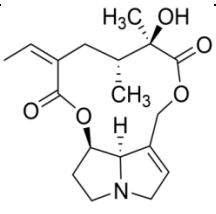
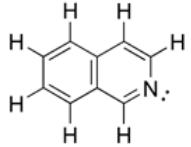
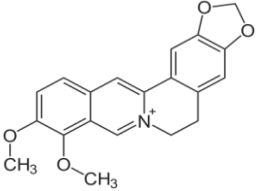
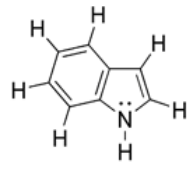
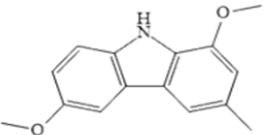
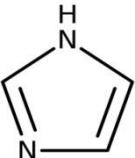
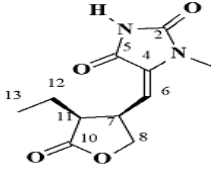
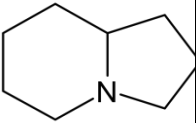
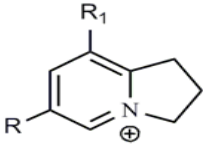
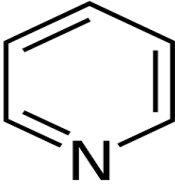
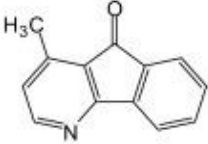
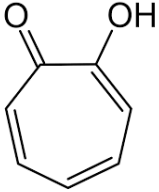
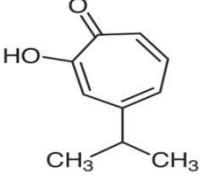
| Sous-groupe | Structure de base | Exemple d'antimicrobien | Origine et références |
|----------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Monoterpènes | $C_{10}H_{16}$ |  Camphène | Antibactérien et antifongique isolé de <i>Pistacia vera</i> L. (Alma et al., 2004) |
| Sesquiterpènes | $C_{15}H_{24}$ |  Carotol | Antibactérien, isolé de <i>Myrcia fallax</i> (Alarcón et al., 2009) |
| Diterpènes | $C_{20}H_{32}$ |  Trichorabdol A | Antibactérien, isolé de <i>Rabdosia trichocarpa</i> (Kadota et al., 1997) |
| Triterpènes | $C_{30}H_{48}$ |  β -Sitostérol | Antifongique, isolé de <i>Euclea natalensis</i> (Lall et al., 2006) |

Tableau n°5 : Structure et activités antimicrobiennes de quelques alcaloïdes

| Groupe | Sous-Groupe | Structure de base | Exemple d'antimicrobien | Origine et références |
|-------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alcaloïdes dérivés de l'ornithine | Les tropanes |  |  Mooniine A | Antifongique, isolé de <i>Erythroxyllum mooni</i> (O'Hagan, 2000) |
| | Les pyrrolizidines |  |  Senecionine | Antiparasitaire, isolé de <i>Solanecio angulatus</i> (Nibret et al., 2009) |
| Alcaloïdes dérivés de la phénylalanine-tyrosine | Les isoquinoléines |  |  La berbérine | Antibactérienne et antifongique isolé de <i>Berberis heterophylla</i> (Freile et al., 2003) |
| Alcaloïdes dérivés de tryptophane | Les indoles |  |  Clausenine | Antibactérienne et antifongique isolé de <i>Clausena anisate</i> (Chakraborty et al., 1995) |
| Alcaloïdes dérivés de l'histidine | Les imidazoles |  |  4,6-déhydro-1,2,4,5-tétrahydro-2,5-dioxopilocarpine | Antifongique isolé de <i>Pilocarpus grandiflorus</i> (Souza et al., 2005) |

| | | | | |
|-------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Les indolizidines |  |  $R_1 = R = Y$ Juliprosine | Antifongique, antibactérien et antiplasmodiale isolé de <i>Prosopis glandulosa</i> var. <i>glandulosa</i> (Rahman et al., 2011) |
| Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique | Les pyridines |  |  Onychine | Antifongique, isolé de <i>Cleistopholispatens</i> (Hufford et al., 1987) |
| Alcaloïdes dérivés de la tropone | Tropolone |  |  β -Thujaplicin (hinokitiol) | Antibactérien, isolé de <i>Chamaecyparis obtusa</i> . (Arima et al., 2003) |

I.3.3 Les Espèces végétales étudiées

I.3.3.1 La famille des Ephedraceae (Genre Ephedra)

Ephedraceae : famille du thé de Morman (*Ephedra*, nom pour *Hippuris* ou prêle, d'après le grec "assis sur"). Cette famille de plantes gymnospermes représentée par le seul genre *Ephedra* (**figure n°14**), inclue environ 69 espèces décrites dans le monde, quatre sous-espèces et deux variétés acceptées, toutes largement répandues dans les régions arides et semi-arides d'Asie, d'Europe, d'Afrique du Nord (Sahara), le sud-ouest de l'Amérique du Nord et l'Amérique du Sud (**Evans, 2009 ; Hollander et al., 2010 ; Ickert-Bond et al., 2016 ; Bolinder et al., 2016**). La **figure n°15** présente la distribution géographique de quelques espèces médicinales d'*Ephedra* dans le monde (**Christenhusz et al., 2017 ; Govaerts, 2001**).

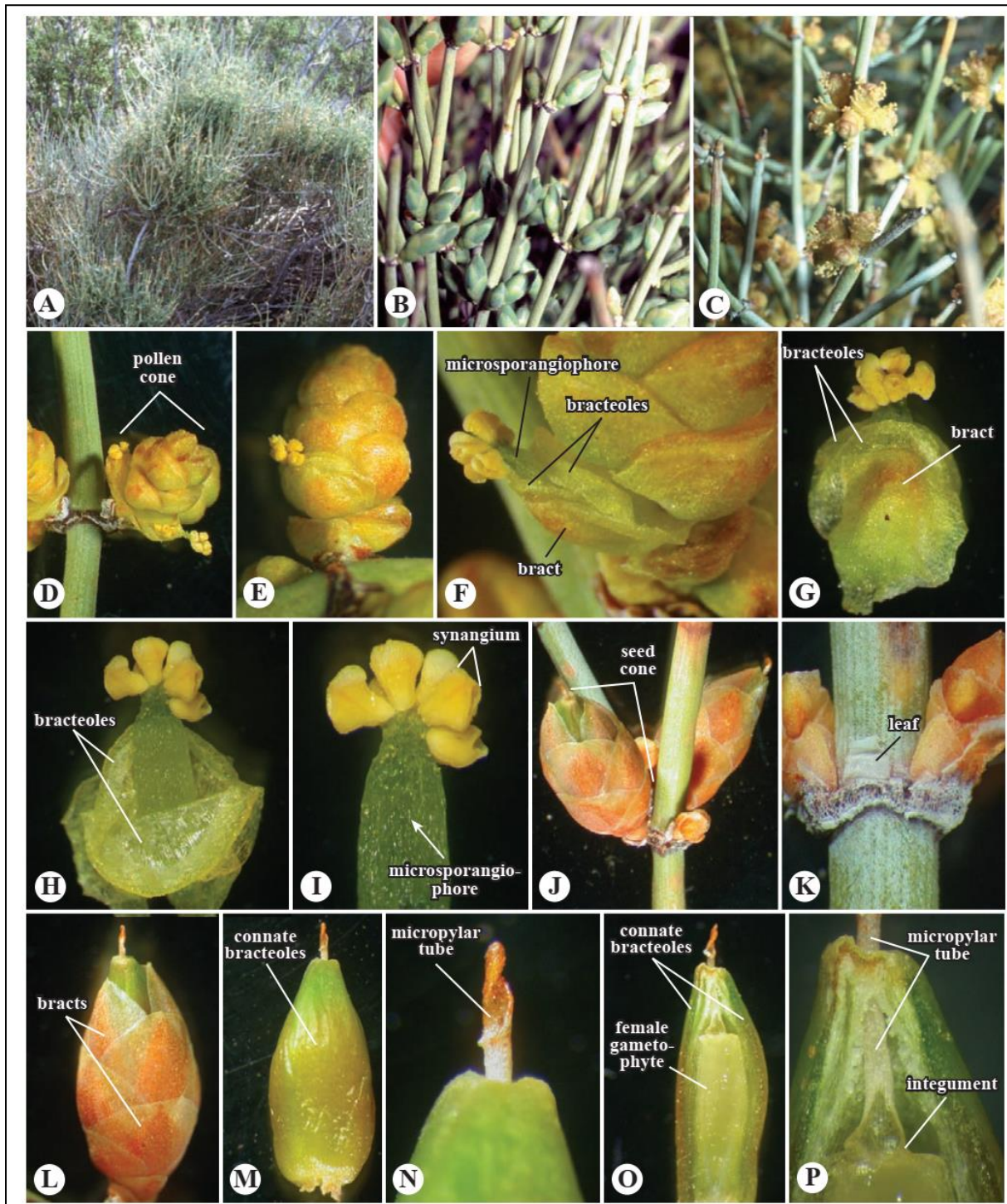


Figure n°14 : Ephedraceae. A-C. *Ephedra* sp. A. Plante entière. B. Plante femelle avec cônes. C. Plante mâle avec cônes. D-P. *Ephedra aspera*. D-I. Cônes de pollen, montrant les bractées et les bractéoles sous-tendant le microsporangiophores, portant des synanges. J-L. Cônes de la graine. Noter les bractées. M-P. Morphologie de la graine. Noter la graine sous-tendue par des bractéoles connées et portant un tube micropylaire étendu (Simpson *et al.*, 2010)

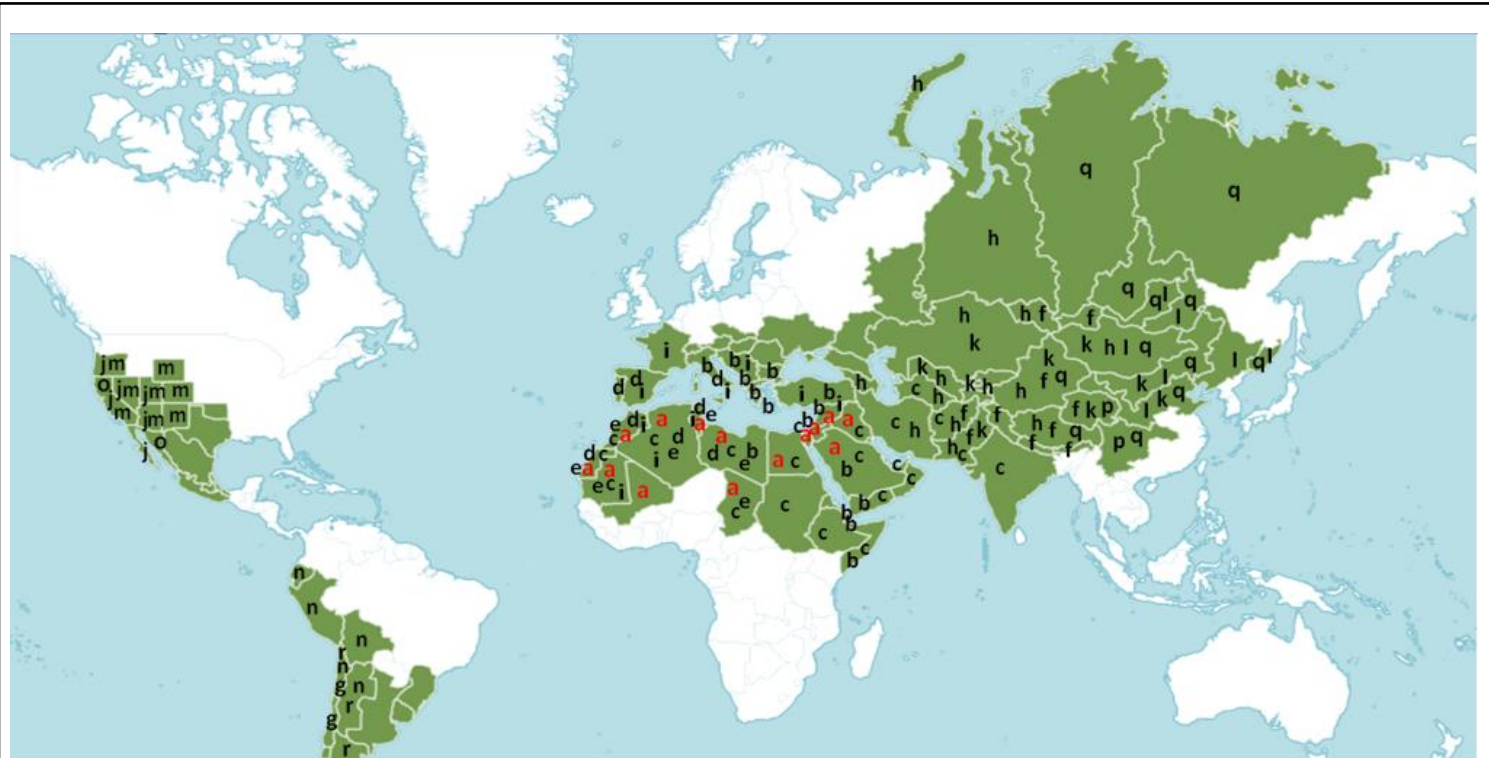


Figure n°15 : Distribution des quelques espèces du genre *Ephedra* exploitées comme plante médicinale (Christenhusz *et al.*, 2017 ; Govaerts, 2001).

- | | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| a : <i>Ephedra alata</i> | b : <i>Ephedra foeminea</i> | c : <i>Ephedra foliata</i> | d : <i>Ephedra fragilis</i> |
| e : <i>Ephedra altissima</i> | f : <i>Ephedra gerardiana</i> | g : <i>Ephedra gracilis</i> | h : <i>Ephedra intermedia</i> |
| i : <i>Ephedra major</i> | j : <i>Ephedra nevadensis</i> | k : <i>Ephedra przewalskii</i> | l : <i>Ephedra sinica</i> |
| m : <i>Ephedra viridis</i> | n : <i>Ephedra americana</i> | o : <i>Ephedra californica</i> | p : <i>Ephedra minuta</i> |
| q : <i>Ephedra monosperma</i> | r : <i>Ephedra multiflora</i> | | |

Il se développe dans des sols secs, rocheux et plus souvent sablonneux (excellent fixateur du sable éolien) (Limberger *et al.*, 2013). Parmi toutes ces espèces, cinq espèces d'éphédra sont présentes en Algérie (figure n°15) (Christenhusz *et al.*, 2017). Elles présentent l'un des rares arbustes des zones sahariennes (Meddour *et al.*, 2023). *Ephedra* est l'une des plus anciennes drogues connues, utilisée par les Chinois depuis au moins 5 000 ans (Ibragic *et al.*, 2015).

Les espèces de cette famille se distinguent par le fait qu'il s'agit principalement d'arbustes et rarement comme des plantes grimpantes, certaines d'entre elles pouvant atteindre 4 m (Ickert-Bond *et al.*, 2016). Les tiges souterraines sont souvent rhizomateuses ; les jeunes tiges aériennes sont étroites, striées et photosynthétiques, des feuilles en forme d'écailles, opposées ou verticillées, des cônes de pollen avec des bractées décussées sous-tendant des

microsporangiophores, chacun portant des synanges apicaux et sous-tendu par une bractée externe et deux bractéoles internes connotées, les cônes de graines portant 1-3 ovules, chaque ovule étant sous-tendu par une bractée et entouré d'une couche externe ("enveloppe") de bractéoles connées et d'un tégument interne, ce dernier formant un tube de pollinisation saillant, les graines étant ailées ou charnues (**figure n° 14**) (**Michael et al., 2010**).

La pollinisation dans le genre *Ephedra* se fait généralement par le vent, mais certaines espèces sont pollinisées par les insectes (**Bolinder et al., 2016**), et d'autres présentent les deux modes de pollinisation et sont connues sous le nom d'ambophiles (**Bino et al., 1981 ; Celedón-Neghme et al., 2016**). Le pollen d'*Ephedra* est transporté sur de longues distances, ce qui explique sa large distribution (**Maher et al., 1964**). Néanmoins, d'un point de vue évolutionnaire, la pollinisation par les insectes est considérée comme un trait ancestral qui a été perdu chez certaines espèces d'*Ephedra* (**Rydin et al., 2015**). Bien qu'il n'y ait pas d'interactions obligatoires entre animaux et pollinisateurs chez les espèces d'*Ephedra*, des insectes pollinisateurs ont été suggérés à plusieurs reprises en raison de l'adhérence du pollen d'*Ephedra* au corps des insectes (**Bino et al., 1981 ; Meeuse et al., 1990**). En outre, les sécrétions des gouttes de pollen représentent une récompense riche en sucre qui pourrait être attrayante pour certaines espèces animales (**Von Aderkas et al., 2015 ; Celedón-Neghme et al., 2016**). Même si ces animaux jouent un rôle important dans l'adaptation de la plante, ils sont considérés comme un mécanisme de reproduction secondaire, la pollinisation par le vent étant la plus importante (**Celedón-Neghme et al., 2016**).

I.3.3.1.1 L'espèce *Ephedra alata alenda*

I.3.3.1.1.1 Synonymes et nomenclatures

Ephedra alata Decne. subsp. *Alenda* (Stapf) = (*Ephedra alata* var. *alenda* (Stapf.) Trabut (**Palici, 2016**), il est connu sous le nom de "Alanda" en Algérie (**Hemmami et al., 2023**).

I.3.3.1.1.2 Classification taxonomique

Selon **Ozenda, 1991** et le catalogue de **Dobignard et Chatelain (2010)**, la classification taxonomique d'*Ephedra alata-alenda* est la suivante :

| | | |
|--------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------|
| Règne : végétale | Classe : Gnetopsida | Genre : <i>Ephedra</i> |
| Embranchement : Spermaphytes | Ordre : Ephedrales | Espèce : <i>Ephedra alata</i> |
| S/embranchement : Gymnospermes | Famille : Ephedraceae | Sous espèce : <i>Ephedra alata alenda</i> . |

I.3.3.1.1.3 Description morphologique

Il s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes (**figure n° 16**), également considéré comme nanophanérophyte au sens de **Raunkiaer (1934)**. Cette espèce, ont des rameaux articulés d'une couleur vert jaunâtres, avec de minces tiges dressées (couchées) et très ramifiées, parfois grimpantes et photosynthétiques. Au niveau des nœuds, les feuilles étant très réduites à des écailles et se développent en paires opposées ou disposées en verticilles de 3. Les fleurs, sont groupées en petits cônes blanchâtres, unisexués et de couleur Jaune ou verte (fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds séparés). Les cônes mâles renferment le pollen et les cônes femelles à bractées, sont destinées à être pollinisées par les insectes. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (**Ozenda, 1991 ; Limberger et al., 2013**).



Figure n°16 : Aspect morphologique d'*Ephedra alata alenda* (Ozenda, 1991 ; Zaidi, 2021)

I.3.3.1.1.4 Écologie et distribution

E. alata est distribué en Afrique du Nord (Algérie, Égypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad, Mali) et en Asie (Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie et la République arabe syrienne) (**figure n°15**), où elle pousse à l'état sauvage sur des sols gravement rocheux, sablonneux et argileux dans des environnements arides, souvent à proximité de dunes de sable mouvantes (**Ziani et al., 2019**). Toutefois, la qualité de son charbon de bois, apprécié par les populations sahariennes, l'expose au déboisement. C'est ainsi, qu'elle a tendance à devenir rare en régions sahariennes (**Palici, 2016 ; Danciu et al., 2019**).

I.3.3.1.1.5 Utilisations ethnomédicales

Certaines espèces de ce genre sont connues pour les phytomolécules thérapeutiques qu'elles synthétisent. Par exemple La médecine Indienne utilise l'Ephedra sous forme de jus, connu sous l'appellation de « soma » pour assurer une plus grande longévité (**Abourashed et al., 2003**). En 1569 le dispensaire chinois mentionne que les espèces d'Ephedra étaient utiles comme antipyrétique, diaphorétique, stimulant circulatoire et sédatif pour la toux. Cependant, l'*Ephedra Sinica* (Ma-huang) est la principale espèce qui est utilisé en Chine depuis plus de 5000 ans pour traiter du rhume, de l'asthme, de la bronchite, de l'œdème, de l'arthrite, de la fièvre et de l'hypotension urticaire (**Vaidya et al., 2014**). Une enquête a été faite sur l'activité hypoglycémique d'*Ephedra alata* d'Égypte, a montré une baisse persistante de la glycémie une heure après l'administration à des rats à jeun (**Shabana, 1990**). En Arabie Saoudite, *Ephedra* est l'une des plantes de parcours les plus répandues. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable (**AL-Qarawi et al., 2012**). Au Maroc, l'*Ephedra alata* est utilisée pour lutter contre le diabète (**Ghourri et al., 2013**).

Dans plusieurs régions d'Algérie, *Ephedra alata alenda* est connue pour son usage en médecine traditionnelle. Elle est utilisée contre le cancer, les avortements, la grippe, le diabète, la toux, l'ulcère gastrique, l'obésité, les gaz intestinaux et l'insuffisance rénale et cardiaque par la population de la région d'El Oued (**Belgacemi & Dou, 2019**). Dans la région d'Ourgla, la plante est utilisée contre la grippe, les troubles respiratoires, les rhumes et la faiblesse générale en tisane majoritairement (**Ould El Hadj et al., 2003 ; Chehma & Réda**

djebbar, 2008). Le cancer n'est traité que par *Ephedra alata alenda* pour la communauté des Touareg de la région d'Illizi (Miara *et al.*, 2019).

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud (Abourashed *et al.*, 2003).

I.3.3.1.1.6 Composition chimique et propriétés biologiques

Comme pour toutes les plantes médicinales, les différentes espèces d'éphédra sont exploitées à partir des extraits des différents organes (rameaux, tiges et racines) de la plante en fonction de la maladie à traiter. Les investigations phytochimiques faites sur les plantes du genre *Ephedra* a mis en évidence des groupes chimiques distincts pour chaque organe. Jusqu'à présent, les études phytochimiques ont révélé que plus de 145 composés ont été isolés et identifiés dans le genre *Ephedra*, y compris des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins et polysaccharides (Zhang *et al.*, 2018).

A. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont les principaux composants de genre *Ephedra*. Vingt-neuf alcaloïdes ont été isolés des espèces de ce genre. Les tiges d'*Ephedra sinica* et d'*Ephedra nebrodensis* est la principale source. Les alcaloïdes de type amphétamine sont les principaux ingrédients actifs (figure n°17) d'*E. Sinica*, dont (-) - L'éphédrine (EPH) est le principal isomère comprenant 30 à 90% des alcaloïdes totaux. C'était le premier alcaloïde isolé d'*Ephedra* par Nagai en 1887 (Phinney *et al.*, 2005; Soni *et al.*, 2004; Caveney *et al.*, 2001).

Néanmoins, ce type d'alcaloïdes amphétaminique ne représente pas les seuls alcaloïdes identifiés dans la plante. Le tableau n°6 montre d'autres types d'alcaloïdes mineurs isolés à partir de différents espèces d'*Ephedra*. Parmi ces alcaloïdes décrits, on note l'Ephedrone isolées de la plante *Ephedra alata*.

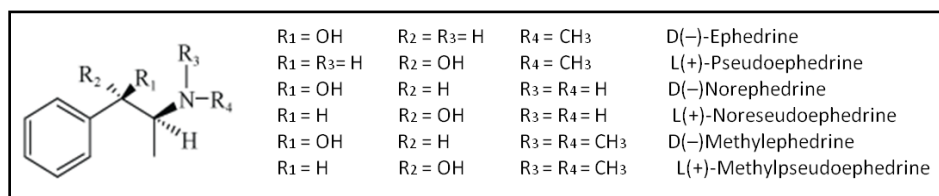
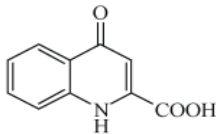
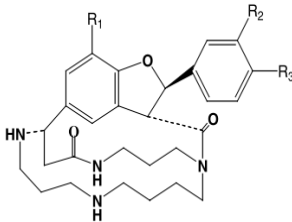
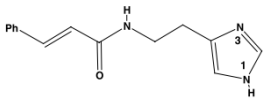
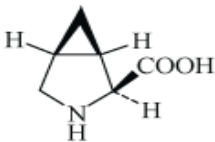


Figure n°17 : Amphétamine issues du genre *Ephedra*

Tableau n°6 : Alcaloïdes de différentes espèces du genre *Ephedra* isolés autres que l'amphétamine

| Classification | Nom chimique | Structure chimique | Source végétale | Références |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Alcaloïdes quinoléiniques | Ephedrone | | <i>E. alata</i> | (Starratt <i>et al.</i> , 1996) |
| | Transtorine |  | <i>E. transitoria</i> | (Alkhalil <i>et al.</i> , 1998) |
| Alcaloïdes spermine macrocycliques | . Ephedradine A (R1 = R2 = R3 = H) . Ephedradine B (R1 = R3 = H, R2 = OMe) . Ephedradine C (R1 = H, R2 = OMe, R3 = Me) . Ephedradine D (R1 = OMe, R2 = R3 = H) |  | <i>E. sinica</i> | Kurosawa <i>et al.</i> , 2003) |
| Alcaloïdes d'imidazole | Feruloylhistamine |  | <i>E. sinica</i> | (Hikino <i>et al.</i> , 1984) |
| Alcaloïde pyrrolidinique | <i>Cis</i> -3, 4-Methanoprolin |  | <i>E. foeminea</i> ssp | Starratt <i>et al.</i> , 1995 |

B. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont la classe la plus courante de métabolites secondaires de ce genre. Plus de quarante flavonoïdes ont été identifiés des espèces du genre *Ephedra*. Les flavones et leurs glycosides, ainsi que les flavonols et leurs constituants 3-O-glycosides (kaempférol, l'herbacétine ou la quercétine), sont les flavonoïdes les plus courants (Zhang *et al.*, 2018).

Parmi ces flavonoïdes décrits, on note Herbacétine 8-methyl ether3-O-glucoside-7-O-rutinoside, Herbacétine 7-O-(6"-quinynglucoside), Kaempférol 3-O-rhamnoside, Quercétine 3-O-rhamnoside, l'herbacétine 7-O-glucoside, Lucénine III et vicénine II (figure n°18) isolées de la plante entière d'*Ephedra alata* (Nawwar *et al.*, 1984 ; Zhang *et al.*, 2018).

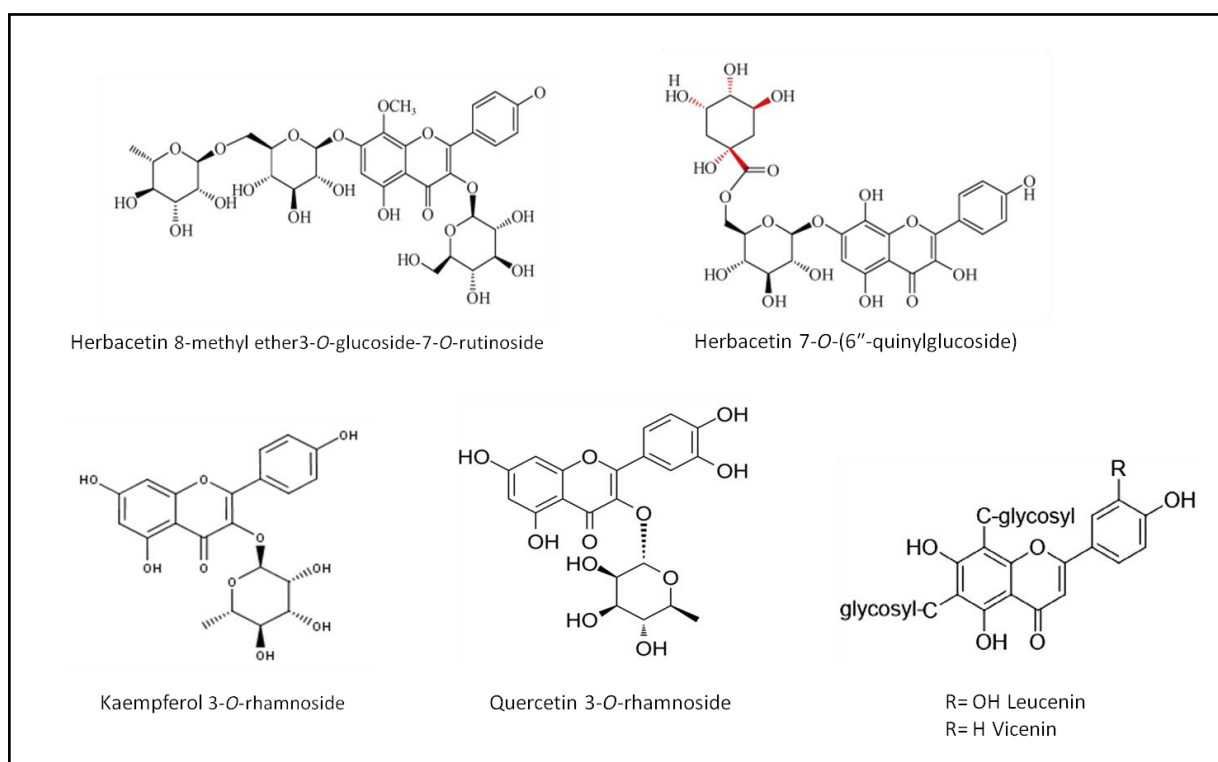


Figure n°18 : Flavonoïdes issus d'*Ephedra alata*

C. Tannins

Les tanins, principalement les proanthocyanidines, qui existent majoritairement sous forme de condensation. Sont présents dans les tiges de nombreuses espèces d'*Ephedra* (par exemple, *Ephedra* eurasiens tels que : *E. alata*, *E. przewalskii*, *E. intermedia*, *E. fragilis* et *E. distachya* ; *Ephedra* américains tels que : *E. californica*, *E. nevadensis*, *E. torreyana*, *E. trifurca* et *E.*

viridis (Zang *et al.*, 2013). Les tanins condensés de type proanthocyanidines A sont les plus commun dans l'Ephedra (Orejola *et al.*, 2017), contenant des dimères (Ephedrannin A et B ; Muhuannin : de A à J ; Ephedrannin : de D1 à D14), des trimères (Ephedrannin Tr1 à Tr15) et des tétramères (Ephedrannin Te1 à Te5).

D. Huile essentielle

L'huile volatile de l'éphédra est l'une de ses bases médicinales (Tellez *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2009). La teneur en huile volatile de l'éphédra est faible, environ 0,15 % seulement (Zhou *et al.*, 2008). Les différentes méthodes de plantation, de traitement et d'extraction affectent la teneur en huile volatile de l'éphédra (Yi *et al.*, 2007 ; Xue *et al.*, 2020). Les huiles essentielles les plus courantes de l'Ephedra sont l' α -terpinéol, le terpinen-4-ol, β -Sitosterol, 9Z, 12Z-Octadecadienoic acid, 9-E-Octadecenoic acid, Linolenic acid, le linalool, le 2,3-dihydro-2-méthylbenzo-furanne, Nonacosanol, le cis-p-menth-2-ène-7-ol., Ergost-5-en-3 β -ol, le p-vinylanisole, le 3-méthyl-2-butén-1-ol, le phytol et le γ -eudesmol (Miyazawa *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2006 ; Tang *et al.*, 2023).

E. Autres composés

Outre les composés ci-dessus isolés et identifiés à partir de l'Ephedra, un composé de lignine ((\pm)-Syringaresinol) et d'acide phénolique (p -Coumaric acid) ont été identifiés d'*E. alata* (figure n° 19) (Zhang *et al.*, 2018).

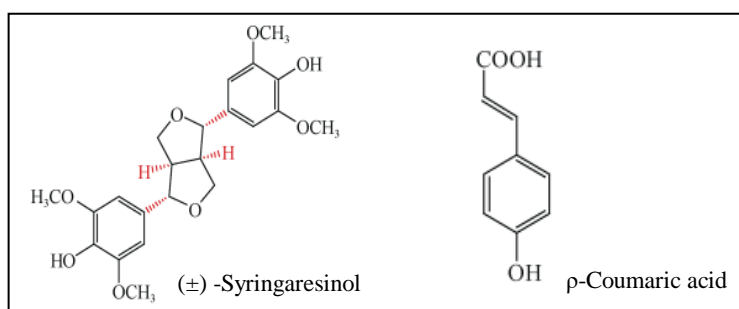


Figure n° 19 : Outre composés issue d'*Ephedra alata*

En outre, cette espèce est généralement utilisée comme des antibactériens (Parsaeimehr *et al.*, 2010 ; Khan *et al.*, 2017), des antifongiques (Parsaeimehr *et al.*, 2010), des antivirales (Murakami *et al.*, 2008 ; Tang *et al.*, 2023), des antioxydants (Khan *et al.*, 2017 ; Ali-Rimawi *et al.*, 2017), des anti inflammatoires (Kasahara *et al.*, 1985) des anticancéreux (Oshima *et al.*, 2017) et des anti obésités (Song *et al.*, 2012).

La relation entre la structure des produits naturels de l'éphédra et son activité pharmacologique doit être étudiée de manière plus approfondie. Dans ce contexte, les mécanismes d'action du contenu phytochimique de l'éphédra peuvent fournir des orientations pour son application clinique (Elhadef *et al.*, 2020).

I.3.3.1.1.7 Applications cliniques (Traitement de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19))

Le 11 février 2020, l'Organisation mondiale de la santé a officiellement désigné le COVID-19 comme une pandémie, qui s'est propagée dans le monde entier (Bajgain *et al.*, 2021). La médecine traditionnelle chinoise a démontré un fort effet de prévention et de traitement de la COVID-19, et une série de prescriptions ont montré des effets thérapeutiques. Parmi eux, le QFPDT, qui se compose de 21 plantes, telles que l'éphédra, le gypse et la réglisse, a produit des résultats efficaces dans plus de 10 provinces et villes de Chine. Selon l'étude la formule peut ralentir efficacement l'évolution de la maladie dans les cas légers, réduire la durée des symptômes courants et graves et raccourcir les durées d'hospitalisation (Zhong *et al.*, 2020). La paire de médicaments contenant de l'éphédra a joué un rôle clé dans le traitement du COVID-19 [112,113]. Ang *et al.* ont constaté que lorsque l'éphédra était associée à la fibre de gypse, elle était efficace dans le traitement du COVID-19 pédiatrique (Ang *et al.*, 2020). L'étude la plus récente a montré que l'acide quinoléine-2-carboxylique contenu dans l'éphédra pouvait efficacement antagoniser les composés actifs produits par l'interaction entre l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) et le domaine de liaison du récepteur de la protéine de pointe du SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 RBD) et inhiber l'infection virale, montrant ainsi le potentiel de l'utilisation de l'éphédra pour traiter l'infection par le COVID-19 (Mei *et al.*, 2021). Cela prouve que l'éphédra est un médicament efficace pour le traitement des infections à COVID-19. Grâce à la prédiction pharmacologique en réseau, les cibles thérapeutiques de l'éphédra sont probablement le TNF- α , l'IL2, le FOS, l'ALB et le PTGS2 dans les voies liées à la respiration, aux nerfs, à la circulation sanguine et à la digestion (Li *et al.*, 2021).

En outre, l'éphédra est une substance pharmaceutique fréquemment utilisée dans le traitement thérapeutique du COVID-19. Wang *et al.* ont examiné les prescriptions de la médecine traditionnelle chinoise pour les patients atteints de COVID-19 sévère, et ont effectué une analyse de corrélation sur les médicaments selon les principes de l'analyse des prescriptions. Ils ont finalement identifié 1532 prescriptions efficaces ; l'éphédra était l'une des prescriptions les plus fréquentes. Dans l'analyse des prescriptions de Fan et al, l'éphédra a également été

utilisé jusqu'à 142 fois. Les résultats ci-dessus ont montré que l'éphédra joue un rôle important dans le traitement de l'infection par COVID-19 (Wang *et al.*, 2020 ; Fan *et al.*, 2020). Ces données démontrent pleinement que l'éphédra joue un rôle important dans le traitement de l'infection par COVID-19 et fournissent une inspiration pour l'orientation future du traitement de la maladie par la médecine traditionnelle.

I.3.3.1.1.8 Toxicité

Le mauvais usage et l'abus de produits contenant de l'éphédra et ses extraits ont entraîné de nombreuses réactions toxiques au cours des dernières décennies (Tang *et al.*, 2023). En 2004, l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (FDA) avait reçu plus de 18 000 rapports de réactions toxiques liées à l'éphédra (Palamar *et al.*, 2011), et avait interdit la vente de compléments alimentaires contenant de l'éphédra (Nelson *et al.*, 2011). Les réactions toxiques lors de l'utilisation d'éphédra comprennent l'excitation, la transpiration, la dysurie et l'augmentation de la pression artérielle, ainsi que des cas plus graves tels que l'arythmie, la néphrite, les calculs biliaires et éventuellement la mort due à une insuffisance cardiaque ou respiratoire (Powell *et al.*, 1998 ; Wang *et al.*, 2005). La cause de ces réactions indésirables des espèces d'éphédra sont causés principalement par deux constituants actifs d'alcaloïdes, la (-) -éphédrine (1) et la (+) - pseudoéphédrine (2), qui sont de puissants sympathomimétiques (Ma *et al.*, 2007). Persky *et al.* ont étudié les effets cardiovasculaires de la (-)-éphédrine (1) avec huit sujets qui ont reçu différentes doses de sulfate d'éphédrine (0,25, 0,5 ou 1,0 mg/kg) administrées par voie orale pendant sept jours. Bien que la pression artérielle systolique augmente rapidement après l'administration de sulfate d'éphédrine, cette augmentation a été pratiquement supprimée par des mécanismes compensatoires (Persky *et al.*, 2004). Han *et al.* ont étudié la toxicité subchronique d'un extrait aqueux d'Ephedra Herba chez des rats F344. L'extrait a été administré quotidiennement par voie orale à différentes doses (125-1000 mg/kg/jour) pendant 13 semaines. Au cours de l'étude, plusieurs animaux sont morts uniquement dans le groupe ayant reçu la dose la plus élevée, ce qui indique que l'extrait aqueux d'Ephedra Herba est toxique à des doses élevées. Les résultats toxicologiques ont montré des changements histopathologiques dans les reins et les glandes salivaires. Ces résultats suggèrent que l'éphédra peut contribuer à l'augmentation de la pression artérielle et provoquer des troubles rénaux (Han *et al.*, 2018). Bien que la pathogénèse des effets cardiotoxiques de l'éphédra reste incomplète, les données disponibles indiquent que son utilisation peut être dangereuse car elle peut être associée à des complications médicales

graves (González-Juárez *et al.*, 2020). D'autres études indiquent que les composants non alcaloïdes de l'éphédra peuvent également remplacer les extraits d'éphédra pour traiter certaines maladies sans produire les effets secondaires liés à ces derniers. Cela suggère que d'autres études cliniques sont nécessaires pour déterminer la sécurité et l'efficacité des composants non alcaloïdes de l'éphédra. Par conséquent, une attention particulière doit être portée à la posologie lors de l'utilisation de toute prescription contenant de l'éphédra dans la pratique clinique, mais il est prouvé que les extraits d'éphédra sans alcaloïdes ont une efficacité similaire dans le traitement de certaines maladies, sans réactions indésirables (Tang *et al.*, 2023).

I.3.3.2 La famille des Amaranthaceae

Amaranthaceae : famille de l'amarante (du grec "unfading", de la persistance des bractées et du périanthe) (Simpson, 2010). Cette famille fait partie du grand groupe des Angiospermes (plantes à fleurs) de l'ordre des Caryophyllales et comprend plus de 2000 espèces réparties en environ 75 genres (figure n° 20) et divisées en deux sous-familles (Amaranthoideae et Gomphrenoideae) (Simpson, 2010 ; Basu *et al.*, 2014). Gomphrena (120 espèces), Alternanthera (100 espèces), Iresine (80 espèces), Amaranthus (60 espèces) et Celosia (55 espèces), sont les genres les plus représentatifs. La famille est la plus diversifiée et la plus richement représentée dans les habitats arides et semi-arides d'Amérique tropicale et d'Afrique, qui s'étend des régions tropicales et subtropicales aux régions plus tempérées (Müller & Borsch, 2005a, Sánchez del Pino *et al.* 2009).

Les Amaranthaceae se distinguent par le fait qu'elles sont des herbes, des arbustes ou, plus rarement, des lianes ou des arbres avec une croissance secondaire anormale, les tiges sont parfois articulées ou succulentes, des feuilles simples (succulentes à réduites chez certaines), des bractées pigmentées en forme de poils chez certaines, les fleurs sont petites, bisexuées ou unisexuées, généralement actinomorphes, hypogynes ou rarement épiphygynes, un périanthe unisériel de 3-5 [0-2, 6-8] sépales pour la plupart, des étamines connées à la base, de même nombre et opposées aux parties du périanthe, un ovaire unicellulaire, le plus souvent unovulaire avec une placentation basale, des graines avec un embryon courbé, et des pigments de bétalaïne uniquement présents. Le fruit est une noix, une baie, une capsule à déhiscence irrégulière, ou rarement une capsule circonscrite ou un fruit multiple (Simpson, 2010)

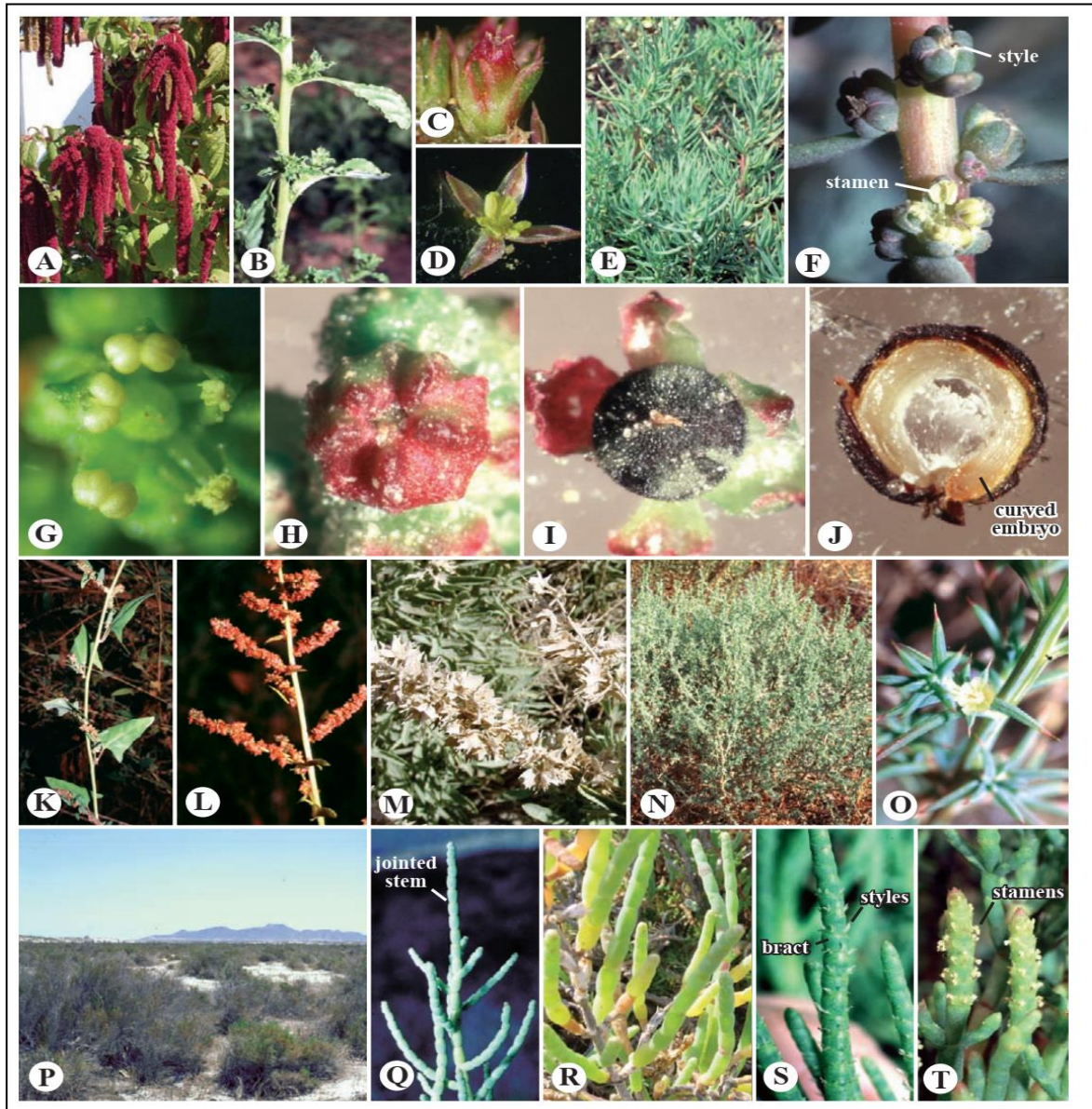


Figure 20 : CARYOPHYLLALES. Amaranthaceae. **A.** *Amaranthus caudatus*, fleur en forme de gland. **B-D.** *Amaranthus* sp. **B.** Plante avec inflorescence. **C.** Fleur femelle. **D.** Fleur mâle. **E, F.** *Suaeda esteroa*. **E.** Plante entière, halophyte succulente. **F.** Fleurs solitaires à l'aisselle des feuilles ; noter les étamines anti-sépales. **G-J.** *Chenopodium* spp. **G.** Fleur bisexuée ouverte, avec cinq sépales, cinq étamines anti-sépales et un seul pistil. **H.** Fruit entouré d'un calice persistant. **I.** Calice enlevé pour montrer le fruit. **J.** Fruit sectionné, montrant une seule graine avec un embryon courbé. **K, L.** *Atriplex triangularis*. **K.** Plante entière. **L.** Inflorescence, un épi composé de cymes. **M.** *Atriplex canescens*, salicorne, avec des bractées accrescentes entourant les fruits. **N, O.** *Salsola tragus*. **N.** Plante entière, une herbe à poux. **O.** Fleur en gros plan, montrant les bractées à pointes épineuses et les sépales proéminents. **P, Q.** *Allenrolfea occidentalis*, buisson iodé. **P.** Communauté estuarienne dominée par la plante. **Q.** Tige en gros plan, montrant des tiges succulentes tiges articulées et succulentes avec des feuilles réduites. **R, S.** *Salicornia virginica*, épine-vinette. **R.** Tige, avec des tiges succulentes, jointives et des feuilles réduites. **S.** Inflorescence, fleurs à l'intérieur des bractées, styles extériorisés. **T.** *Salicornia subterminalis*, inflorescence avec étamines extirpées des bractées.

Plusieurs espèces de la famille des Amaranthaceae sont économiquement importantes, comme l'Amaranthus cultivé, qui est consommé dans différents pays du monde, dont la Chine, l'Inde, le Kenya, la Pologne, la Thaïlande, l'Argentine, la Bolivie et le Mexique. Elles sont également utilisées comme médecine traditionnelle (par exemple en Afrique (*Achyranthes aspera*, *Cyathula prostrata*, *C. officinalis*), en Europe (*Gomphrena globosa*) et en Amérique du Sud au Brésil et en Bolivie (*Gomphrena meyeniana*), et sont cultivées comme plantes ornementales dans différents jardins à travers le monde (*Amaranthus*, *Gomphrena globosa*, *Gomphrena macrocephala*, *Celosia*, *Gomphrena flaccida*). Cela suscite différentes recherches dans différents domaines scientifiques (**Limarino et al., 2020**).

I.3.3.2.1 Genre Haloxylon

Appartenant à la famille des Amaranthaceae (anciennement Chenopodiaceae). Environ 13 espèces ont été signalées dans l'Haloxylon dans le monde (**Emberger, 1960**). Les plantes du genre Haloxylon sont des arbustes ou des petits arbres psammophytes à fleurs, et très fréquent sur les regs à sols gypseux ou salés (**Ozenda, 1991**).

Les plantes médicinales du genre *Haloxylon* exploitées sont originaires de l'Asie et de l'Afrique mises à part l'espèce *Haloxylon tamariscifolium* qu'on trouve aussi en Espagne. La **figure n°21** présente la distribution géographique mondiale de quelques espèces médicinales du genre Haloxylon.

I.3.3.2.1.1 L'espèce *Haloxylon scoparium*

I.3.3.2.1.1.1 Synonymes et nomenclatures

Haloxylon scoparium (Pomel) Bge = (*Hammada scoparia* (Pomel) Iljin = *Haloxylon articulatum* ssp. *scoparium* (Pomel) Batt = *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin) (**Bouaziz et al., 2016 ; Édouard et al., 2010 ; Benine et al., 2023**), il est connu sous le nom de "rimth" en Algérie (**Tair et al., 2016**).

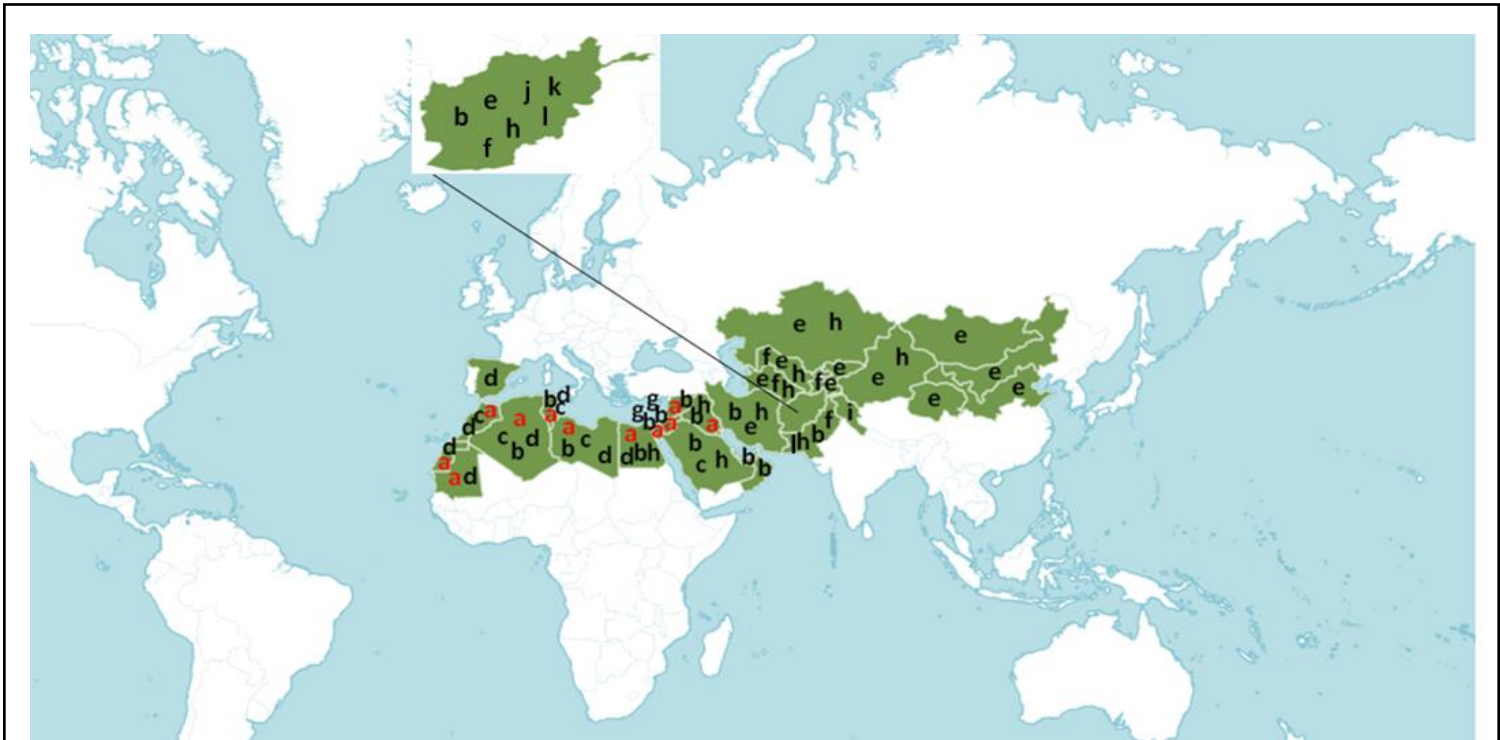


Figure n°21 : Distribution des espèces du genre *Haloxylon* exploitées comme plante médicinale

a : *Haloxylon scoparium* **b** : *Haloxylon salicornicum* **c** : *Haloxylon schmittianum* **d** : *Haloxylon tamariscifolium*
e : *Haloxylon ammodendron* **f** : *Haloxylon griffithii* **g** : *Haloxylon negevensis* **h** : *Haloxylon persicum*
i : *Haloxylon thomsonii* **j** : *Haloxylon multiflorum* **k** : *Haloxylon gracile* **l** : *Haloxylon stocksii*

I.3.3.2.1.1.2 Classification taxonomique

Selon **Boucherit et al., 2018**, la classification taxonomique de *Haloxylon scoparium* est la suivante :

| | |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------|
| Règne : Végétal | Sous-classe : Caryophyllidae |
| Sous Règne : Tracheobionta | Ordre : Caryophyllales |
| Embranchement : Spermatophytes | Famille : Amaranthaceae |
| Sous embranchement : Angiospermes | Genre : <i>Haloxylon</i> |
| Division : Magnoliophyta | Espèce : <i>Haloxylon scoparium</i> (Pomel) Bge |
| Classe : Magnoliopsida | |

I.3.3.2.1.1.3 Description morphologique

Haloxylon scoparium (**Figure n° 22**) est une plante médicinale qui appartient à la famille des Chenopodiaceae. Il s'agit d'un petit arbuste ligneux gris-brun qui, en séchant, prend une

couleur brun foncé ou noirâtre (El-Shazly & Wink, 2003), de forme variable, d'une hauteur maximale de 1 m (Hafidha *et al.*, 2017). Cette plante a des feuilles articulées et des fleurs solitaires et groupées au sommet des branches, avec une structure racinaire verticale et latérale qui contribue à préserver et à protéger le sol de l'érosion (Boucherit *et al.*, 2018).



Figure n°22 : Aspect morphologique d'*Haloxylon scoparium* (Sapir, 2018).

I.3.3.2.1.1.4 Écologie et distribution

Cette plante pousse dans des sols salés et préfère un environnement aride ou semi-aride. On la trouve actuellement en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Libye, Egypte), au Liban, en Syrie, en Palestine, au Sahara occidental, dans le sud de l'Espagne, et dans certaines parties de l'Iran et de la Turquie (figure n° 21) (Karous *et al.*, 2020 ; Nounah *et al.*, 2019).

I.3.3.2.1.1.5 Utilisations ethnomédicales

Haloxylon scoparium est largement utilisé dans la médecine traditionnelle en Afrique du Nord (**tableau n°7**) pour prévenir de nombreuses maladies telles que l'hépatite, l'inflammation et l'obésité (**Ezzeddine et al., 2016**). Plusieurs applications traditionnelles ont révélé que les extraits de *Haloxylon scoparium* ont des propriétés anticancéreuses et anti-diabétique (**Bouaziz et al., 2016 ; Boulanouar et al., 2013 ; Hamza et al., 2019 ; Saidi et al., 2015 ; Taïbi et al., 2020**). Cette espèce traite couramment les maladies, comme la décoction, infusion ou cataplasme. Elle traite l'hypertension, la dermatite, l'intoxication alimentaire, la gale, les blessures, la cicatrisation et la gastro-entérite (**Eddouks et al., 2002 ; El-Hadri, 2019 ; Karous et al., 2020**).

Tableau n°7 : Utilisations ethnomédicales d'*Haloxylon scoparium*

| Maladie traitée | Partie de la plante | Mode de préparation et administration | Pays pratiqué | Référence |
|---------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------|
| Diabètes | Partie aérienne | Infusion | Maroc | (Lamchouri et al., 2012 ; Sabrina et al., 2014) |
| | Fleurs, feuilles | Décoction | | |
| Inflammations et plaies | Partie aérienne | Poudre mélangée à de l'huile d'olive par usage externe | Maroc | (Eddouks et al., 2002) |
| Problèmes gastriques | Partie aérienne | – | Algérie | (El-Hadri, 2019) |
| Piqûres de scorpion et morsures de serpents | Partie aérienne | – | Algérie | (Boucherit et al., 2018 ; Kharchoufa et al., 2020) |
| Maladies buccales et douleurs dentaires | Feuilles | Infusion/ Décoction | – | (Kharchoufa et al., 2020) |
| Cicatrices | Écorce | Poudre | – | (Bouaziz et al., 2016) |
| Gale | Partie aérienne | Infusion | Tunisie | (Karous et al., 2020) |
| Apéritif | Partie aérienne | Infusion par voie orale | Tunisie | |
| Cancer du foie | Partie aérienne | Décoction | – | (Taïbi et al., 2020) |
| Troubles de la thyroïde | Partie aérienne | Poudre mélangée au miel | Algérie | (Taïbi et al., 2021) |

I.3.3.2.1.1.6 Composition chimique et propriétés biologiques

Les constituants phytochimiques de *Haloxylon scoparium* ont fait l'objet de recherches approfondies et les structures des principales molécules bioactives ont été déterminées. Il s'agit d'une plante particulièrement riche en alcaloïdes et en flavonoïdes (**Benine et al., 2023**).

A. Flavonoïdes

Des flavonoïdes ont été isolés principalement d'*Haloxylon scoparium*. Sont les composés phénoliques majeurs dans cette plante. On dénombre 3 molécules des Flavonol triglycosides isolées des feuilles, et une molécule de Flavone isolée de tige (**figure n°23**) (**Benkrief et al., 1990 ; Ben Salah et al., 2002 ; Chao et al., 2013**).

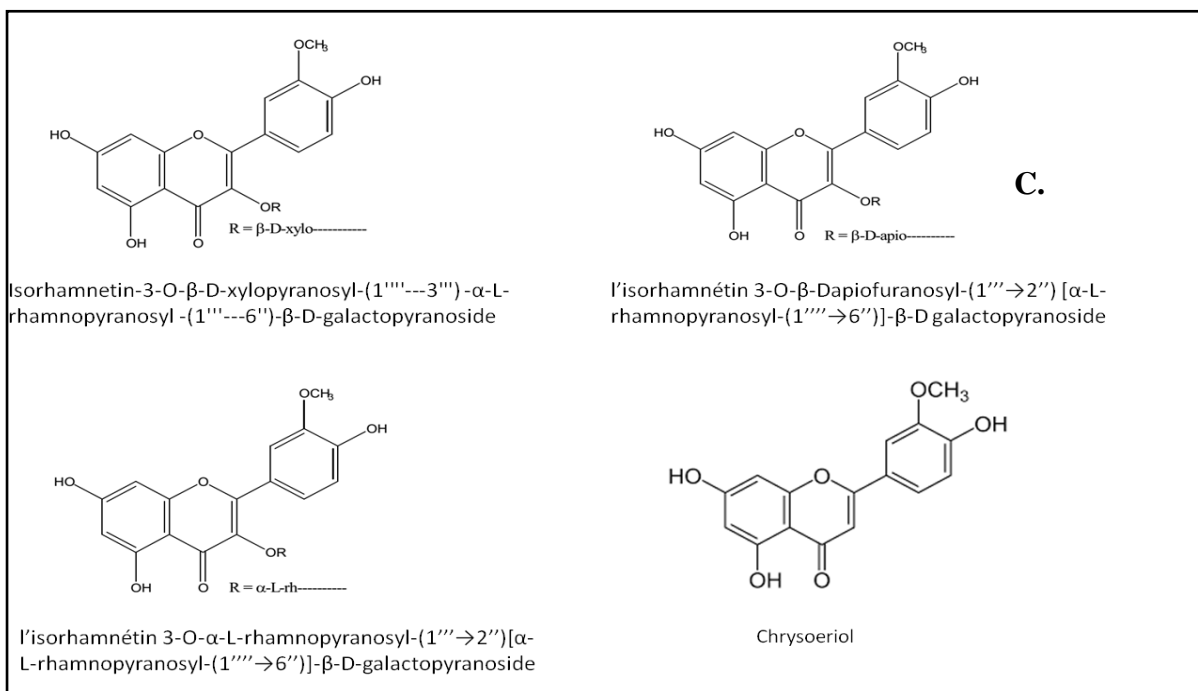


Figure n°23 : Flavonoïdes isolées d'*Haloxylon scoparium*

B. Alcaloïdes

on note la cargénine, et la N-méthylisosalsoline (alcaloïdes majoritaires type tétrahydroisoquinoline), la isosalsoline, salsolidine, isosalsolidine et déhydrosalsolidine (Isoquinolines) ; tryptamine et la N-méthyltryptamine (Indole) ; N méthylcorydaldine (Isoquinolone) ; Tétrahydroharmane, Laptocladine et 2-Méthyl-1,2,3,4- tétrahydro-β carboline (β-carboline) (**figure n°24**) isolées des feuilles d' *Haloxylon scoparium* (**Benkrief**

et al., 1990 ;El-Shazly, 2003) dont l'activités antimicrobienne de la cargénine et la N méthylisosaloline ont été évaluées (Bouaziz *et al.*, 2016).

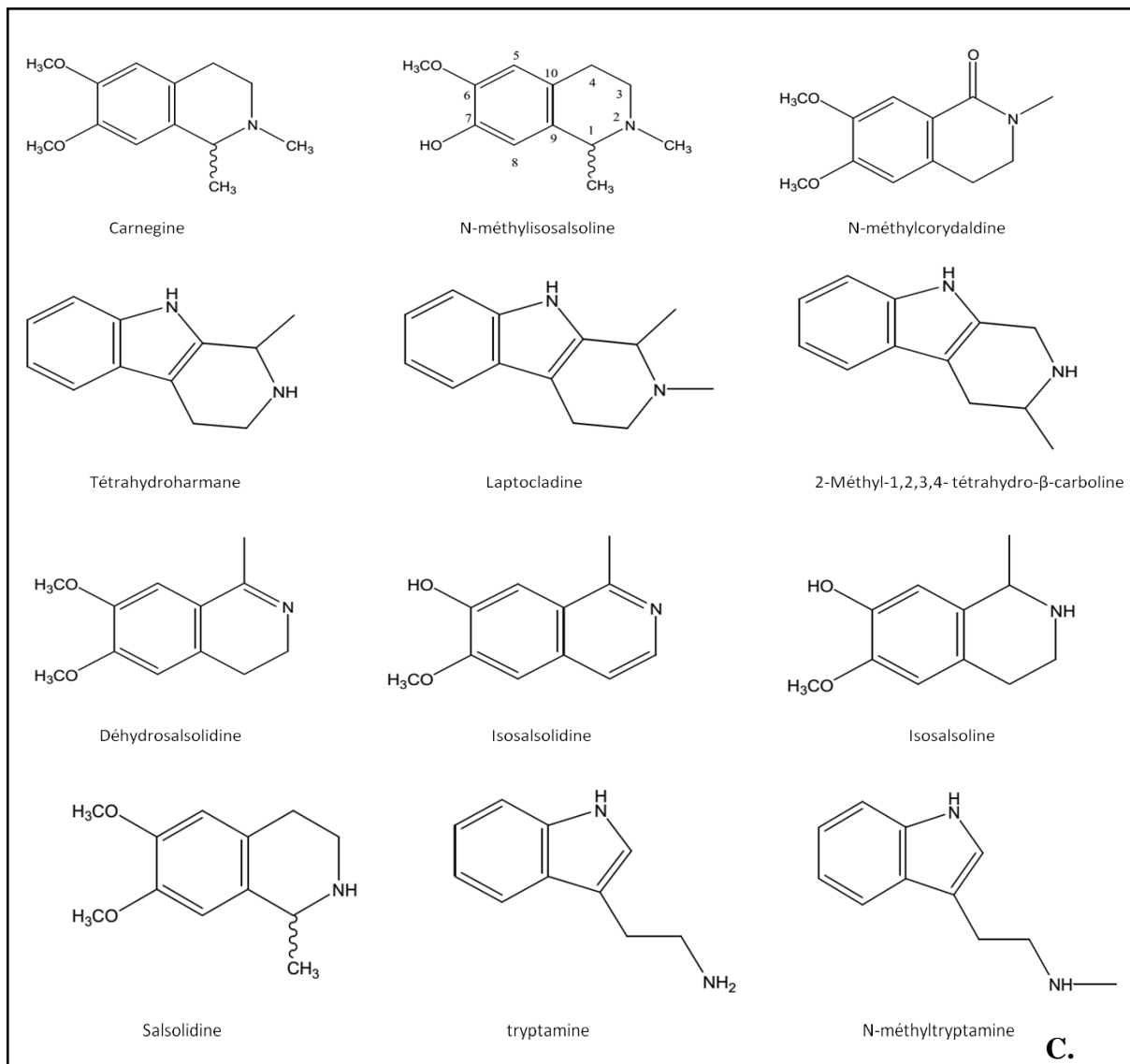


Figure n°24 : Alcaloïdes issus d'*Haloxylon scoparium*

Coumarine

Les Coumarine sont une classe importante des métabolites secondaires trouvés dans une large gamme de plantes (Kostova, 2006 ; De Souza *et al.*, 2016). Sont des hétérocycles organiques, appartient à une famille plus large de composés appelés les benzopyrones. Il s'agit de deux cycles à six chaînons : un cycle benzène associée à un cycle pyrone (Jain *et al.*, 2012). Elles proviennent des espèces *H. griffithii*, *H. scoparium* et *H. salicornicum*. Ces composés sont isolés des racines et de la partie aérienne de ces espèces.

On note la Dihydroisocoumarine, isolée de racine d'*Haloxylon scoparium* (figure n°25).

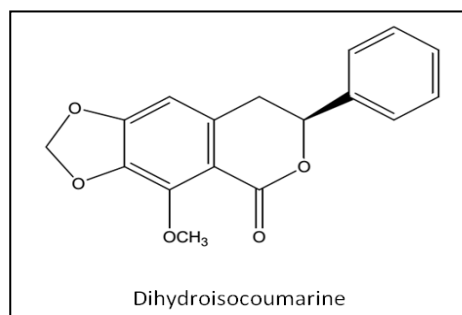


Figure n°25 : Coumarine isolée d'*Haloxylon scoparium*

Quatre autres molécules phénoliques ont été isolées de la tige d'*Haloxylon scoparium*. Trois composées d'acides phénols : acide coumarique, acide cinnamique et acide cafféoylquinique, et une composée de Phénol simple : Catéchol (figure n°26) (Chao *et al.*, 2013).

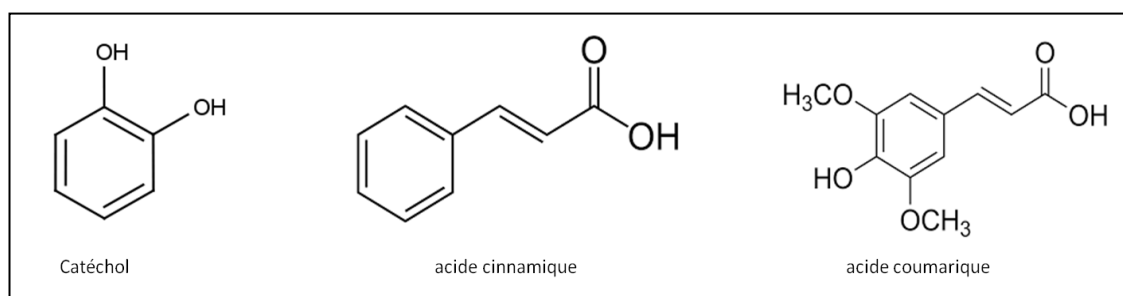


Figure n°26 : Acides phénols et phénol simple d'*Haloxylon scoparium*

Des études ont montré que cette plante possède des propriétés biologiques telles : des activités antifongiques, antibactériennes et antioxydantes (Bouaziz *et al.*, 2016 ; ; Nounah *et al.*, 2019 ; Fatehi *et al.*, 2018 ; Lamchouri *et al.*, 2012 ; Boulanouar *et al.*, 2013), des activités anticancéreuses et antiplasmodiales (Bourogaa *et al.*, 2014 ; Sathiyamoorthy *et al.*, 1999), des activités anti mollusque (Mezghani *et al.*, 2009), des activités larvicides (Sathiyamoorthy *et al.*, 1997) et des agents anti-leucémiques (Bourogaa *et al.*, 2011).

Partie II

**Analyse rétrospective de la résistance
bactérienne aux antibiotiques à l'EPH de
Chlef (Sœur Bedj) d'octobre 2019 à
décembre 2022**

Partie II :**Analyse rétrospective de la résistance bactérienne aux antibiotiques à l'EPH de Chlef (Sœur Bedj) d'octobre 2019 à décembre 2022**

L'objectif principal de cette partie d'étude était de déterminer les différents profils de résistance aux antibiotiques des isolats bactériens provenant de différents échantillons dans un hôpital Public à Chlef, en Algérie. Les résultats de cette étude guideront l'utilisation rationnelle des antimicrobiens existants et guideront le traitement empirique optimal chez les patients gravement malades

II.1 Méthodes**II.1.1 Cadre de l'étude**

Une étude rétrospective a été réalisée d'octobre 2019 à Décembre 2022. L'étude a été menée dans l'Etablissement Public Hospitalier de Sœurs Bedj à Chlef. Les données sur les patients ont été collectées à partir du livre d'enregistrement de l'unité de laboratoire de microbiologie. Le type d'échantillon, les isolats bactériens et le profil de sensibilité aux antibiotiques ont été recueillis.

II.1.2 Isolement et identification des souches

Les souches bactériennes ont été isolées à partir des produits biologiques suivants : urines, liquide céphalorachidien (LCR), prélèvements vaginaux (PV), liquides d'ascite, liquide pleural, cathéters, pus, prélèvement protégé distale (PDP) et sang.

Des méthodes microbiologiques standard ont été appliquées pour l'identification des espèces bactériennes (**figure n°27**) (**Badulla *et al.*, 2020**). En fonction de la source des échantillons cliniques, chaque échantillon a été placé sur la gélose spécifique à chaque bactérie. Les Enterobacteriaceae et autres bacilles à gram négative sont sélectionnés sur les géloses Hektoen, BCP (pourpre de bromocrésol) ou EMB (Eosine Bleu de Méthylène). La sélection des staphylocoques est faite sur une gélose Chapman. Les cocci à Gram positif sont sélectionnés sur une gélose au sang, puis incubé en aérobiose à 37°C pendant 24 heures. Les isolats bactériens sont par la suite identifiés par leurs caractères biochimiques à partir de la réalisation d'une galerie (API).

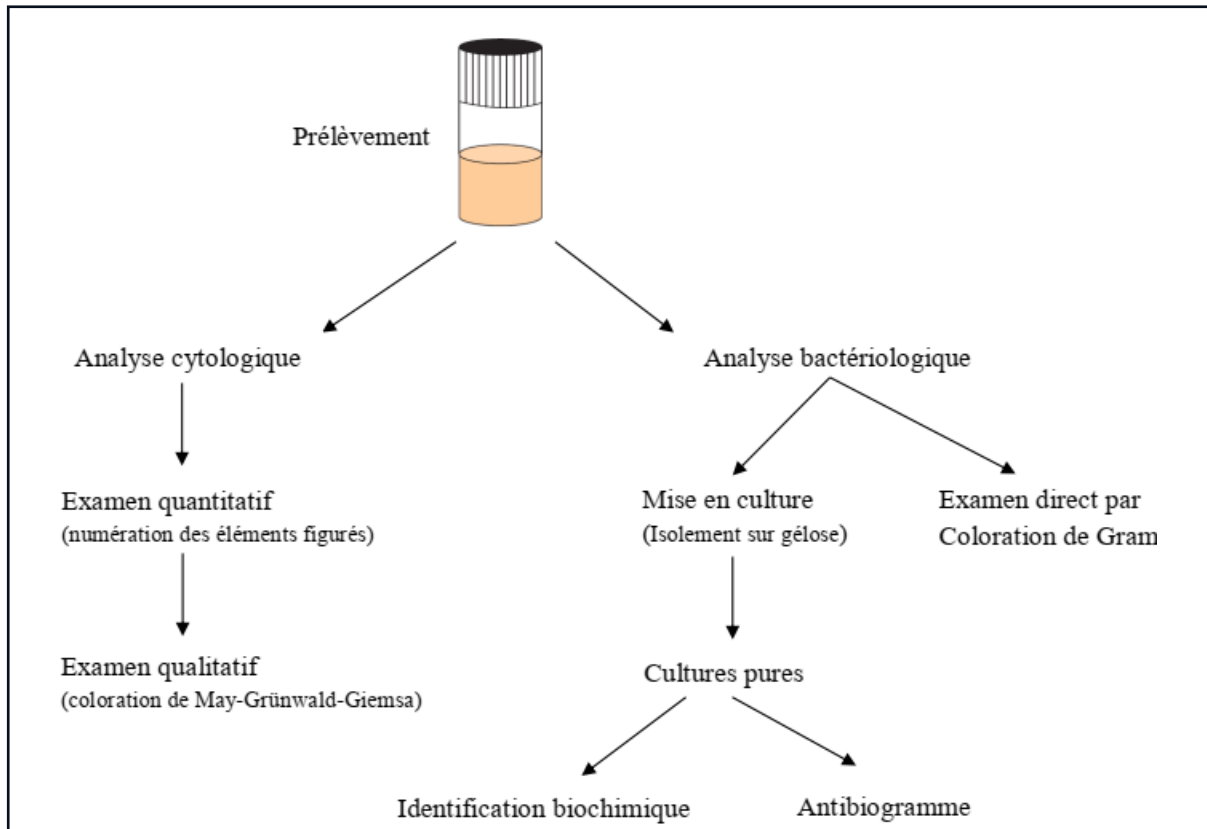


Figure n°27 : Schéma général de la démarche de l'analyse bactériologique

II.1.3 Tests de sensibilité aux antibiotiques.

Le test de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé selon la méthode de diffusion sur milieu gélose Mueller-Hinton (MH) suivant les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CLSI, 2012). La mesure du diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque a été faite après 24 h d'incubation à 37 °C pour déterminer les phénotypes sensibles (S), intermédiaires (I) et résistants (R).

Les antibiotiques utilisés sont mentionnés dans le **tableau n° 8** au-dessous.

II.1.4 Contrôle de la qualité

Une technique bactériologique standard a été appliquée pour garantir la précision des résultats des tests de laboratoire (Badulla *et al.*, 2020). Les souches de référence standard de l'American Type Culture Collection (ATCC) *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ont été utilisées pour contrôler la qualité de la culture et la sensibilité aux antibiotiques.

Tableau n° 8 : Listes des antibiotiques utilisés

| Antibiotiques | Sigle | Charge du disque |
|----------------------------------|-------|------------------|
| Ampicilline | AMP | 10 µg |
| Amoxicilline/ acide clavulanique | AMC | 20/10 µg |
| Pipéracilline | PIP | 100 µg |
| Ticarcilline | TIC | 75 µg |
| Ticarcilline/ acide clavulanique | TCC | 75/10 µg |
| Imipénème | IPM | 10 µg |
| Ertapénème | ETP | 10 µg |
| Aztréonam | ATM | 30 µg |
| Céfazoline | CZO | 30 µg |
| Céfoxitine | FOX | 30 µg |
| Céfotaxime | CTX | 30 µg |
| Céftazidime | CAZ | 30 µg |
| Ciprofloxacine | CIP | 5 µg |
| Lévofloxacine | LVX | 5 µg |
| Ofloxacine | OFX | 5 µg |
| Acide nalidixique | NAL | 30 µg |
| Amikacine | AMK | 30 µg |
| Gentamicine | GEN | 10 µg |
| Clindamycine | CMN | 2 µg |
| Kanamycine | KAN | 30 µg |
| Erythromycine | ERY | 15 µg |
| Tétracycline | TCY | 30 µg |
| Chloramphénicol | CHL | 30 µg |
| Triméthoprime-sulfaméthoxazole | SXT | 1.25/23.75 µg |
| Teicoplanine | TEC | 30 µg |
| Acide fusidique | FUS | 10 µg |
| Quinupristine / Dalfopristine | QDA | 15 µg |
| Rifampicine | RIF | 5 µg |

II.1.5 Traitement des données

Les analyses statistiques des résultats a été faite sur un logiciel de surveillances épidémiologiques et des résistances aux antibiotiques (WHONET 5.6) (Bentroki *et al.*, 2012)

II.2 Résultats et discussions

II.2.1 Epidémiologie des infections

Durant les 3 années et 3 mois de cette étude, sur les 1720 examens biologiques des échantillons réalisés au laboratoire de microbiologie de l'EPH de sœur bedj, seulement 424 échantillons soit 24,65% a relevé la présence d'infections bactérienne. A partir de ces derniers, 424 germes bactériens ont été isolés et identifiés. La liste de ces agents infectieux et leur proportion sont présentées dans le **tableau n°9**.

Tableau n°9 : Listes des micro-organismes pathogènes isolés

| | Micro-organisme | Nombre de souches (%) | Isolats issus des patients hospitalisés | Isolats communautaires |
|----------------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------|------------------------|
| Gram Négative | <i>Escherichia coli</i> | 90 (21,22%) | 62 (68,89%) | 28 (31,11%) |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 77 (18,16%) | 61 (79,22%) | 16 (20,78%) |
| | <i>Acinetobacter sp.</i> | 38 (8,96%) | 36 (94,74%) | 2 (5,26%) |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 35 (8,26%) | 31 (88,57%) | 4 (11,43%) |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | 29 (6,84%) | 24 (82,76%) | 5 (17,24%) |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | 17 (4,01%) | 13 (76,47%) | 4 (23,53%) |
| | <i>Serratia sp.</i> | 16 (3,77%) | 15 (93,75%) | 1 (6,25%) |
| | <i>Morganella morganii</i> | 8 (1,89%) | 6 (75,00%) | 2 (25,00%) |
| | <i>Citrobacter sp.</i> | 4 (0,94%) | 4 (100,00%) | 0 (0,00%) |
| | <i>Salmonella sp.</i> | 2 (0,47%) | 2 (100,00%) | 0 (0,00%) |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 (0,24%) | 1 (100,00%) | 0 (0,00%) |
| | <i>Providencia sp.</i> | 1 (0,24%) | 1 (100,00%) | 0 (0,00%) |
| | | Total | 318 (75%) | |
| Gram Positive | <i>Staphylococcus aureus</i> | 59 (13,92%) | 50 (84,75%) | 9 (15,25%) |
| | <i>Enterococcus sp.</i> | 24 (5,66%) | 21 (87,5%) | 3 (12,5%) |
| | <i>Streptococcus sp.</i> | 23 (5,42%) | 18 (78,26%) | 5 (21,74%) |
| | Total | 106 (25%) | | |
| | Total | 424 (100,00%) | 345 (81.37 %) | 79 (18.63 %) |

La majorité des bactéries ont été isolées à partir de la culture des urines (n= 202, 47,64 %), suivie des pus (n= 98, 23.11 %), des cathéters (n= 37, 8.73 %) et des prélèvements pulmonaires (n=24, 5.66 %). Dans cette étude, la plupart des isolats identifiés étaient des isolats Gram négatif (n=318, soit 75 %), tandis que les autres (n=106, soit 25 %) étaient des Gram-positifs, ce qui était similaire aux taux de 68 % et 32 % respectivement, d'isolement des

bactéries Gram-négatives et Gram-positives rapportés à l'hôpital universitaire de Constantine, Algérie (**Hecini-Hannachi et al., 2016**). Les mêmes taux d'isolement des bactéries Gram négatif et Gram positif de 75 % et 25 % ont été rapportés à l'hôpital national de Kenyatta, au Kenya (**George tibi gachuhi, 2017**).

Les cultures d'urine ont révélé une prédominance d'isolats Gram négatif (n=192, soit 95,05 %). Parmi eux, *E. coli* (n=66, soit 32,67 %), suivi de *K. pneumoniae* (n=48, soit 23,76 %) étaient les plus fréquents. Ce résultat est conforme avec ceux de l'étude menée par **Aouf et al. (2018)**, **Ait-Mimoune et al. (2022)** en Algérie et **Fahim. (2021)** en Egypt, qui ont montré qu'*E. coli* et *K. pneumoniae* sont les micro-organismes les plus fréquemment trouvés dans l'urine des patients. De même, des autres études ont montré que les taux les plus élevés d'infections à Gram négatif se trouvaient dans l'urine (**Gaynes, Edwards, 2005 ; Hamishehkar et al., 2016**). Les infections urinaires nosocomiales sont généralement causées par *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et les entérocoques, en plus des bactéries mentionnées ci-dessus (**Kahlmeter et al., 2003 ; Bayraktar et al., 2004**)

Le développement des infections urinaires dépend essentiellement de facteurs anatomiques, de l'intégrité des mécanismes de défense de l'hôte et de la virulence des organismes infectants. Le périnée est fortement colonisé par des entérobactéries d'origine digestive, en particulier par *E. coli* uropathogène. Ce pathogène est capable d'adhérer à l'épithélium urogénital par l'intermédiaire d'adhésines spécifiques ; cette adhésion empêche son élimination lors de la vidange de la vessie. *Klebsiella* et *Proteus* sont capables de produire de l'uréase pour alcaliniser l'urine, ce qui leur permet de proliférer. De plus, la mobilité des flagelles péritriches est un facteur qui facilite leur ascension vers la vessie (**Chen et al., 2012**).

Parmi les Gram-positifs, *Staphylococcus aureus* est la principale cause d'infection de pus (n=19, 32,2 %) et de cathéter (n=16, 27,12 %) dans la zone d'étude. Ce résultat est en accord avec ceux de **Tchakal-Mesbahi et al. (2021)** et **Aouf et al. (2022)** dans leurs études menées dans l'hôpital militaire d'Alger et de Constantine en Algérie, et qui ont conclu que *S. aureus* était l'agent pathogène le plus souvent isolé dans les échantillons de pus avec une fréquence de 28 % et 25%, respectivement. Dans une étude menée par Magdy et ses collègues en Egypt, *S. aureus* était le plus fréquent, suivi de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *E. coli* (**Bhagat et al., 2015**). Cette espèce bactérienne est abondante dans la peau et pénètrent facilement dans le champ opératoire pendant l'hospitalisation (**Aouf et al., 2022**). Selon **Kim et al. (2021)**, *Proteus spp*, *S. aureus* et *K. pneumoniae* sont les bactéries les plus courantes

dans le pus des infections de plaies. **Ibrahim. (2018)**, d'Arabie saoudite, a remarqué que les pathogènes les plus courants étaient *Proteus mirabilis*, suivi de *Klebsiella pneumoniae*.

Probablement en raison de la pandémie de COVID19 qui a conduit le gouvernement à mettre le pays en état de confinement périodique, réduisant ainsi le nombre de patients qui ont accédé aux services de santé.

Dans cette étude, l'analyse épidémiologique des infections montre qu'*E. coli* était le pathogène prédominant (n= 90, 21.22%), suivi par *K. pneumoniae* (n= 77, 18.16%), *S. aureus* (n=59, 13.92 %), *Acinetobacter* sp (n=38, 8,96%), *P. aeruginosa* (n=35, 8,26 %), *E. cloacae* (n=29, 6,84 %), *Enterococcus* sp (n=24, 5,66 %) et *Streptococcus* sp (n=23, 5,42 %). D'autres entérobactéries (*Proteus mirabilis*, *Serratia* sp, *Morganella morganii*, *Citrobacter* sp, *Salmonella* sp, *Klebsiella oxytoca* et *Providencia* sp) représentaient moins de 4 % des infections (**Tableau n° 8**). Ces résultats sont similaires à ceux d'autres rapports selon lesquels *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus* étaient les isolats dominants dans différents échantillons cliniques (**Gorems et al., 2018 ; Amsalu et al., 2017 ; Hailemariam et al., 2021**). Osifo et Aghahowa du Nigeria ont rapporté qu'*E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* étaient les agents pathogènes les plus fréquemment isolés (**Osifo et al., 2011**). Des résultats similaires ont été rapportés en Egypt (**Shebl et al., 2019**) et en Ethiopie (**Beyene et al., 2019**). Cependant, d'autres ont rapporté un niveau plus élevé de *Klebsiella* spp (22.5%) que d'*E. coli* (13.4%) (**Fahim. 2021**). Contrairement à notre étude, Hecini-Hannachi et ses collègues d'Algérie, ont rapporté que *S. aureus* (26.38%) était la souche le plus souvent isolé à l'hôpital universitaire de Constantine, suivi par *Klebsiella* sp (18.73%), *Acinetobacter* sp. (14.34%), *P. aeruginosa*. (11.96%), *E. coli* (9.24%), *Enterobacter* sp. (6.43%) et *Enterococcus* sp. (3.31%) (**Abla et al., 2016**).

La prévalence élevée de *S. aureus* a été justifiée par Basiri et ses collègues, qui ont déclaré qu'elle pouvait être due à l'utilisation excessive de dispositifs invasifs avec manipulation répétée par le personnel soignant et des mesures de contrôle de l'infection inadéquates (**Basiri et al., 2015**). D'autres ont été isolés, mais dans de faibles proportions : *Proteus* sp. *Serratia* sp. *Shigella* sp. *Providencia* sp. *Morganella* sp. *Salmonella* sp. et *Citrobacter* sp. (**Abla et al., 2016 ; Tobin et al., 2021**).

La différence entre l'étude actuelle et les autres études en ce qui concerne le type et la fréquence des pathogènes pourrait être liée à plusieurs facteurs tels que les conditions

environnementales, les pratiques sanitaires, l'état des patients, l'hygiène personnelle, le nombre de patients impliqués dans chaque étude et les procédures de laboratoire (Shebl *et al.*, 2019).

II.2.2 Résistance aux différents antibiotiques étudiés

La moyenne des pourcentages de résistance aux différents antibiotiques entre les souches communautaires et hospitalières est présentée dans le **tableau n°10**.

Tableau n°10 : Comparaison des pourcentages de résistance des souches communautaires à celles issues des hospitalisés

| | | | Toutes les souches confondues | | | |
|---------------------|--------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--------|----------------|--------|
| | | | Nosocomiales | | Communautaires | |
| Antibiotique classe | Antibiotique sur classe | Antibiotique | Nbre | %R | Nbre | %R |
| Cephems | Céphalosporine I | Céfazoline | 149 | 73.83% | 46 | 63.04% |
| | Céphalosporine II | Céfoxitine | 46 | 56.52% | 9 | 44.44% |
| | Céphalosporine III | Céfotaxime | 192 | 48.96% | 54 | 44.44% |
| | | Céftazidime | 211 | 50.82% | 46 | 43.48% |
| Pénicillines | Pénicillines du groupe A | Ampicilline | 209 | 80.86% | 54 | 90.74% |
| | | Amoxicilline/ Acide clavulanique | 186 | 72.04% | 56 | 69.64% |
| | Carboxy-pénicillines | Ticarcilline | 60 | 77.00% | 5 | 40.00% |
| | | Ticarcilline/ Acide clavulanique | 63 | 78.54% | 6 | 33.33% |
| | Uréido-pénicillines | Pipéracilline | 59 | 61.02% | 5 | 20.00% |
| Carbapénèmes | | Ertapénème | 174 | 17.82% | 54 | 7.41% |
| | | Imipénème | 240 | 20.00% | 57 | 3.51% |
| Monobactame | | Aztréonam | 101 | 44.55% | 24 | 20.83% |
| Quinolones | Fluoroquinolones | Ciprofloxacine | 207 | 51.21% | 50 | 36.00% |
| | | Lévofloxacine | 133 | 45.86% | 20 | 10.00% |
| | | Ofloxacine | 58 | 16.13% | 13 | 15.38% |
| | Quinolone | Acide nalidixique | 165 | 59.39% | 48 | 58.33% |
| Aminosides | | Amikacine | 280 | 24.64% | 63 | 3.17% |
| | | Gentamicine | 290 | 41.72% | 63 | 23.81% |
| | | Kanamycine | 46 | 45.65% | 8 | 25.00% |
| Macrolides | | Erythromycine | 87 | 52.87% | 16 | 43.75% |
| | | Clindamycine | 57 | 26.32% | 12 | 16.67% |
| Cyclines | | Tétracycline | 80 | 55.10% | 13 | 46.15% |
| Phénicole | | Chloramphénicol | 230 | 20.43% | 61 | 9.84% |
| Sulfamides | | Sulfaméthoxazole/ Triméthoprime | 250 | 53.6% | 53 | 43.40% |
| Glycopeptides | | Teicoplanine | 46 | 2.17% | 7 | 0.00% |
| Acide fusidique | | Acide fusidique | 46 | 41.30% | 9 | 44.44% |
| Streptogramines | | Pristinamycine | 74 | 31.08% | 14 | 21.43% |
| Autres | | Rifampicine | 68 | 32.35% | 11 | 18.18% |

Nbre = nombre ; %R = pourcentage de résistance ; NT= non testés

Cette comparaison des pourcentages de résistance est effectuée sur toutes souches confondues d'une part et sur les espèces les plus fréquents dont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Proteus mirabilis*, *Serratia sp*. et *Morganella morganii* d'autre part (tableau n°11 et n°12).

Tableau n°11 : Profils de résistance des bactéries à Gram négatif aux antibiotiques sélectionnés

| Antibiotique | <i>Escherichia coli</i> | | | | <i>K. pneumoniae</i> | | | | <i>Enterobacter cloacae</i> | | | |
|----------------------------------|-------------------------|--------|----------------|--------|----------------------|--------|----------------|--------|-----------------------------|--------|----------------|--------|
| | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | |
| | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R |
| Céfazoline | 45 | 48.89% | 21 | 52.38% | 57 | 87.72% | 15 | 66.67% | 15 | 93.33% | 4 | 100.0% |
| Céfotaxime | 58 | 17.24% | 26 | 30.77% | 60 | 80.00% | 16 | 50.00% | 21 | 80.95% | 4 | 75.00% |
| Céftazidime | 50 | 14.00% | 20 | 35.00% | 50 | 80.00% | 12 | 66.67% | 17 | 88.24% | 3 | 33.33% |
| Ampicilline | 56 | 85.71% | 25 | 96.00% | 59 | 96.61% | 15 | 100.0% | 20 | 95.00% | 4 | 100.0% |
| Amoxicilline/ Acide clavulanique | 61 | 62.29% | 28 | 67.86% | 59 | 81.36% | 16 | 62.5% | 22 | 95.45% | 5 | 100.0% |
| Ertapénème | 53 | 5.66% | 27 | 3.70% | 57 | 29.82% | 16 | 12.5% | 21 | 38.10% | 4 | 25.00% |
| Imipénème | 58 | 1.72% | 27 | 0.00% | 57 | 17.54% | 15 | 6.67% | 19 | 10.53% | 2 | 0.00% |
| Aztréonam | 35 | 20.00% | 10 | 10.00% | 28 | 78.57% | 11 | 36.36% | 6 | 33.33% | NT | NT |
| Ciprofloxacine | 39 | 46.15% | 17 | 35.29% | 42 | 69.43% | 15 | 53.33% | 12 | 81.33% | 2 | 0.00% |
| Acide nalidixique | 55 | 52.73% | 22 | 50.00% | 52 | 70.23% | 15 | 66.67% | 22 | 82.82% | 4 | 25.00% |
| Amikacine | 55 | 5.45% | 26 | 0.00% | 57 | 26.31% | 16 | 6.25% | 17 | 0.00% | 3 | 0.00% |
| Gentamicine | 58 | 13.79% | 26 | 7.69% | 56 | 62.50% | 14 | 42.86% | 22 | 63.64% | 3 | 66.67% |
| Chloramphénicol | 52 | 23.08% | 25 | 12.00% | 47 | 17.02% | 14 | 0.00% | 18 | 68.18% | 3 | 33.33% |
| Sulfaméthoxazole/ Triméthoprim | 55 | 50.91% | 21 | 57.14% | 59 | 74.58% | 14 | 42.86 | 22 | 55.56% | 2 | 0.00% |

Suite

| Antibiotique | <i>Proteus mirabilis</i> | | | | <i>Serratia sp.</i> | | | | <i>Morganella morganii</i> | | | |
|----------------------------------|--------------------------|--------|----------------|--------|---------------------|--------|----------------|--------|----------------------------|--------|----------------|--------|
| | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | |
| | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R |
| Céfazoline | 6 | 50.00% | 3 | 66.67% | 13 | 92.31% | 1 | 100.0% | 6 | 66.67% | 2 | 50.00% |
| Céfotaxime | 12 | 16.67% | 4 | 25.00% | 14 | 78.57% | 1 | 100.0% | 6 | 33.33% | 2 | 100.0% |
| Céftazidime | 11 | 9.09% | 4 | 0.00% | 12 | 58.33% | 1 | 100.0% | 5 | 40.00% | 1 | 100.0% |
| Ampicilline | 9 | 54.44% | 3 | 100.0% | 15 | 100.0% | 1 | 100.0% | 6 | 66.67% | 2 | 100.0% |
| Amoxicilline/ Acide clavulanique | 13 | 23.08% | 4 | 50.00% | 15 | 100.0% | 1 | 100.0% | 6 | 66.67% | 2 | 100.0% |
| Ertapénème | 13 | 7.69% | 4 | 0.00% | 14 | 0.00% | 1 | 0.00% | 6 | 0.00% | 2 | 0.00% |
| Imipénème | 11 | 0.00% | 4 | 0.00% | 15 | 0.00% | 1 | 0.00% | 6 | 0.00% | 2 | 0.00% |
| Aztréonam | 8 | 12.5% | 1 | 0.00% | 8 | 37.5% | 1 | 0.00% | 5 | 20.00% | 1 | 0.00% |
| Ciprofloxacine | 10 | 40.00% | 2 | 50.00% | 8 | 0.00% | 1 | 0.00% | 5 | 40.00% | 2 | 100.0% |
| Acide nalidixique | 12 | 50.00% | 4 | 75.00% | 11 | 18.18% | 1 | 100.0% | 5 | 40.00% | 2 | 100.0% |
| Amikacine | 12 | 0.00% | 3 | 0.00% | 13 | 0.00% | 1 | 0.00% | 6 | 0.00% | 2 | 0.00% |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|----|--------|---|---------|----|--------|---|--------|---|--------|---|--------|
| Gentamicine | 10 | 20.00% | 3 | 33.33% | 12 | 75.00% | 1 | 100.0% | 6 | 33.33% | 2 | 100.0% |
| Chloramphénicol | 9 | 22.22% | 3 | 66.67% | 13 | 53.84% | 1 | 0.00% | 6 | 33.33% | 2 | 0.00% |
| Sulfaméthoxazole/ Triméthoprim | 12 | 50.00% | 3 | 100.00% | 13 | 69.23% | 1 | 100.0% | 6 | 50.00% | 1 | 100.0% |

Suite

| Antibiotique | <i>P. aeruginosa</i> | | | | <i>Acinetobacter. sp</i> | | | |
|-------------------------------------|----------------------|--------|----------------|--------|--------------------------|--------|----------------|--------|
| | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | |
| | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R |
| Céftazidime | 27 | 51.85% | 3 | 0.00% | 31 | 96.77% | 2 | 100.0% |
| Ticarcilline | 28 | 60.71% | 3 | 0.00% | 31 | 100.0% | 2 | 100.0% |
| Ticarcilline/ Acide clavulanique | 28 | 67.85% | 4 | 25.00% | 34 | 97.06% | 2 | 50.00% |
| Pipéracilline | 27 | 22.22% | 3 | 0.00% | 30 | 96.67% | 2 | 50.00% |
| Imipénème | 30 | 20.00% | 4 | 25.00% | 35 | 82.86% | 2 | 0.00% |
| Aztréonam | NT | NT | NT | NT | 10 | 90.00% | 1 | 0.00% |
| Ciprofloxacine | 17 | 23.53% | 2 | 0.00% | 20 | 95.00% | 2 | 0.00% |
| Lévofloxacine | 26 | 42.31% | 3 | 0.00% | 28 | 92.86% | 2 | 0.00% |
| Amikacine | 29 | 13.79% | 4 | 0.00% | 36 | 83.33% | 2 | 0.00% |
| Gentamicine | 29 | 27.59% | 4 | 0.00% | 35 | 88.57% | 2 | 0.00% |
| Tobramycine | 26 | 19.23% | 3 | 0.00% | 28 | 82.14% | 2 | 0.00% |

Tableau n°22 : Profils de résistance des bactéries à Gram positif aux antibiotiques sélectionnés

| Antibiotique | <i>S. aureus</i> | | | | <i>Enterococcus sp.</i> | | | | <i>Streptococcus sp.</i> | | | |
|-----------------------------------|------------------|--------|----------------|--------|-------------------------|--------|----------------|--------|--------------------------|--------|----------------|--------|
| | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | | Nosocomiales | | Communautaires | |
| | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R | Nbre | %R |
| Céfotaxime | 46 | 56.52% | 9 | 44.44% | NT | NT | NT | NT | 9 | 0.00% | 1 | 100.0% |
| Ciprofloxacine | 35 | 14.29% | 7 | 0.00% | 14 | 78.57% | 1 | 100.0% | NT | NT | NT | NT |
| Lévofloxacine | 42 | 21.43% | 9 | 0.00% | 17 | 76.47% | 2 | 100.0% | 12 | 0.00% | 4 | 0.00% |
| Ofloxacine | 45 | 22.22% | 9 | 0.00% | NT | NT | NT | NT | 13 | 0.00% | 4 | 50.00% |
| Amikacine | 48 | 35.42% | 7 | 14.29% | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Capréomycine | 43 | 20.90% | 9 | 0.00% | NT | NT | NT | NT | 10 | 50.00% | 3 | 66.70% |
| Gentamicine | 47 | 17.02% | 6 | 0.00% | NT | NT | NT | NT | 6 | 25.00% | 2 | 50.00% |
| Kanamycine | 46 | 45.65% | 8 | 25.00% | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Erythromycine | 48 | 39.58% | 9 | 22.22% | 20 | 90.00% | 3 | 100.0% | 13 | 53.84% | 4 | 50.00% |
| Tétracycline | 44 | 40.91% | 8 | 37.5% | 18 | 72.22% | 2 | 50.00% | 13 | 76.92% | NT | NT |
| Chloramphénicol | 43 | 4.65% | 8 | 0.00% | 16 | 6.25% | 1 | 0.00% | 13 | 0.00% | 4 | 0.00% |
| Sulfaméthoxazole/ Triméthoprim | 46 | 6.52% | 9 | 0.00% | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Teicoplanine | 30 | 0.00% | 4 | 0.00% | 15 | 6.67% | 3 | 0.00% | NT | NT | NT | NT |
| Acide fusidique | 46 | 41.30% | 9 | 44.44% | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Quinupristine / Dalfopristine | 41 | 17.07% | 9 | 0.00% | 17 | 70.59% | 1 | 100.0% | 11 | 27.27% | 4 | 50.00% |
| Rifampicine | 49 | 16.33% | 9 | 0.00% | 18 | 77.78% | 2 | 100.0% | NT | NT | NT | NT |

Nbre = Nombre ; %R = Pourcentage de résistance ; NT= Non testés

Les résultats de notre enquête sur la résistance aux antibiotiques donnent un profil général de la résistance aux antibiotiques (toutes souches confondues). D'autre part, ils permettent d'avoir le niveau de sensibilité de ces souches les plus fréquents. Les données de résistance de ces souches isolées ont été comparées à celles des résistances issues de la littérature obtenue dans différents pays des différents continents.

II.2.2.1 Résistance au β -lactamines

Parmi les céphalosporines étudiées, la céfazoline, une céphalosporine de première génération, présente moins d'efficacité que celles de la deuxième et troisième génération avec des taux de résistance évaluée à 73,83% et 63,04% pour respectivement les isolats issus des patients hospitalisés et en consultation. Ce constat est le même pour les souches d'*Escherichia coli*, de *Klebsiella pneumoniae*, d'*Enterobacter cloacae*, de *Proteus mirabilis*, de *Serratia sp.* et de *Morganella morganii* puisqu'on remarque qu'elles sont plus résistantes à la céfazoline qu'aux autres céphalosporines étudiées (la céfotaxime et la céftazidime) (**tableau n°11**).

Au niveau des pénicillines, parmi celles étudiées (l'ampicilline, la ticarcilline, la pipéracilline et l'association Amoxicilline / Acide clavulanique et Ticarcilline/ Acide clavulanique) on note un fort taux de résistance à l'ampicilline, soit 80,9% pour les souches nosocomiales et 90,8% pour les communautaires. Ces valeurs sont un peu plus élevées pour cet antibiotique avec *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* et *Serratia sp* dont 85,71%, 95%, 96,61% et 100% pour les souches nosocomiales et 96%, 100%, 100% et 100% pour les communautaires, respectivement. La Ticarcilline et l'association Ticarcilline/ Acide clavulanique présentes un taux de résistances presque similaire à l'ampicilline des isolats nosocomiaux.

Bien que les taux de résistance à la pipéracilline des isolats nosocomiaux soient également plus élevés, cet antibiotique est plus efficace que l'ampicilline, la Ticarcilline et l'association Ticarcilline/ Acide clavulanique. Par ailleurs, l'association Amoxicilline / Acide clavulanique présente aussi des taux de résistance supérieurs à ceux de la piperacilline pour toutes les souches confondues (**tableau n°10**).

Dans cette famille, les pénicillines étudiées affichent un taux d'efficacité inférieur à celui des céphalosporines surtout de la deuxième et la troisième génération.

L'ampicilline est l'antibiotique pour lequel la résistance des souches pathogènes d'*Escherichia coli* (85,71%), de *Klebsiella pneumoniae* (96,61%), d'*Enterobacter cloacae*

(95%), de *Proteus mirabilis* (54.44%), de *Serratia sp.* (100%) et de *Morganella morganii* (66.67%) est la plus forte. De très fortes résistances d'*E. coli* ont été observées au Zambia (93.4%) (Mwansa *et al.*, 2022), à Iran (92,2 %) (Hamishehkar *et al.*, 2016), à Iraq (88,3 %) (Naqid *et al.*, 2020) et également en Espagne (61%) (Smithson *et al.*, 2012). Un rapport en Tanzanie a indiqué un taux de résistance d'*E. coli* (100%), d'*Enterobacter sp* (100%), de *Serratia sp* (100%) et de *P. mirabilis* (96.2%) (Mnyambwa *et al.*, 2021). Un taux de résistance aussi élevé d'*E. coli* (100%), de *Klebsiella sp* (100%) et d'*Enterobacter sp* (100%) a été rapporté au l'éthiopie (Abebe *et al.*, 2019).

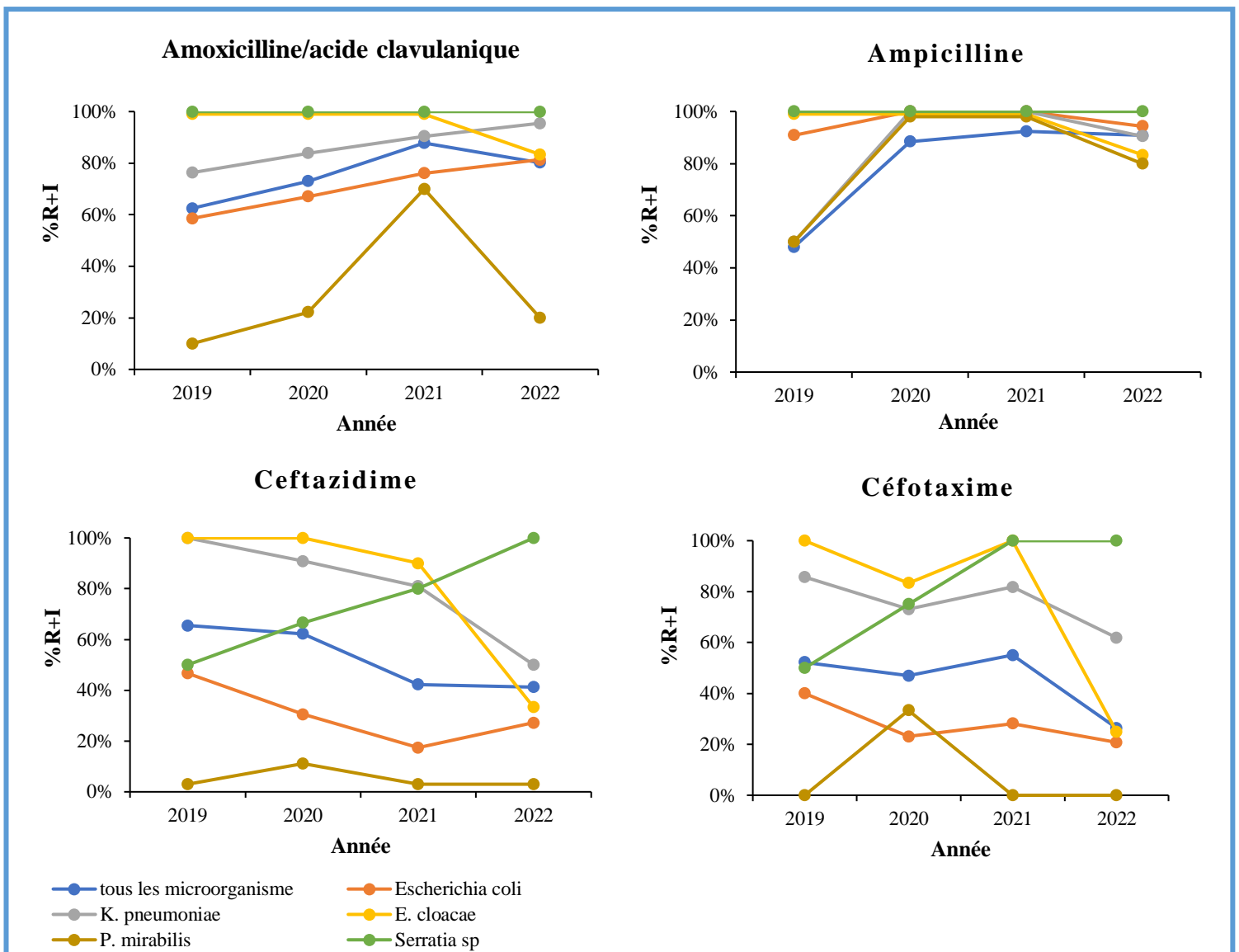


Figure n°28 : Tendances de la résistance à certains bêta-lactamines par des microorganismes spécifiques, Chlef octobre 2019-décembre 2022

Par ailleurs, la tendance de la résistance de tous isolats confondus à cet antibiotique présente une croissance significative d'année en année. Ce taux passe de 48% en 2019 à 90% en 2022. La résistance d'*E. coli*, de *K. pneumoniae* et de *P. mirabilis* à l'ampicilline passant, respectivement de 90,86 % et 50% en 2019 à un pic de 100 % en 2021, puis à une diminution à 94,4 %, 90.48% et 80% en 2022. *E. cloacae* a montré une résistance de 100% entre 2019-2021, puis une diminution à 83.33% en 2022. La résistance de *Serratia* sp à cet antibiotique est de 100% entre 2019 et 2022 (**figure n°28**).

L'association de l'amoxicilline et l'acide clavulanique n'est pas efficace sur 62.29%, 81.36%, 95.45% et 66.67% des isolats d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia* sp et de *morganella morganii* sur cette période (2019 à 2022). Ces valeurs est plus élevé que ceux rapportés en Europe pour les années 2003-2006, on observe une résistance de 3.8%, 2.8% et 1.9% pour *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis*, respectivement (**Schito et al., 2009**), mais elle est bien moins importante que celle observée dans certains pays d'Afrique comme la Tanzanie 75% pour *E. coli*, 90.9% pour *K. pneumoniae*, et 100% pour *Serratia* sp (**Mnyambwa et al., 2021**), le Nigeria 87.3 % pour *E. coli* et 68.1% pour *Klebsiella* sp (**Tobin et al., 2021**). Dans d'autres pays africains, les isolats d'*E. coli* ont montré un taux de résistance plus élevé (supérieur à 70%) (**Amine et al., 2009 ; Zafindrasoa et al., 2017**).

Au niveau de cette antibiotique, le test de tendance indique une évolution progressive du taux de la résistance des isolats dans le temps. Elle évolue de 63% en 2019 à 80% en 2022. Cette tendance de la résistance des isolats confondus est aussi observée sur *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. mirabilis* et *Serratia* sp. *E. coli* et *K. pneumoniae* ont montré une résistance croissante, passant de 58.57% et 76.33% en 2019 à 81.36% et 95.48% en 2022, respectivement. La résistance de *P. mirabilis* étaient <70% entre 2019 et 2022. *E. cloacae* a montré une résistance de 100% entre 2019-2021, puis une diminution à 83.33% en 2022. La résistance de *Serratia* sp à cet antibiotique est de 100% entre 2019 et 2022 (**figure n°26**).

Les céphalosporines de troisième génération gardent relativement leur efficacité puisque plus de 50 % des isolats leur sont sensibles. Cela pourrait résulter du fait que ces molécules sont utilisées comme remède de seconde intention dans l'antibiothérapie, donc moins utilisées que les pénicillines présentes dans cette étude.

Par exemple, le taux de résistance des *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli* à la Céfotaxime est de 16,67% et 17,4%, respectivement. Cet antibiotique est plus utilisé en Asie où les résistances d'*E. coli* sont plus élevées et varient de 21,5% à 89,7% (Sabir *et al.*, 2014 ; Krunal Shah *et al.*, 2019 ; Ganesh *et al.*, 2019 ; Majumder *et al.*, 2022). Il en est de même pour la céftazidime avec de faibles taux de résistance dans certains pays d'Afrique dont 3,8% de résistance au Sénégal (Sire *et al.*, 2007), 3,1% à Madagascar (Randrianirina *et al.*, 2007) et 12% au Gabon (Kouegnigan Rerambiah *et al.*, 2014). Par contre en Asie, sont observés des taux de résistance plus élevés ; on note jusqu'à 98,9% de résistance à Arabie saoudite (Al-Mijalli *et al.*, 2017), 78,9% en Inde (Prasada Rao *et al.*, 2022), 73,8 % au Pakistan (Sabir *et al.*, 2014), 70,32 % en Indonésie (Sugianli *et al.*, 2017) (figure n°29). Aussi, Des études menées aux États-Unis, au Canada, au Royaume-Uni et dans d'autres pays européens ont révélé que la sensibilité aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime ou céftazidime) de *P. mirabilis* isolé à partir de différentes sources variait de 90 et 99 %, selon la population de patients et du type d'échantillon (Bouchillon *et al.*, 2013 ; Horner *et al.*, 2014 ; Sader *et al.*, 2014)

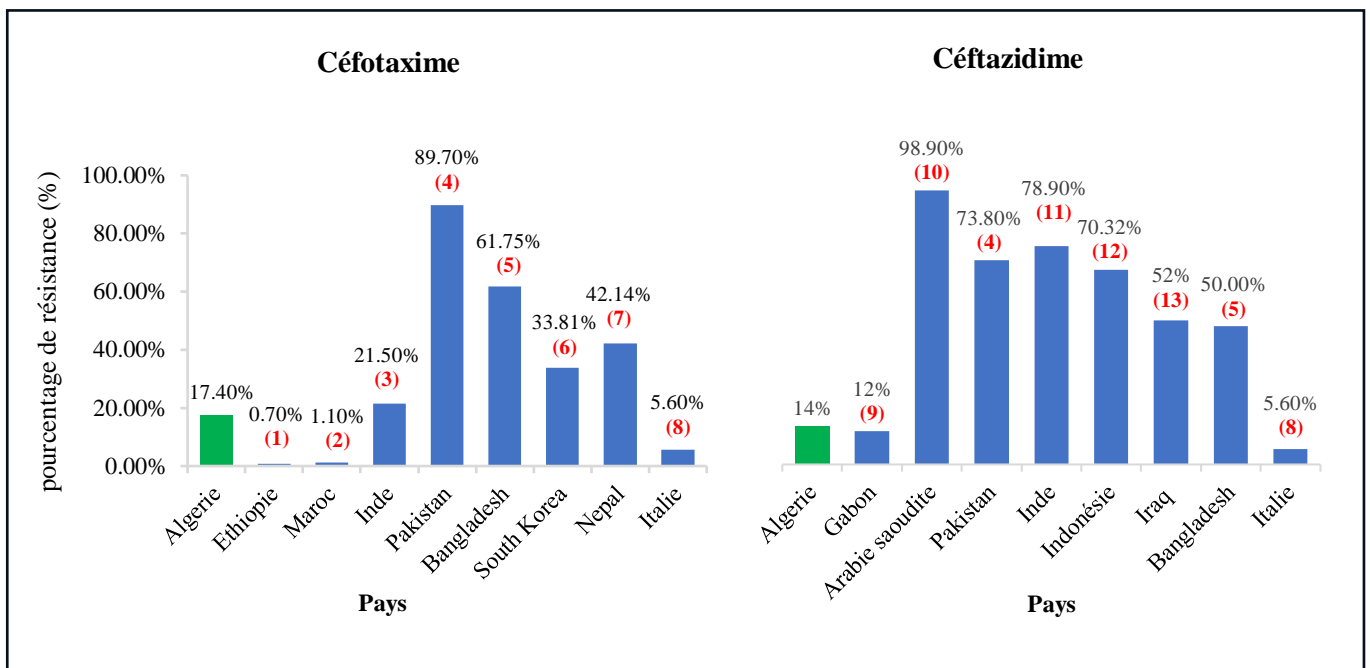


Figure 29 : Comparaison des fréquences d'apparition de *E. coli* pathogène résistant à la céfotaxime et à la céftazidime. 1 : Jan ten Hove *et al.*, (2017) ; 2 : Amine *et al.*, (2009) ; 3 : Krunal Shah *et al.*, (2019) ; 4 : Sabir *et al.*, (2014) ; 5 : Majumder *et al.*, (2022) ; 6 : Lee H *et al.*, (2018) ; 7 : Ganesh *et al.*, (2019) ; 8 : Pierantoni *et al.*, (2021) ; 9 : Rerambiah *et al.*, (2014) ; 10 : Al-Mijalli *et al.*, (2017) ; 11 : Prasada Rao *et al.*, (2022) ; 12 : Sugianli *et al.*, (2017) ; 13 : Polse *et al.*, (2016).

On remarque que ces céphalosporines gardent relativement leur activité sur les germes pathogènes en Algérie et les pays d'Afrique, il apparaît que leur efficacité s'évolue progressivement dans le temps comme mis en évidence par les tests de tendance. Les taux de résistance à la céftazidime par exemple passent de 66% en 2019 à 41% en 2022. Celui de la résistance à la céfotaxime diminue également de façon significative de 52% en 2019 à 26% en 2022. Cette diminution de la résistance à la céftazidime et la céfotaxime des isolats confondus est aussi observée sur *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* (**figure n°29**).

Le retrait progressif de ces molécules dans l'antibiothérapie entraîne ainsi une réduction de la pression de cet antibiotique sur les germes et pourrait en partie expliquer cette tendance.

II.2.2.2 Résistance aux quinolones

Parmi les quinolones présentes dans cette étude, l'acide nalidixique (quinolone de première génération) présente un taux de résistance (59% pour les souches issues des patients hospitalisés et externes) supérieur à ceux des autres fluoroquinolones étudiés que sont la ciprofloxacine, la lévofloxacine et l'ofloxacine (des quinolones de seconde génération). Ce constat est le même pour les souches d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia sp.* et de *Morganella morganii*, qui sont encore plus résistants à l'acide nalidixique avec des pourcentages de résistance allant de 18.18 % à 82.82% pour les souches cliniques et de 25% à 100% pour les souches communautaires.

Les taux de résistance des souches d'origine communautaire à la ciprofloxacine, ofloxacine et à la lévofloxacine étaient de 36 %, 15.38% et 10%, respectivement. La lévofloxacine s'est avérée être la quinolone la plus efficace (90 %) contre les souches d'origine communautaires. Le taux de résistance des souches communautaires de *P. aeruginosa*, *Acinetobacter sp.*, *S. aureus* et *Streptococcus sp.* à cet antibiotique était de 0.00 %. Cependant, il affiche une efficacité en décroissance en fonction des années sur tous les isolats confondus est même sur *Acinetobacter sp.* et *Enterococcus sp.* selon le test de tendance effectué (**figure n°30**). *p. aeruginosa* a montré une résistance de 100% en 2019, puis une diminution à 11% entre 2020-2021, et est remontée à 60 % en 2022.

L'ofloxacine s'est avérée être la quinolone la plus efficace (84 %) contre les souches d'origine hospitalière. 100% des souches de *Streptococcus sp.* et 77.78% de *S. aureus* isolés des infections nosocomiales étaient sensibles à cet antibiotique. Ces résultats concordent avec ceux de **Tchakal-Mesbahi et al. (2021)** qui ont montré que l'ofloxacine étaient la quinolone

les plus efficaces. Aussi, cet antibiotique garde relativement leur activité sur les isolats à gram positive, il apparaît que leur efficacité s'évolue progressivement dans le temps comme mis en évidence par les tests de tendance (figure n°30).

D'autre part, 100% des souches de *Serratia* sp isolées des infections nosocomiales étaient sensibles à la ciprofloxacine, les taux de sensibilité des autres souches à ce même antibiotique étaient de 5% à 85.71% (tableau n°11 et n°12).

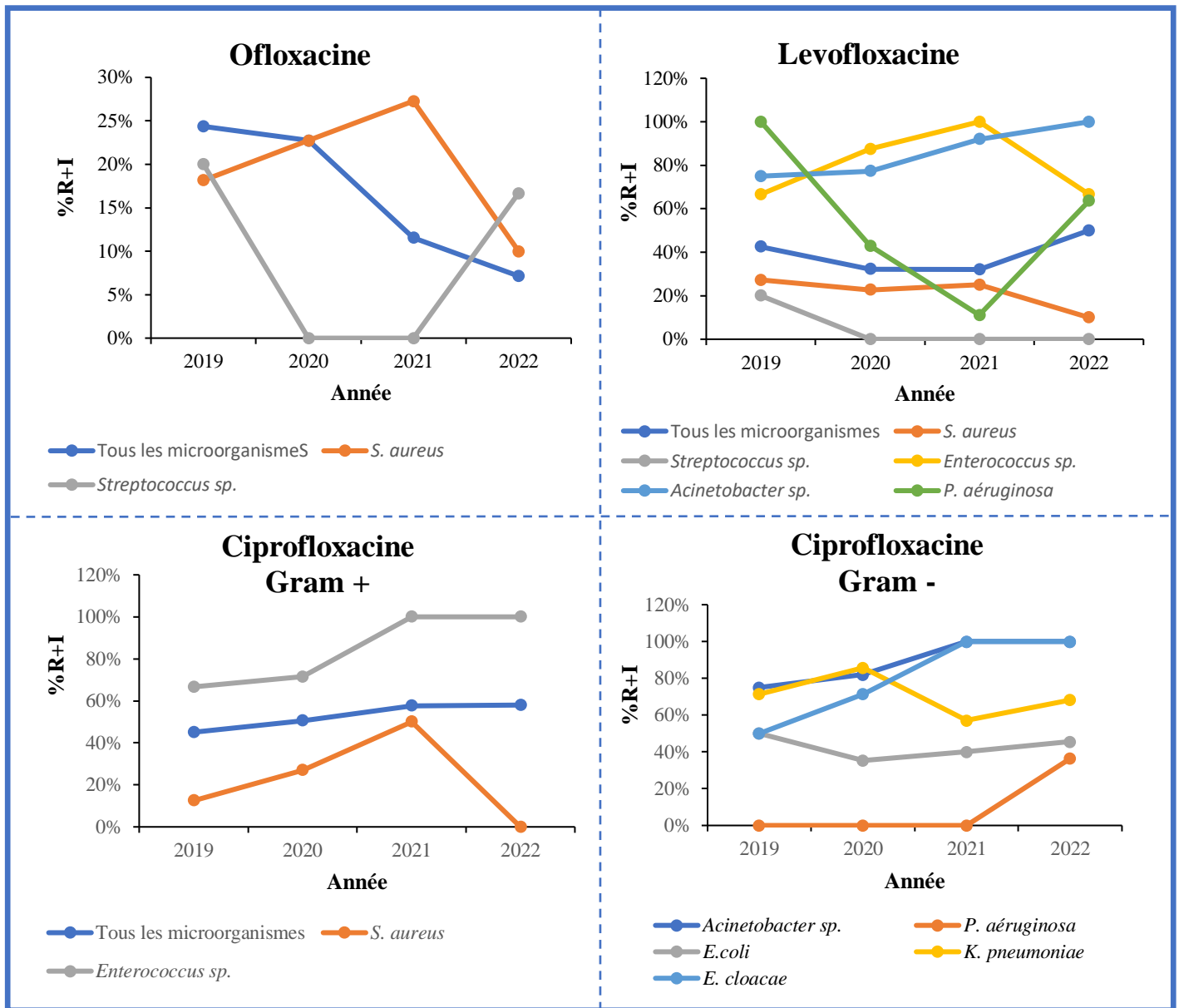


Figure n°30 : Tendances de la résistance à certaine Quinolones par des microorganismes spécifiques, Chlef 2019-2022

Pour les souches d'*Acinetobacter* spp, nous avons observé un taux de résistance très élevés à la ciprofloxacine (95%) et à la lévofloxacine (92.86%). Des résultats similaires ont été obtenus en Algérie par **Tchakal-Mesbahi et al. (2021)** et **Aouf et al. (2022)**, qui ont rapporté que les isolats d'*A. baumannii* étaient très résistants, plus de 80 % étaient résistants à la ciprofloxacine et 100% à la lévofloxacine, respectivement. Selon **Lin et Lan. (2014)**, *A. baumannii* est connu pour sa résistance intrinsèque aux antibiotiques et sa capacité à acquérir des déterminants de résistance codant pour des gènes.

Dans une étude menée par **Bayraktar et al. (2004)**, la résistance à la ciprofloxacine contre les bactéries gram négatives du patients hospitalisés était de 33 % pour *E. coli*, 14 % pour *Enterobacter* spp, *Acinetobacter* spp et 11 % chez *Pseudomonas* spp. Dans notre étude, nous avons constaté que la résistance à la ciprofloxacine chez ces bactéries était de 46,15 %, 83,33 %, 95 % et 23,53 %, respectivement, plus élevée que celle rapportée par Bayraktar et al. Dans une étude similaire, **Bastopcu et al. (2008)** ont constaté que la résistance à la ciprofloxacine était de 43 % chez *E. coli*, de 61,9 % chez *P. aeruginosa* et de 20 % chez *A. baumannii*. Dans l'étude de Ayse Bastopcu, la résistance d'*A. baumannii* à la ciprofloxacine était plus faible que dans notre étude, et pour *P. aeruginosa*, la résistance était plus élevée que dans notre étude ; cependant, la résistance d'*E. coli* était presque égale dans les deux études.

Dans une étude similaire réalisée par **Bouzenoune et al. (2009)** dans l'est algérien à l'hôpital d'Ain Milla, la résistance à la l'acide nalidixique et à l'ofloxacine étaient respectivement de 11.7% et 10.1% chez *E. coli*, 15.8% chez *K. pneumoniae*, 9.1% chez *P. mirabilis* et 15.4% et 66.7% chez BGN non fermentaire. Cependant, **Aouf et al. (2018)** au Centre Hospitalier Universitaire de Benimessous à Alger, a rapporté que des taux de résistance d'*E. coli*, de *K. pneumoniae* et de *P. mirabilis* à la ciprofloxacine est de 17,72 %, 23.94%, 12.37% et à l'acide nalidixique de 27,79 %, 34.27%, 54.64%, respectivement. Dans une autre étude algérienne évaluant la résistance des souches isolées d'infections communautaires, La résistance d'*E. coli* (18%), *Klebsiella* sp (22.5%) et *P. mirabilis* (9%) était plus faible que dans notre étude, et pour *P. aeruginosa* (59%), la résistance était plus élevée que dans notre étude (**Bentroki et al., 2012**).

Au niveau de la ciprofloxacine, le test de tendance indique une évolution progressive du taux de la résistance des isolats dans le temps. Elle évolue de 45% en 2019 à 58% en 2022. Cette tendance de la résistance des isolats confondus est aussi observée sur *S. aureus*, *Enterococcus* sp, *Acinetobacter* sp, *P. aeruginosa* et *E. cloacae* (**figure n°30**).

En raison de l'utilisation répandue des quinolones, il a été signalé que la résistance à ces médicaments augmentait progressivement dans les souches isolées des infections urinaires communautaires et hospitalières (**Bastopcu et al., 2008**).

II.2.2.3 Résistance aux aminoglycosides

Pour toutes les souches confondues, L'antibiotique le plus efficace parmi les aminoglycosides étudiés (l'amikacine, la gentamicine, la clindamycine, et la kanamycine) est l'amikacine avec 24,64% de résistance pour les souches nosocomiales et 3,17% au niveau des souches communautaires. Ces observations sont semblables pour l'étude ciblant les souches à gram négative, qui sont encore plus sensibles à l'amikacine avec des pourcentages de résistance allant de 0.0 % à 83.33% (souches nosocomiales) et 0.0% à 6.25% (souches communautaires). *Acinetobacter* sp (souche nosocomiale) a montré la plus grande résistance à l'amikacine (83,33%). La résistance était supérieure aux données du Réseau Algérien de surveillance de la Résistance (AARN) enregistrées chez les *Acinetobacter* sp. (Amikacine 65,7%) (**AARN. 2016**), et aux études réalisées dans l'Ouest Algérien en 2013 et à Alger en 2015 (**Mesli et al., 2013 ; Khorsi et al., 2015**). *P. mirabilis*, *Serratia* sp. *E. cloacae* et *M. morgani* étaient sensibles à cet antibiotique.

Aussi, cet antibiotique affiche une efficacité en décroissance en fonction des années sur tous les isolats confondus est même sur *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* sp, *P. aeruginosa* et *E. cloacae* selon le test de tendance effectué. *P. mirabilis* et *Serratia* sp ont montrés aucune résistance entre 2019-2022. Cependant, il garde relativement leur activité sur les isolats à gram positive, il apparait que leur efficacité s'évolue progressivement dans le temps comme mis en évidence par les tests de tendance (**figure n°31**).

La clindamycine présentes un taux de résistances (26.32%) presque similaire à l'amikacine des isolats nosocomiaux. Bien que les taux de résistance à la gentamycine et la kanamycine des isolats nosocomiaux et de 41.72% et 45.65%, respectivement, ces antibiotiques est moins efficace que l'amikacine et la capréomycine (**tableau n°10**).

La famille des Aminoglycosides se présente comme des molécules encore efficaces. On note un faible de taux de résistance des souches d'*E. coli* (13,79% et 7.69%), de *S. aureus* (17.02% et 0.00%), de *P. mirabilis* (20% et 33.33%), de *Streptococcus* sp (25.00%) et de *P. aeruginosa* (27,59% et 0.00%) issues des patients hospitalisés et en consultation sur la

gentamicine. *Acinetobacter* sp a montré la plus grande résistance à cet antibiotique (88,57%), suivi par *Serratia* sp. (75%), *K. pneumoniae* (62.50%) et *E. cloacae* (63.64%) (souches nosocomiales). La résistance d'*Acinetobacter* sp a la gentamicine est proche de celles obtenues dans les hôpitaux algériens (Benamrouche *et al.*, 2021). En Algérie, une faible résistance à la gentamicine (7% et 7.7%) a été trouvée chez les staphylocoques (Ramdani-Bouguesa *et al.*, 2006 ; Achek *et al.*, 2018). L'étude réalisée par Aouf *et al.* (2018) au Centre hospitalier universitaire de Benimessous à Alger, ont montré une faible résistance d'*E. coli* (6.39%), de *K. pneumoniae* (20.66%) et de *P. mirabilis* (6.19%).

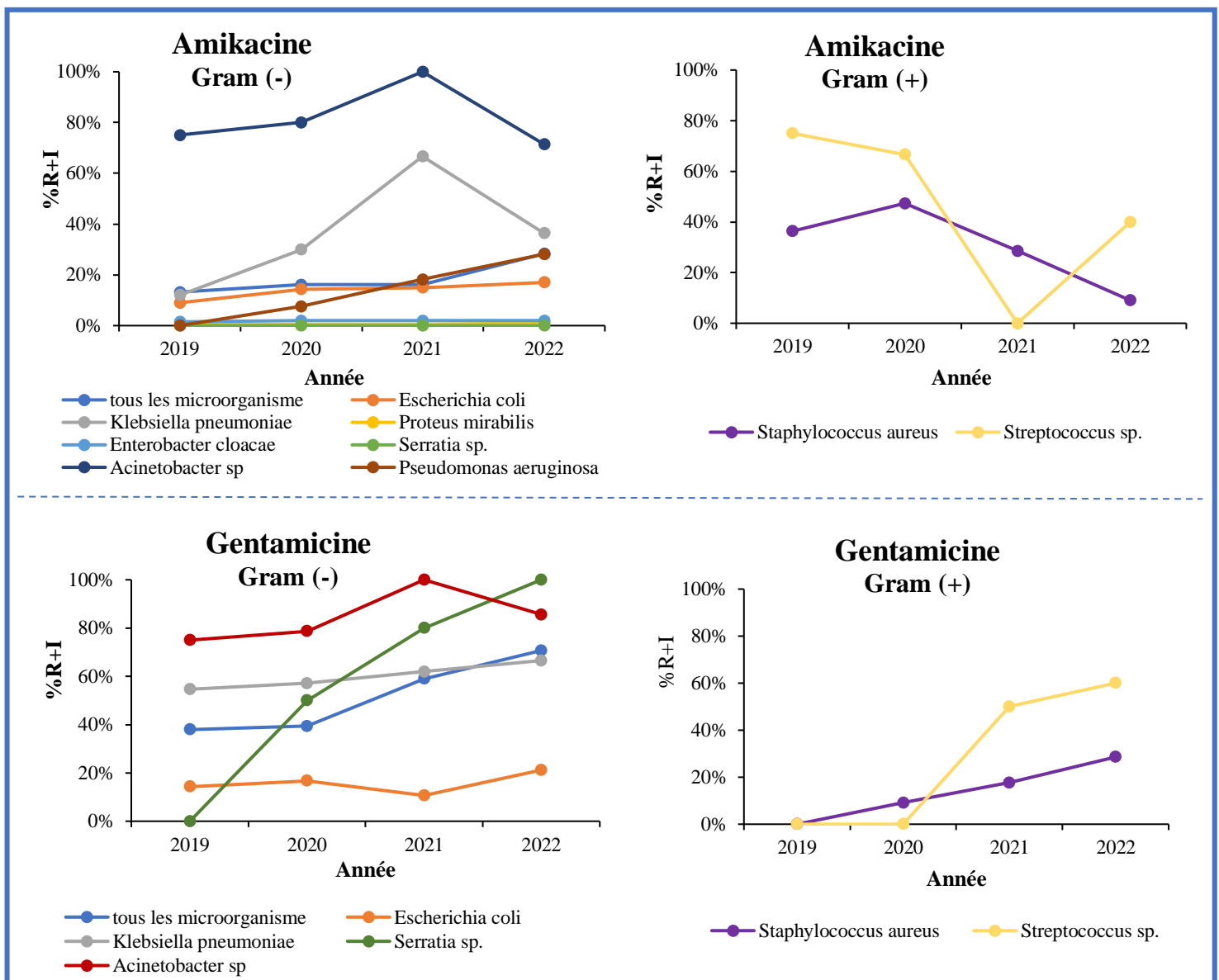


Figure n°31 : Tendances de la résistance à l'amikacine et la Gentamicine par des microorganismes spécifiques, Chlef 2019-2022

La résistance d'*E. coli* à la gentamicine est proche de celles obtenues par certains auteurs en Espagne, en Italie et au Maroc (Smithson *et al.*, 2012 ; El Bouamri *et al.*, 2014 ; Pierantoni *et al.*, 2021). De fortes résistances de cette espèce bactérienne à cet antibiotique ont été observées au Costa Rica (62,7%) (Zúniga-Moya *et al.*, 2016) ; et au Pakistan (73%) (Tanvir *et al.*, 2012). Un rapport au Nigeria a indiqué un taux de résistance plus élevée d'*E. coli* (47.3%), de *P. aeruginosa* (58.7%), de *Proteus* sp (32.1%), de *S. pneumoniae* (60%), et faible de *Klebsiella* sp (31.3%) et de *S. aureus* (18.9%) (Tobin *et al.*, 2021). Un taux de résistance aussi élevé de *Klebsiella* sp (62.50%) a été rapporté à l'Yemen (Badulla *et al.*, 2020)

Au niveau de cette antibiotique (la gentamicine), le test de tendance indique une évolution progressive du taux de la résistance des isolats dans le temps. Elle évolue de 38% en 2019 à 70.7% en 2022. Cette tendance de la résistance des isolats confondus est aussi observée sur *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia* sp, *Acinetobacter* sp, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus* sp, elle évolue de 14.29%, 54.67, 0%, 75% et 0% en 2019 à 21.20%, 66.55%, 100%, 85.57%, 28.57% et 60% en 2022, respectivement (figure n°31).

On note aussi d'autres antibiotiques qui présentent de faibles taux d'efficacité. Il s'agit de la tétracycline, de l'association sulfaméthoxazole/ triméthoprime et de l'érythromycine avec un taux de résistance de 55,10%, 53,6% et 52.87% pour les souches isolées des hospitalisés et de 46,15%, 43,4% et 43,75% pour les isolats communautaires, respectivement. Notons-nous aussi qu'à côté des céphalosporines de troisième génération et des aminoglycosides qui gardent encore une efficacité relative, d'autres antibiotiques sont toujours efficaces tels que les carbapénèmes, les pénicilline et les glycopeptides.

Les antibiotiques, qu'ils soient relativement efficaces ou pas, montrent une augmentation progressive du taux de résistance des isolats dans le temps. Ces observations sont confirmées par d'autres études (Mhondoro *et al.*, 2019 ; Salah *et al.*, 2021 ; Schrader *et al.*, 2023). La pression exercée par ces molécules sur les microorganismes liée à leur utilisation excessive ou à tort explique l'augmentation des taux de résistance dans le temps. L'utilisation des antibiotiques qui découlent de l'automédication, est une pratique récurrente dans les pays en développement notamment en Algérie. Selon une étude d'investigation, 61,86% des hommes et 38,14% des femmes d'Algérie ont recours à l'automédication en cas d'infection (Aggabi *et al.*, 2015). La famille des bêta-lactamines

(pénicillines principalement) constitue la principale classe d'antibiotiques utilisées dans des cas d'automédication toujours selon le même auteur.

Par ailleurs, concernant la qualité de ces médicaments vendus illicitement, une étude au Nigéria révèle que 48% de 581 échantillons de médicaments constitués d'antibiotiques, d'antiparasitaires et d'antifongiques prélevés sur le secteur pharmaceutique privé ne répondent pas aux critères de qualité pharmacologique. Ils sont en dehors des normes de la pharmacopée britannique (**Taylor *et al.*, 2001**).

Le traitement des flacons et emballage des antibiotiques après leur usage est également un facteur aggravant. Ceux-ci, en cas de mauvaise gestion peuvent se retrouver dans l'environnement et induire l'apparition des germes résistants et multi résistants. Selon les travaux réalisés par **Haddaoui. (2021)**, dans la région Moyen-Orient et Afrique du Nord (MENA), incluant l'Algérie, les eaux usées de cette région renferment des produits pharmaceutiques dont de l'acide clavulanique, de l'érythromycine, et de la sulfaméthoxazole à des concentrations respectives de 26 620–51 460 ng/L, 1,5–3010 ng/L, et 12,1–900 ng/L. La présence des produits pharmaceutiques surtout des antibiotiques de tout genre dans ces lieux pourrait être sans doute une source considérable de sélection de bactéries multi-résistantes.

II.2.3 Souches multi-résistantes

La présence de souches multirésistantes a été identifier par l'analyse des profils de résistance des divers isolats avec le logiciel WHONET 5.6. Selon les critères de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses, en fonction de leur phénotype, ces différentes souches sont classées comme des multirésistants MDR (multiple Drug-Resistant) ou XDR (Extensively Drug-Resistant) ou encore PDR (Pandrug-Resistant) (**Magiorakos *et al.*, 2012**).

Sur les 424 souches pathogènes isolées, 120 souches (28,30 %) ont été identifiés comme des souches multirésistants de type MDR. Ces isolats présentent une résistance à au moins trois familles d'antibiotiques. Parmi les souches MDR identifiées, un total de 96 souches présentant un potentiel XDR, ce qui représente 22,41 % de l'ensemble des isolats. Les souches multirésistantes XDR se distinguent par leur capacité à résister à tous les types d'antibiotiques, à l'exception de quelques-uns. Parmi les XDR, 23 souches potentiellement PDR ont été trouvées, ce qui représente 5,42 % de l'ensemble des isolats.

Les proportions des types de multi-résistants pour chaque espèce microbienne isolés sont présentés dans le **tableau n°13** ci-dessous.

Tableau n°13 : Proportion des multi-résistants au niveau de chaque espèce isolée

| Micro-organisme | Nombre total | MDR | XDR | PDR |
|-------------------------------|---------------|--------------|-------------|-------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 90 | 39 (43,33%) | 14 (15,56%) | 0 (0,00%) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 77 | 17 (22,08%) | 38 (49,35%) | 7 (9,09%) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 59 | 37 (62,71%) | 5 (8,47%) | 0 (0,00%) |
| <i>Acinetobacter sp.</i> | 38 | 0 (0,00%) | 18 (47,37%) | 15 (39,47%) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 35 | 13 (37,14%) | 11 (31,43%) | 1 (2,86%) |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 29 | 0 (0,00%) | 1 (3,45%) | 0 (0,00%) |
| <i>Enterococcus sp.</i> | 24 | 13 (54,17%) | 9 (37,5%) | 0 (0,00%) |
| <i>Streptococcus sp.</i> | 23 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 17 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Serratia sp.</i> | 16 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Morganella morganii</i> | 8 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Citrobacter sp.</i> | 4 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Salmonella sp.</i> | 2 | 1 (50,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| <i>Providencia sp</i> | 1 | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) | 0 (0,00%) |
| Total | 424 (100,00%) | 120 (28,30%) | 96 (22,64%) | 23 (5,42%) |

Ce tableau révèle que les souches d'*Acinetobacter sp.*, pathogènes présentent la fréquence la plus importante d'apparition de multirésistants de type PDR avec une valeur d'environ 40%. *Klebsiella pneumoniae* présentent le degré de multirésistance de type XDR le plus élevé (49.35%). Au niveau des multirésistants de type MDR, les isolats issus d'*Enterococcus sp.*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* affichent des fréquences d'apparition supérieures à 30%.

Il est bien connu que Les Gram négatifs sont principalement isolés dans différents échantillons cliniques et constituent surtout une cause importante d'infections nosocomiales (septicémie, pneumonie et méningite) car elles provoquent généralement des maladies graves. Selon des rapports antérieurs, la présence de souches multirésistantes dans ces types d'isolats a été associée à des séjours prolongés à l'hôpital, à des coûts de soins de santé plus élevés et à une augmentation de la morbidité et de la mortalité dans les pays à ressources limitées, y

compris l'Algérie (Wise *et al.*, 1998 ; Beyene *et al.*, 2011). La comparaison des pourcentages des différents types de multirésistant entre les souches nosocomiales et les souches communautaires est présentée par la **figure n° 32**.

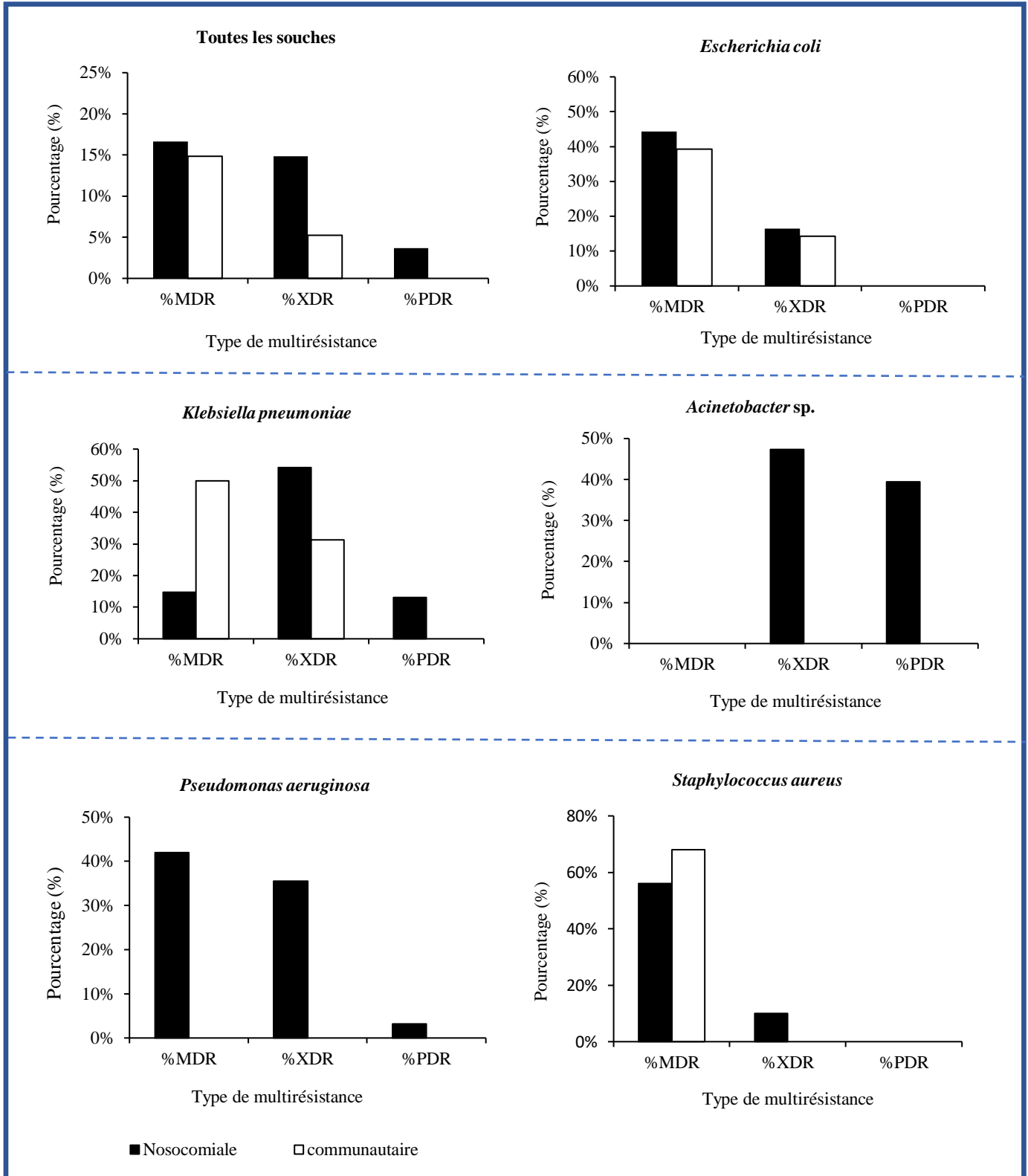


Figure n°32 : Comparaison des pourcentages des multi-résistants des souches communautaires à celles issues des patients hospitalisés

En ce qui concerne les infections, les fréquences des bactéries multirésistantes sont plus élevées dans les souches nosocomiales que dans les souches communautaires, selon la conférence de consensus de la Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) (**consensus, 2003**). Conformément aux conclusions de ces auteurs, les données empiriques suggèrent que les isolats pathogènes multirésistants (MDR et XDR) obtenus à partir des patients hospitalisés présentent une prévalence nettement plus élevée que les isolats obtenus à partir des patients consultants.

II.2.4 Conclusion

Cette étude, qui s'inscrit dans le cadre d'une enquête globale sur l'état actuel de la résistance bactérienne aux antibiotiques, a permis d'élucider certaines caractéristiques épidémiologiques. Elle a démontré la corrélation entre la distribution géographique des micro-organismes pathogènes et la variabilité de la prévalence de la résistance aux antibiotiques dans différents pays d'Afrique et d'Europe. Il ne fait aucun doute que ces différences sont dues à l'environnement et aux habitudes des personnes qui y vivent.

L'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques est facilitée par les pratiques inappropriées des populations locales, peut être attribuée à différents facteurs, dont la pratique de l'automédication facilitée par le commerce illicite d'antibiotiques, ainsi que le traitement inadéquat des déchets hospitaliers.

L'étude a également démontré que l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques ne subit pas seulement une évolution temporelle, mais présente également une progression vers une résistance multiple, englobant les résistances MDR, XDR et PDR. L'observation susmentionnée constitue une véritable préoccupation dans le domaine de la santé publique, car l'émergence d'une telle résistance pose des défis importants en termes d'efficacité des traitements.

Parallèlement à la mise en œuvre de stratégies de surveillance visant à optimiser le traitement antibiotique afin d'atténuer la progression des souches bactériennes résistantes, il est impératif de reconstituer périodiquement le répertoire des composés antimicrobiens à notre disposition. Cette démarche est observée dans la troisième partie de notre étude, dans laquelle nous avons mené des recherches sur les composés antimicrobiens chez *Ephedra alata* et *Haloxylon scoparium*.

Partie III

Partie expérimentale

III.1 Matériel et méthodes

III.1.1 Matériel végétal

La partie aérienne d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium* (**figure n°33**) ont été récoltés pendant le mois de décembre de l'année 2018, dans un champ situé du sud-ouest de l'Algérie (Bechar) (30°50'27"N, 1°59'53"W), à l'altitude de 593 m, et (31°17'08"N, 2°26'32"W), à l'altitude de 676 m respectivement (**figure n°34**). L'identification botanique a été confirmée par le professeur Belhaçaini Hachimi, botaniste de l'Université de Sidi Bel-Abbès, Algérie. Un spécimen d'herbier (A.h à ONA 2018) a été conservé au laboratoire de microbiologie et biologie végétale de l'université de Mostaganem. Le Matériel végétal a été séché à température ambiante pendant 30 jours puis pulvérisés en poudre fine et conservé à température ambiante à l'abri de la lumière.

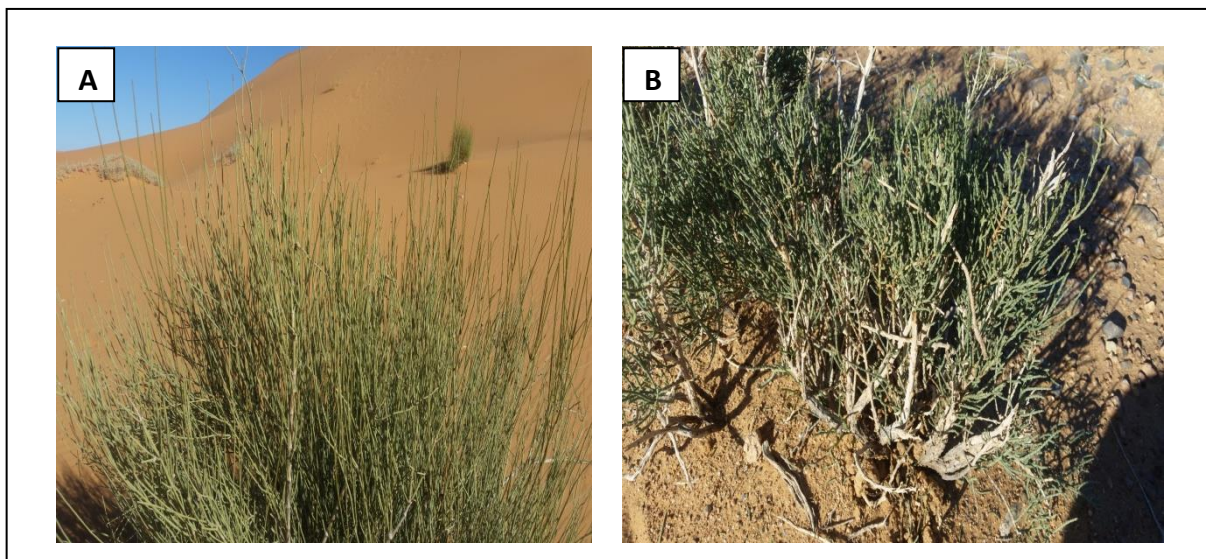


Figure n°33 : *Ephedra alata* (A) et *Haloxylon scoparium* (B) (partie aérienne) (Photo Originale).

III.1.2 Extraction

100 g de poudre de la partie aérienne de chaque plante ont été mise à macérer séparément dans 1 litre des deux différents solvants (méthanol et méthanol- eau 70/30 v/v) avec agitation de 200 rpm pendant 72 heures à température ambiante. Les mélanges ont ensuite été filtrés en utilisant du papier filtre Whatman N° 1 puis concentrés à 40°C dans un évaporateur rotatif (Büchi) équipé d'un bain-marie BUCHI Labortechnik AG B-491 (Suisse) et d'un groupe de

pompage à vide PHYWE (Nr. 02738.93). Les extraits obtenus ont été conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation (Arsene *et al.*, 2021).

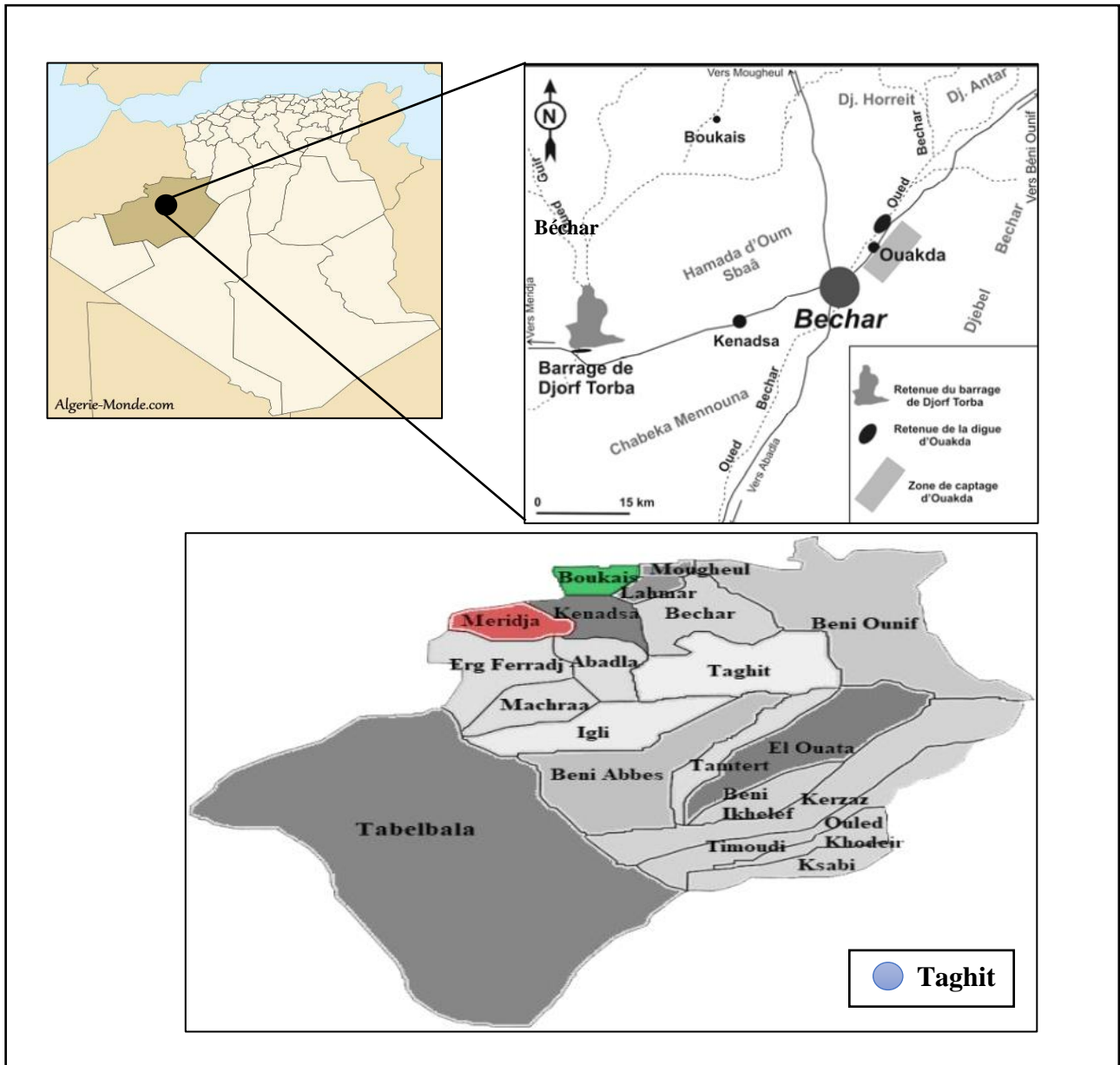


Figure n°34 : Carte géographique des zones de collecte des espèces étudiées

III.1.3 Screening phytochimique

Le screening phytochimique sur une plante représente toujours la première étape de son étude chimique. Est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les différents composés chimiques contenus dans une drogue donnée, soit par des réactions de coloration (formation

de complexes colorés), soit par des réactions de précipitations (formation de complexes insolubles). Elles n'ont évidemment qu'une valeur indicative mais elles permettent d'orienter les recherches ultérieures.

L'analyse phytochimique a été réalisée sur la partie aérienne d'*Ephedra alata* (rameaux et tiges) et d'*Haloxylon scoparium* (feuilles et tiges) basant sur les procédures standards décrits par **Harborne, 1973 ; Odebiyi et Sofowora, 1978 ; Trease et Evans, 1989 ; Borokini et Omotayo, 2012 ; Pandey et Tripathi, 2014 ; Shaikh and Patil 2020.**

❖ Composés réducteurs

Les extraits ont été dissous individuellement dans 5 mL d'eau distillée et filtrés. Les filtrats ont été utilisés pour tester la présence d'hydrates de carbone.

Test de Fehling : Les filtrats ont été chauffés avec les solutions A et B de Fehling. La formation d'un précipité rouge indique la présence de sucres réducteurs.

❖ Terpénoïdes

Les extraits ont été testés pour les terpénoïdes en pesant 0,1 g des extraits et en le dissolvant dans 2 mL de chloroforme. Ensuite, 3 mL d'acide sulfurique concentré ont été soigneusement ajoutés pour former une couche. Une coloration brun rougeâtre de l'interface indique la présence de terpénoïdes.

❖ Stéroïdes

Les stéroïdes ont été testés en ajoutant 2 mL d'anhydride acétique à 0,1 g des extraits, puis en ajoutant 2 mL d'acide sulfurique au mélange. Un changement de couleur bleue ou verte a été observé pour tirer une conclusion.

❖ Phénols

Dans un tube à essai, 5 mL d'eau distillée ont été ajoutés à 3 mL d'extrait. Ensuite, 1 mL de solution de chlorure ferrique, FeCl₃, à 1% a également été ajouté. La réaction est considérée comme positive lorsque les couleurs varient entre le bleu et le rouge, preuve de la présence de phénols simples.

❖ Flavonoïdes

La présence de flavonoïdes a été testée en ajoutant 5 mL de solution d'ammoniaque diluée à une portion du filtrat aqueux des extraits de plantes, suivie de l'ajout de 1 mL d'acide sulfurique concentré. Une coloration jaune qui disparaît au repos indique la présence de flavonoïdes.

❖ Glycosides

Le test de Keller-Killiani a été utilisé pour tester les glycosides cardiaques en diluant les extraits dans 5 mL d'eau. Le mélange de 2 mL d'acide acétique glacial contenant une goutte de solution de chlorure ferrique à 0,1% a été ajouté aux extraits de plantes dilués. Ce mélange a été sous-exploité avec 1 ml d'acide sulfurique concentré. Un anneau brun à l'interface indique la présence d'un désoxysucre caractéristique des cardénolides.

❖ Saponines

Le test de mousse persistante a été utilisé pour tester les saponines en pesant 0.1 g des extraits et en le mélangeant avec 2 mL d'eau du robinet. Le mélange a été vigoureusement secoué et chauffé à 100°C. Si la mousse produite persiste pendant dix minutes, cela indique la présence de saponines.

❖ Tannins

La présence de tanins a été testée en faisant bouillir 0,5 g de poudre de deux plantes étudiées dans 5 mL d'eau distillée dans un tube à essai, puis refroidie et filtrée. Quelques gouttes ou trois gouttes de chlorure ferrique à 0,1% ont été ajoutées à 1 mL de la solution dans un tube à essai et on a observé la coloration vert brunâtre ou bleu-noir.

❖ Alcaloïdes

Le réactif de Dragendorff a été utilisé pour tester les alcaloïdes. Les extraits ont été dissous dans 5 mL d'acide chlorhydrique à 1% et 5 gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées. La formation d'un couleur rouge indique la présence d'alcaloïdes.

❖ Quinones

Le test d'acide sulfurique (H_2SO_4) a été utilisé pour tester les quinones, en pesant 10 mg d'extrait dissous dans l'alcool isopropylique et en le mélangeant avec une goutte d'acide sulfurique. La formation d'une couleur rouge indique la présence de quinones.

❖ Coumarine

Un tube à essai contenant 3 mL d'extrait a été recouvert de papier filtre et 1 mL de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10% a été appliqué sur la surface du papier. Le tube a été chauffé au bain-marie pendant 10 minutes. Après refroidissement à température ambiante, le papier a été évalué sous lumière UV à une longueur d'onde de 365 nm. Le résultat est considéré comme positif lorsque la fluorescence sur le papier est verte ou jaune.

III.1.4 Teneur en composés phénoliques

III.1.4.1 Teneur en polyphénols totaux (TPT) :

La concentration du contenu phénolique dans les deux extraits a été évaluée en utilisant la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) suivant le protocole décrit par **Ozkok et al. (2010)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) pendant l'oxydation du phénol. Cette réaction, qui se produit dans des conditions alcalines, est réalisée avec du carbonate de sodium. La coloration produite est mesurée à 765 nm et reflète la quantité de polyphénols généralement exprimée en équivalent acide gallique (EAG). Brièvement, 2,5 mL de FCR (10%) ont été ajoutés à 0,5 mL d'extrait (1 mg/mL préparé dans le méthanol à 70 %). Après 3 min à 25°C, 2mL d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%) sont ajoutés et bien mélangés, le tout est laissé pendant 2 h à température ambiante avant d'enregistrer son absorbance à 765 nm. L'acide gallique (0,025-0,125 mg/mL) a été utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage. La teneur totale en polyphénols a été exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

III.1.4.2 Teneur en flavonoïdes totaux (TFT)

Le contenu en flavonoïdes totaux des extraits d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium* a été évalué en utilisant le test colorimétrique au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrit par **Zou et al.**

(2004). La méthode est basée sur l'interaction du flavonoïde avec l' AlCl_3 entraînant un complexe rose qui absorbe à 510nm. Brièvement, 50 μL de chaque extrait dilué dans du méthanol à 1 mg/ml, 1250 μL d'eau distillée et 75 μL d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 5% ont été mélangés. Après 6 min de réaction, 150 μL d'une solution à 10 % d' AlCl_3 fraîchement préparée ont été ajoutés et le mélange a été maintenu pendant 5 min. Ensuite, 500 μL d'une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (1M) ont été combinés. L'absorbance de cette préparation a été mesurée à 510 nm. La catéchine (0,2 à 1,0 mg/mL) est utilisée comme standard. La teneur en flavonoïdes a été évaluée par référence à une courbe d'étalonnage de la catéchine et exprimée en mg d'équivalent de catéchine (EC)/ g d'extrait.

III.1.4.3 Teneur en Tanins condensé totaux (TCT)

Après avoir dissous chaque extrait séché dans son solvant respectif, une solution de vanilline à 4% (1,5mL) a été mélangée à 50 μL de chaque extrait, suivi du mélange de HCl concentré (0,75mL). Le mélange homogène décrit précédemment a été incubé pendant 20 min dans l'obscurité, à température ambiante. Une courbe standard a été réalisée avec 0,025-0,125 mg/mL 37.5-1200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ d'acide tannique, tandis qu'une solution de HCl concentré à 4% (v/v) dans de l'alcool éthylique a été utilisée comme blanc. L'absorbance a été prise à $\lambda 500\text{nm}$ par rapport au blanc, et les tanins condensés totaux (TCT) ont été exprimés en équivalence à l'acide tannique en mg/g de poids sec des extraits (Samee Ullah *et al.*, 2019).

III.1.5 Chromatographie liquide à haute performance HPLC-DAD

L'extrait qui présente l'activité antimicrobienne la plus intéressante est fractionné par HPLC. HPLC est une technique utilisée pour l'identification, la séparation et la quantification des composés d'un mélange. Les analyses peuvent être séparées en fonction de leur hydrophobie, de leur taille, de leur charge et de nombreuses autres propriétés (Bogusław et Sylwia, 2012).

Les composés phénoliques des extraits ont été analysés sur chromatographie liquide à haute performance Agilent série 1200 infinity (Agilent Technologies, USA) composé d'un système de détection à barrette de diodes (DAD). Les séparations ont été réalisées à l'aide d'une colonne Zorbax Eclipse Plus C-18 (Agilent) (250 mm \times 4,6 mm de longueur, taille des particules 5 μm) à 40 °C, avec un volume d'injection de 5 μL .

Deux solvants ont été utilisés pour la séparation dans un système de gradient. Le solvant A était composé de 0.1 % d'acide formique dans l'eau, tandis que le solvant B était

d'acétonitrile. Le gradient d'élution appliqué à un débit de 0,5 ml/min était le suivant : 10% A/90% B pendant 22 min, 50%A/50% B pendant 10 min, 100%A pendant 8 min et même gradient pendant 4 min, 10%A/90% B pendant 6 min et même gradient jusqu'à la fin de la série. Les spectres d'absorption UV des étalons et des échantillons ont été mesurés entre 190 et 400 nm. Les longueurs d'onde de détection choisies sont différentes pour les différents analytes et représentent leurs maximas d'absorbance ou en sont proches.

Vingt-cinq composés phénoliques ont été utilisés comme étalon. Ces composés étaient l'acide ascorbique, l'acide gallique, l'acide protocatéchuïque, la (+) -catéchine, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, l'acide caféique, la (-) -épicatéchine, l'acide syringique, la vanilline, l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide sinapinique, l'acide benzoïque, l'acide o-coumarique, la rutine, la naringine, l'hespéridine, l'acide rosmarinique, l'acide trans-cinnamique, la quercétine, la naringénine, la lutéoline, le kaempférol et l'apigénine. Les échantillons et les solutions étalons ainsi que la phase mobile ont été filtrées à travers un filtre à membrane de 0,45 µm (Millipore Corporation, Bedford, MA, USA) avant l'analyse HPLC. L'identification et l'analyse quantitative ont été réalisées par comparaison avec des standards à chaque temps de rétention. La quantité de chaque composé phénolique identifiés a été exprimée en mg par gramme d'extrait (**Caponio *et al.*, 1999**).

III.1.6 Test d'activité antimicrobienne

III.1.6.1 Souches microbiennes testées

14 souches pathogènes ont été sélectionnées pour ce test. 8 d'entre elles sont des souches de l'American Type Culture Collection (ATCC) provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie, tandis que les autres sont des souches multirésistantes, isolées à partir des différentes échantillons cliniques (pus, Cathéter et urine) chez des patients hospitalisés dans l'hôpital de Chlef (Sœur bedj) en Algérie (**tableau n°14**). Ces souches isolées ont été identifiées par des tests morphologiques et biochimiques, suivis par des tests de sensibilité aux antibiotiques (Partie II du thèse). Toutes les souches ont été conservées dans un bouillon d'infusion de cœur de cerveau (BHIB) avec du glycérol (8 :2, v/v) à -20 °C jusqu'au traitement ultérieur.

III.1.6.1.1 Réidentification par caractéristiques morphologiques et biochimiques des isolats multirésistantes (BMR)

Les confirmations des isolats ont été effectuées à l'aide d'un test morphologique de base, à savoir la coloration de Gram, et de tests biochimiques primaires tels que le test de catalase et

de coagulase. La pureté des souches a été vérifiée par ensemencements sur des milieux sélectifs à savoir milieu Hektoen pour les entérobactéries, milieu gélose au cétrimide pour *P. aeruginosa*, milieu Chapman pour *S. aureus*. Les colonies isolées ont été soumises à des tests morphologiques et biochimiques, ainsi qu'ils ont été utilisés pour le processus d'identification moléculaire. L'identification a été réalisée à l'aide d'une analyse moléculaire basée sur les fragments d'ADNr 16S des bactéries.

Tableau n°14 : Origines des micro-organismes utilisés

| | Gram | Souches | Code | T° d'incubation | Source |
|-----------|--------------|------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------------|
| Bactéries | Gram positif | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 25923 | 35-37 °C | Institut Pasteur d'Algérie |
| | | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC 29212 | | |
| | | <i>Bacillus cereus</i> | ATCC10876 | | |
| | | <i>Staphylococcus aureus</i> | Isolée | | |
| | Gram négatif | <i>Escherichia coli</i> | ATCC25922 | 35-37 °C | Institut Pasteur d'Algérie |
| | | <i>Salmonella typhi</i> | ATCC 14028 | | |
| | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | ATCC 13883 | | |
| | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 | | |
| | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Isolée | | Milieu hospitalier |
| | | <i>Escherichia coli</i> | Isolée | | |
| | | <i>Enterobacter hormaechei subsp. Xiangfangensis</i> | Isolée | | |
| | | <i>Enterobacter ludwigii</i> | Isolée | | |
| | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Isolée | | |
| | Levures | / | <i>Candida albicans</i> | ATCC10231 | 25-30 °C |

ATCC: American Type Culture Collection.

III.1.6.1.2 Identification par caractéristiques moléculaires des isolats multirésistants (BMR)

L'estimation des types de bactéries est basée sur la clé d'identification et l'analyse moléculaire de l'ADN (Barrow et Feltham, 1993). L'ADN génomique a été isolé à partir des culots cellulaires de tous les isolats de bactéries multirésistants, conformément aux instructions du fabricant en utilisant un kit d'extraction d'ADN (NucleoSpin de Macherey-Nagel, Allemagne). A un seul fragment d'ADN (environ 1500 pb) codant pour le gène ADNr 16S a été amplifié pour chaque isolat à l'aide d'un thermocycleur (P100 de Biorad, USA) en utilisant des

amorces 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') (tableau n° 15 et 16).

Tableau n° 15 : Mélange de réaction PCR

| Réactifs | Concentrations Initiales | Concentrations Finales | Volume à prélever |
|------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------|
| Eau ultra pure | - | - | 14,1 µl |
| Tampon de Taq Promega | 5X | 1X | 5.0 µl |
| MgCl ₂ | 25mM | 1,5mM | 1.5 µl |
| dNTP | 25mM | 0,2mM | 0.2 µl |
| Amorce 27F | 10µM | 0,4 | 1.0 µl |
| Amorce 1492R | 10µM | 0,4 | 1.0 µl |
| Taq polymérase Promega | 5U | 1U | 0,2 µl |
| ADN génomique | | | 2.0 µl |
| Volume final : | | | 25.0 µl |

Les produits PCR amplifiés des fragments du gène bactérien de l'ARNr 16S ont été révélés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5%. La purification des fragments amplifiés a été effectuée par le kit Clean up de Macherey-Nagel (MN., Germany) suivant le protocole décrit par le fournisseur. Les produits PCR isolés et purifiés ont été séquencés par la technique de Sanger (**Sanger *et al.* 1977**) à l'aide d'un séquenceur automatisé ABI 3100 (Applied Biosystems) équipé du kit BigDye Terminator v3.1 et des amorces qui ont servi pour l'amplification PCR. Les séquences obtenues sont analysées et nettoyées par l'utilisation du logiciel CHROMAS PRO. Les séquences finales sont alors comparées avec celles de la banque de données GeneBank par l'utilisation du Programme BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast) de NCBI pour l'identification des isolats étudiés en se basant sur le % homologie avec les souches de références.

Tableau n° 16 : Conditions de la PCR pour l'amplification du gène de l'ARNr 16S

| Étapes | Température | Temps | Nombre de cycle |
|---------------------------|--------------------------|-------|-----------------|
| Dénaturation initiale | 95°C | 5min | 1 |
| Dénaturation | 95°C | 30s | |
| Hybridation | 55°C | 30s | 30 |
| Élongation | 72°C | 45s | |
| Elongation finale | 72°C | 7min | 1 |
| Stockage avant révélation | 10°C jusqu'à utilisation | | |

Le choix des souches isolées a été basé sur leur pertinence clinique en tant que bactéries pathogènes dans les infections humaines, ainsi que sur leur niveau de résistance aux antibiotiques.

III.1.6.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puits en milieu gélosé

La méthode de diffusion sur puits en milieu gélosé décrit par **Perez *et al.* (1990)** et modifié par **Ahmad et Beg. (2001)** a été utilisé pour évaluer l'activité antimicrobiennes des extraits. Elle consiste à déposer une quantité de l'extrait à évaluer dans un puits creusé aseptiquement dans une gélose inoculée par une souche microbienne cible. L'extrait diffuse dans la gélose et inhibe la formation du tapis bactérien en fonction du gradient de concentration qui se met en place. La diffusibilité du l'extrait dans la gélose, le temps et la distance de migration, la concentration du composé affectent cette diffusion (**Cooper, 1955**).

A partir d'une culture jeune de 24 heures sur bouillon nutritif pour les bactéries, ou 48 heures sur bouillon Sabouraud pour les levures, en les diluants dans l'eau physiologique et la turbidité de chaque suspension est ajustée à 0.5 Mac Farland qui correspond à $(1-2) \times 10^8$ UFC/mL pour les bactéries et $(1-5) \times 10^6$ UFC/mL pour les levures.

100 μ L de chaque suspension ont été étalés sur la surface de Mueller Hinton Agar (MHA) et des puits de 6 mm de diamètre y sont creusés à l'aide d'un perce-bouchon stérile. Ensuite, 50 μ L des extraits testés à des concentrations de 50 mg/mL et 100 mg/mL ont été déposés dans les puits. De même, du DMSO à 10 % a été préparé comme témoins négatifs pour dissoudre les extraits, tandis que la Tobramycine (10 μ g), l'Ampicilline (30 μ g) et la Doxycycline (30 μ g) ont servi de témoins positifs. Toutes les boîtes de Pétri traitées ont ensuite été mises à 4°C pendant 2 h avant d'être incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et 48h à 25°C pour les levures. Le diamètre de la zone d'inhibition (DIZ) a été mesuré et donné en millimètres (mm). Les essais sont effectués en triple.

III.1.6.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de dilution en série en milieu liquide

Ce test en milieu liquide a pour but de déterminer pour les extraits, les paramètres antimicrobiens dont la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB). Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ont

été déterminées selon la méthode de microdilution en série en utilisant une microplaque de 96 puits (Aref *et al.*, 2011).

La CMI est décrite comme la concentration la plus faible de l'extrait inhibant la croissance des micro-organismes testés (Kamsu *et al.*, 2019). Une gamme de concentrations (1,56 - 200 mg/mL) de 100 µL de chaque extrait est effectuée par des dilutions au demi dans une solution de DMSO 5%. 5µL de la suspension bactérienne à des concentrations finales de 5×10^5 UFC/mL ont été ajoutés à 95 µL de bouillon Muller Hinton dans chaque puits de la gamme de concentrations préalablement préparée. Les puits de contrôle de croissance positive étaient constitués de bactéries uniquement dans leur milieu adéquat. Comme contrôle négatif, du DMSO à 5% a été utilisé. Ensuite, les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, 20 µL de triphenyl tetrazolium chloride (TTC) de 2 mg/mL dissous dans l'eau ont été ajoutés dans chaque puits de microplaque comme indicateur de croissance. Les microplaques couvertes ont été incubées pendant 30 minutes à 37°C. La croissance du micro-organisme a entraîné l'apparition d'une couleur rouge pourpre résultant de la réduction de la TTC. Des puits clairs indiquent la présence dans les extraits d'un composé qui inhibe la croissance des micro-organismes testés. La CMI a été enregistrée comme la plus faible concentration de l'extrait qui inhibe la croissance bactérienne après 24 heures.

La concentration minimale bactéricide (CMB) a été considérée comme la plus faible concentration d'extraits ne présentant aucune croissance microbienne (Kamsu *et al.*, 2019). À l'aide d'une micropipette 10µL est prélevé à partir des puits qui n'ont montré aucune croissance après incubation pendant les essais de CMI, et est ensemencé sur une gélose Mueller Hinton pour les bactéries et sur Sabouraud pour les levures. Ensuite, les boîtes ont été incubées à 37°C/24 h pour la première et 25°C/48h pour la deuxième. Toutes les déterminations ont été effectuées en triple.

III.1.7 Test d'activité antioxydant des extraits

Le pouvoir antioxydant des extraits d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium* a été évalué par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

La méthode DPPH est le test le plus fréquemment utilisé pour l'évaluation de la capacité des extraits de plantes à piéger les radicaux libres. Le DPPH^{*} est un radical libre stable de couleur violette réagissant avec un donneur d'hydrogène (figure n°35). La présence d'électrons de

réserve délocalisés sur l'ensemble de la molécule empêche la dimérisation et donne également la couleur à la molécule de DPPH avec un maximum d'absorption autour de la valeur de 520 nm dans les spectres UV/Vis. Le radical DPPH[•] après réaction donne la forme réduite DPPH-H (forme hydrazine), ce qui entraîne le changement de couleur du violet au jaune pâle. Le niveau de disparition de la couleur violette dépend de la concentration de l'antioxydant. La capacité de piégeage est généralement déterminée dans des solvants organiques et non dans des milieux aqueux (Magalhaes *et al.*, 2008).

Dans le test DPPH, l'activité antioxydante des composés de plante est généralement quantifiée par leurs valeurs IC₅₀ (concentration nécessaire pour réduire 50 % du DPPH) ou leur stœchiométrie (nombre de molécules de DPPH réduites par une molécule d'antioxydant) (Goupy *et al.*, 2003 ; Goupy *et al.*, 2009 ; Vučić *et al.*, 2013) mais aussi en tant que micromoles d'équivalents Trolox (Faria *et al.*, 2005).

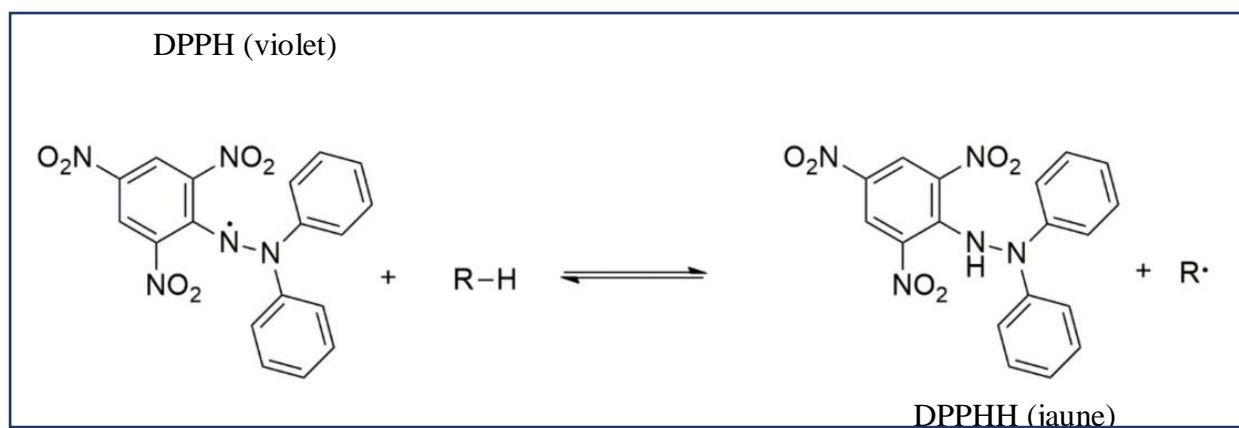


Figure n°35 : Réaction du radical DPPH avec le donneur d'hydrogène (Molyneux, 2004)

Le dosage du DPPH a été effectué selon la méthode de Thaiponga *et al.* (2004) avec quelques modifications. La solution mère a été préparée en dissolvant 24 mg de DPPH avec 100mL de méthanol et ensuite stockée à 20 °C jusqu'à ce qu'elle soit nécessaire. La solution de travail a été obtenue en mélangeant 10mL de solution mère avec 45mL de méthanol pour obtenir une absorbance de 1,1±0,02 unités à 515 nm à l'aide du spectrophotomètre. Les extraits de la partie aérienne (150 µl) ont été laissés réagir avec 2850 µl de la solution DPPH pendant 24 heures dans l'obscurité. Puis l'absorbance a été mesurée à 515 nm. La courbe standard était linéaire entre 0.006-0.2 mg/mL de Trolox et entre 0.003-0.12 mg/mL de l'acide ascorbique.

Le % d'inhibition des extraits a été calculé sur la base de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition DPPH} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100.$$

III.1.8 Test de la toxicité aiguë des extraits

Des souris (*Swiss albinos*) mâles pesant environ 20-30 g ont été obtenues à l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été acclimatés pendant 2 semaines avant le début de l'étude. De la nourriture commerciale standard et de l'eau ont été fournies aux animaux. Les conditions de logement ont été maintenues à 25 ± 2 °C avec des cycles jour/nuit de 12 heures.

Ce test de la toxicité aiguë consiste à administrer par voie orale des doses multiples de l'extrait à tester aux animaux en une seule prise et en les surveillant pendant 24 heures à une semaine pour détecter les signes de toxicité tels que l'asthénie, la salivation, l'agitation, les convulsions, le coma et la mort (**Paschapur *et al.*, 2009**). Cette étude permet d'exprimer à la fois la DL50, ou la dose à laquelle 50 % des animaux testés sont tués, et la DME, ou la dose la plus élevée à laquelle aucun effet toxique n'est remarqué par rapport au lot témoin (**Traoré *et al.*, 1999**).

L'étude de toxicité aiguë par voie orale de l'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium* a été réalisée en utilisant la méthode de test "Up-and-Down" chez les souris à des doses uniques de 300, 600 et 2000 mg/kg, conformément à la ligne directrice n° 425 de l'Organisation de la Coopération Economique et Développement (OECD) (**Organisation de la Coopération Economique et Développement, 2001**). Trois souris mâles ont été utilisées pour chaque niveau de dose dans l'étude. Les souris ont été mises à jeun pendant 18 heures avec accès libre à l'eau avant administration de l'extrait. On a prélevé un animal à la fois, on l'a pesé et on lui a administré le volume équivalent d'extrait dissous dans de l'eau distillée (10ml/kg PC). L'extrait a été administré par voie orale à l'aide d'une sonde d'alimentation gastrique. Le groupe témoin a été traité avec de l'eau distillée. Chaque animal a été observé après l'administration pendant les 5 premières minutes pour détecter des signes de régurgitation et a été maintenu dans une cage métallique. Chacun d'entre eux a ensuite été observé toutes les 15 minutes au cours des 4 premières heures après l'administration, toutes les 30 minutes pendant 6 heures et quotidiennement pendant 48 heures, à la recherche de signes comportementaux de toxicité (modifications de la peau, des poils, des yeux, des muqueuses et des systèmes respiratoire, circulatoire, autonome et nerveux

central, activité motrice, convulsions, tremblements, salivation, diarrhée, léthargie ou sommeil) conformément aux spécifications de l'OECD (2001). Les animaux ont été surveillés pendant un total de 14 jours afin de déterminer les effets létaux possibles à long terme. Le poids corporel des animaux a été mesuré les jours 1, 7 et 14.

III.1.9 Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS™, version 22.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Les données ont été exprimées sous forme de statistiques descriptives en termes de fréquence relative et d'écart-type. Les moyennes \pm écarts-types (ET) des mesures en trois exemplaires ont été calculées

III.2 Résultats et discussions

III.2.1 Extractions

Après filtration et évaporation, tous les extraits issus de la partie aérienne d'*éphédra alata* et d'*haloxylon scoparium* se présentent sous forme de pâte de couleur brune pour les extraits méthanolique, et noire pour les extraits hydro-méthanolique. Les rendements d'extraction ont été déterminés à partir du rapport de la masse de l'extrait sur la masse de poudre sèche utilisée. Ces différents rendements sont présentés par la **figure n°36**.

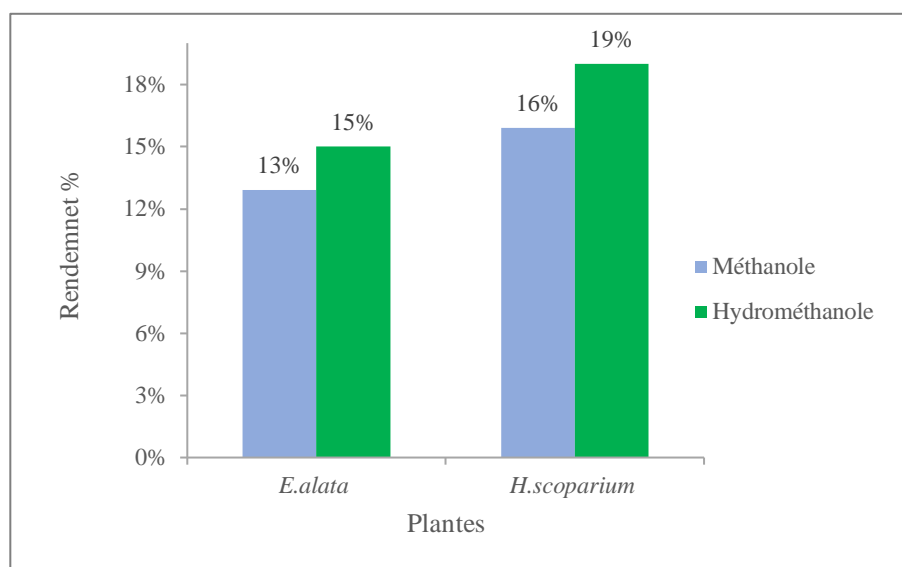


Figure n°36 : Rendement d'extraction de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium* en fonction de deux solvants d'extraction

Les résultats de la **figure n°36** montrent que le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait hydro-méthanolique (15% et 19%) par rapport à l'extrait méthanolique (13% et 16%) d'*E. alata* et de *H. scoparium*, respectivement.

Une étude faite par **Benarba et al. (2021)** sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*E. alata* récoltée d'Adrar, au sud de l'Algérie, a permis d'obtenir un rendement de 15%. Ce résultat sont néanmoins inférieurs à notre (13%). Une autre étude réalisée par **Salman et al. (2021)** sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*E. alata* provenant d'Al-Tafila en Jordanie, a montré également un rendement inférieur de celui d'*E. alata* d'algérie et qui est de l'ordre de 11.6% et meilleurs que ceux de **Soumaya et al. (2020)** qui ont obtenu seulement

2,11% comme rendement de l'extrait méthanolique de la même espèce végétale de la région de Tozeur dans le sud de la Tunisie. D'autre part, des résultats supérieurs aux nôtres ont été obtenus par l'extrait méthanolique d'*E. alata* collectés dans la région de Jenin en Palestine correspondant à un taux de 29,0% (**Jaradat et al., 2021**)

Concernant *H. scoparium*, nous constatons que nos résultats sont nettement plus faibles par rapport à ceux obtenus par **Benkherara et al. (2021)** sur l'extrait méthanolique dans la région de Ghardaïa (Algérie) avec un rendement de 20.66%. **Mezghani-Jarraya et al. (2009)** ont obtenu des résultats semblent être similaires avec 15,10 % d'extrait méthanolique de la partie aérienne de *H. scoparium* provenant de Sfax en Tunisie et meilleurs que ceux de **Bouaziz et al. (2016)** qui ont obtenu seulement 6,15% comme rendement de l'extrait méthanolique de la même espèce végétale dans la même région de Sfax en Tunisie. Par ailleurs, et par comparaison avec les résultats de **Bourogaa et al. (2014)** sur la même espèce végétale dans le sud tunisien (seulement 11%), une différence est enregistrée dans cette étude avec plus de 16% de rendement de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *H. scoparium* dans le sud-ouest de l'Algérie. Cependant, ce faible rendement (11%) est également rapporté dans les résultats de **Taïr et al. (2016)** avec la même espèce végétale dans la région de Naâma dans le nord-ouest de l'Algérie.

La différence de rendement entre les deux extraits peut être attribuée à la capacité d'extraction de chaque solvant, chacun étant capable d'extraire des substances phytochimiques bien définies présentes dans la partie aérienne des plantes étudiées. Cependant, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, car le rendement de l'extrait varie en fonction de la méthode et des conditions d'extraction, du solvant et de l'organe utilisés, de l'origine géographique, des conditions et de la durée de stockage, ainsi que de la période de récolte (**Zheng et al., 2010**).

III.2.2 Screening phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de la partie aérienne traités des deux espèces sélectionnées, par des réactions qualitatives de révélation, a permis de mettre en évidence la présence de différents groupes chimiques. Les résultats expérimentaux obtenus sont résumés dans le **tableau n° 17** ci-dessous.

Les résultats de l'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique (EM) et hydro-méthanolique (EHM) de la partie aérienne d'*Ephedra alata* a montré une abondance

relativement élevée des phénols, des Composés réducteurs et de faibles quantités d'alcaloïdes. Les terpénoïdes sont absents dans l'extrait méthanolique, alors qu'ils sont présents en faible quantité dans l'extrait hydro-méthanolique, par contre aux stéroïdes. Les saponosides, les glycosides et les quinones n'ont pas été détectés.

Tableau n°17 : Screening phytochimique préliminaire de composés phytochimiques de la partie aérienne d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium*

| Composés phytochimiques | Réagent | <i>E. alata</i> | | <i>H. scoparium</i> | |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------|-----|---------------------|-----|
| | | EM | EHM | EM | EHM |
| Alcaloïdes | Mayer | - | + | +++ | + |
| | Dragendorff | + | + | +++ | + |
| | Wagner | + | + | ++ | + |
| Tanins | FeCl ₃ 1% | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Phénols | FeCl ₃ 2% | +++ | +++ | ++ | ++ |
| Flavonoïdes | Mg, HCl | + | ++ | + | + |
| Saponosides | H ₂ O (mousse) | - | - | - | - |
| Stéroïdes | (CH ₃ CO) ₂ O, H ₂ SO ₄ | + | - | + | ++ |
| Terpénoïdes | H ₂ SO ₄ | - | + | - | - |
| Composés réducteurs | Liqueur de Fehling | +++ | +++ | ++ | + |
| Glycosides | H ₂ SO ₄ , FeCl ₃ | - | - | + | ++ |
| Coumarines | | ++ | - | + | - |
| Quinones | RSL | - | - | + | - |

+++ : abondance relativement élevée ; ++ : abondance relativement modérée ; + : présence relativement faible ; - : non-détecté, EM : extraits méthanolique, EHM : extraits hydro-méthanolique

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés précédemment par **Jaradat et al., 2015** ; **Alshalmani et al., 2020** ; **Khaldi et al., 2022** et **Hibi et al., 2022**. En effet, ces derniers ont affirmé la présence des Phénols, des tanins, des flavonoïdes, des Composés réducteurs, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des stéroïdes, alors que **Benarba et al., 2021** ; **Jaradat et al., 2021** ont signalé respectivement l'absence des alcaloïdes, des tanins ; des Composés réducteurs, des terpénoïdes et des stéroïdes. D'autre part, les saponosides, les glycosides, les coumarines et les quinones absents dans la partie aérienne d'*E. alata*, ont été mis en évidence dans les travaux de **Benarba et al., 2021**.

Les résultats du criblage phytochimique d'*haloxylon scoparium* mentionnés dans le tableau ci-dessus (**tableau n°17**), indiquent la présence des alcaloïdes en abondance

relativement élevée dans l'extrait méthanolique. Des Tanins, des phénols, des Composés réducteurs, des stéroïdes et des Glycosides a montré une présence en abondance relativement modérée, cependant une présence limiter des flavonoïdes est notée dans les deux extraits. Les coumarines et les quinones sont présentes que dans l'extraits méthanolique en faible quantité. La recherche des saponosides et des terpénoïdes s'est révélée négative dans les deux extraits.

Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux qui ont indiqué la richesse de *Haloxylon scoparium* en alcaloïdes ; Zerriouh et collaborateurs ont rapporté que la partie aérienne de *Hammada scoparia* collectée en Algérie contient des alcaloïdes (Zerriouh *et al.*, 2014). En outre, Jarraya et ses collaborateurs ont décrit l'isolement et l'élucidation structurale de la N-méthylisosaloline extraite des feuilles de *Haloxylon scoparium* collectées en Tunisie (Jarraya *et al.*, 2008).

De plus, une étude réalisée par Bourogaa et ses collaborateurs en Algérie a révélé la présence des flavonoïdes et des alcaloïdes, tandis que les stérols et les quinones sont absents de l'extrait aqueux des feuilles de *H. scoparium* (Bourogaa *et al.*, 2014). Des études précédentes n'ont pas trouvé des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la même espèce (Drioiche *et al.*, 2019 ; Haida *et al.*, 2020). Le groupe de Benkherara *et al.*, (2021) a montré la présence des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des alcaloïdes, des **terpénoïdes** et des stéroïdes, tandis qu'on remarque l'absence des saponines et des terpénoïdes dans la partie aérienne de notre plante, malgré qu'ils soient rapportés dans plusieurs travaux (Zerriouh *et al.*, 2014 ; Drioiche *et al.*, 2019 ; Haida *et al.*, 2020 ; Lachkar *et al.*, 2021).

Les composés phytochimiques observés dans ces extraits pourraient être responsables d'une grande variété d'activités biologiques. Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires majeurs qui exercent diverses fonctions biologiques (Hassan *et al.*, 2020). Les alcaloïdes ont des propriétés neuroprotectrices, antimicrobiennes et antipaludiques (Manurung *et al.*, 2019 ; Hassan *et al.*, 2020). Les flavonoïdes sont essentiels en tant qu'antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux, antimicrobiens et antiallergiques (Ayoola *et al.*, 2008). Les stéroïdes, les terpénoïdes et les tanins possèdent des agents antimicrobiens (Danish *et al.*, 2015 ; Manurung *et al.*, 2019).

L'étude phytochimique réalisée sur l'espèce *E. alata* et *H. scoparium* a montré des résultats qui sont confirmés par d'autres travaux, à savoir la présence de certaines familles chimiques.

Par contre, on note l'absence d'autres familles chimiques. Ceci peut s'expliquer par une différence au niveau de plusieurs paramètres soit géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : la différence du site de récolte comprenant l'environnement, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, le type de sol, la période de récolte, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction utilisée et la partie de la plante étudiée (Akhtar *et al.*, 2015).

III.2.3 Teneur en polyphénols, flavonoïdes, et tanins

Les teneurs totales en composés phénoliques, en flavonoïdes et en tanins extraits des parties aériennes des deux espèces médicinales sont déterminées à l'aide des droites d'étalonnage indiquées dans la **figure n°37**, et sont résumés dans le **tableau n°18**.

Tableau n°18 : Contenu en polyphénols totaux (CPT), en flavonoïdes (CFT) et en tanins (CTT) des extraits d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

| Extraits | <i>E. alata</i> | | | <i>H. scoparium</i> | | |
|------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | CPT (mg EAG/g d'Ext) | CFT (mg CE/g d'Ext) | CTT (mg TAE/g d'Ext) | CPT (mg EAG/g d'Ext) | CFT (mg CE/g d'Ext) | CTT (mg TAE/g d'Ext) |
| EM | 214.92 ± 0.01 | 30.74 ± 0.008 | 35,59±0.006 | 174.39±0.02 | 43.5±0.02 | 13.43±0.005 |
| EHM | 157.54 ± 0.05 | 21.86 ± 0.002 | 29.25±0.006 | 159.25±0.04 | 23.46±0.04 | 16.13±0.005 |

Les résultats exprimés sont des moyennes ± SD (n = 3).

D'après ces résultats on constate que Les fourchettes de toutes les teneurs étaient très larges, allant de 157.54 à 214.92 mg GAE/g d'Ext, de 21.86 à 43.5 mg CE/g d'Ext et de 13.43 à 35,59 mg TAE/g d'Ext, respectivement, pour les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et les tanins (**tableau n°18**). Les valeurs les plus élevée de phénol total (CPT) et de flavonoïde (CFT) ont été montrées dans l'extrait méthanolique chez *E. alata* (214.92 mg GAE/g d'Ext et 30.74 mg CE/g d'Ext) et *H. scoparium* (174.39 mg GAE/g d'Ext et 43.5 CE/g d'Ext). En fonction des teneurs en tannins, le niveau le plus élevé a été détecté dans l'extrait méthanolique chez *E. alata* (35,59 mg TAE/g d'Ext) et dans l'extrait hydro-méthanolique chez *H. scoparium* (16,13 mg TAE/g d'Ext).

La richesse des extraits méthanolique par rapport aux extraits hydro-méthanolique pourrait s'expliquer par la capacité des solvants organiques pure à extraire les molécules bioactives.

Selon Toledo-Guillén et collaborateurs, l'extraction par des solvants organiques est plus efficace pour obtenir des composés bioactifs (Toledo-Guillén *et al.*, 2010).

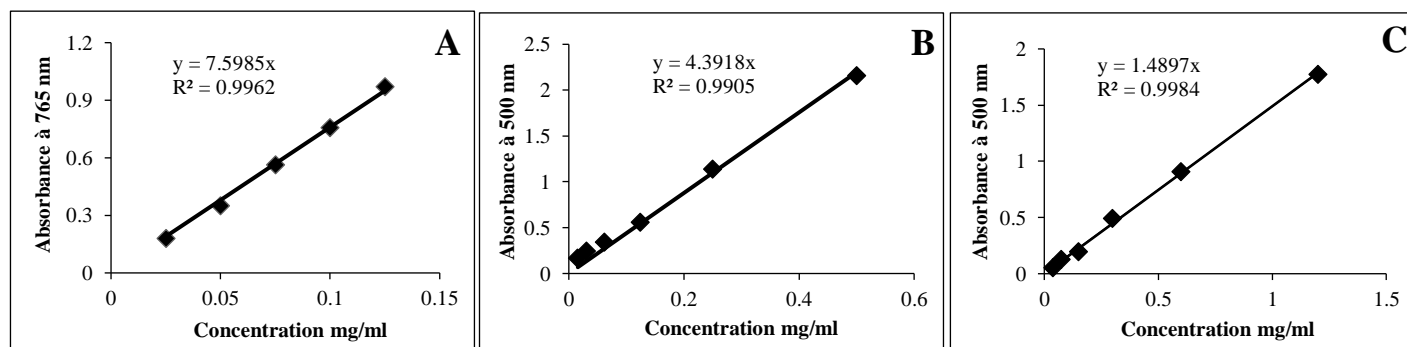


Figure n°37 : Étalonnage direct de l'acide gallique (A), de la catéchine (B) et de l'acide tannique (C)

Des études faites sur *E. alata* récoltée d'El Oued (Sud-Est de l'Algérie), a permis d'obtenir des teneurs plus faibles en polyphénols (13.42 à 17.65 mg AGE/g d'Ext) et en flavonoïdes (13.05 mg QE/g d'Ext) (Chouikh, 2020 ; Djahra *et al.*, 2023). De plus, Noui *et al.* (2022) ont rapporté une teneur plus élevée en CTP (358,06 mg GAE/g d'Ext) et des quantités presque similaires des flavonoïdes (22.93 mg GAE/g d'Ext) dans l'extrait méthanolique des parties aériennes d'*E. alata* d'Algérie par rapport à la teneur de notre. Une autre étude montre que les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins dans l'extrait méthanolique d'*E. alata* Algérienne sont respectivement de 40,45 mg GAE/g d'Ext, 133.25 mg QE/g d'Ext et 20.76 mg CE/g d'Ext (Khaldi *et al.*, 2022). Ces derniers résultats indiqués qu'*E. alata* avait un CFT plus élevé, un CPT et un CTT plus faible par rapport à nos résultats.

En dehors de l'Algérie, les travaux de Danciu *et al.* (2019) réalisés sur un extrait hydroalcoolique de la même espèce d'*éphédra* ont révélé des quantités de phénols totaux presque similaires (156,226 mg AGE/g d'extrait) par rapport à notre EHM (157,54 mg AGE/g d'extrait). Des teneurs plus élevées en polyphénols (205 mg GAE/g d'Ext) et en flavonoïdes (40,5 mg RE/g d'Ext) ont été noté par Sioud *et al.* (2020b) pour l'extrait méthanolique de l'*E. alata* récolté de la Tunisie. Tandis que des quantités plus faibles des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait méthanolique, hydro-méthanolique et aqueux ont été rapportées en Tunisie (Benabderrahim *et al.*, 2019 ; Dbeibia *et al.*, 2021 ; Mahmoudi *et al.*, 2023). En Palestine, Les résultats du CPT et CTT de nos extraits sont plus élevés que ceux

études de **Jaradat et al. (2015, 2021)** sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne et des fruits d'*E. alata*, mais les résultats du CFT sont inférieurs.

Concernant *H. scoparium*, nous constatons que la partie aérienne ont donné un CPT plus élevé, un CFT moyen et un CTT plus faible. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Ziani et al. (2015)**, qui ont déterminé une teneur plus élevée en CPT (230 mg AGE/g d'Ext) et des quantités moyennes de flavonoïdes (56 mg CE/g d'Ext) dans la partie aérienne infusée de *H. scoparium* de l'Algérie. Selon une autre étude menée en Algérie, Benkherara et collaborateurs a révélé que l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *H. scoparium* présente une teneur en polyphénols totaux élevé par rapport à la teneur de notre extrait méthanolique (**Benkherara et al., 2021**). D'autre part, des résultats inférieurs aux nôtres ont été obtenus avec l'extrait hydro-méthanolique (à 70%) de *H. scoparium* récoltée en Algérie correspondant à 16 mg AGE/g d'Ext (**Mohammedi, 2013**).

En dehors de l'Algérie, les travaux de **Lachkar et al. (2021)** montre que les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins dans l'extrait méthanolique d'*H. scoparium* marocaine sont respectivement de 161,65 mg AGE/g d'Ext, 612.47 mg QE/g d'Ext et 6.02 mg CE/g d'Ext). Ces résultats indiqués qu'*H. scoparium* avait un CPT presque similaire, un CTT faible, et un CFT plus élevé par rapport à nos résultats. Cependant, des teneurs plus faibles des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait méthanolique et hydro-méthanolique ont été rapportées en Tunisie (**Bouaziz et al., 2016 ; Boulanouar et al., 2013**). La différence dans ces résultats peut s'expliquer par des facteurs liés à la récolte de la plante tels que l'emplacement géographique, la saison de récolte, le stade de maturité de la plante récoltée, la partie de la plante récoltée et des facteurs liés à l'expérience tels que la plante/solvant le rapport, la température et le temps d'extraction (**Benarba et al., 2016**).

D'une manière générale, Il est difficile de comparer nos résultats avec ces travaux, car l'utilisation d'un organe végétal différent, d'une méthode d'extraction différente, de solvants d'extraction différents et de courbes d'étalonnage (catéchine, quercétine, rutine) réduisent la fiabilité de la comparaison entre les études.

III.2.4 Profil phénolique des espèces par HPLC-DAD

Généralement, les composés phénoliques agissent comme les principaux contributeurs au potentiel antioxydant (**Soumaya et al., 2020**) et antimicrobienne des extraits de plantes avec des effets toxiques généralement faibles (**Wink, 2015**). Ainsi, leur caractérisation pourrait

apporter des avantages considérables aux individus, principalement en incitant à leur utilisation en tant que promoteurs sains. Dans cette étude, La caractérisation des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium* a été réalisée par la méthode HPLC-DAD. Les données concernant le temps de rétention, l'Abs λ et la quantification des composés individuels sont résumés dans le **tableau n°19 et n°20**. En outre, la séparation des polyphénols des deux espèces est illustrée dans la **figure n°38 et n°39**

Tableau n° 19 : Temps de rétention [Tr], l'absorbance [nm] et la quantification des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*E. alata*.

| N° de pics | Composé | Familles des composés | Sous-familles des composés | Tr [min] | Concentration [mg/g d'extrait] | Abs λ [nm] |
|------------------------------------------|------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------|--------------------------------|--------------------|
| 1 | Acide ascorbique | Flavonoïde | | 4.771 | 2.29 | 254 |
| 2 | Acide gallique | A. phénolique | Acide hydroxybenzoïque | 7.316 | 0.05 | 280 |
| 3 | Acide 3-4 dihydroxybenzoïque | | | 10.44 | 0.044 | 280 |
| 4 | Acides chlorogénique | | Acide hydroxycinnamique | 11.44 | 0.016 | 280 |
| 5 | Catéchine | Flavonoïde | Flavan-3-ol | 12.16 | 0.1 | 254 |
| 6 | Inconnue | - | - | 12.75 | - | 254 |
| 7 | Épicatéchine | Flavonoïde | Flavan-3-ol | 13.521 | 12.116 | 254 |
| 8 | Acide vanillique | A. phénolique | Acide hydroxybenzoïque | 14.16 | 0.0055 | 254 |
| 9 | Rutine | Flavonoïde | Glycoside de flavonol | 15.35 | 0.111 | 254 |
| 10 | Lutéoline-7-glucoside | | Glycosides de flavone | 16.323 | 0.061 | 330 |
| 11 | Acide p-coumarique P | A. phénolique | Acide hydroxycinnamique | 17.138 | 0.032 | 330 |
| 12 | Apigénine-7-glucoside | Flavonoïde | Glycosides de flavone | 18.136 | 1.733 | 330 |
| 13 | Acide férulique | A. phénolique | | 18.339 | 2.528 | 280 |
| 14 | Naringinine | Flavonoïde | Flavanone | 20.901 | 5.99 | 280 |
| 15 | Lutéoline | | Flavone | 22.926 | 0.2 | 330 |
| 16 | Quercétine | | Flavonol | 23.048 | 0.284 | 254 |
| 17 | Apigénine | | Flavone | 25.704 | 0.05 | 280 |
| Somme des quantités de tous les composés | | | | | 25.611 | |
| Somme des quantités des flavonoïdes | | | | | 22.935 | |
| Somme des quantités d'acides phénoliques | | | | | 2.675 | |

Tr: Temps de Rétention; -: Non Déterminé.

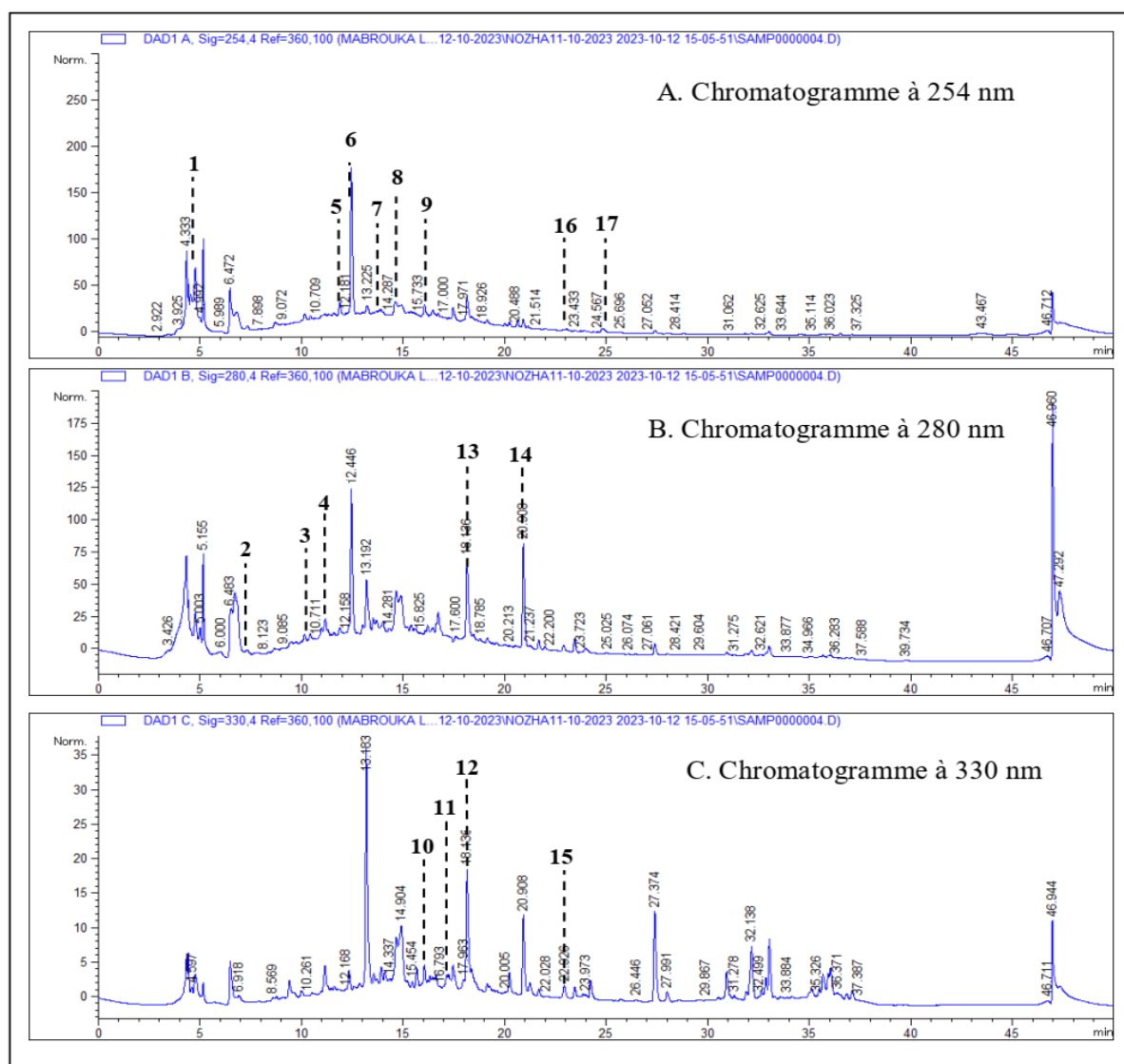


Figure n° 38 : Chromatogramme des composés phénoliques de la partie aérienne d'*E. alata* enregistré à 360 nm (A), à 280 nm (B) et à 330 nm (C). 1 - Acide ascorbique ; 2 - Acide gallique ; 3 - Acide 3-4 dihydroxybenzoïque ; 4 - Acide chlorogénique ; 5 - (+) -Catéchine ; 6 - Inconnue ; 7 - (-) -Epicatechine ; 8 - Acide vanillique ; 9 - Rutine ; 10 - Lutéoline-7-glucoside ; 11 - Acide p-Coumarique ; 12 - Apigénine-7-glucoside ; 13 - Acide férulique ; 14 - naringénine 15- Lutéoline ; 16- Quercétine ; 17- Apigénine.

Nous constatons selon les résultats d'analyse présentés dans le **tableau n°17**, que la composition phénolique de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*E. alata* était caractérisée par la présence de dix-sept composés dont six sont des dérivés d'acides phénoliques (l'acide gallique, l'acide 3-4 dihydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide p-coumarique et l'acide férulique), et dix étaient des flavonoïdes tels que les flavones (apigénine, lutéoline), les flavonols (quercétine et Rutine), les flavan-3-ols (catéchine

(+) et épicatechine), les glycosides de flavone (apigénine-7-O-glucoside et glucoside de lutéoline) et les flavanones (naringénine). L'extrait méthanolique de cette espèce se distingue par la présence de quantités élevées de flavonoïde (22.935 mg/g d'extrait).

En effet, cet extrait d'*E. alata* a montré de fortes proportions de dérivés de Flavan-3-ol et de Flavanone dont l'épicatechine (12.116 mg/g d'extrait) et la naringénine (5.99 mg/g d'extrait), respectivement. De petites quantités de rutine (0,111 mg/g d'extrait), de catéchine (0,1 mg/g d'extrait), de lutéoline-7-O-glucoside (0,75 mg/g d'extrait) et d'apigénine (0,05 mg/g d'extrait) ont également été détectées dans cet extrait. La teneur en acide ascorbique et en apigénine sont également appréciables avec une quantité de 2.29 et 1.733 mg/g d'extrait, respectivement. En tant qu'acides phénoliques, le composé 14 (Tr = 18.339 min) a été identifié comme l'acide férulique, c'était le principal composé phénolique présent dans l'extrait (2.528 mg/g d'extrait). Tandis que les acide vanillique, chlorogénique, p-coumarique, 3-4 dihydroxybenzoïque et gallique avaient des concentrations plus faibles comprises entre 0,0055 et 0,05 mg/g d'extrait (**tableau n° 17**).

Des études antérieures ont indiqué que les flavonoïdes, principalement les flavonols et leurs constituants 3-O-glycosides ainsi que les flavones et leurs glycosides, sont les flavonoïdes les plus courants dans le genre éphédra. Autrefois, on croyait que la plupart des flavonols du genre étaient des dérivés des aglycones quercétine kaempférol ou herbacétine (**Zhang et al., 2018**). En revanche, peu de recherches ont été menées sur la composition phénolique d'*E. alata* (**Ziani et al., 2019 ; Mighri et al., 2019 ; Soumaya et al., 2020**). Cette espèce a été signalée comme contenant principalement des flavones et des flavonols (**Zhang et al., 2018**). Conformément à nos résultats, les acides chlorogénique, vanillique et coumarique ainsi que l'acide gallique, la quercétine, la catéchine et la rutine ont été obtenus dans l'extrait méthanolique d'*E. alata* d'El-oued (Algérie) (**Chouikh et al., 2020**) et dans le tissu calleux d'*E. alata* d'Egypte maintenu dans le milieu contenant l'hydrolysate de caséine (**Hegazi et El-Lamey, 2011**). Cependant, la présence d'acide ascorbique à un niveau élevé n'a été détectée que dans notre étude. De même, **Benabderrahim et al. (2019)** ont rapporté que l'épicatechine comme composants majeurs ont été trouvés dans l'extrait hydro-méthanolique d'*E. alata* tunisienne. De plus, la quercétine-3-O rhamnoside ont été identifiés dans l'*E. alata* poussant dans le désert égyptien (**Nawwar et al., 1984**). Tandis que l'analyse simultanée par HPLC-PDA et UHPLC-MS de l'extrait hydro-méthanolique d'*E. alata* de Palestine a révélé la présence de Luteolin-7-O-glucuronide flavone (**Al-Rimawi et al., 2017**).

Le profil LC-DAD-ESI/MS des extraits d'*E. alata* d'Algérie a été déterminé par **Ziani et al. (2019)** qui ont indiqué la présence de 10 composés phénoliques, tous appartenant à la classe des flavonoïdes. Récemment, **Sioud et al. (2020)** signalé que l'extrait méthanolique d'*E. alata* tunisienne contenait 20 composés phénoliques représentant différentes classes, y compris les flavonoïdes, les acides phénoliques et les proanthocyanidines avec une teneur élevée en quercétine et ses dérivés. La quercétine a déjà été détectée dans de nombreuses éphédra contenant des compléments alimentaires trouvés aux États-Unis (**Grippio et al., 2007**).

Les résultats de caractérisation des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*H. scoparium* par HPLC-DAD sont regroupés dans le **tableau n° 20**.

Tableau n° 20 : Temps de rétention [Tr], l'absorbance [λ] et la quantification des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*H. scoparium*.

| N° de pics | Composé | Familles des composés | Sous-familles des composés | Tr [min] | Concentration [mg/g d'extrait] | Abs λ [nm] |
|------------|------------------------|-----------------------|----------------------------|----------|--------------------------------|--------------------|
| 1 | Acide ascorbique | Flavonoïde | | 4.771 | 0.0124 | 254 |
| 2 | Acide gallique | A. phénolique | Acide hydroxybenzoïque | 7.316 | 0.032 | 280 |
| 3 | Acide protocatéchique | | | 10.44 | 0.052 | 280 |
| 4 | Acides chlorogénique | | Acide hydroxycinnamique | 11.44 | 1.928 | 280 |
| 5 | Catéchine | Flavonoïde | Flavan-3-ol | 12.16 | 3.208 | 254 |
| 6 | Inconnue | - | - | 12.75 | 3.924 | 254 |
| 7 | Acide caféïque | A. phénolique | Acide hydroxycinnamique | 13.505 | 1.392 | 280 |
| 8 | Épicatéchine | Flavonoïde | Flavan-3-ol | 13.521 | 47.516 | 254 |
| 9 | Acide vanillique | A. phénolique | Acide hydroxybenzoïque | 14.16 | 0.068 | 254 |
| 10 | Rutine | Flavonoïde | Glycoside de flavonol | 15.35 | 1.472 | 254 |
| 11 | Glucoside de lutéoline | | Glycosides de flavone | 16.323 | 1.54 | 330 |
| 12 | Acide p-coumarique | A. phénolique | Acide hydroxycinnamique | 17.138 | 0.724 | 330 |
| 13 | Apigénine-7-glucoside | Flavonoïde | Glycosides de flavone | 18.136 | 1.272 | 330 |
| 14 | Acide férulique | A. phénolique | | 18.339 | 0.184 | 280 |
| 15 | Naringinine | Flavonoïde | Flavanone | 20.901 | 0.368 | 280 |
| 16 | Lutéoline | | Flavone | 22.926 | 0.096 | 330 |
| 17 | Quercétine | | Flavonol | 23.048 | 0.252 | 254 |
| 18 | Apigénine | | Flavone | 25.704 | 0.216 | 280 |

| | |
|------------------------------------------|--------|
| Somme des quantités de tous les composés | 64.536 |
| Somme des quantités de flavonoïdes | 55.77 |
| Somme des quantités d'acides phénoliques | 8.766 |

Tr : Temp de Rétention ; - : Non Déterminé.

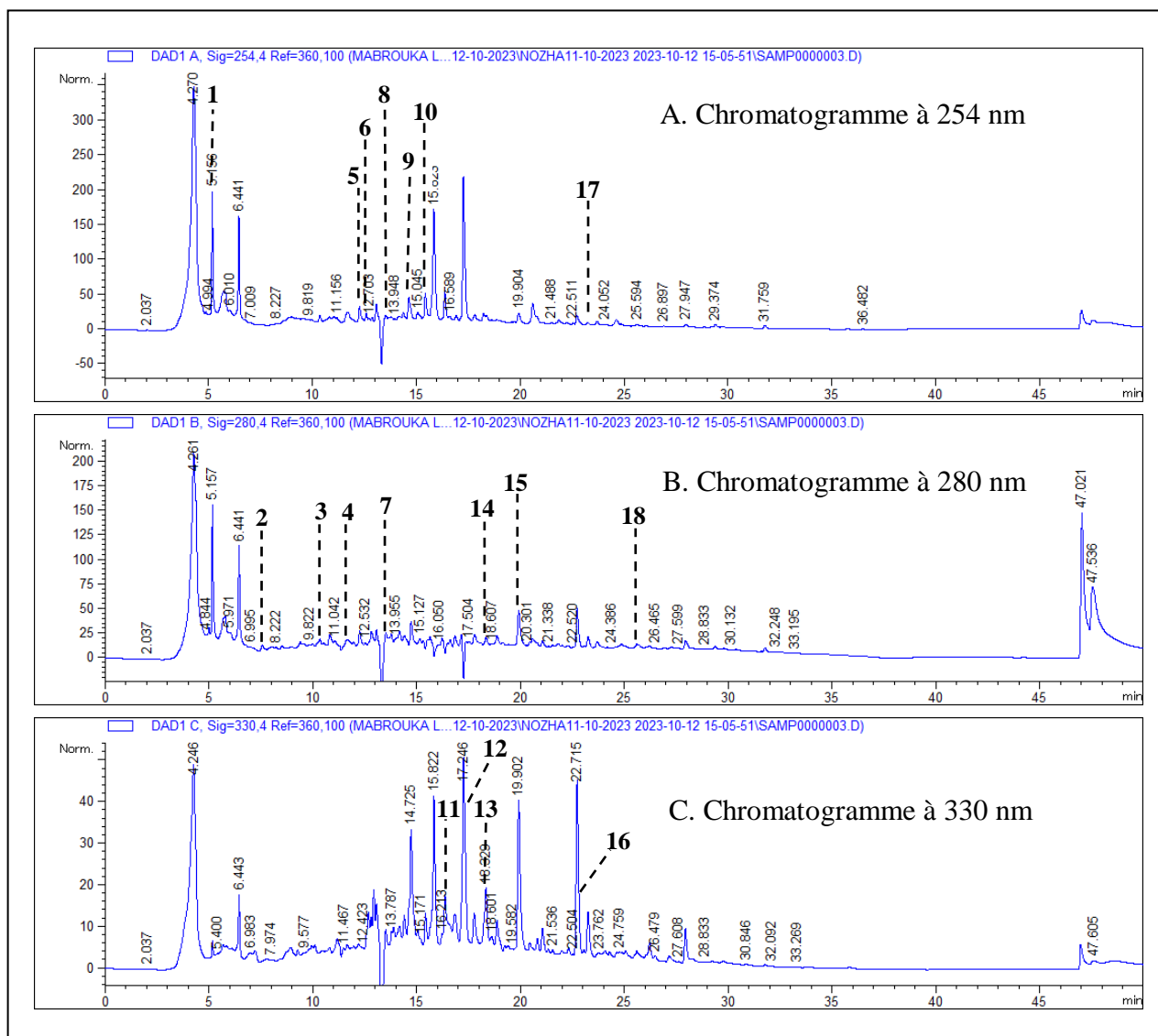


Figure n° 39 : Chromatogramme des composés phénoliques de la partie aérienne d'*H. scoparium* enregistré à 360 nm (A), à 280 nm (B) et à 330 nm (C). 1 - Acide ascorbique ; 2 - Acide gallique ; 3 - Acide 3-4 dihydroxybenzoïque ; 4 - Acide chlorogénique ; 5 - (+) - Catéchine ; 6 - Inconnue ; 7- Acide caféique ; 8 - (-) -Epicatechine ; 9 - Acide vanillique ; 10 - Rutine ; 11 - Lutéoline-7-glucoside ; 12- Acide p-Coumarique ; 13 - Apigénine-7-glucoside ; 14- Acide férulique ; 15 - naringénine 16- Lutéoline ; 17- Quercétine ; 18- Apigénine.

L'analyse de la composition phénolique de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*H. scoparium* (tableau n°20), a permis d'identifier 18 composés (7 dérivés d'acides phénoliques

et 10 flavonoïdes) parmi les 25 composés phénoliques standard analysés. Cet extrait a présenté la somme élevée des quantités de flavonoïdes détectées (55.77 mg/g d'extrait) en raison de sa quantité d'épicatéchine (47.516 mg/g d'extrait) présentant plus de 85 % de la quantité totale de flavonoïdes détectés. Les quantités des autres composés flavonoïdiques étaient inférieures à 0.368 mg/g d'extrait, à l'exception de la catéchine (3,208 mg/g d'extrait), du glucoside de lutéoline (1,54 mg/g d'extrait), de la rutine (1,472 mg/g d'extrait) et de l'apigénine-7-glucoside (1,272 mg/g d'extrait). La majorité des acides phénoliques tels que l'acide ascorbique, l'acide férulique, l'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et l'acide p-coumarique étaient présents en petites quantités dans l'intervalle de 0,0124 - 0,724 mg/g d'extrait, alors que l'acide chlorogénique (1,928 mg/g d'extrait) et l'acide caféique (1,392 mg/g d'extrait) ont été détectés en quantité appréciables.

Par ailleurs et concernant la composition biochimique de cet extrait d'*H. scoparium* qui n'a pas fait l'objet de nombreuses publications, peu de chercheurs ont étudié sa composition phénolique (**Benkherara et al., 2021**). Les seules études rapportées sont celles de **Ben Salah et al. (2002)** & **Jarraya et al. (2005)** sur *H. scoparium* de Sfax dans le centre-est de la Tunisie. Si nous nous référons à leurs résultats, nous pouvons affirmer qu'il y a une bonne concordance dans les chémotypes qui sont révélés par les analyses chromatographiques. Ils ont signalé la présence d'isorhamnétine et de 1-méthylsalsolinol et de quelques flavonols triglycosides tels que la Quercétine et la Quercétine-3-robinobioside. En outre, **Chao et al. (2013)** ont montré la présence de certains acides phénoliques (acide coumarique, acide cinnamique et acide cafféoylquinique), de phénols simples comme le Catéchol et d'un Chrysoeriol qui est considéré comme une flavone.

Récemment, **Benkherara et al. (2021)** signalé que l'extrait méthanolique d'*H. scoparium* de sud-est (Algérie) contenait 29 composés phénoliques, en particulier l'acide gallique, l'acide catéchique, la rutine, l'acide trans-cinnamique, l'acide ascorbique, la catéchine, l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque et l'épicatéchine. Tandis que, les résultats de l'analyse RP-HPLC ont révélé 57 pics et 9 de ces pics se sont avérés être différents composés phénoliques, en particulier l'acide chlorogénique et la naringine qui était la plus abondante dans l'espèce *H. Scoparium* de Biskra (sud-est de l'Algérie) (**Benine et al., 2023**).

L'autre composé détecté dans notre extraits analysés ne correspondent à aucun des 25 standards testés. D'autres techniques structurales telles que LC-MS-MS et LC-NMR doivent

être appliquées pour identifier les composés inconnus. Sinon, ce composant doit être séparés et purifiés avant les analyses par RMN, MS, UV ou IR.

En général, cette différence dans les rendements, dans les teneurs en composés phénoliques ou tout autre métabolite secondaire et également dans la composition phytochimique des extraits de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium* dans différentes régions peut être attribuée à de nombreuses conditions opératoires de l'expérience comme le solvant d'extraction polaire ou non polaire, la quantité de matériel végétal, sec ou frais, la température et le temps d'extraction, et même les méthodes d'extraction (Lee *et al.*, 2003) et à plusieurs autres facteurs comme les facteurs environnementaux et climatiques (zone géographique, sécheresse, sol, type de microclimat et stades bioclimatiques, certaines agressions et maladies) (Atmani, 2009) ; le patrimoine génétique, la période et le moment de la récolte, le stade de développement de la plante et également les méthodes de quantification (Miliauskas *et al.*, 2004).

III.2.5 Etude de l'activité antimicrobienne

III.2.5.1 Caractérisation morphologique et biochimique des souches bactériennes multirésistantes isolées

Six bactéries multirésistantes ont été isolées à partir des échantillons cliniques chez des patients hospitalisés dans l'hôpital de Chlef (Sœur bedj), en Algérie. Ces isolats ont été réidentifiés sur la base des tests morphologiques et biochimiques primaires comme le montre le **tableau n° 21 et figure n° 40**. L'origine et le profil de résistance de ces souches sont présentés dans le **tableau n° 22 et figure n° 41**.

La composition du milieu de culture et les conditions d'incubation peuvent fortement influencer la variété morphologique des bactéries et définir les détails du diamètre, de la forme, de la texture de surface, de la couleur et de consistance des colonies bactériennes (Rabinovitch *et al.*, 2015).

Tableau n° 21 : Tests morphologiques et biochimiques primaires pour l'identification des isolats

| Isolats | Tests morphologiques et biochimiques | | | | |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|----------|---------|
| | Milieu sélectif/Ordinaire | Nature des gram | Morphologie des cellules | Catalase | Oxydase |
| 1. <i>K. pneumoniae</i> | Hektoen, colonies d'aspect mucoïdes | -ve | Bâtonnets | +ve | -ve |
| 2. <i>E. coli</i> | Hektoen, colonies saumon | -ve | Bâtonnets | +ve | -ve |
| 3. <i>P. aeruginosa</i> | Gélose au cétrimide, pigmentation vert | -ve | Bâtonnets | +ve | +ve |
| 4. <i>E. hormaechei subsp. Xiangfangensis</i> | Hektoen, virage du vert au rouge-saumon | -ve | Bâtonnets | +ve | -ve |
| 5. <i>E. ludwigii</i> | GN, colonies circulaires, blanches, translucides et lisses | -ve | Bâtonnets | +ve | -ve |
| 6. <i>S. aureus</i> | Chapman, fermenter le mannitol et faire passer la couleur du milieu du rouge au jaune | +ve | Coques | +ve | -ve |

+ve positive ; -ve négative

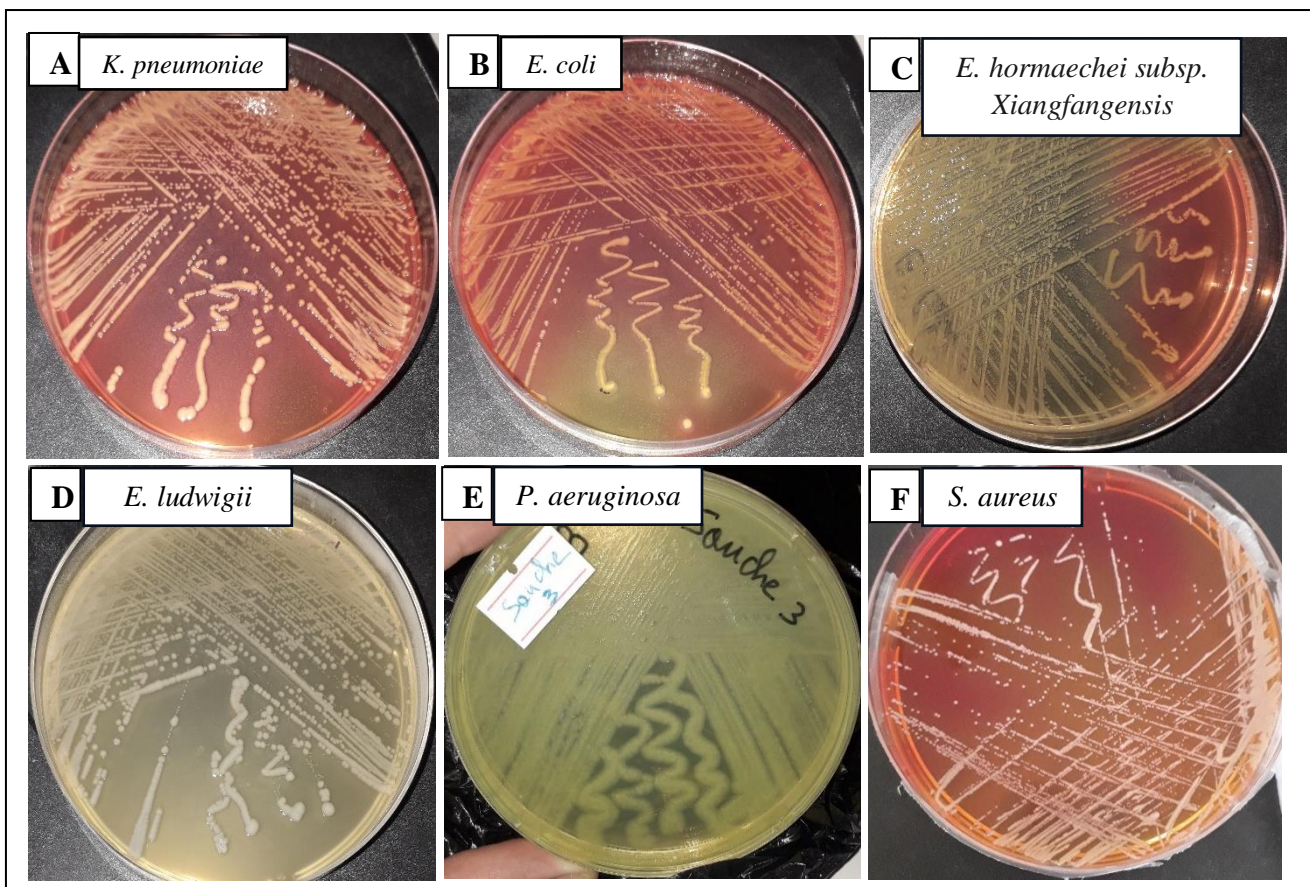


Figure n° 40 : Bactéries isolées à partir des patients hospitaliser sur milieu gélosé Hektoen (A, B et C), Gélose nutritif (D), Gélose au cétrimide (E) et Chapman (F) à 37°C pendant 24 heures.

Sur la base des tests biochimiques et des tests morphologique (**tableau n°21**), les six isolats ciblés présentaient trois caractéristiques différentes. Nature de gram (-), les tests négatifs pour l'oxydase et positives pour la catalase, les souches bactériennes isolées ont été associée à la famille des Enterobacteriaceae. D'autre part, la nature de gram (-), le test positif pour l'oxydase et la catalase renvoient à *Pseudomonas sp.* La nature de gram (+), les tests négatifs pour l'oxydase et positifs pour la catalase ont identifié comme étant *Staphylococcus aureus*. L'examen des caractéristiques morphologiques des colonies (coloration de Gram, mobilité et motilité, forme et couleur) et les tests biochimiques (catalase, oxydase) pour identifier nos isolats multirésistantes ont été considérés comme des méthodes d'identification traditionnelles (Smibert et Krieg, 1994, Udgire *et al.*, 2015).

Tableau n° 22 : Origine et profil de résistance aux antibiotiques des isolats

| Isolats | Origine | Profil de résistance |
|---------------------------------------------------------|----------|-------------------------------------------------------|
| 1. <i>K. pneumoniae</i> | Cathéter | AMP, AMC, CZN, FOX, CTX, ETP, AKN, GMN, NAL, TET, SXT |
| 2. <i>E. coli</i> | Urine | AMP, AMC, FOX, CTX, ETP, GMN, NAL, SXT |
| 3. <i>P. aeruginosa</i> | Pus | PI, LVX, CIP, GMN, TOB, IMP |
| 4. <i>E. hormaechei</i> <i>subsp. Xiangfangensis</i> | Urine | AMP, AMC, CZN, CTX, GMN, SXT |
| 5. <i>E. ludwigii</i> | Pus | FOX, LVX, CIP, OFX, KAN, GMN, AKN, CMN, ERY, TET, QDA |
| 6. <i>S. aureus</i> | Cathéter | FOX, KAN, GMN, AKN, CMN, ERY, TET, QDA |

AMP (Ampicilline 10µg), AMC (Amoxicilline/ Acide clavulanique 30µg), CZN (Céfazoline 30µg), FOX (Céfoxitine 30µg), CTX (Céftaxime 30µg), PI (Pipéracilline 100µg), ETP (Ertapénème 10µg), IMP (Imipénème 10µg), CIP (Ciprofloxacine 5µg), LVX (Lévofloxacine 5µg), OFX (Ofloxacine 5µg), NAL (Acide nalidixique 30µg), AMK (Amikacine 30µg), GMN (Gentamycine 30µg), KAN (Kanamycine 30µg), TOB (Tobramycine 10µg), ERY (Erythromycine 15µg), CMN (Clindamycine 2µg), TET (Tétracycline 30µg), CHL (Chloramphénicol 30µg), SXT (Sulfaméthoxazole/Triméthoprime 25µg), QDA (Quinupristine/Dalfopristine 25µg), RA (Rifampicine 5µg).

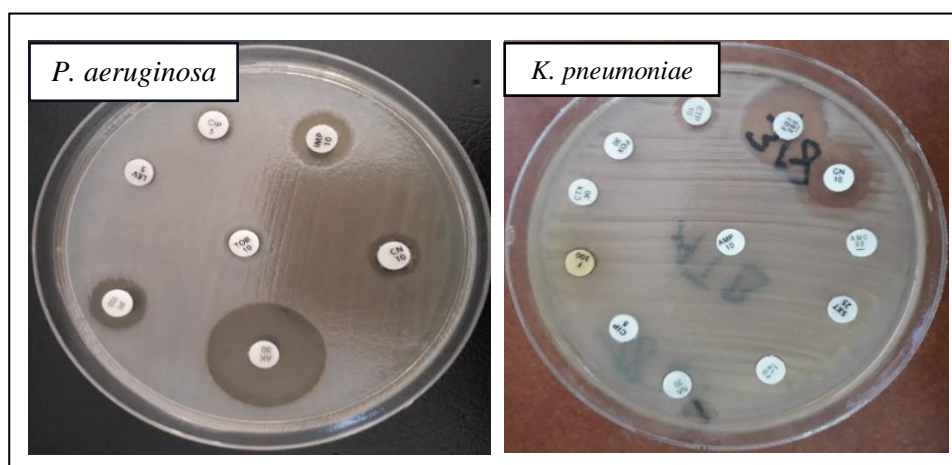


Figure n° 41 : Sensibilité aux antibiotiques des isolats de *K. pneumoniae* et de *P. aeruginosa*

III.2.5.2 Caractérisation moléculaire des souches bactériennes multirésistantes isolées

Pour confirmer l'identité des isolats multirésistants, la culture bactérienne a été soumise au séquençage de l'ARNr 16S, qui est considéré comme un outil efficace pour l'identification des micro-organismes jusqu'au niveau de l'espèce. L'ARNr 16S a été identifié à l'aide d'une amorce universelle Biorad, comme décrit dans le matériel et méthodes. Les séquences de bases azotées triées à partir des isolats bactériens multirésistants sont présentées dans la figure n° 42.

Isolat 1. 99% *Klebsiella pneumoniae*. Séquence ID : MT740433.1

>ABS1_P127F

```
GCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAGCAGAGAGCTTGTCTCGGGTACGAGCGGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGG
AGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAATGTGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCATGCCATCAGATGTGCCCA
GATGGGATAGCTAGTAGGTGGGGTAAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACAC
GGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGG
GTTGTAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGTTGAGGTTAATAACCTTGGCGATTGACGTTACCCGCGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACCGAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCC
CCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGTGAATTCAGGTTGATAGCGGTGAAATGCGTAGAGA
TCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGTTGTGCCCTTGGAGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCCTGGGGAGTACG
GCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGG
TCTTGACATCCACAGAACTTTCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGTGAAA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCATGATAACTGGAG
AAGGTGGGGATGACGTACGTACATGGCCCTTACGACAGGGCTACCAGTGTACATGGCATTAC
```

Isolat 2. 98% *Escherichia coli*. Sequence ID : ON653022.1

>ABS2_P127F

```
GCCAGAAAGCTTGTCTGTTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAATCTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGT
GGTAATACCGCATAACGCTCCCGCCAAAGAGGGGGATCTTCGGACCTCTTGCATCGGATGAGCCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGG
TAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAATGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAG
CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGA
GGAAGGGAATAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCGAAGAAGCACCGGTAACCTCCGTCGCCAGAGCCCGGTAATACGGAGGG
TGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGAGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCAT
CTGATACTGGCTGGCTTGGTCTGAGTCTCGTAGAGGGGGTAGAATTCATGTGTAGCCGTTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCCGTTGGCGAAG
GCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCG
ACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAAGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTCGACCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGA
ATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGCTCTTGACATCCACCGAATTT
```

Isolat 3. 99% *Pseudomonas aeruginosa*. Séquence ID : KJ819583.1

>ABS3_P127F

```
GGCAGCCTACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGTCTCTGGATTACGCGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAG
TGGGGGATAACGTCPCGGAAACGGGGCGCTAATACCGCATACGTCCTGAGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTA
GGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACTGGAAGTGAACAC
GGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGAAAGCCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCTTTCGG
ATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGCGAGTAAGTTAATACCTTGTCTTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATAGCAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCC
CCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACACTACTGAGCTAGAGTACCGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATA
TAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACACTGAGCTAGGTTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGGATCTTAGTGGCGCAGCTAACCGGATAAGTCGACCCTGGGGAGTACG
GCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGG
CCTTGACATGTTGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGA
TGTGGGTTAAGTCCCGTAAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTTAAGGAGACTGCCGTTGACAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCTGGCCCTTACGGCAGGGCTACCACGTGTACATGGTCCGTACAAGGGTTGCCAGCCCGAG
```

Isolat 4. 99% *Enterobacter hormaechei* subsp. *Xiangfangensis*. Séquence ID : MG923793.1

>ABS4_P127F

```
ACAGGCAAGCAGCTTGTCTTCTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACG
GTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGG
GGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGC
AGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGG
GAGGAAGGCGATAAGGTTAATAACCTTGTGCTGATTGACGTTACCCTGAGCAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTCGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGAGCGGCTGTGCAAGTCGGATGTGAAATCCCGGCACTCAACCTGGGAACTGC
ATTGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGTGAATTCAGGTTGATAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGA
```

AGGCGGCCCTTGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGT
CGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGCTTAAGTCGACCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAAT
GAATTGACGGGGCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTAC
CAGAGATGCATTTGGTGCCTTCGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGACGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACG
AGGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCCGCCGGAACTCAAAGGAACTGCCAGTGATAACTGGAGGAAAGTGGGGATGACGTCAGTC
ATCTGGCCCTTACAATAGGGCTACCACGTGCTACATGGCGCAA

Isolat 5. 100% *Staphylococcus aureus*. Séquence ID : OP068064.1

>ABS5_P127F

CGCATGCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACGGACGAGAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGGGACGGGTGAGTAACACGTGGATAACCTACC
TATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCAAAAGTGAAGACGGTCTTGCTGTCACT
TATAGATGGATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACAC
TGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTG
ATGAAGGTTCTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCAC
GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAACTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTTATGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGTTTTTAAAGT
CTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACCTGGAAAACCTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCATGTGTAGCGGT
GAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGCGACTTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGATGTGCGAAAGCCTGGGGATCAAACAGG
ATTAGATACCCTGGTAGTCCACCCGTAACAGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCTTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGACAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAAGCAACGCG
AAGAACCTTACAAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTTAGAGATAGAGCCTTCCCTTCGGGGGACAAAGTGAACGGTGGTGCATGGTTGTCGT
CAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAAGTCCCGCAACGCGCAACCCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTG
CCGGTGACAAACCGGAAGAAAGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACCC

Isolat 6. 99% *Enterobacter ludwigii*. Séquence ID : I9455333cz

>ABS6_P127F

CTAACACATGCAAGTCGAACGGTAGCACAGAGAGCTTGCTTCTCGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGA
GGGGGATAACTACTGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAG
ATGGGATTAGCTAGTAGTGGGTAACGGCTCACCTAGGCGCAGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAATGAGACACG
GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCTGTATGAAGAAGGCCTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTCAGCGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCGCAAGTTCGACGTTACCCGCAAGAAGCACCCTTAACCTCCGTGCC
AGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGAGCGGCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCC
CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATCGGTAGAGAT
CTGGAGGAATACCGGTGCGCAAGGCGGCCCCCTGGACAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCCTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAACAGATGTCGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGCTTAAGTCGACCCCTGGGGAGTACGG
CCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACT
CTTGACATCCAGAGAATTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTTGACAGGTTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTGTGAAAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGGGTCCGGCCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAACTGGAGG
AAGGTGGGGATGACGTCAGTCATCATGCCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACATGG

Figure n° 42 : Séquence des bases azotées séquencées à partir de bactéries multirésistantes isolées, A = adénine, T = thiamine, G = guanine, C = cytosine

Six souches bactériennes isolées des patients hospitalisés, à Chlef, en Algérie, ont été isolées et caractérisées par leur profil de résistance. L'identification bactérienne a été réalisée par des méthodes morphologiques et biochimiques de base et confirmée par la méthode d'empreinte de la séquence de l'ADNr 16S comme étant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter hormaechei subsp. Xiangfangensis*, *Enterobacter ludwigii* et *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage d'homologie de 99 %, 98 %, 99 %, 99 %, 100 %, 99%, respectivement.

III.2.5.3 Evaluation de l'activités antimicrobienne par la méthode de diffusion sur puits en milieu gélosé

L'activité antimicrobienne in vitro des extraits de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium* a été évaluée contre 8 souches de référence (ATCC), et 6 isolats cliniques

multirésistantes (BMR). Leurs activités potentielles ont été évaluée qualitativement par la présence ou l'absence de zones d'inhibition (**tableau n° 23**).

Tableau n°23 : Zone moyenne d'inhibition de la croissance microbienne (DZI) en mm pour la partie aérienne de l'extrait méthanolique (EM) et hydrométhanolique (EHM) d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

| Plant | Ext | Conc. (mg/ mL) | Zone d'inhibition (mm) (moyen ± SD) | | | | | | | |
|---------------------|-----|----------------------|-------------------------------------|-------------|----------------|-------------|----------------------|-------------|------------------|-------------|
| | | | <i>K. pneumoniae</i> | | <i>E. coli</i> | | <i>P. aeruginosa</i> | | <i>S. aureus</i> | |
| | | | ATCC | Isolées | ATCC | Isolées | ATCC | Isolées | ATCC | Isolées |
| <i>E. a</i> | EM | 50 | 8.0 ± 1.0 | 7.57 ± 0.81 | 11.0 ± 1.0 | 7.0 ± 0.00 | 12.08 ± 0.5 | 7.0 ± 0.00 | 17.0 ± 1.73 | 8.75 ± 0.35 |
| | | 100 | 9.5 ± 0.64 | 7.5 ± 0.71 | 12.75 ± 0.6 | 12.12 ± 1.6 | 12.4 ± 0.33 | 11.75 ± 0.2 | 19.5 ± 2.1 | 13.25 ± 1.0 |
| | EHM | 50 | 7.1 ± 0.29 | 7.1 ± 0.29 | 8.5 ± 0.87 | 7.0 ± 0.00 | 13.03 ± 1.7 | 8.25 ± 0.25 | 16.03 ± 1.0 | 7.75 ± 0.35 |
| | | 100 | 8.93 ± 0.17 | 7.0 ± 0.0 | 10.25 ± 0.7 | 8.5 ± 1.5 | 11.67 ± 0.4 | 10.25 ± 0.2 | 19.0 ± 1.41 | 13.0 ± 1.41 |
| <i>H. s</i> | EM | 50 | 8.5 ± 0.87 | 8.0 ± 0.80 | 7.47 ± 0.47 | 7.0 ± 0.00 | 12.15 ± 0.3 | 8.75 ± 0.00 | 18.0 ± 1.24 | 7.5 ± 0.00 |
| | | 100 | 10.75 ± 0.9 | 8.0 ± 1.41 | 9.0 ± 0.21 | 7.0 ± 0.00 | 12.85 ± 0.2 | 11.5 ± 0.5 | 20.0 ± 0.12 | 14.25 ± 1.0 |
| | EHM | 50 | 8.0 ± 0.5 | 7.75 ± 0.4 | 7.03 ± 0.06 | 0 | 11.0 ± 1.0 | 0 | 11.75 ± 1.4 | 0 |
| | | 100 | 9.75 ± 0.62 | 7.25 ± 0.35 | 8.5 ± 0.14 | 0 | 11.5 ± 0.87 | 9.0 ± 0.5 | 14.5 ± 0.7 | 9.5 ± 0.71 |
| Tobramycine (10 µg) | | | 19.83 ± 1.0 | - | 17.60 ± 0.2 | - | 21.97 ± 1.7 | - | 20.50 ± 0.5 | - |
| DMSO 5% | | | AI | AI | AI | AI | AI | AI | AI | AI |

Suite

| Plant | Ext | Conc. (mg/ mL) | <i>S. typhi</i> | <i>B. cereus</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>C. albicans</i> | <i>E. hormaechei</i> | <i>E. ludwigii</i> |
|---------------------|-----|----------------------|-----------------|------------------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | | | ATCC | ATCC | ATCC | ATCC | Isolées | Isolées |
| <i>E. a</i> | EM | 50 | 10.0 ± 1.31 | 15.5 ± 1.8 | 11.55 ± 0.6 | 8.1 ± 0.8 | 9.75 ± 3.18 | 9.5 ± 0.71 |
| | | 100 | 10.75 ± 0.3 | 16.5 ± 0.71 | 10.25 ± 0.3 | 11.25 ± 1.0 | 11.25 ± 3.9 | 14.3 ± 0.28 |
| | EHM | 50 | 8.0 ± 0.73 | 8.33 ± 0.58 | 8.7 ± 0.72 | 8.0 ± 1.0 | 8.75 ± 1.06 | 10.25 ± 0.3 |
| | | 100 | 10.0 ± 0.85 | 14.75 ± 0.4 | 9.25 ± 1.41 | 9.25 ± 1.77 | 9.25 ± 2.47 | 12.5 ± 0.71 |
| <i>H. s</i> | EM | 50 | 8.3 ± 0.29 | 13.67 ± 2.5 | 7.1 ± 0.41 | 0 | 9.25 ± 2.5 | 0 |
| | | 100 | 9.5 ± 1.20 | 19.5 ± 0.71 | 11.0 ± 1.41 | 9.5 ± 0.71 | 9.25 ± 2.47 | 0 |
| | EHM | 50 | 9.25 ± 2.3 | 17.25 ± 1.0 | 7.1 ± 0.14 | 0 | 0 | 0 |
| | | 100 | 10.73 ± 1.1 | 18.50 ± 2.5 | 8.1 ± 0.14 | 7.5 ± 0.71 | 0 | 0 |
| Tobramycine (10 µg) | | | 18.67 ± 0.8 | - | - | - | - | - |
| Ampicilline (30 µg) | | | - | 25.33 ± 0.8 | - | - | - | - |
| Doxycycline (30 µg) | | | - | - | 35.0 ± 0.5 | - | - | - |
| Econazole (1%) | | | - | - | - | 27.13 ± 0.6 | - | - |

DMSO 5%

AI

AI

AI

AI

AI

AI

ATCC : American Type Culture Collection ; EM : extraits méthanolique ; EHM : Extrait hydro-méthanolique ;
E. a : *Ephedra alata* ; *H. s* : *Haloxylon scoparium*

D'une manière générale, il a été observé que l'inhibition de la croissance bactérienne augmentait avec la concentration des extraits et que les diamètres d'inhibitions diffèrent d'une bactérie à l'autre et d'un extrait à l'autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques. Comme rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si la zone d'inhibition est supérieure à 10 mm (Ponce *et al.*, 2003 ; Biyiti *et al.*, 2004).

Dans l'essai de diffusion sur puits, on note également que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 ont montré la plus grande sensibilité à tous les extraits, à toutes les concentrations. *K. pneumoniae* ATCC 13883, *K. pneumoniae* multirésistante et *E. hormaechei* multirésistante ont montré une faible sensibilité à tous les extraits, à toutes les concentrations (figure n° 43 et n° 44).

N.B : Les résultats sont également illustrés en figures dans l'annexe n° 3.

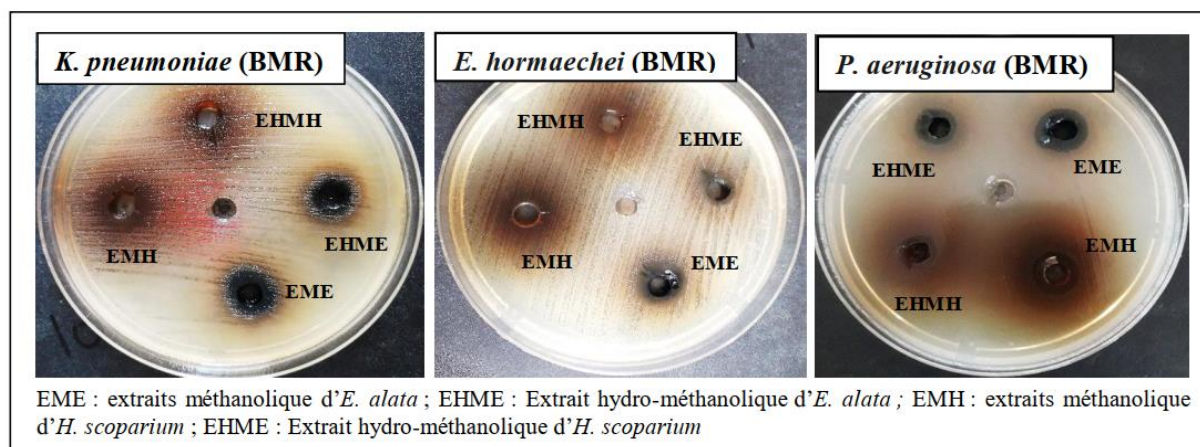


Figure n°43 : Inhibition par diffusion des souches multirésistantes en milieu gélosé de l'extrait méthanolique et hydrométhanolique (100 mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

Les extraits d'*E. alata* se sont révélés actifs contre toutes les espèces testées à des concentrations élevées, et une forte activité a été enregistrée contre *S. aureus* ATCC 25923 (19.5 - 19.0 mm), *B. cereus* ATCC 10876 (16.5 - 14.75 mm), l'isolat d'*E. ludwigii* (BMR)

(14.3 - 12.5 mm), suivi par l'isolat de *S. aureus* (BMR) (13,25 - 13 mm) à 100 mg/mL, respectivement. Parmi les souches, les isolats cliniques multirésistants de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, et *S. aureus* se sont révélés moins sensibles que les souches ATCC aux concentrations testées (**figure n° 43**). L'extrait méthanolique d'*E. alata* à concentrations de 50 mg/mL ont montré une faible activité contre toutes les souches testées, à l'exception de *S. aureus* ATCC 25923 (17.0 mm), *B. cereus* ATCC 10876 (15.5 mm) et *P. aeruginosa* ATCC 27857 (12.08 mm). Cependant, la concentration de 50 mg/mL de l'extrait hydrométhanolique d'*E. alata* a montré une activité élevée contre *S. aureus* ATCC 25923 (16.03 mm), *P. aeruginosa* ATCC 27857 (11.0 mm), suivi de l'isolat de *E. ludwigii* (BMR) (10.25 mm).

Les résultats les plus prometteurs ont été obtenus avec l'extrait méthanolique, qui a présenté les résultats les plus élevées de DZI à toutes les concentrations contre toutes les souches (allant de de 7,0 à 19,5 mg/mL), à l'exception les souches de *P. aeruginosa* à la concentration de 50 mg/mL.

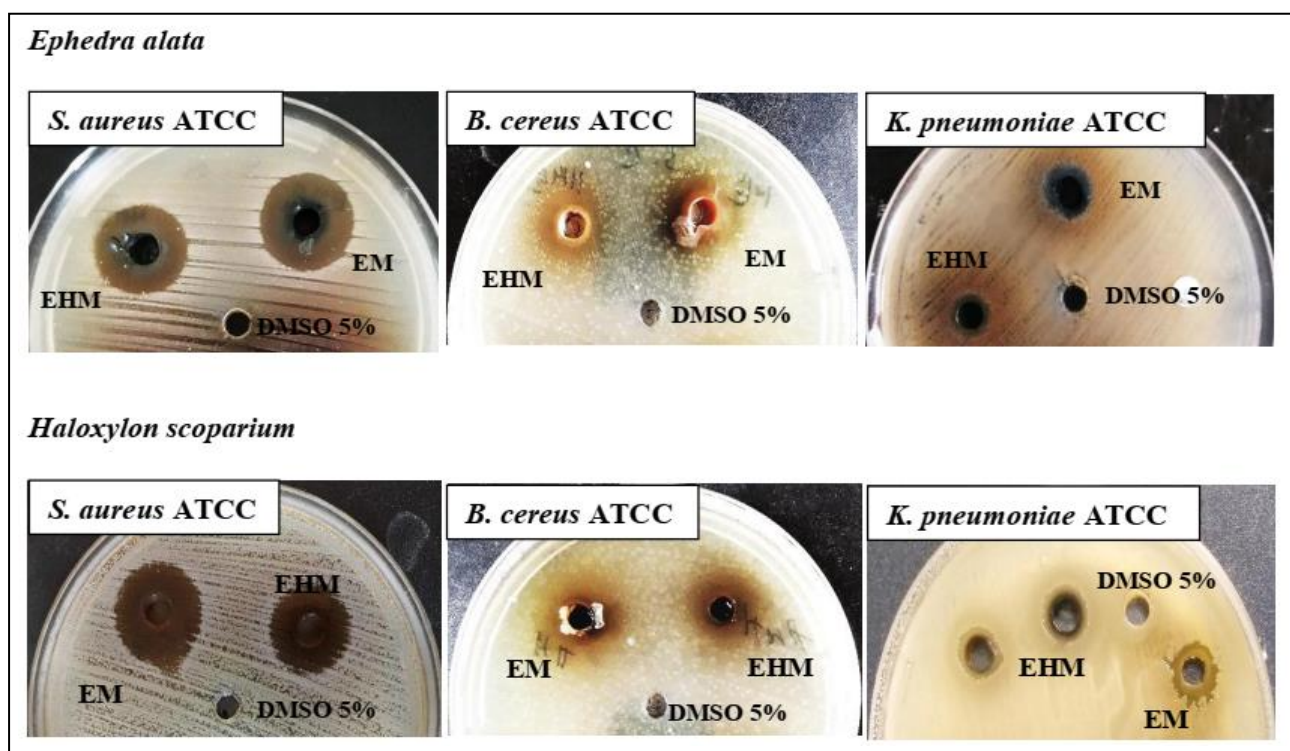


Figure n°44 : Inhibition par diffusion des souches ATCC en milieu gélosé de l'extrait méthanolique (EM) et hydrométhanolique (EHM) (100 mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

Concernant *H. scoparium*, les résultats enregistrés dans le **tableau n° 23** montrent que l'extrait méthanolique a une bonne activité inhibitrice contre *S. aureus* ATCC 25923 (20.0

mm), *B. cereus* ATCC 10876 (19.5 mm), l'isolat de *S. aureus* (BMR) (14,25 mm), et *P. aeruginosa* ATCC 27857 (12.85 mm) à la concentration de 100 mg/mL. Cependant, l'effet inhibiteur exercé contre les souches ATCC (*E. coli*, *S. typhi* et *C. albicans*) et les isolats multirésistants (*K. pneumoniae*, *E. coli* et *E. hormaechei*), ont été nettement moins important à la même concentration. Les diamètres des halos formés varient entre 7.0 et 9.5 mm. En outre, la concentration de 50 mg/mL a montré une faible activité de l'extrait méthanolique avec un diamètre d'inhibition inférieur à 9.5 contre toutes les souches, à l'exception contre les souches ATCC de *S. aureus*, de *B. cereus* et de *P. aeruginosa* qui présentes des activités presque similaires par rapport à la concentration de 100 mg/mL. Par ailleurs, L'extrait hydrométhanolique a montré une forte activité antibactérienne contre *B. cereus* ATCC 10876 (18.5 mm) et *S. aureus* ATCC 25923 (14.5 mm) à 100 mg/mL, et une faible activité contre les autres souches aux concentrations testées (**tableau n° 23**). Toutes les activités antimicrobiennes des extraits enregistrés restent inférieures à celles des antibiotiques de référence : tobramycine, ampicilline, doxycycline et éconazole.

L'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique peut être attribuée principalement aux constituants majeurs de la plante (flavonoïdes, tannins, etc.). L'absence d'activité antibactérienne à de faibles concentrations peut être attribuée à la présence de plus petites quantités de composés antimicrobiens (**Nisa et al., 2013**).

Les résultats de l'essai de diffusion sur disque ont montré que les bactéries les plus fréquemment inhibées par les extraits de plantes étaient la souche *S. aureus* ATCC 25923 et *B. cereus* ATCC, suivis par *P. aeruginosa* ATCC 27853 et l'isolat clinique de *S. aureus* multirésistante.

Les activités antimicrobiennes de la famille des Ephedraceae ont été rapportées dans plusieurs travaux antérieurs en fonction de l'origine des plantes (**AlSnafi, 2017, Yousif et al., 2012**). Selon **Dbeibia et al. (2022)**, les diamètres des zones d'inhibition obtenus en testant l'extrait méthanolique sur, *S. typhimurium* DT104, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sont respectivement de 16 mm, 12 mm, 13.5 mm. Les résultats sont plus ou moins semblables aux nôtres en ce qui concerne l'*E. faecalis*, par contre, *S. typhimurium* était légèrement plus sensible et que *S. aureus* semble plus résistante. Un halo d'un diamètre aussi similaire à ce obtenu par l'extrait hydrométhanolique contre *C. albicans* ATCC 10231 (10 mm), *E. faecalis* ATCC 51299 (7 mm) et *K. pneumoniae* ATCC 700603 (7 mm) a été noté par **Danciu et al. (2019)**. Une autre étude faite par **Hibi et al. (2022)** au sud de

l'Algérie, a montré qu'*E. coli* ATCC 25922 (6mm), *S. typhimurium* ATCC 13311 (6mm), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (6mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (9mm) et *Bacillus cereus* ATCC11778 (8mm) étant beaucoup plus résistante à l'extrait méthanolique. Cependant, l'étude faite par **Alshalmania et al. (2020)**, a montré qu'*E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* étant légèrement plus sensible.

Concernant *H. scoparium*, la littérature fait référence à une étude sur le potentiel antibactérien de différents extraits de la partie aérienne de cette espèce d'Algérie, **Fatehi et al. (2018)** a étudié le potentiel antibactérien de sept extraits (aqueux, méthanolique, éthanolique, acétonique, chloroformique, Dichlorométhanique et acide chloridrique) sur une bactérie Gram positif et deux bactérie Gram négatif et a noté que l'extrait méthanolique présente le plus haut degré d'activité inhibitrice contre *Proteus mirabilis* avec une zone d'inhibition de 17 mm, 15 mm pour le *Staphylocoque aureus* et 13 mm pour l'*E. coli*. Ce résultat est plus sensible aux nôtres en ce qui concerne l'*E. coli*, par contre, *S. aureus* semble plus résistante.

Des travaux antérieurs confirment que les extraits d'*Haloxylon scoparium* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes (**Benine et al., 2023**). Selon **Bouaziz et al. (2016)**, a montré que les souches de genre staphylococcus était plus sensibles (23.0 à 30.0 mm) et qu'*E. faecalis* était plus résistant (8.0 à 12.0 mm) aux extraits méthanolique et hydro-méthanolique, par contre, les Souches fongiques semblent inactives. D'autre part, un halo d'un diamètre petit que ceux obtenus par nos extraits contre *S. aureus* (inférieur à 8 mm) a été noté par **Nounah et al. (2019)**. Une autre étude faite par **Drioiche et al. (2019)** au Maroc, a montré des activités modérées ont été obtenus contre *Staphylococcus epidermidis* (11mm), *Pseudomonas fluorescense* (10mm), *Escherichia coli* (12mm et 11mm), *Klebsiella pneumoniae* (11mm), et *Enterococcus faecium* (11mm et 12mm) par l'extrait méthanolique et hydro-méthanolique de la partie aérienne, tandis que, Les résultats des tests d'inhibition fongique sont négatifs.

Les différences de sensibilité bactérienne pourraient être dues à des variations de tolérance intrinsèque des micro-organismes ou aux propriétés physico-chimiques des composés phytochimiques présents dans les extraits bruts des matières végétales (**Kouadri et al., 2018**)

III.2.5.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de dilution en série en milieu liquide

III.2.5.4.1 Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)

Le but de la méthode de microdilution est d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices et de déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance d'un micro-organisme. L'efficacité des extraits testés est évaluée en mesurant trois concentrations, la CMI, la CMB et la CMF. Ces concentrations permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne : bactériostatique ou bactéricide/Fongicide. Les résultats sont repris dans le **tableau n° 24 et 25**.

Tableau n° 24 : Résultats de la CMI, CMB et la CMF des extraits d'*E. alata* exprimés en mg/mL

| N° | Bactéries Souche ATCC | Extrait méthanolique (EM) | | | | Extrait hydro-méthanolique (EHM) | | | |
|------------------------|--------------------------|---------------------------|------------|----------------------------|------------------|----------------------------------|------------|----------------------------|------------------|
| | | CMI | CMB CMF | CMB/ CMI CMB/ CMF | Activité | CMI | CMB CMF | CMB/ CMI CMB/ CMF | Activité |
| 1 | <i>K. pneumoniae</i> | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique | 100 | >200 | ND | ND |
| 2 | <i>E. coli</i> | 12.5 | 50 | 4 | Bactéricide | 50 | 200 | 4 | Bactéricide |
| 3 | <i>S. typhi</i> | 50 | 200 | 4 | Bactéricide | 50 | >200 | ND | ND |
| 4 | <i>P. aeruginosa</i> | 8.33 | 50 | 6 | Bactériostatique | 50 | 100 | 2 | Bactéricide |
| 5 | <i>S. aureus</i> | 4.17 | 12.5 | 3 | Bactéricide | 25 | 50 | 2 | Bactéricide |
| 6 | <i>B. cereus</i> | 8.33 | 25 | 3 | Bactéricide | 50 | 200 | 4 | Bactéricide |
| 7 | <i>E. faecalis</i> | 25 | 100 | 4 | Bactéricide | 100 | >200 | ND | ND |
| 8 | <i>C. albicans</i> | 50 | 200 | 4 | Fongicide | 50 | 200 | 4 | Fongicide |
| Souches isolées | | | | | | | | | |
| 9 | <i>K. pneumoniae</i> | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique | 50 | >200 | ND | ND |
| 10 | <i>E. coli</i> | 25 | 100 | 4 | Bactéricide | 50 | >200 | ND | ND |
| 11 | <i>P. aeruginosa</i> | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique | 50 | >200 | ND | ND |
| 12 | <i>E. ludwigii</i> | 12.5 | 50 | 4 | Bactéricide | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique |
| 13 | <i>E. hormaechei</i> | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique | 25 | >200 | ND | ND |
| 14 | <i>S. aureus</i> | 25 | 100 | 4 | Bactéricide | 50 | 200 | 4 | Bactéricide |

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; ND : Non déterminée.

D'après le **tableau n° 24**, on observe que l'extrait méthanolique et hydrométhanolique d'*E. alata* inhibait la croissance de 14 micro-organismes testés dans des fourchettes de

concentration allant de 4,17 à 50,0 mg/mL et 25,0 à 100,0 mg/mL, respectivement. En revanche, la CMB et la CMF de l'extrait méthanolique était comprise entre 12,5 à 200,0 mg/mL et de 200,0 mg/mL, respectivement. Tandis que, celle de l'extrait hydrométhanolique était $\geq 200,0$ mg/mL, sauf pour l'isolat de *S. aureus* ATCC 25923 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 qui était de 50,0 et 100,0 mg/mL, respectivement.

L'extrait méthanolique d'*E. alata* présentent des CMI les plus faibles, qui est de l'ordre de 4,17 mg/ml pour *S. aureus* ATCC 25923, et de 8,33 mg/ml pour *B. cereus* ATCC 10876 et *P. aeruginosa* ATCC 27853. La valeur de CMI la plus élevée de celle-ci était contre *C. albicans* ATCC 10231 et *S. typhi* ATCC 14028, qui était de 50,0 mg/mL pour les deux. De même, la CMI la plus faible de l'extrait hydrométhanolique a été observée contre *S. aureus* ATCC 25923, les isolats de *S. aureus* et d'*E. ludwigii*, et les valeurs les plus élevées contre *E. faecalis* ATCC 29212 et *K. pneumoniae* ATCC 13883 (**tableau n° 24**). L'évaluation de la CMB a révélé que l'extrait méthanolique et hydrométhanolique présentait la CMB la plus faible contre *S. aureus* ATCC 25923 qui était de 12,5 mg/mL et 50 mg/mL, respectivement.

Tableau n° 25 : Résultats de la CMI, CMB et la CMF des extraits d'*H. scoparium* exprimés en mg/mL

| N° | Bactéries Souche ATCC | Extrait méthanolique (EM) | | | | Extrait hydro-méthanolique (EHM) | | | |
|------------------------|--------------------------|---------------------------|------------|----------------------------|------------------|----------------------------------|------------|----------------------------|------------------|
| | | CMI | CMB CMF | CMB/ CMI CMB/ CMF | Activité | CMI | CMB CMF | CMB/ CMI CMB/ CMF | Activité |
| 1 | <i>K. pneumoniae</i> | 12.5 | 100 | 8 | Bactériostatique | 50 | 200 | 4 | Bactéricide |
| 2 | <i>E. coli</i> | 12.5 | 100 | 8 | Bactériostatique | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique |
| 3 | <i>S. typhi</i> | 6.25 | 100 | 16 | Bactériostatique | 12.5 | 200 | 16 | Bactériostatique |
| 4 | <i>P. aeruginosa</i> | 12.5 | 50 | 4 | Bactéricide | 12.5 | 50 | 4 | Bactéricide |
| 5 | <i>S. aureus</i> | 6.25 | 25 | 4 | Bactéricide | 12.5 | 25 | 2 | Bactéricide |
| 6 | <i>B. cereus</i> | 6.25 | 25 | 4 | Bactéricide | 6.25 | 25 | 4 | Bactéricide |
| 7 | <i>E. faecalis</i> | 12.5 | 100 | 8 | Bactériostatique | 25 | 200 | 8 | Bactériostatique |
| 8 | <i>C. albicans</i> | 100 | >200 | ND | ND | 100 | >200 | ND | ND |
| Souches isolées | | | | | | | | | |
| 9 | <i>K. pneumoniae</i> | 100 | >200 | ND | ND | 100 | >200 | ND | ND |
| 10 | <i>E. coli</i> | 100 | >200 | ND | ND | - | - | - | - |
| 11 | <i>P. aeruginosa</i> | 50 | 200 | 4 | Bactéricide | 100 | >200 | ND | ND |
| 12 | <i>E. hormaechei</i> | 50 | >200 | ND | ND | - | - | - | - |
| 13 | <i>S. aureus</i> | 50 | 200 | 4 | Bactéricide | 50 | >200 | ND | ND |

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; ND : Non Défini

Les résultats du **tableau n° 25** montrent que l'extrait méthanolique et hydrométhanolique d'*H. scoparium* ont exercé une activité contre 13 et 11 souches testées, respectivement. Pour les deux extraits, les valeurs ont été obtenues à une gamme allant de 6.25 à 100 mg/mL pour la CMI, de 25.0 à 200.0 mg/mL pour la CMB, sauf pour l'isolat de *K. pneumoniae*, d'*E. coli*, d'*E. hormaechei* pour l'extrait méthanolique et l'isolat de *S. aureus* et *P. aeruginosa* pour l'extrait hydrométhanolique qui était >200 mg/mL. La CMF était >200 mg/mL pour les deux extraits.

L'activité la plus forte des extraits d'*H. scoparium* ont été démontrée contre *B. cereus* ATCC 10876 et *S. aureus* ATCC 25923 ; les valeurs de CMI et de CMB ayant été les plus faibles, qui est de l'ordre de 6.25 à 12.5 mg/mL pour la première et 25.0 mg/mL pour la deuxième. Par contre, la sensibilité l'est beaucoup moins chez les isolats multirésistants et *C. albicans* ATCC 10231. Effectivement, la CMI et la CMB étant obtenues à des valeurs plus élevées, de 50.0 à 100.0 mg/mL pour la première et >200,0 mg/mL pour la deuxième (**tableau n° 25**).

Dans le rapport CMB/CMI calculé, l'extrait est validé comme bactéricide lorsqu'il est inférieur ou égal à 4 et bactériostatique lorsqu'il est supérieur à 4 (**Okou et al., 2018**). Les valeurs de ce rapport sont variables pour les différents extraits en fonction des souches bactériennes testées (**Tableau n°24 et n°25**), ce qui permet de classer ces extraits en fonction de leur spectre d'action. En conséquence, il a été démontré que l'extrait méthanolique d'*E. alata* a des effets bactéricides contre la plupart des souches testées sauf contre *K. pneumoniae* ATCC 13883, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et les isolats de *K. pneumoniae*, de *P. aeruginosa* et d'*E. hormaechei* a des effets bactériostatiques. Pour l'extrait hydrométhanolique d'*E. alata*, des activités bactéricides ont été observées contre *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 10876 et l'isolat de *S. aureus*. Une activité fongicide a été observée pour les deux extraits d'*E. alata* contre *C. albicans* ATCC 10231. D'autre part, pour *H. scoparium*, des activités bactéricides ont été mise en évidence pour l'extrait méthanolique contre l'isolat de *S. aureus* et de *P. aeruginosa*, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. cereus* ATCC 10876. En plus des trois souches ATCC précitées, L'extrait hydro-méthanolique a un pouvoir bactéricide contre *K. pneumoniae* ATCC 13883.

Nos résultats corroborent ceux d'autres travaux, notamment, en ce qui concerne l'*E. alata*. En effet, une activité bactéricide de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne a été démontrée particulièrement contre *S. aureus* en tant que bactérie Gram (+), avec de faibles

concentrations de CMI et CMB (**Danciu et al., 2019**), tandis que, **Ziani et al. (2019)** ont rapporté que les souches de *E. coli* ESBL et *E. coli* étaient les plus sensibles à l'extrait hydrométhanolique d'*E. alata* collecté en Algérie, en plus de *S. aureus* résistantes et sensibles à la méthicilline (MRSA et MSSA), avec des CMI de 5mg/ml. Par ailleurs, une étude menée par **Nounah et al. (2019)**, a montré que l'extrait hydroalcoolique des tiges d'*H. scoparium* était bactéricide contre *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. faecalis*, mais il est bactériostatique pour *S. aureus*.

L'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium* sont en général plus actifs contre les souches testées sélectionnées que l'extrait hydro-méthanolique, comme le montrent les résultats des CMI et CMB, en corrélation avec la quantité de composés phénoliques. L'extrait méthanolique de ces plantes ont le plus grand effet antimicrobien contre la souche de *S. aureus* ATCC 25923 et de *B. cereus* ATCC 10876, ce qui concorde avec les résultats du test de diffusion sur puits d'agar. Ceci est cohérent avec des études précédentes indiquant que les bactéries gram-négatives étaient moins sensibles aux extraits de plantes que les bactéries gram-positives (**Jang et al., 2010 ; Leach. 2015**). Cela est dû aux différences structurales entre les parois cellulaires. En effet, Les bactéries à Gram négatif ont des membranes phospholipidiques portant des composants structurels de lipopolysaccharides qui rendent leur paroi cellulaire imperméable à certaines substances antimicrobiennes tels que ceux présents dans les extraits (**Jang et al., 2010 ; Nigussie et al., 2021**). En outre, dans le présent travail, des isolats cliniques multirésistants ont été utilisés, étant beaucoup moins sensibles que les souches ATCC utilisées dans l'étude rapportée. Les résultats décrits sont satisfaisants, étant donné que la résistance des bactéries aux antibiotiques devient un problème mondial. Dans cette perspective, l'exploitation de matrices contenant des agents antibactériens est d'un grand intérêt pour l'application dans l'industrie pharmaceutique.

D'après **Oussalah et al. (2006)**, l'activité biologique d'un extrait est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs. Ceci pourrait expliquer les différences constatées dans les résultats obtenus par la présente étude ainsi que par les travaux antérieurs.

Les résultats obtenus suggèrent que les extraits présentent des substances phytochimiques ayant une activité à large spectre contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. D'après la caractérisation chimique présentée ci-dessus, les flavonoïdes constituaient la

principale classe phénolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium*. Ces composés peuvent agir comme des antibiotiques en raison de leur capacité à former des complexes avec les protéines solubles extracellulaires, ainsi qu'avec les parois cellulaires des bactéries, ce qui entraîne souvent à leur inactivation et à la perte de leur fonction (Cushnie & Lamb, 2011 ; Wink, 2015). De nombreux travaux de recherche ont identifié la structure des flavonoïdes qui possèdent une activité antibactérienne. Des exemples de tels flavonoïdes trouvés dans les plantes étudiées sont les dérivés de l'apigénine (Nayaka *et al.*, 2014), les dérivés de la lutéoline (Kozyra *et al.*, 2017), divers glycosides de quercétine (Teffo *et al.*, 2010), la catéchine et ses dérivés (Wu *et al.*, 2021). D'autres flavones, glycosides de flavones (Kozyra *et al.*, 2017 ; Nayaka *et al.*, 2014), flavanones, Flavan-3-ol et flavonols (Cushnie & Lamb, 2011 ; Ziani *et al.*, 2018), glycosides de flavonol (Cushnie & Lamb, 2011) ayant une activité antibactérienne ont également été identifiés. D'autre part, des composés présents en minorité dans chacune de nos extraits, pourraient également avoir une part de contribution à l'activité antimicrobienne par synergie avec les composés majeurs (Burt, 2004 ; Borugă *et al.*, 2014).

Le(s) site(s) et le nombre de groupes hydroxyle sur le groupe phénol sont liés à leur toxicité relative pour les microorganismes, avec des preuves qu'une hydroxylation accrue se traduit par une toxicité accrue (Cushnie & Lamb, 2011). En outre, certains auteurs ont constaté que des phénols plus fortement oxydés sont responsables de l'inhibition microbienne (Wink, 2015). Les mécanismes considérés comme responsables de la toxicité phénolique pour les microorganismes comprennent l'inhibition enzymatique par les composés oxydés, éventuellement par réaction avec les groupes sulfhydryles ou par des interactions non spécifiques avec les protéines et l'inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique, ainsi que l'inhibition du métabolisme énergétique des microorganismes (Wink, 2015).

Le présent manuscrit souligne l'importance des produits naturels dans la découverte de nouveaux composés bioactifs qui peuvent être utilisés avec succès comme médicaments à base de plantes après des études de validation *in vivo*.

III.2.6 Etude de l'activité antioxydant par DPPH

L'évaluation de la capacité des extraits d'*E. alata* et d'*H. scoparium* à piéger le radical libre DPPH, a été réalisée par la mesure de son absorbance en présence de ces dernières, et ce, à

différentes concentrations (**figure n°45**), en utilisant le trolox et l'acide ascorbique comme agent antioxydant de référence. La concentration de chaque extrait qui réduit 50% de DPPH notée CI50 a été déterminée (**tableau n°26**).

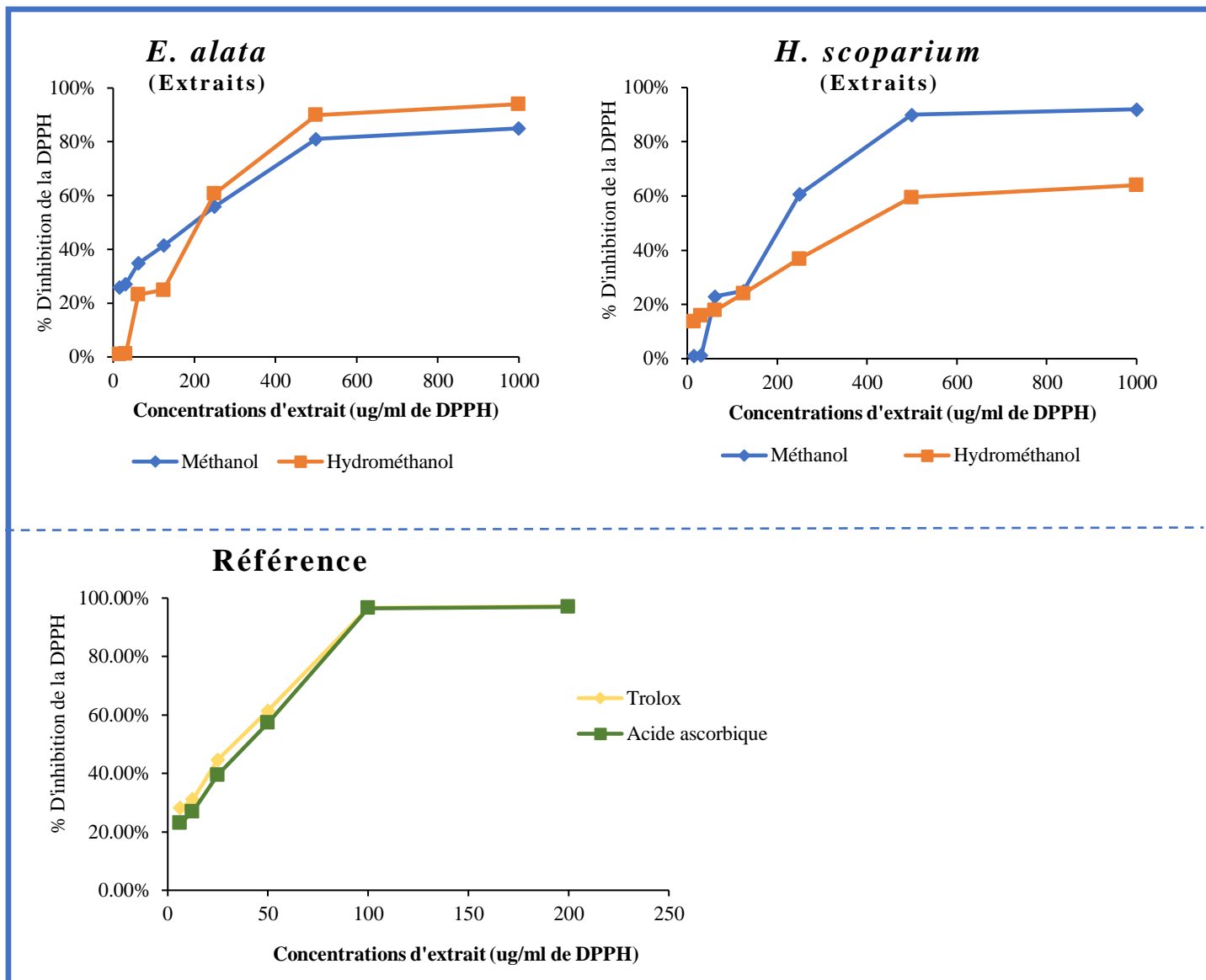


Figure n° 45 : Pourcentage d'inhibition de DPPH des différents extraits de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium* par rapport au Trolox et l'Acide ascorbique (contrôle positif)

De même, le pouvoir antiradicalaire de trolox et d'acide ascorbique (antioxydants standards) a été évalué afin de le comparer à celui des plantes. Nous notons d'après la **figure n°45**, que la réduction de l'absorbance du DPPH a été beaucoup plus importante que celle des extraits. En effet, à seulement 50 $\mu\text{g/mL}$, les PI avait déjà atteint les 50%. De plus, à partir de cette

concentration, une augmentation extrêmement intense a été observée donnant ainsi, à 100 µg/mL, un PI de 96.75% et 96.55% pour le trolox et l'acide ascorbique, respectivement, où les PI commencé à plus ou moins se stabiliser à cette concentration (100 µg/mL), aboutissant à une réduction de 97.20% et 97.0% à la plus grande concentration testée (200 µg/mL). Le trolox et l'acide ascorbique ont donc provoquer une réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire DPPH-H.

Tableau n°26 : Valeurs des IC50 des différents extraits d'*E. alata* et de *H. scoparium*

| Extraits | <i>E. alata</i> | | <i>H. scoparium</i> | | Trolox | Acide ascorbique |
|---------------|----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------------|---------------|------------------|
| | Extrait méthanolique | Extrait hydro-méthanolique | Extrait méthanolique | Extrait hydro-méthanolique | | |
| CI50 (µg /ml) | 226.25 ± 0.003 | 266.00 ± 0.003 | 249.89 ± 0.062 | 396.00 ± 0.013 | 71.56 ± 0.004 | 48.83 ± 0.002 |

La CI50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé. En effet, plus la valeur de CI50 est basse, plus l'activité antioxydante est grande (**Abdelli et al., 2018**). Sa détermination permet d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos échantillons. D'après les résultats du **tableau n°26**, nous constatons que l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique d'*E. alata* était le plus puissant (CI50= 226,25 µg/mL), suivi de près par l'extrait méthanolique d'*H. scoparium* (249.89 mg/ml), considérablement plus élevées que celle des extraits hydrométhanolique d'*E. alata* (CI50= 266,00 µg/mL) et d'*H. scoparium* (CI50= 396,00 µg/mL). L'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium* est donc extrêmement faible par rapport à celle de l'extrait méthanolique. Ceci est probablement due à la richesse de cet extrait en composés phénoliques, y compris les polyphénols totaux, les tanins et les flavonoïdes, ce qui donne une meilleure activité antiradicalaire (**Lachkar et al., 2021**). Néanmoins, L'activité antioxydante de trolox et de l'acide ascorbique reste la plus importante puisque sa CI50 a été la plus basse (71.56 et 48.83 µg/mL, respectivement).

Par comparaison, Nos résultats sont en accord avec ceux de **Jerbi et al. (2016)** et **Jaradat et al. (2015)**, qui ont rapporté une forte activité antiradicalaire dans l'extrait de méthanol de la partie aérienne d'*E. alata* (IC50 = 16.03 et 27 µg/mL, respectivement) par rapport a d'autre extraits. En outre, **Al-rimawi et al. (2017)** ont montré que l'extrait hydrométhanolique d'*E. alata* palestinien présentait l'activité de piégeage des radicaux la plus élevée (78 µg/mL) par rapport à l'extrait méthanolique pure et aqueux. Les auteurs ont décrit une activité plus élevée,

avec des teneurs plus élevées en polyphénols, en utilisant des solvants de polarité plus élevée. Les études mentionnées ont décrit une activité antioxydante plus élevée, par rapport à celles affichées par l'extrait méthanolique (226 µg/mL) et hydrométhanolique (266.00 µg/mL) actuellement étudiés. Cependant, **Ziani et al. (2019)** ont montré que l'extrait hydrométhanolique d'*E. alata* algérienne avait une activité de piégeage des radicaux significativement plus faible (IC₅₀ = 540 µg/mL) par rapport à nos données.

Concernant *H. scoparium*, le pouvoir antiradicalaire de nôtres extraits sont plus fort que celui de l'extrait méthanolique (**Ziani et al., 2015**) et l'extrait hydrométhanolique (**Chaouche et al., 2014**) de la partie aérienne d'*Haloxylon scoparium* algérien (CI₅₀= 296 et 6320 µg/mL, respectivement). En outre, nos extraits sont plus puissants que ceux d'une étude réalisée par Miguel et ses collaborateurs au Portugal sur l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de *H. scoparium* (IC₅₀=1867 µg /ml) (**Miguel et al., 2014**). Les résultats obtenus par **Bakchiche et Gherib. (2014)** dans le nord du Sahara d'Algérie et **Nounah et al. (2019)** dans le sud du Maroc avec l'extrait hydroalcoolique de *H. scoparium* ont montré une forte activité antiradicalaire avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 44 et 23.42 µg/mL, respectivement. De plus, l'étude de Bouaziz et collaborateurs en Tunisie ont montré une forte activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique de *H. scoparium* avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 28µg/mL (**Bouaziz et al., 2016**).

L'activité antioxydante des extraits de plantes appartenant au genre *Ephedra*, a largement été démontrée (**Phanikumar et al., 2010 ; Dehkordi et al., 2015 ; Mellado et al., 2019**), ce qui confirme les résultats obtenus suite à notre étude. L'activité a été rapportée comme étant principalement liée aux composés phénoliques (**Al-Rimawi et al., 2017**). En effet, une étude faite par **Mighri et al. (2019)** consistant à tester l'activité antioxydante de 5 extraits, a souligné que le potentiel antioxydant se trouvait principalement dans l'extrait qui est riche en épicatechine. Effectivement, L'extrait méthanolique d'*H. scoparium* a également montré une capacité de piégeage du radical DPPH très intéressante en raison de la présence en quantités appréciables d'épicatechine. Cela pourrait donc justifier l'activité exhibée par l'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium*. D'autres constituants présents à des teneurs appréciables tels que la naringénine, l'acide férulique, l'acide ascorbique et l'apigénine-7-glucoside pourraient également y avoir contribué dans l'extrait méthanolique d'*E. alata*. Cependant, la catéchine, l'apigénine-7-O-glucoside, la lutéoline glucoside, et la rutine est contribué dans l'extrait méthanolique d'*H. scoparium*. En effet, ces derniers possèdent une

importante activité antioxydante (**Ismael et al., 2012, Kornél et al., 2013 ; Snezana et al., 2015 ; Jeevitha et al., 2016**).

Il semble que cette activité ne soit pas seulement liée à la présence de composés actifs en plus grande quantité, mais aussi aux effets synergiques supplémentaires d'une combinaison de composés phénoliques (**Mighri et al., 2019**). Dans de nombreux pays, plusieurs recherches menées sur des extraits hydroalcooliques d'*E. alata* ont montré que la variation de la composition phénolique est probablement due à l'effet des conditions climatiques et à l'effet du solvant d'extraction utilisé affectant la biosynthèse des composés phénoliques qui génèrent des différences quantitatives sur les molécules bioactives et influencent donc l'activité antioxydante (**Ziani et al., 2019 ; Haida et al., 2020**).

Il a été constaté que les composés phénoliques sont capables d'assurer leurs fonctions antioxydantes grâce aux caractéristiques d'oxydoréduction qu'ils possèdent, en agissant comme donneurs d'atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle. Grâce à ce rôle, ils peuvent réagir avec les radicaux libres, qui sont généralement des peroxydes et des alkoxydes, et ainsi briser la réaction en chaîne qui propage la peroxydation. Ils ont la capacité de chélater les métaux de transition comme le fer et le cuivre, ce qui empêche ces métaux de produire des radicaux libres. Ils sont également capables d'éliminer directement certaines espèces réactives de l'oxygène telles que les radicaux hydroxyle, peroxyde et superoxyde (**Kris-Etherton et al., 2002 ; Cillard et Cillard, 2006 ; Halliwell, 2007**).

L'activité antioxydante des extraits dépend non seulement de leur composition chimique, mais plus particulièrement, de la concentration et de la structure des molécules dotées de propriétés antioxydantes (**Djeridane et al., 2006 ; Číž et al., 2010**) mais aussi, de la lumière, la température, le type de substrat, l'état physique du système et des microcomposants agissant comme pro-oxydants ou synergistes (**Kamal-Eldin et Appelqvist, 1996**). La méthode utilisée est également un facteur qui peut fortement influencer l'activité (**Miguel et al., 2007**). En effet, l'interprétation des données n'est pas simple, en raison de l'existence de plusieurs tests basés sur des mécanismes différents. En conséquence, les études évaluant l'activité antioxydante des extraits d'une même espèce végétale, peuvent varier considérablement d'une étude à une autre (**Ruberto et Baratta, 2000 ; Kulisic et al., 2005**). C'est ce que nous avons d'ailleurs, constaté en comparant nos résultats à ceux d'études antérieures. Il convient donc de souligner qu'il n'existe pas de système parfait qui évalue la «

vraie » activité antioxydante d'un mélange complexe seul produit chimique ou d'un seul composé (MacDonaldWicks *et al.*, 2006)

III.2.7 Évaluation in vivo de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë des substances chimiques ou naturelles est généralement évaluée à l'aide de tests standardisés sur des animaux de laboratoire (Kumatia *et al.*, 2017). Le principe consiste à traiter des lots homogènes de souris avec quatre de nos extraits (méthanolique et hydrométhanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium*), l'observation de la létalité pour chaque échantillon s'est faite sur 14 jours. La dose causant 50 % des décès (DL50) a ensuite été déterminée. Au cours des 24h de surveillance, aucun comportement anormal ni aucune létalité n'ont été observés pour tous les extraits. Par contre, les extraits d'*E. alata* ont provoqué une hyperactivité et une surexcitation qui ont duré 6 heures. En conséquence, comme aucun effet létal n'a été observé avec aucun des extraits d'*E. alata* et d'*H. scoparium* testés, il peut être classé comme non toxique. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Saidi *et al.* (2022), l'administration de l'extrait méthanolique d'*E. alata* n'a provoqué aucune toxicité jusqu'à une dose de 0,8 g/kg. Contrairement à une étude réalisée par (Sioud *et al.*, 2020b) sur l'extrait méthanolique estimant la LD50 à 1000mg/kg qui est réfutée par notre étude. De même, Lachkar *et al.* (2023) et Kharchoufa *et al.* (2020) au Maroc sur *H. scoparium*, ont montré que l'étude de toxicité aiguë d'*Haloxylon scoparium* de l'extrait méthanolique et aqueux provoque une mortalité de 1/6 et 2/6, respectivement à une dose de 2000 mg/kg.

Le comportement hyperactif et la surexcitation observés chez les souris traitées avec les extraits méthanolique et hydrométhanolique d'*E. alata* peuvent s'expliquer par la présence d'alcaloïdes de type éphédrine qui s'avère être un composé sympathomimétique ayant des effets similaires à ceux de l'adrénaline, d'où une amélioration de l'énergie (Limberger *et al.*, 2013).

Conclusion générale **et perspectives**

Conclusion générale et perspective

Les résistances bactériennes aux antibiotiques sont géo-spécifiques, au terme des travaux qui ont articulé cette présente thèse. Il est probable que cette spécificité soit liée aux habitudes locales telles que le climat, l'alimentation, la gestion des déchets hospitaliers et l'automédication entretenue par la vente illicite des médicaments.

Nous avons également constaté, comme d'autres auteurs, que l'efficacité des antibiotiques diminue avec le temps. Les bactéries développent des résistances à différentes classes d'antibiotiques et acquièrent ainsi des multirésistants (MDR, XDR et PDR). Par conséquent, cette évolution aboutit à des impasses thérapeutiques

Pour corroborer cette quête fût notre choix, s'orienter vers les phytomolécules issues des plantes médicinales. En Algérie, la médecine traditionnelle trouve toujours sa place dans la population. De nombreuses plantes ont été utilisées en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, qui sont attribuées à des substances synthétisés dans le métabolisme secondaire de la plante. Le criblage phytochimique des parties aériennes d'*Ephedra alata* et *Haloxylon scoparium* a révélé la présence de différentes familles de métabolites secondaires. Il s'agit essentiellement des tannins, composés phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes, coumarines et composés réducteurs. Ces constituants sont connus sous le nom de substances actives. Par exemple, les composés phénoliques qui font partie des extraits, ainsi que les tannins et les flavonoïdes sont connus de par leurs caractéristiques antimicrobiennes ainsi que d'autre diverses propriétés biologiques. *Ephedra alata* et *Haloxylon scoparium* sont des plantes qui renferme des composés antimicrobiens.

L'analyse de quelques-uns de ces composés à partir d'un extrait présentant une meilleure activité antimicrobienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium* par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC-DAD) a révélé la présence de 17 et 18 composants phénolique dans l'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium*, respectivement. Les deux extraits sont dominés par l'épicatéchine avec 12.116 mg/g d'Ext pour EME et 47.516 mg/g d'Ext pour EMH. D'autres composants se trouvent également à des pourcentages appréciables dans EME : la naringénine (5.99 mg/g d'Ext), l'acide férulique (2.528 mg/g d'Ext), l'acide ascorbique (2.29 mg/g d'Ext) et l'apigénine-7-glucoside (1.733 mg/g d'Ext). Tandis que, dans EMH : la catéchine (3.208 mg/g d'Ext), l'acides chlorogénique (1.928 mg/g d'Ext), le

glucoside de lutéoline (1.54 mg/g d'Ext), la rutine (1.472 mg/g d'Ext), l'acide caféique (1.392 mg/g d'Ext) et l'apigénine-7-glucoside (1.272 mg/g d'Ext). Certainement, ce dernier pourrait encore contenir d'autre molécule d'intérêt non décrite avec une concentration de 3.924 mg/g d'Ext.

L'analyse quantitative par spectrophotométrie a révélé que l'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium* avait les teneurs les plus élevées en phénols (214.92 et 174.39 mg AGE/g d'extrait) et en flavonoïdes (30.74 et 43.5 mg CE/g d'extrait). En fonction des teneurs en tannins, le niveau le plus élevé a été détecté dans l'extrait méthanolique chez *E. alata* (35,59 mg TAE/g d'Ext) et dans l'extrait hydro-méthanolique chez *H. scoparium* (16,13 mg TAE/g d'Ext).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a permis de montrer par la méthode de diffusion en milieu gélosé, un grand effet inhibiteur des extraits d'*Ephedra alata* et d'*Haloxylon scoparium* sur les souches de référence à gram positive testées. Les plus sensibles sont *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 à toutes les concentrations. Les plus grandes zones d'inhibition ont été enregistrées à des diamètres de 20.0 mm et 19.5 mm, respectivement pour l'extrait méthanolique d'*E. alata* et d'*H. scoparium* à 100mg/mL, alors que l'activité pour l'isolat d'*E. ludwigii* multirésistantes n'ont pu être obtenus que pour les extraits d'*E. alata*.

La méthode de microdilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) à des valeurs allant de 4.17 à 100 mg/ml et de 12.5 à >200 mg/ml, respectivement concernant les extraits d'*E. alata* et de 6.25 à 100 mg/ml et 25 à >200 mg/ml, respectivement concernant les extraits d'*H. scoparium*. Les valeurs de la CMI et de la CMB d'*E. alata* et d'*H. scoparium* étaient les plus faibles contre *S. aureus* ATCC 25923 et *B. cereus* ATCC 10876, à savoir 4,17 à 8.33 mg/mL et 12.5 à 25 mg/mL, respectivement.

L'activité antimicrobienne exercée par l'extrait méthanolique d'*E. alata* pourrait être attribuée à l'épicatéchine, naringénine, acide férulique, acide ascorbique et apigénine-7-glucoside tandis que celle d'*H. scoparium*, pourrait être liée à l'épicatéchine, catéchine, acides chlorogénique, glucoside de lutéoline, rutine, acide caféique et apigénine-7-glucoside.

Les résultats ont montré qu'*E. alata* et *H. scoparium* sont d'excellentes perspectives pour la création de futurs traitements potentiels qui sont actifs contre les souches pathogènes en tant qu'alternatives aux antibiotiques standard utilisés.

Toutefois, L'effet antioxydant des extraits d'*E. alata* et d'*H. scoparium* estimé *in-vitro* via le piégeage des radicaux libres DPPH a été significativement intéressant. Les résultats obtenus ont permis de constater qu'ils possèdent une forte capacité antioxydante avec des CI50 entre 226.25, et 396.0 µg/ml, par rapport à celle enregistré avec le Trolox et l'acide ascorbique (IC50= 71.56 et 48.83 µg/mL). L'activité antiradicalaire est dépendante du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits.

En revanche, l'administration orale des quatre extraits avec des doses croissantes à des souris *Swiss albinos* n'a montré aucune toxicité.

Les résultats de nos travaux représentent une première étape dans la recherche des composés d'origine naturels biologiquement actif, il serait intéressant d'étayer ce travail en :

- Testant d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des extraits ;
- Extrayant les extraits de d'autres parties des plantes et les étudier ;
- Fractionnant les extraits, isolant et identifiant des molécules bioactives responsables des différentes activités biologiques ;
- Évaluant la puissance des composants actifs séparément par rapport aux extraits.
- Etudiant les modes d'action et les facteurs influençant l'efficacité des extraits ;
- Évaluant d'autres activités biologiques *in-vivo* et *in-vitro* des deux espèces de plantes telles que l'activité antiinflammatoires, antivirale, anti-cancéreuse, insecticide et allélopathique.

Références **bibliographiques**

Références Bibliographiques

Aav, R., Kanger, T., Pehk, T., Lopp, M. (2005). Unexpected Reactivity of Ethyl 2-(Diethylphosphono) Propionate Toward 2,2-Disubstituted-3- cyclopentanediones. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 180 : 1739-1748.

Abdelli, W., Bahri, F., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., Jirovetz, L. (2018). Chemical Composition, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Algerian Juniperus phoenicea Essential Oils. *Natural Product Communications*, 13(2).

Abebe, M., Tadesse, S., Meseret, G., Derbie, A. (2019). Type of bacterial isolates and antimicrobial resistance profile from different clinical samples at a Referral Hospital, Northwest Ethiopia : five years data analysis. *BMC Research Notes*, 12 : 568.

Abla, H. H., Chafia, B., Abdesselam, L., Houcine, L., Kaddour, B., and Farida, S. (2016). Multidrug-resistant bacteria isolated from patients hospitalized in Intensive Care Unit in University Hospital of Constantine, Algeria (2011 - 2015). *African Journal of Microbiology Research*, 10 (33) : 1328-1336.

Abourashed, E.A., El-Alfy, A.T., Khan, I.A. et Walker, L. (2003). *Ephedra* in perspective—a current review. *Phytother. Res*, 17 : 703-712.

Abraham, E. P. and Chain, E. (1940). "An enzyme from bacteria able to destroy penicillin." *Nature* 146 : 837.

Achek, R., Hotzel, H., Cantekin, Z., Nabi, I., Hamdi, T.M., Neubauer, H., El-Adawy, H. (2018). Emerging of antimicrobial resistance in staphylococci isolated from clinical and food samples in Algeria. *BMC Research Notes*, 11 (1) : 663.

Afolayan, A.J., Meyer, J.J. (1997). The antimicrobial activity of 3,5,7- trihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. *J Ethnopharmacol*, 57 :177–81.

Aggabi, A., Gacem, H., Bahri, H., Talha, B., Boulerial, A., Gacem, A., Koubaa, Y., Yahiaoui, A., Ahmane, A. (2015). L'automédication par les antibiotiques : étude auprès de cinq officines pharmaceutiques de cinq villes algériennes. *Batna Journal of Medical Sciences*, 2(1) :30-35.

Ahmad, I. and Beg, A.Z. (2001). Antimicrobial and Phytochemical Studies on 45 Indian Medicinal Plants against Multi-Drug and Resistant Human Pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 74 : 113-123.

Ahmed, E., Nawaz, S.A., A. Malik, A., and Choudhary, M.I. (2006). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 16, 573.

Ahorlu, C. (1997). "Malaria-related beliefs and behaviour in southern Ghana: implications for treatment, prevention and control." *Tropical Medicine and International Health* 2 : 488–499.

Ait-Mimoune, N., Hassaine, H., Boulanoir, M. (2022). Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* in Algeria. *Iran J Microbiol*, 14(2) :156-60.

Akhtar, A., Ul-Haq, I., Mirza., M. (2015): Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8) : 1223-1235.

Alarcón, L. D, Pena, A. E, Gonzales, C. N, Quintero, A., Meza, M., Usubillaga, A., Velasco, J. (2009). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrcia fallax* (Rich.) DC. from Venezuela. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 75, 221-227.

Algerian Antimicrobial Resistance Network (2016). Annual evaluation reports 2012-2016. Available : Accessed: 19 December 2019.

Ali-Shtayeh, M. S., Al-Nuri, M. A., Yaghmour, R. M. R., et Faidi, Y. R. (1997). Antimicrobial activity of *Micromeria nervosa* from the Palestinian area. *J. Ethnopharmacol*, 58 :143–147.

Alkhalil, S., Alkofahi, A., Eleisawi, D., et al. (1998). Transthorine, a new quinoline alkaloid from *Ephedra transitoria* [J]. *J Nat Prod*, 61(2): 262-265.

Alma, M., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, T. et Yilmaz, N. (2004). Chemical Composition and Antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (12) : 3911- 3914

Al-Mijalli, S.H. (2017). Bacterial Uropathogens in Urinary Tract Infection and Antibiotic Susceptibility Pattern in Riyadh Hospital, Saudi Arabia. *Cellular & Molecular Medicine*, 3 : 1-5.

Al-Qarawi, A. A., Abd Allah, E. F., & Abeer, H. (2012). Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. *Pakistan Journal of Botany*, 44(1) : 425-428.

Al-Rimawi, F., Abu-Lafi, S., Abbadi, J., Alamarneh, A.A.A., Sawahreh, R.A., Odeh, I. (2017) : Analysis of phenolic and flavonoids of wild *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African journal of traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(2) : 130-141.

Alshalmania, S., Bengleilb, M., Elshibania, F. (2020). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of *Ephedra alata* growing in East of Libya1. *Libyan Journal of Science,Technology*, 11 (2): 87-90.

- Al-Snafi, A. E. (2017).** Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra foliata*- a review *Indo Am. J. Pharmac. Sci*, 4 (2) :399-406
- Amine, L., Chegri, M and Kassmi, H. L. (2009).** "Epidemiologie et résistance aux antibiotiques des enterobacteries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknes." *Antibiotiques*, 11 : 90-96.
- Amornchaicharoensuk, Y. (2016).** Clinical characteristics and antibiotic resistance pattern of pathogens in pediatric urinary tract infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 47 : 976–82.
- Amsalu, A., Geto, Z., Asegu, D. & Eshetie, S. (2017).** Antimicrobial resistance pattern of bacterial isolates from different clinical specimens in Southern Ethiopia: A three year retrospective study. *Afr. J. Bacteriol. Res*, 9(1) : 1–8.
- Andremont, AT. and Tibon-Cornillot, M. (2007).** Le triomphe des bactéries : La fin des antibiotiques ? Max Milo Editions 256 pages.
- Andriole, V. T. (2000).** The Quinolones, Elsevier Science 517 pages.
- Ang, L., Lee, H.W., Kim, A., Lee, J.A., Zhang, J., Lee, M.S. (2020).** Herbal medicine for treatment of children diagnosed with COVID-19 : A review of guidelines. *Complement. Ther. Clin. Pract*, 39 : 101174.
- Antimicrobial Resistance Collaborators (2022).** Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019 : a systematic analysis, *The Lancet*, 399(10325) : 629-655.
- Aouf, A., Bouaouina, S., Abdelgawad, M.A., Abourehab, M.A.S., Farouk, A. (2022).** In Silico Study for Algerian Essential Oils as Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant Bacteria Isolated from Pus Samples. *Antibiotics*, 11 :1317.
- Aouf, A., Gueddi, T., Djeghout, B., Ammari, H. (2018).** Frequency and susceptibility pattern of uropathogenic Enterobacteriaceae isolated from patients in Algiers, Algeria. *Journal of Infection in Developing Countries*, 12(4) :244-249.
- Aref, H. L., Bel Hadj Salah, K., Fekih, A., Chemli, R., Mars, M., Aouni, M., Chaumon, J.P., Said, K. (2011).** Variability in antimicrobial activity of latex from two varieties of *Ficus carica*. *African Journal of Microbiology Research* 5(12) : 1361-1367.
- Arima, Y., Nakai, Y., Hayakawa, R., Nishino, T. Evans (2003).** Antibacterial effect of beta-thujaplicin on staphylococci isolated from atopic dermatitis: relationship between changes in the number of viable bacterial cells and clinical improvement in an eczematous lesion of atopic dermatitis. *J Antimicrob Chemother*, 51: 113–122.
- Arsene, M.M.J., Viktorovna, P.I., Davares, A.K.L. (2021).** *Galleria mellonella* (greater wax moth) as an eco-friendly in vivo approach for the 16 assessment of the acute toxicity of

medicinal plants : Application to some plants from Cameroon. *Open Veterinary Journal*; 11 : 651–661.

Atmani, D. (2009). Antioxidant Capacity and Phenol Content of Selected Algerian Medicinal Plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.

Awaad, A. S., Sokkar, N. M., Soliman, G. M. (2001). Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University) 39 : 121.

Aynehchi, Y., Salehi Sormaghi, M., Amin, G., Soltani, A., Qumehr, N. (1982). *International Journal of Crude Drug Research*, 20 :61-70.

Ayoola, G.A., Coker, H.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obawe, K., Ezennia, E.C., Atangbayila, T.O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7, 1019-1024.

Azizuddin, A., Khan, A. M & Mustafa, S. (2013). An update on secondary metabolites from Haloxylon species. *J of the Chem Soc of Pak*, 35(6): 1551-1572.

Badulla, W. F. S., Alshakka, M., Mohamed Ibrahim, M. I. (2020). Antimicrobial Resistance Profiles for Different Isolates in Aden, Yemen : A Cross-Sectional Study in a Resource-Poor Setting. *Biomed Research International*, 2020 :1810290.

Bae, J., Kim, N., Shin, Y., Kim, S. Y., Kim, Y. G. (2020). Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology*, 4 :8.

Bahgat, M.M., Elbially, A.A., Zaky, M.M., Toubar, S.E. (2015). Prevalence of antibiotic resistant aerobic bacteria isolated from surgical wounds of inpatients at Zagazig University Hospitals. *Egypt. Int J Curr Microbiol App Sci* ;4(12) :460–72.

Bajaj, J. K., Karyakarte, R. P., Kulkarni, J. D and Deshmukh, A. B. (1999). "Changing a etiology of urinary tract infections and emergence of drug resistance as a major problem." *Journals on Communicable Diseases*, 31 : 181-184.

Bajgain, K.T., Badal, S., Bajgain, B.B., Santana, M.J. (2021). Prevalence of comorbidities among individuals with COVID-19 : A rapid review of current literature. *Am. J. Infect. Control*, 49, 238-246.

Bakchiche, B. and Gherib, A. (2014). Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d’Algérie, 9(1) : 6.

Balandrin, MF., Klocke, JA. (1998). Medicinal, Aromatic and Industrials Products from Plants : Biotechn. In Agric. and Forest, 4 (Medicinal and Aromatic plants I). Edited by Y.P.S. Bajaj. Springer-Verlag, Berlin, New York.

- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., et U. Lindequist, U. (2006).** Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria, *Aquaculture*, 252 (1) : 79-84.
- Barrow, G.I and Feltham, R.K.A (1993).** Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. (Cambridge : Cambridge University Press).
- Basiri, B., Sabzehei, M.K., Shokouhi, M., Moradi, A. (2015).** Evaluating the incidence and risk factors of nosocomial infection in neonates hospitalized in SNICU of Fatemieh hospital in Hamadan, Iran, 2012–2013. *Arch Pediatr Infect Dis*, 3(2) : e23327.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K and Oukil, N. (2012).** "Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf." *Phytothérapie*, 10 : 2-9.7
- Bastopcu, A., Yazgi, H., Uyanik, M. H., Ayyildiz, A. (2008).** Evaluation of quinolone resistance in gram negative bacilli isolated from community- and hospital-acquired infections. *Eurasian Journal of Medicine*, 40(2) :58-61
- Basu, S., Zandi, P., Sengupta, R., Cetzal-Ix, W. (2014).** Amaranthaceae : The pigweed family. The Encyclopedia, 1-5.
- Baudry, C. and Brézellec, H. (2006).** Microbiologie, immunologie, Groupe Liaisons 126 pages.
- Bayraktar, B., Özcan, N., Borahan, S., Başarı, F., Bulut, E. (2004).** Yatan, ve ayaktan hastalardan izole edilen üriner sistem infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda antimikrobiyal direnç, *Ankem Derg*, 18: 137-40.
- Bégué, P. and Astruc, J. (1999).** Pathologie infectieuse de l'enfant, Masson 612 pages.
- Belgacemi, M., Dou, A. (2019).** Etude des effets secondaires au cours d'un traitement ethnobotanique par *Ephedra alata* DC. Mémoire Master, Université Echahid Hamma Lakhdar-El OUED (Algérie), 75 p.
- Bellakhdar, I. (1997).** La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle. Paris : Ibis Press.
- Ben Salah, H., Jarraya, R., Martin, M.T., Veitch, N.C., Grayer, R.J., Simmonds, M.S., Damak, M. (2002).** Flavonol triglycosides from the leaves of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50, 1268–1270.
- Benabderrahim, M.A. (2019).** Antioxidant Activity and Phenolic Profile of a Collection of Medicinal Plants from Tunisian Arid and Saharan Regions. *Ind. Crops Prod*, 138, 111427.
- Benamrouche, N., Guettou, B., Henniche, F. Z., Assaous, F., Laouar, H., Ziane, H., Djennane, F., Tiouit, D., Bentchouala, C., Yamouni, F., Rahal, K., Tali Maamar, H. (2021).** Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Algeria : Phenotypic and genotypic characterization of clinical isolates. *Journal of Infection in Developing Countries*, 15, 95-101.

- Benarba, B. (2016).** Medicinal Plants Used by Traditional Healers from South-West Algeria : An Ethnobotanical Study. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5 (4) : 320-330.
- Benedict, R.G., Langlykke, A.F. (1947).** Antibiotic Activity of *Bacillus polymyxa*. *J. Bacteriol*, 54, 24–25. [PubMed]
- Benine, C., Djahra, A. B., Ammar Touhami, L. & Rebiai, A. (2023).** A systematic review on *Hammada scoparia* medicinal plant : Phytochemicals, traditional uses and biological activities. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10 (1) : 137-146.
- Benine, C., Djahra, A.B., Laiche A.T., Tlili, H., Tliba, A., Ben Arfa, A and Najjaa, H. (2023).** "In vitro antioxidant, anti-inflammatory, and photoprotective activities of aqueous extract of the endemic plant *Hammada scoparia* L. from Algeria," *Karbala International Journal of Modern Science* : 9 (3), 544-552.
- Benkherara, S., Bordjiba, O., Harrat, S. & Djahra, A. B. (2021).** Antidiabetic Potential and Chemical Constituents of *Haloxylon scoparium* Aerial Part, An Endemic Plant from Southeastern Algeria. *International Journal of Secondary Metabolite*, 8 (4), 398-413.
- Benkrief, R., Brum-Bousquet, M., Tillequin, F., Koch, M. (1990).** Alkaloids and flavonoid from aerial parts of *Hammada articulata* ssp. *scoparia*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 48(4), 219-224.
- Bentrouki, A. A., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Gueroudj, A., Bensouilah, T. (2012).** Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie). *Annales de Biologie Clinique*, 70 (6) : 666-668.
- Berini, F., Orlandi, V., Gornati, R., Bernardini, G., Marinelli, F. (2022).** Nanoantibiotics to fight multidrug resistant infection by gram-positive bacteria: hope or reality? *Biotechnol. Adv.* 57, 107948 <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107948>.
- Beyene, D., Bitew, A., Fantew, S., Mihret, A., Evans, M. (2019).** Multidrug-resistant profile and prevalence of extended spectrum β -lactamase and carbapenemase production in fermentative gram-negative bacilli recovered from patients and specimens referred to National Reference Laboratory, Addis Ababa. *Ethiopia. PLoS ONE*, 14(9).
- Beyene, G., and W. Tsegaye (2011).** "Bacterial uropathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern in Jimma University specialized hospital, southwest Ethiopia." *Ethiopian Journal of Health Sciences*, *MAGI* 21 : 141-146.
- Bino, R.J., Meeuse, A.D.J. (1981).** Entomophily in dioecious species of *Ephedra* : A preliminary report. *Acta Bot. Neerl*, 30 : 151-153.
- Biyiti, L.F., Meko'o, D.J.L., Tamzc, V., Amvam Zollo, P.H. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm Med Trad Afr*, 13 :11-20.

- Bogusław, B., Sylwia, N. (2012).** Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)—a powerful separation technique. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402 (1) : 231-47.
- Bolinder, K., Humphreys, A.M., Ehrlén, J., Alexandersson, R., Ickert-Bond, S.M., Rydin, C. (2016).** From near extinction to diversification by means of a shift in pollination mechanism in the gymnosperm relict *Ephedra* (Ephedraceae, Gnetales). *Bot. J. Linn. Soc.*, 180 : 461-477.
- Borgnia MJ, Eytan GD., Assaraf, YG. (1996).** Competition of hydrophobic peptides, cytotoxic drugs, and chemosensitizers on a common P-glycoprotein pharmacophore as revealed by its ATPase activity. *J Biol Chem.* 9;271(6):3163-71.
- Borokini, I.T. and Omotayo, F.O. (2012).** Phytochemical and Ethnobotanical Study of Some Selected Medicinal Plants from Nigeria. *Journal of Medicinal Plants Reserve*, 6, 1106-1118.
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Goleț, I., Gruia, A.T., Horhat, F.G. (2014).** *Thymus vulgaris* essential oil : Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3) : 56-60.
- Bouaziz, A., Mhalla, D., Zouari, I., Jlaiel, L., Tounsi, S., Jarraya, R., & Trigui, M. (2016).** Antibacterial and antioxidant activities of *Hammada scoparia* extracts and its major purified alkaloids. *South African Journal of Botany*, 105 : 89-96.
- Boucherit, H., Benabdeli, K., Benaradj, A., Boughalem M. (2018).** Phytoécologie de *Hammada scoparia* dans la région de Naâma (Algérie occidentale). *Bot. Complut*, 42 : 93-99.
- Bouchillon, SK., Badal, RE., Hoban, DJ., Hawser, SP. (2013).** Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of gram-negative bacilli in the United States : results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program : 2009–2011. *Clin Ther*, 35 :872–877.
- Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., Miguel, M.G. (2013).** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Ind. Crops Prod*, 46 : 85-96.
- Boulos, L. (1999, 2000 &2005).** Flora of Egypt : Vol. 1, 2, 4. Al-Hadara Publishing, Cairo.
- Bourgou, S., Ezzine, Y., Ben Mansour, R., Dakhlaoui, S., Selmi, S., Bachkouel, S., Msaada, K., Aidi-Wannes, W., Hiroko, I., Megdiche-Ksouri, W. (2020):** Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African journal of botany* 135 : 421-428.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M and Chaouch, A. (2007).** "Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc." *Afrique Sciences*, 3 : 232 - 242.

- Bourogaa, E., Bertrand, J., Despeaux, M., Jarraya, R., Fabre, N., Payraastre, L., Demur, C., Fournie, J.J., Damak, M., EL Feki, A., Racaud-Sultan, C. (2011).** *Hammada scoparia* flavonoids and rutin kill adherent and chemoresistant leukemic cells. *Leukemia Research*, 35, 1093–1101.
- Bourogaa, E., Mezghani_Jarraya, R., Nciri, R., Damak, M., et El Feki, A. (2014).** Protective effects of aqueous extract of *Hammada scoparia* against hepatotoxicity induced by ethanol in rats. *Journal of Toxicology and industrial Health*, 30(2) : 113-122.
- Bouzenoune, F., Boudersa, F., Bensaadet, A., Harkat, F. (2009).** Les infections urinaires à Ain M'lila (Algérie). Résistance aux antibiotiques des 239 souches isolées entre 2006 et 2007. *Médecine et maladies infectieuses*. 39(2).
- Boz, H. (2015).** *p*-Coumaric acid in cereals: Presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science & Technology*, 50 (11) :2323-2328.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. *Tec & Doc Lavoisier*, 1269 pages.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3) : 223-253.
- Bush, K. (2004).** "Antibacterial drug discovery in the 21st century." *Clinical Microbiology and Infection*, 10 : 10-17.
- Caponio, F., Alloggio, V., & Gomes, T. (1999).** Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*, 64, 203–209.
- Carlet, J., Ben Ali, A and Chalfine, A. (2004).** "Epidemiology and control of antibiotic resistance in the intensive care unit." *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17 : 309-316.
- Carpinella, M. C., Ferrayoli, C. G., and Palacios, S. M. (2005).** Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydrocoumarin isolated from *Melia azedarach* L. fruits. *J. Agric. Food Chem*, 53 : 2922–2927
- Caveney, S., Charlet, D.A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., Starratt, A.N. (2001).** New observations on the secondary chemistry of world *Ephedra* (Ephedraceae). *Am. J. Bot.* 88 : 1199–1208.
- Celedón-Neghme, C., Santamaría, L., González-Teuber, M. (2016).** The role of pollination drops in animal pollination in the Mediterranean gymnosperm *Ephedra fragilis* (Gnetales). *Plant Ecol*, 217 :1545-1552.
- Chain, E., Florey, H. W., Hardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Orr-Ewing, J and Sanders, A. G. (1940).** "Penicillin as a Chemotherapeutic Agent." *Lancet* 239 : 226-228.
- Chakraborty, A., Chowdhury, B., Bhattacharyya, P. (1995).** Clausenol and clausenine—Two carbazole alkaloids from *Clausena anisata*. *Phytochemistry*, 40 : 295–298.

- Chao, H-C., Najjaa, H., Villareal, M-O., Ksouri, R., Han, J., Neffati, M., et Isoda, H. (2013).** *Arthrophytum scoparium* inhibits melanogenesis through the down-regulation of tyrosinase and melanogenic gene expressions in b16 melanoma cells. *Journal of Experimental dermatology*, 22(2): 131-136.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., & Atik-Bekkara, F. (2014).** Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. *J Chin Med Assoc*, 77(6) : 302-307.
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, GT., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, AM., Shabih, S., Farrokhi, DR and Quave, CL. (2021).** A systematic review of plants with antibacterial activities : a taxonomic and phylogenetic perspective. *Front Pharmacol*, 11 : 586548.
- Chehema, A., Réda djebar, M. (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien : distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revue Synthèse* 17 : 36-45.
- Chen, CY., Chen, YH., Lu, PL., Lin, WR., Chen, TC., Lin, CY. (2012).** *Proteus mirabilis* urinary tract infection and bacteremia : Risk factors, clinical presentation and outcomes. *J Microbiol Immunol Infect*, 45 : 228-236.
- Chopra, I. (2007).** Bacterial RNA polymerase : a promising target for the discovery of new antimicrobial agents. *Curr Opin Investig Drugs*, 8 :600–7.
- Choudhary, M.I., Azizuddin, Jalil, S., Israr, M., & Atta-ur-Rahman (2006).** Inhibition of respiratory burst in human neutrophils and lipoxygenase enzyme by compounds from *Haloxylon griffithii*. *Phytotherapy Research*, 20, 840–843.
- Chouikh, A. (2020).** Phytochemical profile, antioxidant, analgesic and hypolipidaemic effects of *ephedra alata* decne. Female cones extract. *Farmacologia*, 68 :1011-1020.
- Christenhusz, M.J.M., Fay, M.F. & Chase, M.W. (2017).** *Plants of the World. An illustrated encyclopedia of vascular plants* : 1-792. Kew Publishing, The university of Chicago Press.
- Cimanga, R. K., Kambu, K., Tonab, L., Hermans, N., Apers, S., Totte, J., Pieters, L and Vlietinck, A. J. (2006).** "Cytotoxicity and in vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extracts and its isolated constituents." *Journal of Ethnopharmacology*, 107 : 83–90.
- Consensus, C. d. (2003).** "Conférence de consensus co-organisée par la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et l'Association française d'urologie (AFU) – Infections urinaires nosocomiales de l'adulte." *Médecine et maladies infectieuses* 33 : 193s–215s.

Cooper, K. E. (1955). "Theory of antibiotic inhibition zones in agar media." *Nature* 176 : 510-511.

Corpet, D. E., Lumeau, S and Corpet, F (1989). "Minimum antibiotic levels for selecting a resistance plasmid in a gnotobiotic animal model." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 33 : 535-540.

Courvalin, P., Denis, F., Ploy, M.C., Garilhe, M.P. d, Trieu-Culot, P and Universalis. (2001). "Antibiotiques." Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.

Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 : 564-582.

Crits-Christoph, A., Hallowell, H.A., Koutouvalis, K., Suez, J. (2022). Good microbes, bad genes. The dissemination of antimicrobial resistance in the human microbiome, *Gut Microb.* 14.

Cullen, I. M., R. P. Manecksha, E. McCullagh, S. Ahmad, F. O. Kelly, R. J. Flynn, T. McDermott, P. Murphy, R. Grainger, J. P. Fennell and J. A. Thornhill (2011). "The changing pattern of antimicrobial resistance within 42 033 *Escherichia coli* isolates from nosocomial, community and urology patient-specific urinary tract infections, Dublin, 1999-2009." *British Journal of Urology International*, 109 : 1198-206

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Agents recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38 : 99-107.

Danciu, C., Muntean, D., Alexa, E., Farcas, C., Oprean, C., Zupko, I., Bor, A., Minda, D., Proks, M., Buda, V., Hancianu, M., Cioanca, O., Soica, C., Popescu, S., Dehelean, C.A. (2019). Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of *Ephedra alata* Decne. Hydroalcoholic extract against the MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules*, 24 : 1-15.

Danish, M., Hisamuddin., Robab, M. I. (2015). In Vitro Studies on Phytochemical Screening of Different Leaf Extracts and Their Antifungal Activity against Seed Borne Pathogen *Aspergillus niger*. *J Plant Pathol Microbiol*, 6 : 320.

Davies, J. and Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74 : 417-433.

Dbeibia, A., Ben Taheur, F., Altammar, KA., Haddaji, N., Mahdhi, A., Amri, Z., Mzoughi, R., Jabeur, C. (2022). Control of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from auricular infections using aqueous and methanolic extracts of *Ephedra alata*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29 : 1021-1028.

De Souza, L.G., Rennã, M.N., Figueroa-Villar, J.D. (2016). Coumarins as cholinesterase inhibitors : A review. *Chem. Bio. Interact*, 254, 11-23.

Dehkordi, N.V., Kachouie, M.A., Pirbalouti, A.G., Malekpoor, F., Rabei, M. (2015). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of the extract of *Ephedra procera* Fisch. et Mey. *Acta Pol. Pharm*, 72 : 341-345

Dewick, P. M. (2011). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. *Wiley*, 550 pages.

Djahra, A. B., Zoubiri, F., Benkaddour, M., & Gouasmia, S. (2023). Antioxidant and Hepatoprotective Activity of *Ephedra alata* Extracts against Intoxication with Deltamethrin Pesticide in Male Rats. *Pharmacophore*, 14(1) : 19-24.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97 : 654-660.

Dobignard, A. Chatelain, C. (2010). Index synonymique. Flore d'Afrique du Nord. vol. 1, 141 Genève, 455 p.

Docherty, J. J., Fu, M. M and Tsai, M. (2001). "Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47 : 243-244.

Doré, J., Corthier, G. (2010). The human intestinal microbiota. *Gastroenterol Clin Biol*, 34 : S7—15

Drioiche, A., Benhlama, N., Kharchouf, S., El-Makhoukhi, F., Mehanned, S., Adadi, I., Aaziz, H., Kouhelombo, F., Gressier, B., Eto, B., Zair, T. (2019). Antimicrobial And Antiradical Properties Of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. *Journal Of Alternative And complementary medicine*, 2 : 1-14.

Duchesne, E. (1897). Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes ; antagonisme entre les moisissures et les microbes. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon. France. *Thèse de doctorat* : 64 pages

Dupuis, V., Cerbu, C., Witkowski, L., Potarniche, AV., Timar, MC., Zychska, Sabliov, CM. (2022). Nanodelivery of essential oils as efficient tools against antimicrobial resistance : a review of the type and physical-chemical properties of the delivery systems and applications, *Drug Deliv*, 29, 1007–1024.

Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.L., & Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology*, 82 : 97-103.

- Édouard, B. L., & Vela, Errol. (2010).** Catalogue synonymique commenté de la flore de Tunisie (Djemali M'naouer, Ed, 2nd ed.). Banque Nationale de Gènes, 500.
- Ekalu A., Ayo R.G., Habila J.D.et al. (2019).** In vitro antimicrobial activity of lignan from the stem bark of *Strombosia grandifolia* Hook.f. ex Benth. *Bull. Natl. Res. Cent*, 43 :1-7.
- El Bouamri, M. C., Arsalane, L., Kamouni, Y., Yahyaoui, H., Bennouar, N., Berraha, M., Zouhair, S. (2014).** Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques [Current antibiotic resistance profile of uropathogenic *Escherichia coli* strains and therapeutic consequences]. *Progrès en Urologie*, 24 (16) : 1058-62
- Elhadef, K., Smaoui, S., Fourati, M., Ben Hlima, H., Chakchouk Mtibaa, A., Sellem, I., Ennouri, K., Mellouli, L. (2020).** A Review on Worldwide *Ephedra* History and Story : From Fossils to Natural Products Mass Spectroscopy Characterization and Biopharmacotherapy Potential. *Evid Based Complement Alternat Med*, 30 :1540638.
- El-Hadri, Y. (2019).** Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Beni Mellal-Khenifra [Thèse de Doctorat]. Université Mohammed V de Rabat, pp 194.
- El-Shanawani, M.A.A., 1996.** Plants Used in Saudi Traditional Medicine. *King Saud University Press*, KACST. Riyadh, p. 126.
- El-Shazly, A., Wink, M. (2003).** Tetrahydroisoquinoline and β -carboline alkaloids from *Haloxylon articulatum* (Cav.) Bunge (Chenopodiaceae). *Zeitschrift für Naturforschung*, 58c, 477–480.
- Emberger L. (1960).** Traité de botanique systématique. Les végétaux vasculaires, Tomes II. Pp : 852-855.
- Evans, W. (2009).** Trease and Evans Pharmacognosy. Elsevier Health Sciences, London, 614.
- Ezzeddine, B., Raoudha, J.M., Lokesh, D., & Abdelfattah, E.F. (2016).** Therapeutic Efficacy of Hammada scoparia Extract Against Ethanol Induced Renal Dysfunction in Wistar Rats. *Journal of Food Biochemistry*, 41(2) : 1–8.
- Fahim, N.A.E. (2021).** Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of multidrug-resistant bacteria among intensive care units patients at Ain Shams University Hospitals in Egypt—a retrospective study. *J Egypt Public Health Assoc*, 96(1) :7.
- Fan, T., Chen, Y., Bai, Y., Ma, F., Wang, H., Yang, Y., Chen, J., Lin, Y. (2020).** Analysis of medication characteristics of traditional Chinese medicine in treating COVID-19 based on data mining. *Zhejiang Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban = J. Zhejiang University. Med. Sci*, 49 : 260-269.

Farag, M. A., Deavours, B. E., de Fatima, A., Naoumkina, M., Dixon, R. A., Sumner, L. W. (2009). Integrated metabolite and transcript profiling identify a biosynthetic mechanism for hispidol in *Medicago truncatula* cell cultures. *Plant Physiol*, 151 (3) :1096-1113.

Faria, A, Oliveira, J, Neves, P, Gameiro, P, Santos-Buelga, C, de Freitas, V, & Mateus, N. (2005). Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 : 6896-6902.

Farnsworth R.N. (1966). Review on Biological and phytochemical screening of plants. *J. pharm Sci*, 55(3) : 225-276.

Fatehi, N., Allaoui, M., Berbaoui, H., Cheriti, A., Boulenouar, N., & Belboukhari N. (2018). *Haloxylon Scoparium* : An Ethnopharmacological Survey, Phytochemical Screening and Antibacterial Activity against Human Pathogens Causing Nosocomial Infection. *PhytoChem & BioSub Journal*, 11(2), 104-109.

Ferheen, S., Ahmed, E., Afza N and Malik, A. (2005). Phytochemical studies on *Haloxylon salicornicum*. *Journal of The Chemical Society of Pakistan*, 27 (2): 219-222

Fillatre, Y. (2011). Produits phytosanitaires : développement d'une méthode d'analyse multi résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse doctorat en vue de l'obtention du grade de docteur en Chimie analytique. Ecole doctorale Matière, Molécule, Matériaux des pays de Loire. Université Angers. 288p.

Fisher P & Ward A. (1994). Medicine in Europe : complementary medicine in Europe. *British Medical Journal*, 309 :107–111. 8.

Fleming, A. (1929). "on the antibacterial action of cultures of a *penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*." *British Journal of Experimental Pathology*, 10 : 229-236

Freile, M. L., Giannini, F., Pucci, G., Sturniolo, A., Rodero, L., Pucci, O., ... Enriz, R. D. (2003). Antimicrobial activity of aqueous extracts and of berberine isolated from *Berberis heterophylla*. *Fitoterapia*, 74 : 7–8.

Gachuhi, G.T. (2017). Antibiotic susceptibility pattern of bacterial uropathogens isolated from patients in Nakuru level 5 hospital, Kenya. The Degree of Master of Science thesis in Microbiology, School of Pure and Applied Sciences. Kenyatta University. 25-30.

Ganesh, R., Shrestha, D., Bhattachan, B., Rai, G. (2019). Epidemiology of urinary tract infection and antimicrobial resistance in a pediatric hospital in Nepal. *BMC Infectious Diseases*, 19 :5.

Gaynes, R., Edwards, J.R. (2005). Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli. *Clin. Infect. Dis*, 41 :848–854.

- Gelin, Z., Mosyakin, S.L., & Clemants, S.E. (2003).** Chenopodiaceae. Flora of China, 5(1) : 351-414.
- Ghanem, S., & El-Magly, U. I. A. (2008).** Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal *Ephedra alata* male plant. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 3(1) : 7–15.
- Ghourri, M., Zidane, L., Douira, A. (2013).** Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17 : 2388-2411.
- Goetz, P. and Ghedira, K. (2012).** Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. in *Phytothérapie anti-infectieuse*, Springer Paris : 193-208.
- González-Juárez, D.E., Escobedo-Moratilla, A., Flores, J., Hidalgo-Figueroa, S., Martínez-Tagüena, N., Morales-Jiménez, J., Muñiz-Ramírez, A., Pastor-Palacios, G., Pérez-Miranda, S., Ramírez-Hernández, A., et al. (2020).** A Review of the *Ephedra* genus: Distribution, Ecology, Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacological Properties. *Molecules*, 25 : 3283.
- Gorems, K., Beyene, G., Berhane, M. & Mekonnen, Z. (2018).** Antimicrobial susceptibility patterns of bacteria isolated from patients with ear discharge in Jimma Town, Southwest, Ethiopia. *BMC Ear Nose Throat Disord*, 18(1) : 1–9.
- Goupy, P., Bautista-Ortin, A. B., Fulcrand, H., & Dangles, O. (2009).** Antioxidant activity of wine pigments derived from anthocyanins: hydrogen transfer reactions to the DPPH radical and inhibition of the heme-induced peroxidation of linoleic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (13) : 5762-5770.
- Goupy, P., Dufour, C., Loonis, M., Dangles, O. (2003).** A quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(3) : 615-622.
- Govaerts, R. (2001).** World Checklist of Seed Plants Database in ACCESS E-F: 1-50919.
- Grippe, A.A., Capps, K., Rougeau, B., Gurley, B.J. (2007).** Analysis of flavonoid phytoestrogens in botanical and ephedra-containing dietary supplements. *Ann. Pharmacother*, 41 :1375–1382.
- Guillemot, D., Carbon, C and Balkau, B. (1998).** "Low dosage and long treatment duration of Î²-lactam : Risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*." *Journal of the American Medical Association*, 279 : 365-370.
- Guillot, J. F. and Lafont, J. P. (1989).** "Antibiotiques et microflore intestinale." *Revue Scientifique et Technique* (international Office of Epizootics) 8 : 439-452.

Gwee, PS., Khoo, KS., Ong, HC., and Sit, NW. (2014). Bioactivity-guided isolation and structural characterization of the antifungal compound, plumbagin, from *Nepenthes gracilis*. *Pharm Biol*, 52: 1526-1531.

Haddaoui, I., Mateo-Sagasta, J. (2021). A review on occurrence of emerging pollutants in waters of the MENA region. *Environ Sci Pollut Res Int*, 28(48) :68090-68110.

Haida, S., Kribii, A. and Kribii, A. (2020). Chemical composition, phenolic content and antioxidant capacity of *Haloxylon scoparium* extracts. *South African Journal of Botany*, 131 : 151-160.

Hailemariam, M., Alemayehu, T., Tadesse, B., Nigussie, N., Agegnehu, A., Habtemariam, T., Ali, M., Mitiku, E., Azerefegne, E. (2021). Major bacterial isolate and antibiotic resistance from routine clinical samples in Southern Ethiopia. *Sci Rep*, 11(1) :19710.

Hamishehkar, H., Shadmehr, P., Mahmoodpoor, A., Mashayekhi, S.O., Entezari-Maleki, T. (2016). Antimicrobial susceptibility patterns among bacteria isolated from intensive care units of the largest teaching hospital at the northwest of Iran. *Brazilian Journal of Pharmaceutical*, 52 : (3).

Hamza, N., Berke, B., Umar, A., Cheze, C., Gin, H., & Moore, N. (2019). A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 238 : 1-111.

Harborne, I.B. (1973). Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plant analysis. 2nd Edition, *Chapman and Hall, New York*, 88-185.

Hassan, F. A., Suliman, M. A., El-Gabbry, H., Mobarz, S. M., Amin, H. F. (2020). Effect of substituting lentil screening by-product for soybean meal on growth performance, nutrients digestibility and carcass parameters of growing rabbits. *Egyptian Poultry Science Journal*, 40 (2) : 463-480.

Hecini- Hannachi, A., Bentchouala, C., Lezzar, A., Laouar, H., Benlaabed, K. and Smati, F. (2016) : Multidrug- resistant bacteria isolated from patients hospitalized in Intensive Care Unit in University Hospital of Constantine, Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(33) : 1328-1336.

Hegazi, G. A, El-Lamey, T. M (2011). Callus induction and extraction of ephedrine from *Ephedra alata* Decne. cultures. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 11(1) : 19- 25.

Hemmami, H., Seghir, B.B., Zeghoud, S., Ben Amor, I., Kouadri, I., Rebiai, A., Zaater, A., Messaoudi, M., Benchikha, N., Sawicka, B., et al. (2023). Desert Endemic Plants in Algeria : A Review on Traditional Uses, Phytochemistry, Polyphenolic Compounds and Pharmacological Activities. *Molecule*, 28 :1834.

Hernandez Ochoa, L. R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat en Science des Procédés (option Sciences des Agroressources), Institut National Polytechnique, Toulouse, France.

Hibi, Z., Makhloufi, A., Azzi, R. (2022). Ethnobotanical, phytochemical characterization and biological activities of *Ephedra alata* Decne extracts, growing wild in Bechar region, south west of Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 12 (1) : 35-45.

Hikino, H., Kiso, Y., Ogata, M., et al. (1984). Pharmacological actions of analogues of feruloylhistamine, an imidazole alkaloid of *Ephedra* roots [J]. *Planta Med*, 50(6) : 478-480

Hollander, J.L., Vander Wall, S.B., Baguley, J.G. (2010). Evolution of seed dispersal in North American *Ephedra*. *Evol. Ecol*, 24 : 333-345.

Hooper, D. C. and Rubinstein, E. (2003). Quinolone antimicrobial agents, American Society for Microbiology 485 pages.

Hopwood, D. A. (2007). How do antibiotic-producing bacteria ensure their self-resistance before antibiotic biosynthesis incapacitates them? *Mol. Microbiol*, 63 :937-940.

Horner, CS., Abberley, N., Denton, M., Wilcox, MH. (2014). Surveillance of antibiotic susceptibility of Enterobacteriaceae isolated from urine samples collected from community patients in a large metropolitan area, 2010–2012. *Epidemiol Infect*, 142 :399–403.

Houvenaeghel, M. (1992). Les aminosides. In *Antibiothérapie en réanimation et chirurgie*, Arnette Blackwell : 15-25.

Hufford, C., Liu, S and Clark, A. (1987). "Anticandidal activity of eupolauridine and onychine, alkaloids from *Cleistopholis patens*." *Journal of Natural Products*, 50 : 961-964.

Hussain, S., Ahmed, E., Malik, A., Ferheen, S., Jabbar, A., Ashraf, M., M. A. Lodhi, MA and Choudhary, MI. (2006). *Polish Journal of Chemistry*, 80, 409.

Hussain, S., Ahmed, E., Malik, A., Jabbar, A., Ashraf, M., Lodhi, MA and Choudhary, MI. (2006). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 54, 623.

Hutchings, M., Truman, A., Wilkinson, B. (2019). Antibiotics : past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51 : 72-80.

Ibragic, S., Sofic, E. (2015). Chemical composition of various *Ephedra* species. *Bosnian Journal of Basic Medical sciences*15: 21-27.

Ibrahim, M.E. (2018). High antimicrobial resistant rates among gram-negative pathogens in intensive care units: à retrospective study at a tertiary care hospital in Southwest Saudi Arabia. *Saudi Med J* ; 39(10) :1035–43.

- Ickert-Bond, S.M., Renner, S.S. (2016).** The Gnetales: Recent insights on their morphology, reproductive biology, chromosome numbers, biogeography, and divergence times. *J. Syst. Evol.*, 54 : 1-16.
- Imtara, H., Elamine, Y., Lyoussi, B. (2018).** Honey Antibacterial Effect Boosting Using Origanum Vulgare L. *Essential Oil. Evid. -Based Complement. Altern. Med.*, 2018, 7842583.
- Ismail, T., Sestili, P., et Akhtar, S. (2012).** Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2) : 397- 405.
- Jain, P.K., Joshi, H. (2012).** Coumarin : Chemical and pharmacological profile. *J. Appl. Pharm. Sci.*, 2 :236–240.
- Jan, E. P. M. D., Hardin, T. C. P., Kelly, C. A. M. T., Garcia, R. C. R. and Jorgensen, J. H. P. (2000).** "Association of antibiotic utilization measures and control of multiple-drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*." *Infection Control and Hospital Epidemiology* 21 : 455-458.
- Jang. H.H., Kim, D.H., Ahn, T., Yun, C.H. (2010).** Functional and conformational modulation of human cytochrome P450 1B1 by anionic phospholipids. *Arch Biochem Biophys* ;493(2) :143-150.
- Jaradat, N., Dacca, H., Hawash, M., Abualhasan, MN. (2021).** *Ephedra alata* fruit extracts: phytochemical screening, anti-proliferative activity and inhibition of DPPH, α -amylase, α -glucosidase, and lipase enzymes. *Journal of BMC Chemistry*, 15(1):41.
- Jaradat, N., Hussien, F., & Al Ali, A. (2015).** Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata*. *Journal of Materials Environmental Science*, 6(6): 1771-1778.
- Jarraya, R. M., Bouaziz, A., Hamdi, B., Ben Salah, A and Damak, M. (2008).** N-Methylisosalsole from *Hammada scoparia*. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, 64 (9) : 1714.
- Jarraya, R., Ben Salah, H., Damak, M., (2005).** Chemical and Radical Scavenging Activity of Constituents from *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 7, 261-266.
- Jeevitha, D., Sadasivam, K., Praveena, R., Jayaprakasam, R. (2016).** DFT study of glycosyl group reactivity in quercetin derivatives. *J. Mol. Struct.*,1120 :15-24
- Jerbi, A., Zehri, S., Abdnnabi, R., Gharsallah, N., Kammoun, M. (2016).** Essential oil composition, free-radical-scavenging and antibacterial effect from stems of *Ephedra alata* in Tunisia. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 19: 1503-1509.

Joray, MB., Trucco, LD., González, ML., Díaz Napal, GN., Palacios, SM., Bocco, JL., and Carpinella, MC. (2015). Antibacterial and Cytotoxic Activity of Compounds Isolated from *Flourensia oolepis*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015 : 912484.

Jovanovic Santa, S. S., Petri, E. T., Klisuric, O. R., Szecsi, M., Kovacevic, R., et al. (2015). Antihormonal potential of selected D-homo and D-seco estratriene derivatives. *Steroids*, 97: 45-53.

Kadota, S., Basnet, P., Ishii, E., Tamura, T and Namba, T. (1997). Antibacterial activity of trichorabdal from *Rabdosia trichocarpa* against *Helicobacter pylori*. *Zentbl. Bakteriologie*. 286 :63-67. (109,110). In *Plant Products as Antimicrobial Agents* MARJORIE MURPHY COWAN.

Kahlmeter G, Ecosens. (2003). An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections : the Ecosens Project. *J Antimicrob Chemother*, 51 : 69-76.

Kamsu, G. T., Simo Tagne, R., P. C. Fodouop, S., Ndel Famen, L.-C., Kodjio, N., Endeguele Ekom, S., & Gatsing, D. (2019). In vitro Antisalmonellal and Antioxidant Activities of Leaves Extracts of *Tectona grandis* L. F. (Verbenaceae). *European Journal of Medicinal Plants*, 29(4), 1–13.

Kaper, J. B., Nataro, J. P and Mobley, H. L. T. (2004). "Pathogenic *Escherichia coli*." *Nature Reviews Microbiology*, 2 : 123-144.

Karous, O., Yousfi Aichi, H., ben Haj Jilani, I., & Ghrabi-gammar, Z. (2020). Volatiles profiling, phytotoxic activity, and antioxidant potentiality of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin extracts from southern Tunisia. *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology*, 70(3) : 4290-4298.

Kasahara, Y., Hikino, H., Tsurufuji, S., et al. (1985). Antiinflammatory actions of ephedrine in acute inflammations [J]. *Planta Med*, 51(4): 325-331.

Kazmi, M.H., Malik, A., Hameed, S., Akhtar, N., Noor Ali, S. (1994). An anthraquinone derivative from *Cassia italica*. *Phytochemistry*, 36 :761–763

Kemegne, GA., Mkounga, P., Ngang, JJE., Kamdem, SLS., Nkengfack, AE. (2017). Antimicrobial structure activity relationship of five anthraquinones of emodine type isolated from *Vismia laurentii*. *BMC Microbiology*, 17.

Kesah, C., Ben Redjeb, S., Odugbemi, T.O., Boye, C.S., Dosso, M., et al. (2003). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clin Microbiol Infect*, 9 : 153-156.

Kessler, A., Kalske, A. (2018). Plant secondary metabolite diversity and species interactions, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 49, 115–138.

- Khaldi, A., Mehdi, K., Cheikhi, S., Abachi, M., Moussaoui, A. (2022).** Phytochemical Content, Antioxidant and Antifungal Activities of *Ephedra alata* Decne. Aerial Parts Grown Wild in South-west Algeria. *Indian Journal of Agricultural Research*. 57(2) : 164-169.
- Khan, A., Jan, G., Khan, A et al. (2017).** *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Ephedra gerardiana* (root and stem) crude extract and fractions [J]. *Evid-based Compl Alt Med, eCAM*, 2017: 6
- Kharchoufa, L., Bouhrim, M., Bencheikh, N., El Assri, S., Amirou, A., Yamani, A., Choukri, M., Mekhfi, H., Elachouri, M. (2020).** Acute and Subacute Toxicity Studies of the Aqueous Extract from *Haloxylon scoparium* Pomel (*Hammada scoparia* (Pomel)) by Oral Administration in Rodents. *Biomed Res Int*, 2020 :4020647.
- Khorsi, K., Messai, Y., Hamidi, M., Ammari, H., Bakour, R. (2015).** High prevalence of multidrug-resistance in *Acinetobacter baumannii* and dissemination of carbapenemase-encoding genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like and blaNDM-1 in Algiers hospitals. *Asian Pacific J Tropic Med*, 8 : 438–446
- Kim, H.J., Na, S.W., Alodaini, H.A., Al-Dosary, M.A., Nandhakumari, P., Dyona, L. (2021).** Prevalence of multidrug-resistant bacteria associated with polymicrobial infections. *Journal of Infection and Public Health*. 14 (12) : 1864-1869.
- Kim, J. M., Heo, H. J. (2022).** The roles of catechins in regulation of systemic inflammation. *Food Sci Biotechnol*, 31(8) :957-970.
- Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. and Buxton, H. T. (2002).** "Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000 : A National Reconnaissance." *Environmental Science & Technology*, 36 : 1202-1211.
- Kornél, N., Lucas, A.G., Karine, R., Denis, B., René, F., Francesca, G., Cristina, C.H., Frédéric, D. (2013).** Identification of cholesteryl ester of ferulic acid in human plasma by mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1301, 162–168.
- Kostova, I. (2006).** Synthetic and natural coumarins as antioxidants. *Mini Rev. Med. Chem*, 6, 365-374.
- Kouadio, L. D., Traore, S. K., Bekro, Y.-A., Véronique, M., Dembele, A., Mamadou, K., Mazellier, P., Legube, B and Houenou, P. (2009).** "Contamination des Eaux de Surface par les Produits Pharmaceutiques en Zones Urbaines de Côte D'ivoire : Cas du District D'abidjan." *European Journal of Scientific Research*, 27 : 140 – 151.
- Kouadri, F. (2018).** *In vitro* antibacterial and antifungal activities of the saudi *Lawsonia inermis* extracts against some nosocomial infection pathogens. *J Pure Appl Microbiol*, 12(2) :281-6

Kouegnigan Rerambiah, L., Ndong, J. C., Mbakob Mengue Massoua, P., Medzegue, S., Elisee-Ndam, M., Mints-Ndong, A., Djoba Siawaya, J. F. (2014). Antimicrobial profiles of bacterial clinical isolates from the Gabonese National Laboratory of Public Health: data from routine activity. *International Journal of Infection Diseases*, 29 :48-53.

Kozyra, M., Biernasiuk, A., Malm, A. (2017). Analysis of phenolic acids and antibacterial activity of extracts obtained from the flowering herbs of *Carduus acanthoides* L. *Acta Pol. Pharm*, 74 :161-172.

Krunal Shah. (2019). A Comparative Study of Antibiotic Sensitivity Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Various Clinical Samples over a Period of 3 Years. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(10) : 1243-1249.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant Physiology and Biochemistry* 45(34): 244-249.

Kukrić, Z. Z. and Topalić-Trivunović, L. N. (2006). "Antibacterial activity of cis and trans resveratrol isolated from *Polygonum cuspidatum* rhizome." *Acta periodica technologica*, 2006 Issue 37, Pages : 131-136 2006 : 131-136.

Kumatia, E. K., Annan, K., Dickson, R.A., Mensah, A.Y., Amponsah, I. K., Appiah, A. A., Tung, N. H., Edoh, D. A., Habtemariam, S. (2017). Antiinflammatory and Analgesic Effects in Rodent Models of Ethanol Extract of *Clausena anisata* Roots and their Chemical Constituents. *Nat Prod Commun*, 12(1) :67-72.

Kurosawa, W., Kan, T., Fukuyama, T. (2003). Stereocontrolled total synthesis of (–)-ephedradine A (orantine) [J]. *J Am Chem Soc*, 125(27): 8112-8113

Lachkar, N., Lamchouri, F., Bouabid, K., Boulfia, M., Senhaji, S., Stitou, M., Toufik, H. (2021). Mineral Composition, Phenolic Content, and *In Vitro* Antidiabetic and Antioxidant Properties of Aqueous and Organic Extracts of *Haloxylon scoparium* Aerial Parts. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021 :9011168.

Lachkar, N., Lamchouri, F., Bouabid, K., Senhaji, S., Boulfia, M., Akabli, T., Zalaghi, A., Toufik, H. (2023). *In vitro* study of the antimutagenic power and *in vivo* acute toxicity of aqueous and organic extracts of the aerial part of *Haloxylon scoparium* Pomel. and evaluation of the correlation between the chemical profile and their biological activities. *Plant Sci*, 10(1) :242-51.

Lall, N., Weiganand, O., Hussein, A., Meyer, J. (2006). Antifungal activity of naphthoquinones and triterpenes isolated from the root bark of *Euclea natalensis*. *South African Journal of Botany*, 72, 579–583.

Lamchouri, F., Benali, T., Bennani, B., Toufik, H., Hassani, L., Bouachrine, M. (2012). Preliminary phytochemical and antimicrobial investigations of extracts of *Haloxylon scoparium*. *J Mater Environ Sc*, 3 :754–9.

- Lamine, J.B., Boujbiha, M.A., Dahane, S., Cherifa, A.B., Khelifi, A., Chahdoura, H., Yakoubi, M.T., Ferchichi, S., El Ayeb, N., Achour, L. (2019).** A-amylase and aglucosidase inhibitor effects and pancreatic response to diabetes mellitus on wistar rats of *ephedra alata* areal part decoction with immunohistochemical analyses. *Environ. Sci. Pollut. Res* 26: 9739-9754.
- Le Minor, L. and Véron, M. (1989).** Bactériologie médicale, Médecine Sciences Publications 1107 pages.
- Leach, K.L. et al. (2011).** Linezolid, the first oxazolidinone antibacterial agent. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1222 : 49– 54.
- Leach, L.C. (2015).** Structural elucidation of some antimicrobial constituents from the leaf latex of aloe. *BMC Complement Altern Med*, 15 (270) :1-7
- Lee, A.S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., Harbarth, S. (2018).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*, 31(4) :18033.
- Lee, DS., Choe, H-S., Lee, SJ., et al. (2013).** Antimicrobial susceptibility pattern and epidemiology of female urinary tract infections in South Korea, 2010-2011. *Antimicrob Agents Chemother*, 57 : 5384–93
- Lee, H., Yoon, E-J., Kim, D., et al. (2018).** Antimicrobial resistance of major clinical pathogens in South Korea, May 2016 to April 2017. First one-year report from Kor-GLASS. *Eurosurveillance*, 23 : pii"1800047.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Food Chemistry*, 51(25), 7292-7295.
- Lerner, P. I. (2004).** "Producing Penicillin." New England. *Journal of Medicine*, 351 : 524-524.
- Li, X., Qiu, Q., Li, M., Lin, H., Cao, S., Wang, Q., Chen, Z., Jiang, W., Zhang, W., Huang, Y., et al. (2021).** Chemical composition and pharmacological mechanism of ephedra-glycyrrhiza drug pair against coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Aging*, 13 : 4811-4830.
- Libia D. Alarcón., Alexis E. Peña., Nélica Gonzales de C., América Quintero., María Meza., Alfredo Usubillaga and Judith Velasco. (2009).** Composition and antibacterial activity of the essential oil of (rich.) Dc. *Rev Soc Quím Perú.* 75 (2).
- Limarino, O., Dunia Isab, T. (2020).** Systematics and evolution of *Gomphrena* (Amaranthaceae) with an emphasis on the species in Bolivia. *Freie Universität Berlin*.
- Limberger, R. P., Jacques, A. L. B., Schmitt, G. C., Arbo, M. D. (2013).** Pharmacological effects of ephedrine. *Natural products* (ouvrage) : 1218-1237.

- Lin, M.F., Lan, C.Y. (2014).** Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* : From bench to bedside. *World Journal of Clinical Cases*, 2, 787–814
- Lokesh ravi, manasvi v, praveena lakshmi b. (2016).** Antibacterial and antioxidant activity of saponin from *abutilon indicum* leaves. *Asian j pharm clin res*, 9 (3) : 344-347
- Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma, C., Li, J. (2012).** *p*-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control*, 25 :550-554.
- Ma, G., Bavadekar, S.A., Davis, Y.M., Lalchandani, S.G., Nagmani, R., Schaneberg, B.T., Khan, I.A., Feller, D.R. (2007).** Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human α 1- and α 2-adrenergic receptor subtypes. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 322 : 214-221.
- Madigan, M. T., Martinko, J.M. (2006).** Brock biology of microorganisms. 11th edition. Pearson Prentice Hall Inc.
- Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J., (2008).** Methodological aspects about vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chemical Acta*, 613 : 1-19.
- Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., B. Olsson-Liljequist, B., et al. (2012).** Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria : an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect*, 18, 268–281.
- Maher, L.J. (1964).** Ephedra pollen in sediments of the Great Lakes region. *Ecology*, 45 : 391-395.
- Mahmoudi, M., Boughalleb, F., Maaloul, S., Mabrouk, M., Abdellaoui, R. (2023).** Phytochemical Screening, Antioxidant Potential, and LC-ESI-MS Profiling of *Ephedra alata* and *Ephedra altissima* Seeds Naturally Growing in Tunisia. *Appl Biochem Biotechnol*, 31 :1-13.
- Maisetta, G., Batoni, G., Caboni, P., Esin, S., Rinaldi, A.C., Zucca, P. (2019).** Tannin profile, antioxidant properties, and antimicrobial activity of extracts from two Mediterranean species of parasitic plant *Cytinus*. *BMC Complement. Altern. Med*, 19(1) : 82.
- Majumder, M. M. I., Mahadi, A. R., Ahmed, T., Ahmed, M., Uddin, M. N., Alam, M. Z. (2022).** Antibiotic resistance pattern of microorganisms causing urinary tract infection : a 10-year comparative analysis in a tertiary care hospital of Bangladesh. *Antimicrob Resist Infect Control*, 11(1) :156.
- Manso, T., Lores, M., de Miguel, T. (2022).** Antimicrobial Activity of Polyphenols and Natural Polyphenolic Extracts on Clinical Isolates. *Antibiotics*, 11, 46.
- Manurung, R. A. H., Nugroho, R. A., Sari, Y. P., Chernovita, R., Auliana. (2019).** Phytochemical Analysis And Antioxidant Activity Of Leaves Extracts Of Endemic Plant Jahe

Balikpapan (Etlingera Balikpapanensis A.D. Poulsen). *International journal of scientific & technology research*, 8.

Mariana Belén Joray, Lucas Daniel Trucco, María Laura González, Georgina Natalia Díaz Napal, Sara María Palacios, José Luis Bocco, and María Cecilia Carpinella. (2015). Antibacterial and Cytotoxic Activity of Compounds Isolated from *Flourensia oolepis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, Article ID 912484, 11 pages.

Marion, F., Coulomb, J., Servais, A., Courillon, C., Fensterbank, C., et al. (2006). Radical cascade cyclizations and platinum (II)-catalyzed cycloisomerizations of ynamides 62: 3856-3871.

Maroyi, A. (2013). Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe : review and perspectives. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 9 :31. Doi : 10.1186/1746-4269-9-31.

McDermott, W. and Rogers, DE (1982). "Social ramifications of control of microbial disease." *The Johns Hopkins Medical Journal*, **151** : 302-312.

McDevitt, JT., Schneider, DM., Katiyar, SK., and Edlind. TD. (1996). Berberine : a candidate for the treatment of diarrhea in AIDS patients, abstr. 175. In Program and Abstracts of the 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *American Society for Microbiology*, Washington, D.C.

McEwen, SA., Collignon, PJ. (2018). Antimicrobial resistance : a one health perspective, *Microbiol. Spectr.* 6, <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA0009-2017>. ARBA-0009-2017.

McGowan, J. J. (1987). "Is antimicrobial resistance in hospital microorganisms related to antibiotic use ?" *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 63 : 253-268.

Mecheri N., Zeghabi K. (2015). Evaluation biologique et l'effet de séchage sur la caractérisation des métabolites secondaires des extraits issus de quelques plantes spontanées médicinales. Mémoire de Master. Université de Kasdi Merbah, Ouergla, Algérie.

Meddour, R., Sahar, O., Jury, S. (2023). "Newanalysis of the endemic vascular plants of Algeria, their diversity, distribution pattern and conservation status," *Willdenowia*, 53(1) : 25-43.

Meeuse, A.D.J., De Meijer, A.H., Mohr, O.W.P., Wellinga, S.M. (1990). Entomophily in the dioecious gymnosperm *Ephedra aphylla* Forsk (= *E. Alte C.A.Mey.*), with some notes on *Ephedra campylopoda* C.A.Mey. III. Further anthecological studies and relative importance of entomophily. *Isr. J. Bot.* 39 :113-123.

Mei, J., Zhou, Y., Yang, X., Zhang, F., Liu, X., Yu, B. (2021). Active components in *Ephedra sinica* stapf disrupt the interaction between ACE2 and SARS-CoV-2 RBD : Potent COVID-19 therapeutic agents. *J. Ethnopharmacol.* 278 :284-296.

- Mellado, M., Soto, M., Madrid, A., Montenegro, I., Jara Gutiérrez, C., Villena, J., Werner, E., Godoy, P., Aguilar, L.F. (2019).** In vitro antioxidant and antiproliferative effect of the extracts of *Ephedra chilensis* K Presl aerial parts. *BMC Complement. Altern. Med*, 19 : 1-10.
- Mesli, E., Berrazeg, M., Drissi, M., Bekkhoucha, SN., Rolain, JM. (2013).** Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *Inter J Infect Dis*, 17 : e739–e743.
- Mezghani-Jarraya, R., Hammami, H., Ayadi, A., Damak, M. (2009).** Molluscicidal activity of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin leaf extracts and the principal alkaloids isolated from them against *Galba truncatula*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 1035-1038.
- Mhondoro, M., Ndlovu, N., Bangure, D. et al. (2019).** Trends in antimicrobial resistance of bacterial pathogens in Harare, Zimbabwe, 2012–2017 : a secondary dataset analysis. *BMC Infectious Diseases*, 19 (1) : 746.
- Miara, M. D., Teixidor-toneu, I., Sahnoun, T., Bendif, H., Ait hammou, M. (2019).** Herbal remedies and traditional knowledge of the Tuareg community in the region of Illizi (Algerian Sahara). *Journal of Arid Environments*, 167 : 65-73.
- Michael G. S. (2010).** Evolution and Diversity of Woody and Seed Plants. *Plant Systematics* (Second Edition), Academic Press,
- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews* 52: 673-839.
- Mighri, H., Akrou, A., Bennour, N., Eljeni, H., Zammouri, T., Neffati, M. (2019).** LC/MS method development for the determination of the phenolic compounds of Tunisian *Ephedra alata* hydro-methanolic extract and its fractions and evaluation of their antioxidant activities. *South African Journal of Botany*, 124 :102-110.
- Miguel, M., Bouchmaaa, N., Aazza, S., Gaamoussi, F. and Lyoussi, B. (2014).** Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activities of eleven extracts of moroccan plants. *Fresenius Environ Bull*, 23(6).
- Mihoubi, M., Micale, N., Scala, A., Jarraya, RM., Bouaziz, A., Schirmeister, T. (2015).** *Molecules*, 20 :14902-14.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A. (2004).** Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medicinal and Aromatic Plant Extract. *Food Chemistry*, 85(2), 231-237.
- Miyazawa, M., Minamino, Y. et Kameoka H. (1997).** Volatile Components of *Ephedra sinica* Stapf. *Flavour And Fragrance Journal*, 12 : 15-17.

- Mnyambwa, N. P., Mahende, C., Wilfred, A., Sandi, E., Mgina, N., Lubinza, C., Kahwa, A., Petrucka, P., Mfinanga, S., Ngadaya, E., Kimaro, G. (2021).** Antibiotic Susceptibility Patterns of Bacterial Isolates from Routine Clinical Specimens from Referral Hospitals in Tanzania : A Prospective Hospital-Based Observational Study. *Infection and Drug Resistance*, 14 :869-878.
- Mohammedi, Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse Doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. p160.
- Mokrani, A., Madani, K. (2016).** Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Sep. Purif. Technol.* 162: 68-76.
- Molyneux, P. (2004),** The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2) : 211-219.
- Monnet, D., Emborg, H., Andersen, S., Schöller, C., Sørensen, T and Bager, F. (2000).** "Surveillance of antimicrobial resistance in Denmark." *Eurosurveillance*, 5 : 1-5.
- Monnet, D., Gaynes, R., Tenover, F and McGowan, J. (1995).** "The ICARE pilot hospitals. Ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (PA) and ceftazidime (CFZ) usage in NNIS hospitals: preliminary results of Project ICARE Phase One." *Infect Control and Hospital Epidemiology*, 16 : 19.
- Mozaffari Godarzi, S., Valizade Gorji, A., Gholizadeh, B, Mard, S. A., Mansouri, E. (2020).** Antioxidant effect of p-coumaric acid on interleukin 1- β and tumor necrosis factor- α in rats with renal ischemic reperfusion. *Nefrologia (Engl Ed)*, 40(3) :311-319.
- Mukne, A. P., Viswanathan, V., Phadatare, A. G. (2011).** Structure pre-requisites for isoflavones as effective antibacterial agents. *Pharmacogn Rev*, 5(9) :13-8.
- Müller, K. F. (2005a).** SeqState-primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA data sets. *Appl. Bioinf*, 4 : 65-69.
- Murakami, T., Harada, H., Suico, MA., et al. (2008).** Ephedrae herba, a component of Japanese herbal medicine Mao-to, efficiently activates the replication of latent human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) in a monocytic cell line [J]. *Biol Pharm Bull*, 31(12): 2334-2337
- Mwansa, T.N., Kamvuma, K., Mulemena, J.A., Phiri, C.N., Chanda, W. (2022).** Antibiotic susceptibility patterns of pathogens isolated from laboratory specimens at Livingstone Central Hospital in Zambia. *PLOS Global Public Health*, 2(9) : e0000623.
- Nagy, H., Goda, K., Fenyvesi, F., Bacso, Z., Szilasi, M., Kappelmayer, J., Lustyik, G., Cianfriglia, M., Szabo, G. (2004).** Jr: Distinct groups of multidrug resistance modulating

agents are distinguished by competition of P-glycoprotein-specific antibodies. *Biochem Biophys Res Commun*, 19;315(4):942-9.

Naqid, I. A., Balatay, A. A., Hussein, N. R., Saeed, K. A., Ahmed, H. A., Yousif, H.A. (2020). Antibiotic Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Various Clinical Samples in Duhok City, Kurdistan Region of Iraq. *International Journal of Infection*, 7(3).

Nasir, E., and Ali, S.I. (1978). Flora of West Pakistan, Department of Botany, University of Karachi, 121 (2).

Nawwar, M.A.M., Ei-Sissi, H.I., Barakat, H.H. (1984). Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, 23 :2937-2939.

Nayaka, H. B., Londonkar, R. L., Umesh, M. K., Tukappa, A. (2014). Antibacterial Attributes of Apigenin, Isolated from *Portulaca oleracea* L. *Int J Bacteriol*, 2014 :175851.

nçer S, Benzonana N, Özer S, Kuzu İ, Özyurt Y. Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinden İzole Edilen Bakteriler ve Antibiyotik Duyarlılıkları. *Yoğun Bakım Derg* 2001; 1: 131-7

Nibret, E., Sporer, F., Asres, K., Wink, M. (2009). Antitrypanosomal and Cytotoxic Activities of Pyrrolizidine Alkaloid-Producing Plants of Ethiopia. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(6) : 801-808

Nigussie, D., Davey, G., Legesse, B.A. et al. (2021). Antibacterial activity of methanol extracts of the leaves of three medicinal plants against selected bacteria isolated from wounds of lymphoedema patients. *BMC Complement Med Ther*, 21 (2).

Nisa, H., Kamili, A.N., Bandh, S.A., Lone, B.A., Parray, J.A. (2013). Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant efficacy of different extracts of *Rumex dentatus* L. – a locally used medicinal herb of Kashmir Himalaya. *Asian Pac J Trop Dis* ;3(6) :434-440.

Normak, H. B. and Normak, S. (2002). "Evolution and spread of antibiotic resistance." *Journal of Internal Medicine*, 252 : 91-106.

Noui, A., Boudiar, T., Boulebd, H., Gali, L., del Mar Contreras, M., Segura-Carretero, A., Akkal, S. (2022). HPLC–DAD–ESI/MS profiles of bioactive compounds, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ephedra alata* subsp. *alenda* growing in Algeria. *Nat. Prod. Res*, 36(22) :5910-5915.

Nounah, I., Hajib, A., Harhar, H., Gharby, S., Kartah, B., Charrouf, Z., & Bougrin, K. (2019). Moroccan Journal of Chemistry Phytochemical Screening and Biological Activity of Leaves and stems extract of *Hammada Scoparia*. *Moroccan Journal of Chemistry*, 7, 1–009.

NR. Farnsworth. *Journal of pharmaceutical sciences* 1966 ;55 :225-76.

O'Brien, T. F., and J. Stelling. (2011). "Integrated Multilevel Surveillance of the World's Infecting Microbes and Their Resistance to Antimicrobial Agents." *Clinical Microbiology Reviews* 24 : 281-95

- Odebiyi, O.O. and Sofowora, E.A. (1978).** Phytochemical Screening of Nigerian. Medicinal Plants Part II. *Hoydia*, 41, 1-25.
- O'Hagan, D. (2000).** "Pyrrole, pyrrolidine, pyridine, piperidine and tropane alkaloids." *Natural Product Reports*, 17 : 435-446.
- Okou, O. C., Yapo, S. E. S., Kporou, K. E., Baibo, G. L., Monthaut, S., and Djaman, A. J. (2018).** Evaluation of the antibacterial activity of *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) leaf extracts on the in vitro growth of 3 strains of enterobacteriaceae. *Journal of Applied Biosciences*, 122 (1) : 12282-12290.
- OLIVEIRA, DE., Philippe, J. (2020).** Organisations & communication. Les enjeux de la com' en contexte néolibéral », *Communication et organisation*, 59
- OMS (1998).** Bureau régional pour l'Europe, Éducation thérapeutique du patient. Programmes de formation continue pour professionnels de soins dans le domaine de la prévention des maladies chroniques, Copenhague, *OMS*, 88 pages.
- OMS (2002).** "Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005." *OMS*, 74.
- Orejola, J., Matsuo, Y., Saito, Y., et al. (2017).** Characterization of proanthocyanidin oligomers of *Ephedra sinica* [J]. *Molecules*, 22(8)
- Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) (2001).** Science, Technology and Industry Scoreboard. Paris : OECD Publishing.
- Organisation mondiale de la Santé. Report. (1998).** Technical Briefing on Traditional Medicine. Forty ninth Regional Committee Meeting, Manila, Philippines, 18 September 1998. Manille, Bureau régional du Pacifique occidental de l'OMS.
- Oshima, N. (2017).** Efficient preparation of *Ephedrine* alkaloids-free *Ephedra* herb extract and its antitumor effect and putative marker compound [J]. *Yakugaku Zasshi*, 137(2): 173-177
- Osifo, O. D., Aghahowa, S. E. (2011).** Audit of antibiotic therapy in surgical neonates in a tertiary hospital in Benin City. *Niger. Afr. J. Paediatr. Surg*, 8 :23–28.
- Ostrow, M. J., Cornelisse, P. G., Heath, K. V., Craib, K. J., Schechter, M. T., O'Shaughnessy, M., Montaner, J. S and Hogg, R. S. (1997).** "Determinants of complementary therapy use in HIVinfected individuals receiving antiretroviral or anti-opportunistic agents." *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 15 : 115-120.
- Ouguirti, N., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Wanner, J. (2021).** Chemical characterization and bioactivities assessment of *Artemisia herba-alba* Asso essential oil from South-western Algeria. *Natural Volatiles, Essential Oils* 8(2): 27-36.

- Ould el hadj, M.D., Hadj mahammed, M., Zabeirou, H. (2003).** Place of the spontaneous plants samples in the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional east Sahara). *Courrier du Savoir* 3: 47-51
- Ousaaid, D., Imtara, H., Laaroussi, H., Lyoussi, B., Elarabi, I. (2021).** An Investigation of Moroccan Vinegars: Their Physicochemical Properties and Antioxidant and Antibacterial Activities. *J. Food Qual*, e6618444. [CrossRef] 41.
- Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B. (2014).** Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 5(5): 393-396.
- Ozenda, P. (1991).** Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3éme Ed.). 662 p
- Ozkok, A., D'arcy, B., Sorkun, K. (2010).** Total phenolic acid and total flavonoid content of Turkish pine honeydew honey. *Journal of ApiProduc and ApiMedical Science*, 2: 65-71.
- Palamar, J. (2011).** How ephedrine escaped regulation in the United States : A historical review of misuse and associated policy. *Health Policy*, 99 : 1-9.
- Pandey, A. and Tripathi, S. (2014).** Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 115-119.
- Parenti, F., Lancini, G. (2010).** Rifamycins. In: Finch RG, Greenwood D, Ragnar Norrby S, Whitley RJ, editors. *Antibiotic and chemotherapy*, p. 326–33.
- Parsaeimehr, A., Sargsyan, E., Javidnia, K. (2010).** A comparative study of the antibacterial, antifungal and antioxidant activity and total content of phenolic compounds of cell cultures and wild plants of three endemic species of *Ephedra* [J]. *Molecules*, 15(3): 1668-1678.
- Paschapur, M.S., Patil, M.B., Kumar, R., Patil, S.R. (2009).** Evaluation of aqueous extract of leaves of *Ocimum kilimandscharicum* on wound healing activity in albino. *International Journal of PharmTech Research*, 1 : 544–550.
- Pasteur, L. and Joubert, J. (1877).** "Charbon et septicémie." *Les Comptes Rendus de Académie des Sciences* 85 : 101-105
- Pattenden, G., Gonzalez, MA., McCulloch, S., Walter, A., Woodhead, SJ. (2004).** A total synthesis of estrone based on a novel cascade of radical cyclizations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 12024-12029.
- Perez, C., Pauli, M. and Bazerque, P. (1990).** An Antibiotic Assay by Agar Well Diffusion Method. *Acta Biologiae et Medicinae Experimentalis*, 15, 113-115.
- Perronne, C. (1999).** Les maladies infectieuses, Doin Editions 406 pages.

- Phanikumar, G., Kumar, R., Badere, R., Singh, S. (2010).** Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extracts from trans Himalayan medicinal plants. *Pharmacogn. J*, 2 : 66-69.
- Phinney, K.W., Ihara, T., Sander, L. C. (2005).** Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1077 (1) : 90-97.
- Pierantoni, L., Andreozzi, L., Ambretti, S., Dondi, A., Biagi, C., Baccelli, F., Lanari, M. (2021).** Three-Year Trend in Escherichia coli Antimicrobial Resistance among Children's Urine Cultures in an Italian Metropolitan Area. *Children (Basel)*, 8(7) :597.
- Polse, R., Yousif, S., and Assaf, M. (2016).** Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of uropathogenic E. coli among people in Zakho, Iraq. *International Journal of Research in Medical Sciences*, vol. 4, no. 4, pp. 1219–1223.
- Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*. 36(7) : 679-684.
- Porrás, G., Chassagne, F., Lyles, J.T., Marquez, L., Dettweiler, M., Salam, A.M., et al. (2020).** Ethnobotany and the role of plant natural products in antibiotic discovery. *Chem. Rev*, 121(6) : 3495–3560.
- Powell, T., Hsu, F.F., Turk, J., Hruska, K. (1998).** Ma-huang strikes again: Ephedrine nephrolithiasis. *Am. J. Kidney Dis. Off. J. Natl. Kidney Found*, 32 : 153-159.
- Prasada Rao, C. M. M., Vennila, T., Kosanam, S., Ponsudha, P., Suriyakrishnaan, K., Alarfaj, A. A., Hirad, A. H., Sundaram, S. R., Surendhar, P. A., Selvam, N. (2022).** Assessment of Bacterial Isolates from the Urine Specimens of Urinary Tract Infected Patient. *BioMed Research International*, 2022 : 4088187.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., Pantosti, A. (2015).** Antimicrobial resistance : a global multifaceted phenomenon. *Pathog. Glob. Health*, 109 309–318.
- Rabbani, G. H., Butler, T., Knight, J. (1987).** *J. Infectious Dis*, 155, 979.
- Rabinovitch, L & Oliveira EJ. (2015).** Coletânea de procedimentos técnicos e metodologias empregadas para o estudo de Bacillus e gêneros esporulados aeróbios correlatos. Available at: Accessed on: March 25th, 2020.
- Radhakrishnan, N., Gnanamani, A., Mandal. AB. (2011).** A potential antibacterial agent, Embelin – A natural benzoquinone extracted from *Embelia ribes*. *Biology and Medicine*, 3 :1-7.

- Rahal, J., Urban, C and Horn, D. (1998).** "Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *klebsiella*." *Journal of the American Medical Academy*, 280 : 1233-1237.
- Rahman, A. Abdur., Samoylenko, V., Jacob, M. R., Sahu, R., Jain, S. K., Khan, S. I., Tekwani, B. L., & Muhammad, I. (2011).** "Antiparasitic and Antimicrobial Indolizidines From the Leaves of *Prosopis Glandulosa* Var. *Glandulosa*." *Planta medica*, 77 (14) : 1639-1643.
- Rahman, AA., Samoylenko, V., Jacob, M.R., Sahu, R., Jain, S.K., Khan, S.I., Tekwani, B.L., I. Muhammad, I. (2011).** Antiparasitic and antimicrobial indolizidines from the leaves of *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa*. *Planta Med*, 77, pp. 1639-1643.
- Ramdani-Bouguesa, N., Bes, M., Meugnier, H., Forey, F., Reverdy, M. E., Lina, G., Vandenesch, F., Tazir, M., Etienne, J. (2006).** Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(3) :1083-5.
- Randrianirina, F., Soares, J. L., Carod, J. F., Ratsima, E., Thonnier, V., Combe, P., Grosjean, P and Talarmin, A. (2007).** "Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59 : 309-312.
- Rath, G., Ndonzao, M. and Hostettmann, K. (1995).** "Antifungal anthraquinones from *Morinda lucida*." *International journal of pharmacognosy*, 33 : 107-114.
- Rathore, V. S., Singh, J. P., Roy, M. M. (2012).** *Haloxylon stocksii* (Boiss.) Benth. et Hook. f., a promising halophyte: distribution, cultivation and utilization. *Genet Resour Crop Evol*, 59(6):1213-21.
- Raunkiaer, C. (1934).** The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography. Oxford University Press, London.
- Rockenbach, I., Jungfer, E., Ritter, C., Schübel, BS., Thiele, B., Fett, R., and Galensa, R. (2012).** "Characterization of Flavan-3-Ols in Seeds of Grape Pomace by CE, HPLC-DAD-MS n and LC-ESI-FTICR-MS." *Food Research International* 48(2) :848–55.
- Rosset, R. (2003).** "Pasteur et les vétérinaires." *Bulletin de la société Française d'histoire de la Médecine et des Sciences Vétérinaires* 2 : 1-25.
- Rydin, C., Bolinder, K. (2015).** Moonlight pollination in the gymnosperm *Ephedra* (Gnetales). *Biol. Lett*, 11 :10-13.
- Sabir, S., Anjum, AA., Ijaz, T., Ali, MA., Khan, MUR., and Nawaz. M. (2014).** Isolation and antibiotic susceptibility of *E. coli* from urinary tract infections in a tertiary care hospital," *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 30 (2) : 389-392.

- Sader, HS., Farrell, DJ., Flamm, RK., Jones, RN. (2014).** Antimicrobial susceptibility of gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009-2011). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 78 :443-448.
- Safir, M.C., Bhavnani, S.M., Slover, C.M., Ambrose, P.G., C.M. Rubino, C.M. (2020).** Antibacterial drug development: a new approach is needed for the field to survive and thrive, *Antibiotics*, 9 : 412.
- Saidi, S. A., Al-Shaikh, T. M., Alghamdi, O. A., Hamden, K. (2022).** *Ephedra alata* subsp. *alenda* (Ephedraceae) leaf extracts: phytochemical screening, anti-diabetic, anti-obesity and anti-toxic activities on diabetic-induced liver-kidney-testes toxicities and inhibition of α -amylase and lipase enzymes. *Heliyon*, 8(12) : e11954.
- Saidi, S.A., Bourogâa, E., Bouaziz, A., Mongi, S., Chaaben, R., Jamoussi, K., MezghaniJarraya, R., van Pelt, J., & El-Feki, A. (2015).** Protective effects of *Hammada scoparia* flavonoid-enriched fraction on liver injury induced by warm ischemia/reperfusion. *Pharmaceutical Biology*, 53(12) : 1810-1817.
- Salah, F. D et al. (2021).** Augmentation de la résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées à l'Institut National d'Hygiène de Lomé de 2010 à 2017. *Journal of Interventional Epidemiology and Public Health*, 4(3) :3.
- Salah, FD., Sadji1, AY., & Akolly, K., Bidjada, B., Awoussi, KS., Abaya, AM., Amélé, AG., Kutoati, A., Amegan, L., Kpatcha Karoue Palanga, Pauline K Yanogo, Marianne Laurent Kouawo, Joseph Otshudiandjeka, Bernard Sawadogo2 , Fadima Diallo-Ouedraogo, Yao Layibo, Akouda Patassi, Wemboo Afiwa Halatoko, Jacques Simpore4 , Bayaki Saka5. (2021).** Increase in antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated at the National Institute of Hygiene of Lomé from 2010 to 2017. *JIEPH*, 4 (3) :3
- Salah, H. B., Jarraya, R., Martin, M.T., Veitch, N.C., Grayer, R.J., Simmonds, M.S.J., & Damak, M. (2002).** Flavonol Triglycosides from the Leaves of *Hammada scoparia* (POMEL) ILJIN. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(9) : 1268–1270.
- Salman, H. A., Yaakop, A.S., Al-Mustafa, A., Tarawneh, K., Aladaileh, S., Al-Rimawi, F., Alakhras, F., Abu-Lafi, S., Zarzour, R. A., Wahab, H. (2021).** The dual impact of Jordanian *Ephedra alte* for inhibiting pepsin and treating microbial infections. *Saudi J Biol Sci*, 28(11) :6245-6253.
- Sánchez del Pino, I., Borsch, T. & Motley, T. J. (2009).** trnL-F and rpl16 Sequence data and dense Taxon sampling Reveal Monophyly of unicular Anthered Gomphrenoideae (Amaranthaceae) and an Improved Picture of Their Internal Relationships. *Syst. Bot*, 34(1) : 57-67.
- Santé Canada. (2001).** *Perspectives on Complementary and Alternative Health Care. A Collection of Papers Prepared for Health Canada.* Ottawa, Santé Canada.
- Sapir, O.F. (2018).** *Haloxylon scoparium* Pomel observed in Israel. *iNaturalist*.

- Sathiyamoorthy, P., Lugasi-Evgi, H., Schlesinger, P., Kedar, I., Gopas, J., Pollack, Y., GolanGoldhirsh, A. (1999).** Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Pharmaceutical Biology*, 37, 188–195.
- Sathiyamoorthy, P., Lugasi-Evgi, H., Van-Damme, P., Abu-Rabia, A., Gopas, J., GolanGoldhirsh, A. (1997).** Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *International Journal of Pharmacology*, 35, 265–273.
- Schentag, J. J., Hyatt, J. M., Carr, J. R., Paladino, J. A., Birmingham, M. C., Zimmer, G. S and Cumbo, T. J. (1998).** "Genesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), how treatment of MRSA infections has selected for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, and the importance of antibiotic management and infection control." *Clinical Infectious Diseases*, 26 : 1204-1214.
- Schito, G. C., Naber, K. G., Botto, H., Palou, J., Mazzei, T., Gualco, L and Marchese, A. (2009).** "The ARESC study : an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections." *International Journal of Antimicrobial Agents*, 34 : 407-413.
- Schrader, S. M., Botella, H., Vaubourgeix, J. (2023).** Reframing antimicrobial resistance as a continuous spectrum of manifestations. *Current Opinion in Microbiology*, 72 :102259
- Seigler, DS. (1995).** Plant Secondary Metabolism. New York: Springer Science: *Business Media*, ISBN: 978-1-4613-7228-8; ISBN: 978-1-4615-4913-0 (eBook).
- Shabana, M.M., Mirhom, Y.W., Genenah, A.A., Aboutable E.A., and H. A. Amer, H.A. (1990).** Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, 44: 389.
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015).** Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects: A review. *Journal of Functional Foods* 18: 820-897.
- Shaikh, J.R., Patil, M. (2020).** Qualitative tests for preliminary phytochemical screening : an overview. *Int J Chem Stud* ;8(2) :603–608.
- Shebl, R. I., Mosaad, Y. O. (2019).** Frequency and antimicrobial resistance pattern among bacterial clinical isolates recovered from different specimens in Egypt. *Cent African J Public Heal*, 5(1) :36-45.
- Simpson, M.G. (2010).** Diversity and Classification of Flowering Plants : Eudicots. *Plant Systematics, Academic Press. 2* : 275-448.
- Simpson, M.G. (2010).** Evolution and Diversity of Woody and Seed plants. *Plant Systematics, Academic Press. 2* : 740.

Sioud, F., Amor, S., ben Toumia, I., Lahmar, A., Aires, V., Chekir-Ghedira, L., Delmas, D. (2020). A new highlight of *Ephedra alata* Decne properties as potential adjuvant in combination with cisplatin to induce cell death of 4T1 breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cells*, 9 : 1-19.

Sire, J. M., Nabeth, P., Perrier-Gros-Claude, J. D., Bahsoun, I., Siby, T., Macondo, E. A., GayeDiallo, A., Guyomard, S., Seck, A., Breurec, S and Garin, B (2007). "Antimicrobial resistance in outpatient *Escherichia coli* urinary isolates in Dakar, Senegal." *J Infect Developing Countries*, 1 : 263-268
Smibert, R.M., Krieg, N.R. (1994). *Phenotypic characterization Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology*, 611-651.

Smithson, A., Chico, C., Ramos, J., Netto, C., Sanchez, M., Ruiz, J., Porrón, R and Bastida, M.T. (2012). "Prevalence and risk factors for quinolone resistance among *Escherichia coli* strains isolated from males with community febrile urinary tract infection." *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 31 : 423-430.

Snezana, A.K., Davoud, B.O., David, W.M., Ahmad, P.Y. (2015). Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in calendula, feverfew, and German chamomile extracts. *J. Chromatogr. A*, 1385, 103–110.

Song, M., Jaeyoung, U. M., Jang, H et al. (2012). Beneficial effect of dietary *Ephedra sinica* on obesity and glucose intolerance in high-fat diet-fed mice [J]. *Exp Ther Med*, 3(4): 707-712.

Soni, M.G., Carabin, I.G., Griffiths, J.C., et Burdock, G.A. (2004). Safety of ephedra : lessons learned. *Toxicology Letters*, 150 : 97–110.

Soumaya, B., Yosra, E., Rim, B.M., Sarra, D., Sawsen, S., Sarra, B., Kamel, M., Wissem, A.W., Isoda, H., Wided, M. K. (2020). Preliminary Phytochemical Analysis, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of Two Tunisian Ephedra Species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African Journal of Botany*, 135 :421-428.

Souza, R.C., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Silva, M.F.G.F., Godoy, M.F.P., Pagnocca, F.C., Bueno, O.C., Hebling, M.J.A. and Pirani, J.R. (2005). New imidazole alkaloid and other constituents from *Pilocarpus grandiflorus* and their antifungal activity. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 60 : 787-791.

Starratt, A. N., Caveney, S. (1995). Four cyclopropane amino acids from *Ephedra* [J]. *Phytochemistry*, 40(2): 479-481

Starratt, A. N., Caveney, S. (1996). Quinoline-2-carboxylic acids from *Ephedra* species [J]. *Phytochemistry*, 42(5): 1477-1478.

Stewart, R. R. (1972). Flora of West Pakistan, Fakhri Press, Karachi, p. 223.

- Subramani, R., Narayanaswamy, M., Feussner, K.D. (2017).** *Plant-derived antimicrobials to fight against multi-drug-resistant human pathogens. 3 BioTech*, 7 (172) : 2190-5738.
- Sugianli, A. K., Ginting, F., Kusumawati, R. L., Pranggono, E. H, Pasaribu, A. P, Gronthoud, F., Geerlings, S., Parwati, I., De Jong, M. D., Van Leth, F., Schultsz, C. (2017).** Antimicrobial resistance in uropathogens and appropriateness of empirical treatment: a populationbased surveillance study in Indonesia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72 : 1469-77.
- Täckholm, V. (1974).** Students' Flora of Egypt, 2nd Ed., Cairo University, Cooperative Printing.
- Taïbi, K., Abderrahim, L.A., Ferhat, K., Betta, S., Taïbi, F., Bouraada, F., & Boussaid, M. (2020).** Ethnopharmacological study of natural products used for traditional cancer therapy in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(11) : 1451-1465.
- Taïbi, K., Ait Abderrahim, L., Helal, F., & Hadji, K. (2021).** Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(1) : 43-52.
- Taïr, K., Kharoubi, O., Taïr, O.A., Hellal, N., Benyettou, I., Aoues, A. (2016).** Aluminium Induced Acute Neurotoxicity in Rats : Treatment with Aqueous Extract of *Arthrophytum (Hammada scoparia)*. *Journal of Acute Disease*, 5(6) : 470-482.
- Tang, S., Ren, J., Kong, L., Yan, G., Liu, C., Han, Y., Sun, H., Wang, XJ. (2023).** Ephedrae Herba : A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, Clinical Application, and Alkaloid Toxicity. *Molecules*, 28(2) : 663.
- Tanvir, R., Hafeez, R., Hasnain. S. (2012).** Prevalence of Multiple Drug Resistant *Escherichia coli* in Patients of Urinary Tract Infection Registering at a Diagnostic Laboratory in Lahore, Pakistan. *Pakistan journal of zoology*, 44(3) : 707-712.
- Taylor, R. B., Shakoar, O., Behrens, R. H., Everard, M., Low, A. S., Wangboonskul, J., Reid, R. G and Kolawole, J. A. (2001).** "Pharmacopoeial quality of drugs supplied by Nigerian pharmacies." *The Lancet*, 357 : 1933-1936.
- Tchakal-Mesbahi, A., Abdouni, M.A., Metref, M. (2021).** Prevalence Of Multidrug-Resistant Bacteria Isolated From Burn Wounds In Algeria. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 34, 150–156.
- Teffo, L. S., Aderogba, M. A. and Eloff, J. N. (2010).** Antibacterial and antioxidant activities of four kaempferol methyl ethers isolated from *Dodonaea viscosa* Jacq. var. *angustifolia* leaf extracts. *South African Journal of Botany*, 76 : 25-29
- Tellez, M.R., Khan, I.A., Schaneberg, B.T., Crockett, S.L., Rimando, A.M., Kobaisy, M. (2004).** Steam distillation–solid-phase microextraction for the detection of *Ephedra sinica* in herbal preparations. *J. Chromatogr. A*, 1025 : 51-56.

Thaiponga, K., Boonprakoba, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrnes, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 : 669-675.

Thao, NP., Luyen, BT., Kim, EJ., Kang, JI., Kang, HK., et al. (2015). Steroidal constituents from the edible sea urchin *Diadema savignyi* Michelin induce apoptosis in human cancer cells. *J Med Food*, 18: 45-53.

Therapeutics_letter. (1998). "Herbal Medicines – An Evidence Based Look." issue 25 /Juin - Aug. Retrieved 13 avril, 2013, from <http://ti.ubc.ca/newsletter/herbal-medicines-%E2%80%93-evidence-based-look>.

Thévenot, P. (2003). De l'antibiogramme à la prescription, Editions BioMérieux 136 pages.

Tobin, E. A., Samuel, S. O., Inyang, N. J., Adewuyi, G. M., Nmema, E. E. (2021). Bacteriological Profile and Antibiotic Sensitivity Patterns in Clinical Isolates from the Out-Patient Departments of a Tertiary Hospital in Nigeria. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 24(8) :1225-1233.

Toda, M., S. Okubo, H. Ikigai, T. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Hara, and T. Shimamura. (1992). The protective activity of tea catechins against experimental infection by *Vibrio cholerae* O1. *Microbiol. Immunol.* 36:999–1001

Toledo-Guillén, A. R., Higuera-Ciajara, I., García-Navarrete, G., De la Fuente, J. C. (2010). Extraction of bioactive flavonoid compounds from orange (*Citrus sinensis*) peel using supercritical CO₂. *Atherosclerosis*, 178 :25-32.

Traoré, A., Datte, Y.J., Offoumou, A.M., AKA, K.J. & Sawadogo, L.L. (1999). Effets antihypertensifs de l'extrait aqueux de *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) sur la pression artérielle de mammifères. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*, 13 : 41-48.

Trease, G.E. and Evans, W.C. (1989). Pharmacognosy. 11th Edition, Bailliere Tindall, London, 45-50.

Tsukiyama, RI., Katsura, H., Tokuriki, N and Kobayashi, M. (2002). Antibacterial Activity of Licochalcone A against Spore-Forming Bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*.

Uddin, T.M., Chakraborty, A.J., Khusro, A., Zidan, B.R.M., Mitra, S., Emran, T.B., Dhama, K., Ripon, M.K.H., Gajdacs, M., Sahibzada, M.U.K., Hossain, M.J., Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes : History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *J Infect Public Health*, 14(12) :1750-1766.

Udgire, M., Shah, N., Jadhav, M. (2015). Enrichment, isolation and identification of hydrocarbon degrading bacteria. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 4(6) :708-713.

- Ullah, S., Ahmed Khalil, A., Shaukat, F., and Yuanda Song, Y. (2019).** Sources, Extraction and Biomedical Properties of Polysaccharides. *Foods*, 8(8) : 304.
- Vaidya, V. S., Mehendale, H. M. (2014).** in Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 2014
- Veeraraghavan, B., Jesudason, M. R., Prakash, J. A. J. (2018).** Antimicrobial susceptibility profiles of gram-negative bacteria causing infections collected across India during 2014–2016 : Study for monitoring antimicrobial resistance trend report. *Indian J Med Microbiol*, 36 : 32–6.
- Von Aderkas, P., Prior, N., Gagnon, S., Little, S., Cross, T., Hardie, D., Borchers, C., Thornburg, R., Hou, C., Lunny, A. (2015).** Degradome and secretome of pollination drops of Ephedra. *Bot. Rev.*, 81 :1-27.
- Voss, A., Milatovic, F., Wallrauch-Schwarz, C., Rosdahl, T., Braveny, I. (1994).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 13: 50-5.
- Vučić, D. M., Petković, M. R., Rodić-Grabovac, B. B., Stefanović, O. D., Vasić, S. M., & Čomić, L. R. (2013).** Antibacterial and antioxidant activities of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) *in vitro*. *African Journal of Microbiology Research*, 7(45) : 5130-5136.
- Wachter, GA., Hoffmann, JJ., Furbacher, T., Blake, ME., Timmermann, BN. (1999).** Antibacterial and antifungal flavanones from Eysenhardtia texana. *Phytochemistry*, 52:1469–71.
- Walsh, C. (2003).** Antibiotics : Actions, Origins, Resistance, Amer Society for Microbiology 335 pages.
- Wang, C., Ming, H., Jia, W., Su, W., Zhan, L.R., Luo, D., Yang, J.Y. (2020).** Analysis of medication regularity and pharmacodynamic characteristics of traditional Chinese medicine treatment in 444 severe cases of COVID-19. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 45, 3007-3012.
- Wang, L., Zhao, D., Liu, Y. (2009).** GC-MS analysis of the supercritical CO₂ fluid extraction of Ephedra sinica roots and its antisudorific activity. *Chem. Nat. Compd*, 45 : 434-436.
- Wang, Q., Yang, Y., Zhao, X., Zhu, B., Nan, P., Zhao, J., Wang, L., Chen, F., Liu, Z. et Zhong, Y. (2006).** Chemical variation in the essential oil of *Ephedra sinica* from Northeastern China. *Food Chemistry*, 98 : 52-58.
- Wang, Z.C., Li, F.J., Yang, J. (2010).** Talking about the adverse reactions of Ephedra. *Sci. Technol. Inf*, 13 : 407-408.
- Wayne, P. (2017).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Seventh Informational Supplement M100-S27, CLSI.

- Wayne, P. A. (2011).** Clinical and Laboratory Standards Institute, page 14. USA.
- Wenzel, R. P. (2004).** "The Antibiotic Pipeline Challenges, Costs, and Values." New England. *Journal of Medicine*, 351 : 523-526.
- WHO (2002).** "Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005." OMS, 74 pages.
- Nayaka Wise, R., Hart, T., Cars, O et al. (1998).** Antimicrobial resistance is a major threat to public health. *British Med J*, 317 : 609–610.
- World Health Organisation. (2000).** A report of the consultation meeting on traditional and modern medicine : Harmonizing two approaches, Beijing, China : 22-26)
- Wu, M., Brown, A. C. (2021).** Applications of Catechins in the Treatment of Bacterial Infections. *Pathogens*, 10(5) :546.
- Xiang, W., Song, Q.-S., Zhang, H.-J and Guo, S.-P. (2008).** "Antimicrobial anthraquinones from *Morinda angustifolia*." *Fitoterapia*, 79 : 501-504.
- Xue, J., Wang, L.H., Liu, L.J., Chai, H.F. (2020).** Analysis of Volatile Components of Ephedra from Different Places Based on GC-MS. *J. Chin. Med. Mater*, 43 :359-362.
- Yi, L.Z., Gao, J.M., Liu, X.Q., Liang, Y.Z. (2007).** Comparative on the components from different parts between wild growing and cultivated planting of Ephedra sinica. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, 9 :1298-1301.
- Yousif, F., Wassel, G., Boulos, L et al. (2012).** Contribution to in vitro screening of Egyptian plants for schistosomicidal activity *Pharm. Biol*, 50 (6) :732-739.
- Zafindrasoa, D. R. R., Fidiniaina, M. R., Saïda, R., Lea, R et Andriamiadana, L.R. (2017).** Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. *Pan Afrian Medical Journal*, 26 :166.
- Zaidi, M. (2021).** *Haloxylon scoparium* Pomel observed in Algeria. *iNaturalist*.
- Zang, X., Shang, M., Xu, F., Liang, J., Wang, X., Mikage, M., Cai, S. (2013).** A-type proanthocyanidins from the stems of *Ephedra sinica* (Ephedraceae) and their antimicrobial activities. *Molecules*. 18 :5172–5189.
- Zerriouh, M., Merghache, S., Djaziri, R., Selles, C and Sekkal, F. Z. (2014).** Investigation of *Hammada scoparia* antidiabetic activity and toxicity in rat. *International Journal of Phytomedicine*, 8 : 327-334.
- Zhang, B. M., Wang, Z. B., Xin, P., Wang, Q. H., Bu, H., Kuang, H. X. (2018).** Phytochemistry and pharmacology of genus Ephedra. *Chin J Nat Med*,16(11) :811-828.

Zheng, C. D., Duan, Y. Q., Gao, J. M., Ruan, Z. G. (2010). Screening for antilipase properties of 37 traditional Chinese medicinal herbs. *Chinese Medical Journal*, 73(6) : 319-324.

Zheng, WF., Tan, RX., Yang, L., Liu, ZL. (1996). Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta Med*, 62:160-2

Zhong, L.L.D., Lam, W.C., Yang, W., Chan, K.W., Sze, S.C.W., Miao, J., Yung, K.K.L., Bian, Z., Wong, V.T. (2020). Potential Targets for Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) : A Review of Qing-Fei-Pai-Du-Tang and Its Major Herbs. *Am. J. Chin. Med*, 48, 1051-1071.

Zhou, L., Wu, D., Tang, Y. (2008). Research progress of chemical constituents in *Ephedra*. *J. Nanjing Univ. TCM* : 24, 71-72.

Ziani, B. E. C., Calhella, R. C., Barreira, J.C.M., Barros, L., Hazzit, M., Ferreira, I.C.F.R. (2015). Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora : Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*, 27 : 582–589.

Ziani, B.E.C., Barros, L., Boumehira, A.Z., Bachari, K., Heleno, S.A., Alves, M.J., & Ferreira, I.C.F.R. (2018). Profiling polyphenol composition by HPLC-DAD-ESI/MSn and the antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. *Food & Function*, 9 : 149-159.

Ziani, B.E.C., Heleno, S.A., Bachari, K., Dias, M.I., Alves, M.J., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. (2019). Phenolic compounds characterization by LC-DAD- ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. &Reut. and *Ephedra alata* Decne. *Food Research International*, 116 : 312-319.

Zou, Y., Lu, Y., Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in Vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 : 5032-5039.

Zúniga-Moya, J. C., Bejarano-Cáceres, S., Valenzuela-Cervantes, H., Gough-Coto, S., Castro-Mejía, A, Chinchilla-López, C., Díaz-Mendoza, T., Hernández-Rivera, S., & Martínez-López, J. (2016). Antibiotic sensitivity profile of bacteria in urinary tract infections. *Acta Médica Costarricense*, 58(4) :146-154.

Annexes

Réactifs de screening phytochimique

1. Réactif de Mayer

Chlorure mercurique (HgCl₂)1.358g
Iodure de potassium (KI).....5g
Eau distillée100mL

2. Réactif de Wagner

Iodure de potassium (KI).....2g
Iode (I₂).....1.27g
Eau distillée.....100mL

3. Réactif de Dragendorff

Il s'agit d'un mélange (V/V) de deux solutions A et B.

- Solution A

Nitrate de bismuth.....1,7 g
Acide tartrique concentré.....20 g
Eau distillée.....qsp 100 ml

- Solution B

Iodure de potassium.....10 g
Eau distilléeqsp 100 ml

Le mélange est ensuite additionné de 10 g d'acide tartrique et son volume est ramené à 100 ml avec de l'eau distillée.

3. Réactif de Stiasny

Formol à 30%.....10mL

HCL concentré.....5mL

Annexen°2

Composition des milieux de culture

Mueller Hinton Agar (MHA)

Extrait de viande..... 3g
Hydrolisat acide de caséine..... 17.5g
Amidon 1.5g
Agar..... 16g
Eau distillée..... 1000mL

PH=7.3

Bouillon nutritif (BN)

Peptone..... 10g
Extrait de viande..... 5g
Chlorure de sodium 5g
Eau distillée..... 1000mL

PH= 7.2

Gélose nutritive (GN)

Peptone..... 10g
Extrait de viande..... 3g
Extrait de levure..... 3g
Chlorure de sodium..... 5g
Agar..... 18g
Eau distillée 1000 mL

PH= 7.3

Gélose Sabouraud

| | |
|--------------------|--------|
| Peptone..... | 10g |
| Dextrose..... | 20g |
| Agar..... | 15g |
| Eau distillée..... | 1000mL |

PH= 5.6±0.2

Annexen^o3

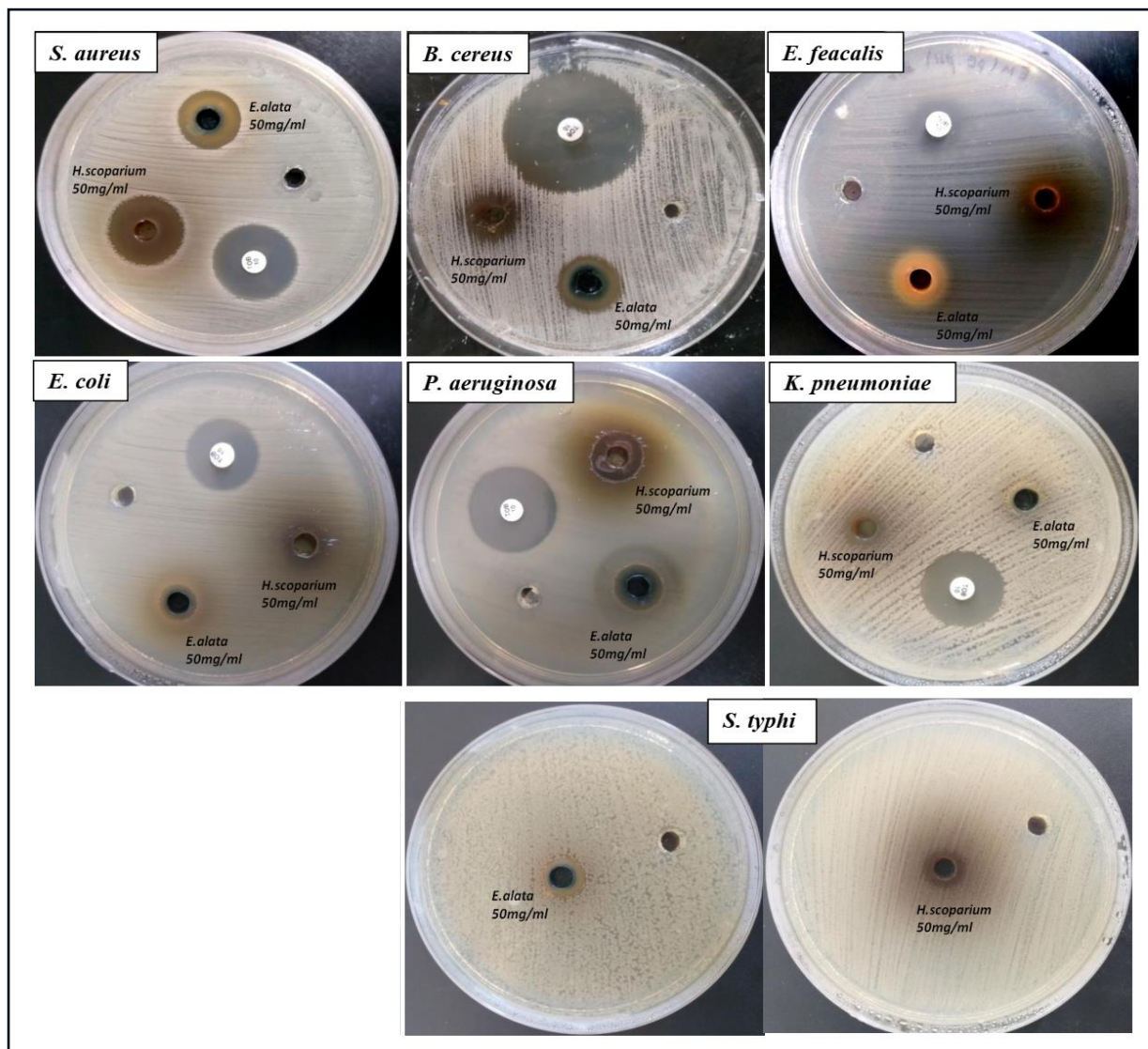


Figure n°1 : Résultats d'inhibition par diffusion des souches ATCC en milieu gélosé de l'extrait méthanolique (50 mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

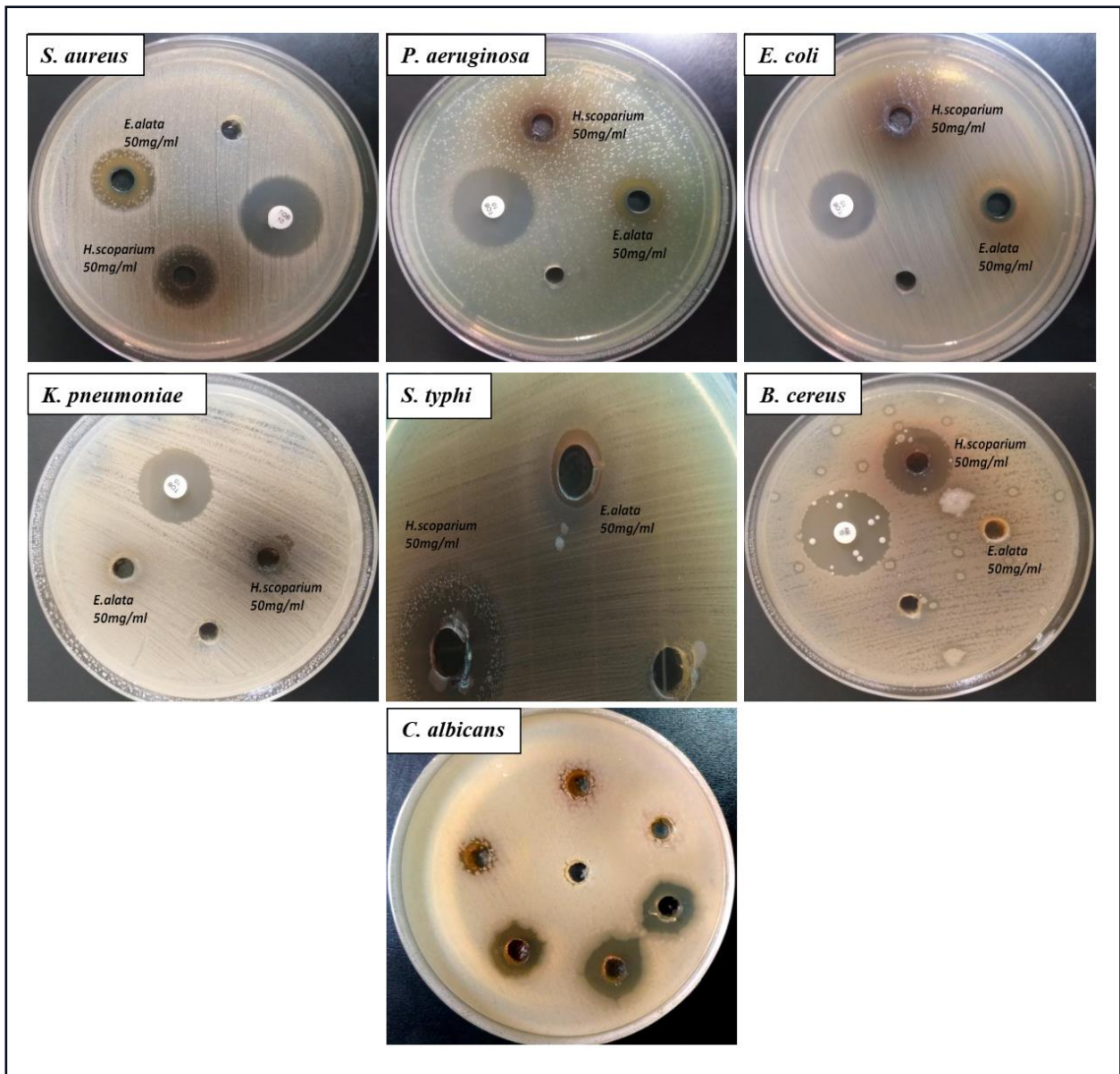


Figure n°2 : Résultats d'inhibition par diffusion des souches ATCC en milieu gélosé de l'extrait hydrométhanolique (50 mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

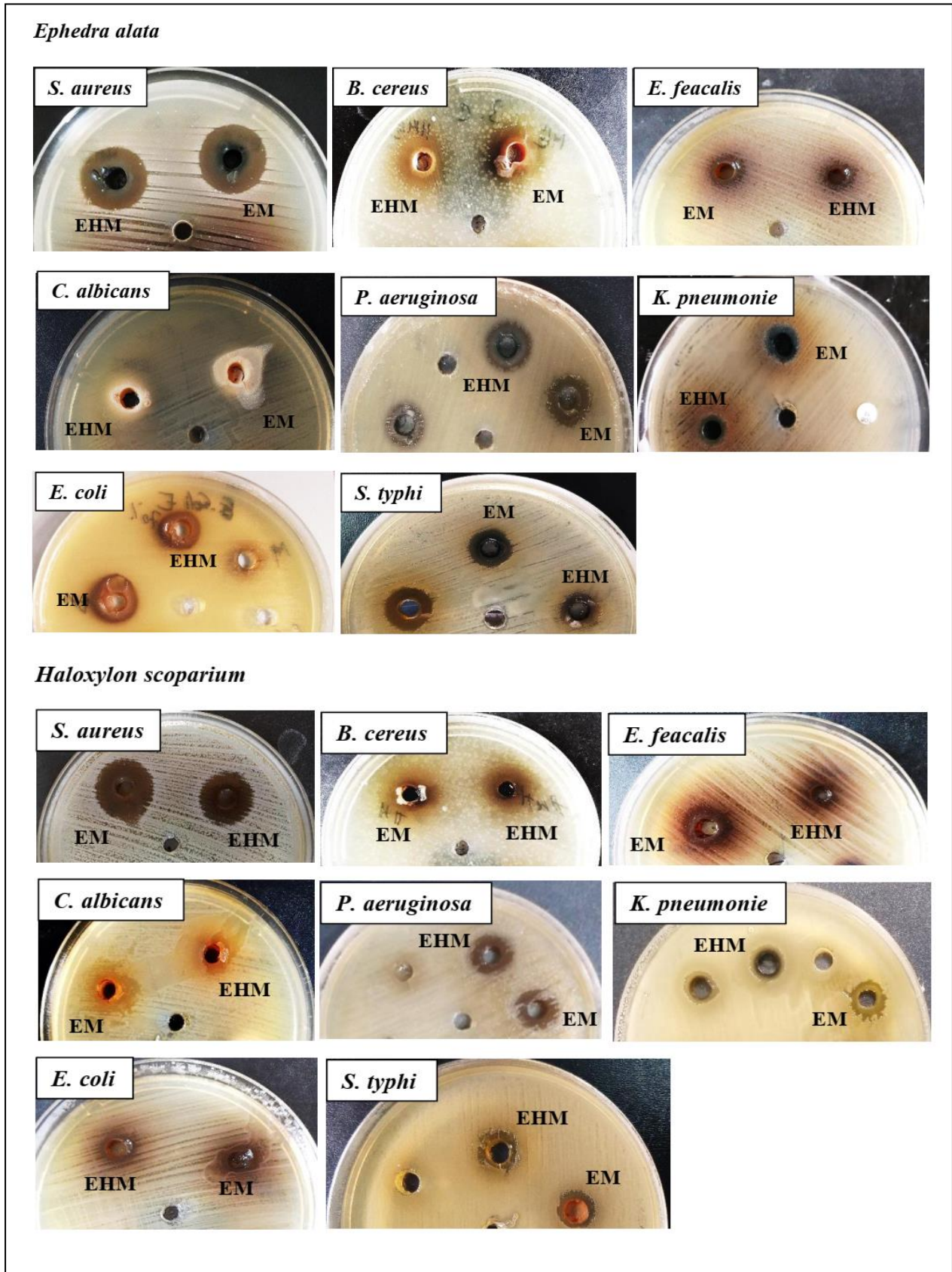


Figure n°3 : Résultats d'inhibition par diffusion des souches ATCC en milieu gélosé de l'extrait méthanolique et hydrométhanolique (100 mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

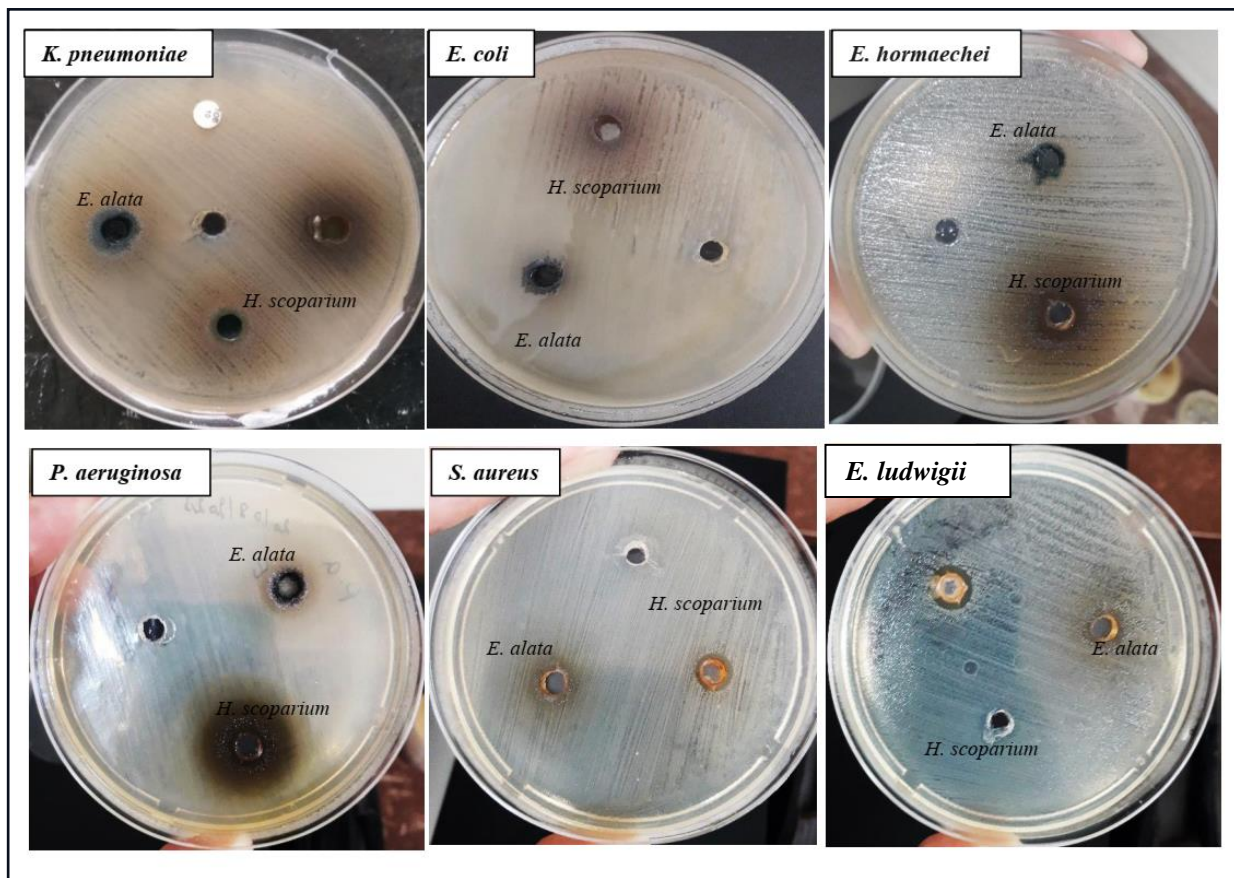


Figure n°4 : Inhibition par diffusion des isolats multirésistants en milieu gélosé de l'extrait méthanolique (50mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

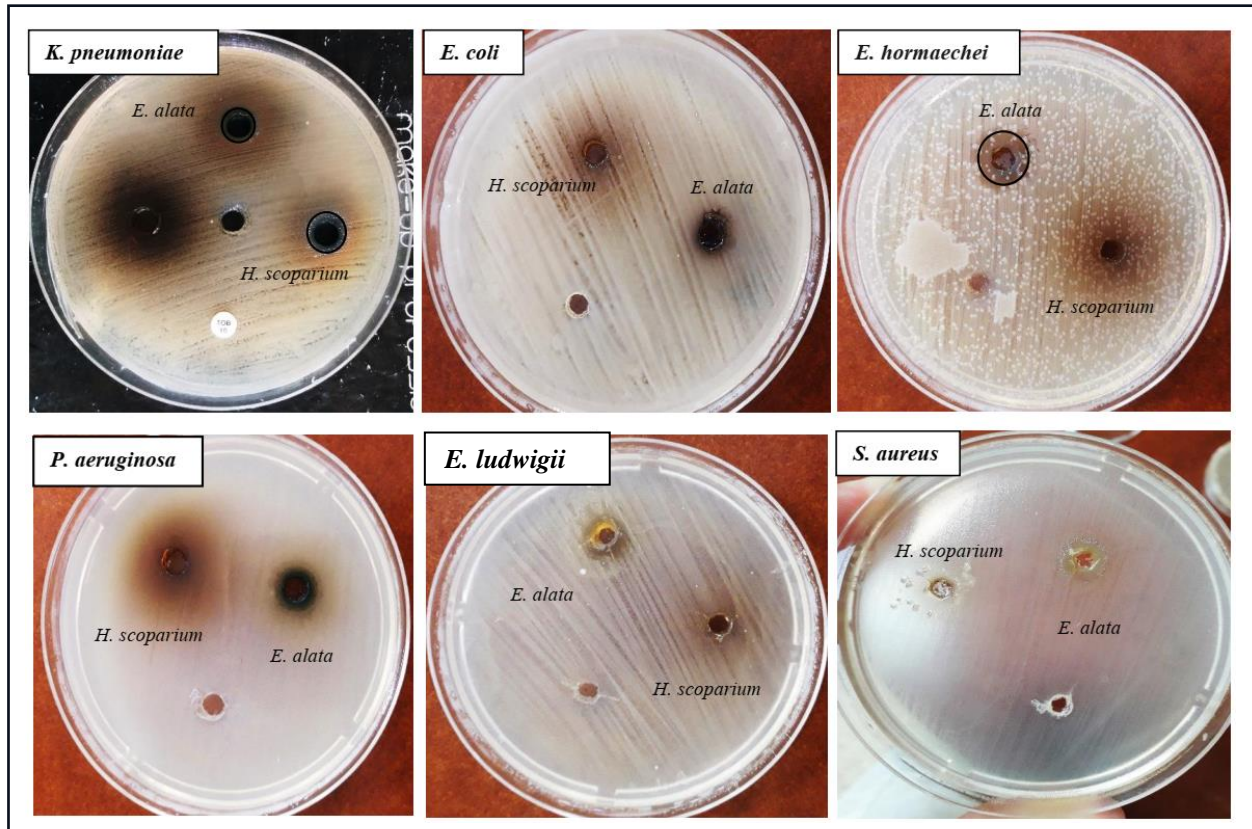


Figure n°5 : Inhibition par diffusion des souches multirésistantes en milieu gélosé de l'extrait hydrométhanolique (50mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

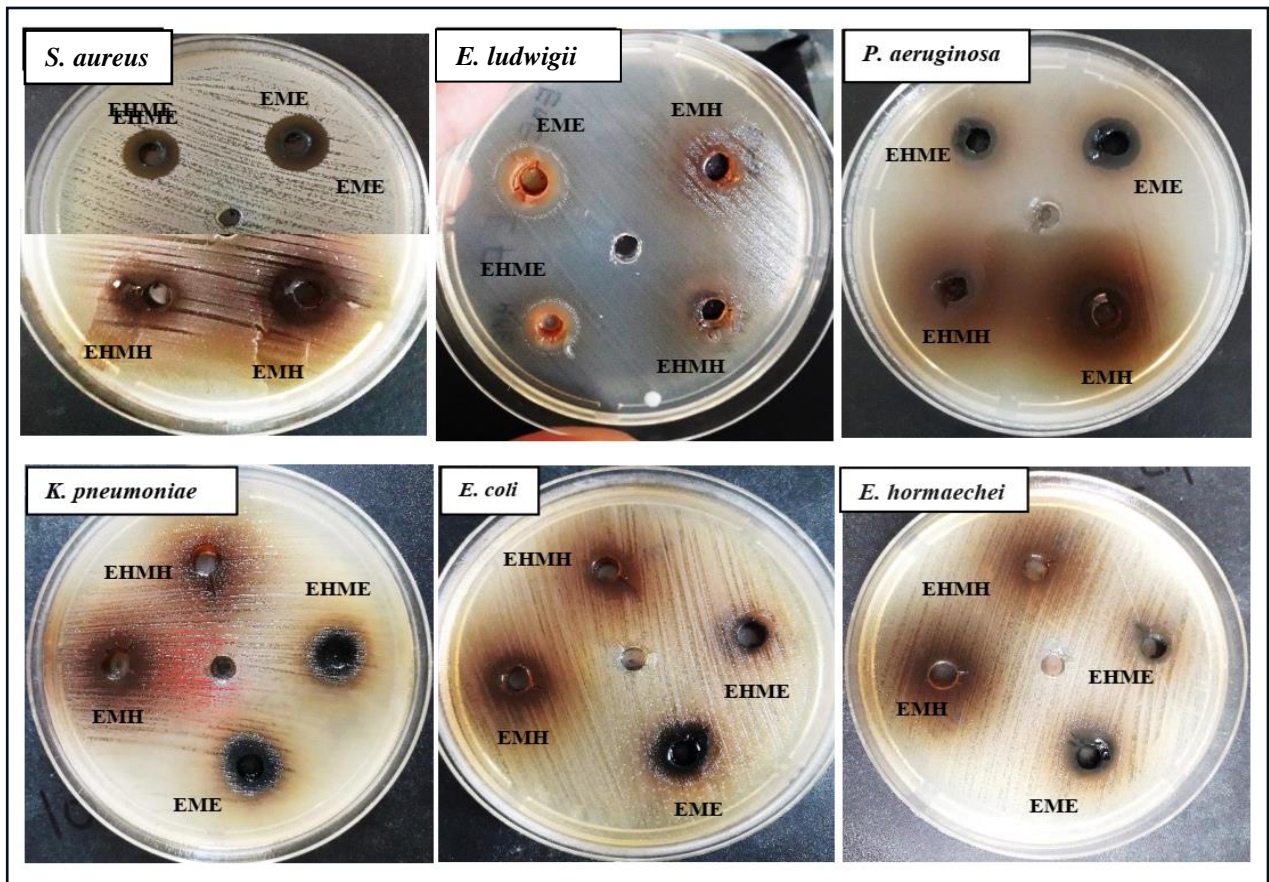




Figure n°6 : Inhibition par diffusion des isolats multirésistants en milieu gélosé de l'extrait méthanolique et hydrométhanolique (100mg/mL) de la partie aérienne d'*E. alata* et d'*H. scoparium*

Publication

SCREENING OF PHYTOCHEMICAL, EVALUATION OF PHENOLIC CONTENT, ANTIBACTERIAL AND ANTIOXYDANT ACTIVITIES OF *EPHEDRA ALATA* FROM THE ALGERIAN SAHARA

 Abdelhadi Boussena^{1,2*},  Fouad Bahri¹,  Ahmed Bouyahyaoui¹,
 Mohamed Kouidri²,  Malika Meziane²

¹Abdelhamid Ibn Badis University, Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Biology, Laboratory of Microbiology and Plant Biology, Algeria

²Hassiba Benbouali University, Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Biology, Laboratory of Natural Bio-resources, Algeria

*Corresponding Author:

E-mail: abdelhadi.boussena@yahoo.fr

(Received 04th October 2021; accepted 03th March 2022)

ABSTRACT. *Ephedra alata* is a medicinal plant that has a long history of usage in folk medicine for the treatment of several diseases such as bronchial asthma, digestive system disorders and cancer. The present study aimed to elucidate the chemical constituents of the crude methanolic and hydro-methanolic extracts of *Ephedra alata* aerial part and to assess their antibacterial and antioxidant activities. In this study, the percentage yield of crude methanolic and hydro-methanolic extracts was 12.92% and 15.01% respectively. Phytochemical screening investigations using standard method showed that *E. alata* aerial part extracts was rich in flavonoids, reducing sugars, phenols and tannins and quantitative analysis using spectrophotometric assay revealed that the methanolic extract had the highest phenols and flavonoids contents (214.92 mg AGE/g extract and 30.74 mg CE/g extract, respectively). The results of the antibacterial activity by the agar well diffusion and microdilution assays showed that the both extracts displayed antibacterial effect, especially on gram positive strains with *S. aureus* being the most sensitive. Antioxidant activity was examined by the DPPH radical scavenging method. The methanolic extract has a significant inhibitory activity (IC₅₀= 226.58 µg/mL). These findings revealed that *E. alata* extracts could be a natural source of antioxidants and antibacterials that can prevent several diseases.

Keywords: *Ephedra alata*, phytochemical, antibacterial activity, antioxidant, crude extract.

INTRODUCTION

Plant-based traditional medicine has been around for millennia. Today, this medicine is still widely used, especially in developing countries [1], not only for poverty and cultural reasons, but also for the ineffectiveness of several existing drugs and reduced side effects of medicinal herbs [2]. The chemical diversity of natural products from plants offers unlimited possibilities for new drug discovery [3]. These phytochemicals act as therapeutic agents in large number of diseases [4], where phenolic compounds being one of the most important phytochemical groups [5]. These compounds play a major role due to their pharmacological properties such as cardioprotective, anti-inflammatory, anticancer, anti-allergy, antiviral, vasodilatory and antimicrobial activities [6, 7], as well

as protective activity against oxidative damage diseases [3]. However, bacterial infections and the prevalence of resistance to certain antibiotics have become difficult to treat and we are increasingly seeing therapeutic dead ends. Faced with this problem, the search for new active substances has become a necessity. Algeria has an important richness and variety of flora estimated at about 3000 plant species of which 15% are endemic and belong to different botanical families [8]. Several of these plants of Algeria have been little studied, but have various pharmacological effects. This is the case of *Ephedra alata*.

E. alata (Alanda in Arabic) a perennial species belonging to the *Ephedraceae* family and order Gnetales, is a light green, densely branched, dioecious and small that grow to be about 50–100 cm tall, has a strong pine odor and astringent taste [1]. This ephedra species is endemic to Iran, Palestine, Saudi Arabia, Algeria, Morocco, Egypt, Tunisia, Libya, Lebanon, Jordan and Iraq, and grows profusely in arid conditions on gravely rocky, sandy, and clay soil, frequently near shifting sand dunes [5]. *E. alata* is one of the herbs used in traditional medicine, particularly its stems decoction, for the treatment of so many disorders such as kidney, bronchial asthma, circular system, digestive system disorders, cancer, fungal and bacterial infection [9, 10]. Local populations in Algeria use *E. alata* to treat influenza, colds and respiratory disorders mainly in herbal tea [13]. Some researches *in vivo* and *in vitro* about different extracts from this plant revealed several biological activities depend on the phytoconstituents such as antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, antiobesity, antidiabetic, antiviral and anticancer effects [2]. Danciu et al. [12] reported that the 70% ethanol extract of *E. alata* present anticancer effect in breast cancer cells line (MCF-7), as well as antimicrobial and antioxidant activities. Moreover, the methanolic fraction of this plant present anti-obesity and antioxidant activities [1]. Furthermore, it has also shown anti-diabetogenic effects *in vitro* and *in vivo* [13]. Health beneficial effects of *E. alata* plant extracts are related to its richness in chemical active compounds, like phenolic acids, tannins, flavonoids, cardiac glycoside, alkaloids, reducing sugars and saponins [14].

To date, the available literature does not show any reference to previous work about the phytochemical contents of *E. alata* that grows in Southwestern of Algerian sahara desert. Therefore, the present work aims to investigate the phytochemical composition of the methanolic and hydro-methanolic aerial part extracts of *E. alata*. Additionally, the antibacterial and antioxidant properties of the both extracts were also evaluated.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material and Extracts Preparation

Fresh *E. alata* aerial parts were harvested during December 2018, in a field located from Southwestern of Algeria (Bechar) (30°50'27''N, 1°59'53''W), at the altitude of 593 m. Identification were performed by the botanist Prof. Belhaçaini Hachimi, at the Microbiology and Plant Biology Laboratory at Abdelhamid Ibn Badis University-Mostaganem, Algeria (voucher series: A.h a ONA 2018). The plant materials were dried for 21 days then pulverized to obtain a fine powder and preserved at room temperature from light [8].

20 g of the dried, grounded aerial part were macerated separately in 200 mL of methanol and methanol-water at 7:3 (V/V) for 72 h in a shaker device at room temperature. Each extract was filtered and concentrated in rotary evaporator at 60°C. All

crude extracts were conserved at 4 °C until use. Yield of extracts was calculated as the following formula:

$$\% \text{ Yield} = (\text{Weight of } E. \text{ alata extract} / \text{weight of dry } E. \text{ alata}) \times 100\%$$

Phytochemical Screening

The presence of major chemical constituents in the *E. alata* extracts was performed using standard procedures as described by Pandey and Tripathi [15]. The presences of flavonoids were tested by hydrochloric acid and magnesium turnings. Ferric chloride was needed to search for phenolic compound and tannins. Acetic anhydride and sulfuric acid were used to test the sterols and triterpenoïdes. The presence of persistent foam indicates the presence of saponins. Characterization of alkaloids was performed by Dragendorff. Ferric chloride and sulfuric acid was used to search for glycosides. Fehling's reagent allowed the characterization of reducing compounds.

Determination of Total phenolic Contents (TPC)

The concentration of phenolic content in the extracts was assessed using the Folin-Ciocalteu Reagent (FCR) method [16]. Briefly, the extracts were diluted to a concentration of 1 mg/ml, then 0.5 mL of extract or standard acid gallic solution (0.025–0.125 mg/mL) are mixed with 2.5 mL FCR (10%). After 3 min at 25 °C, 2mL Na₂CO₃ (7.5%) was added and mixed well, the whole was left for 2 h at room temperature before recording its absorbance at 765 nm. The calibration curve of acid gallic standard was plotted and the total phenolic content was presented as mg acid gallic equivalents (AGE)/g extract.

Determination of Total Flavonoid Contents (TFC)

The content of total flavonoid compounds was evaluated using the aluminum chloride (AlCl₃) colorimetric assay [17]. Briefly, 50 µL of each diluted extract (1 mg/mL in methanol) or standard catechin solution (0.2–1 mg/mL), 1250 µL distilled water and 75 µL 5% NaNO₂ solution was mixed. After 6 min of reaction time, 150 µL of freshly prepared AlCl₃ solution (10%) was added and the mixture was stood for 5 min. Afterward, 500 µL NaOH solution (1M) was combined. The absorbance of this preparation was measured at 510 nm. The calibration curve of catechin standard was plotted and the total flavonoid content was presented as mg catechin equivalents (CE)/g extract.

Antibacterial Activity

Antibacterial effect of the ME and HME was evaluated by using *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhi* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 29522, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, and *K. pneumoniae* isolate bacterial strains obtained from the Algerian Pasteur institute except *Klebsiella pneumoniae* isolate which was obtained from the Laboratory of bacteriology (Bedj Sisters Hospital, chlef-Algeria), this Isolate strain was identified by morphological and biochemical tests, followed by antibiotic sensitivity assays.

The agar well diffusion assay described by Ahmad and Beg [18] was used to study the antibacterial activity. In brief, 100 µL of each bacterial suspension (10⁸ CFU/mL) were spread on to Mueller Hinton Agar (MHA) surface and wells (6 mm) were punched

aseptically in plates. Then, 50 μL of the test extracts at concentrations of 50 mg/mL were poured into the wells. Similarly, 10% DMSO was prepared as negative controls to dissolved the latex extracts while Tobramycine (10 μg), Ampicillin (30 μg) and Doxycycline (30 μg) served as positives controls. All the petri dishes treated were then putted at 4°C for 2 h before incubating overnight at 37°C. The diameter zone of inhibition (DIZ) was measured and given in millimeters (mm).

The minimum inhibitory concentration (MIC) was performed according to the microdilution method, using a 96-well microtitration plate [19]. 100 μL of the ME and HME at different concentrations (0.78 to 50 mg/mL) and 5 μL of the bacterial suspension to final concentrations of 5×10^5 CFU/mL were added to 95 μL of MH broth in each well of the plate. The Positive growth control wells consisted of bacteria only in their adequate medium while 10% DMSO served as the negative control. The plates were then incubated for 18 h at 37 °C. The lowest concentration that inhibits 90% of microorganism form growing was recorded as the MIC. The minimum bactericidal concentrations (MBC) were determined by streaked 50 μL aliquots from the clear wells with no visible growth after MIC assay, on agar plates and incubated for 18h at 37 °C. MBC was determined as the lowest concentration of extracts that exhibited no bacterial growth.

Antioxidant Activity

The procedure described by Thaiponga et al. [20] was followed to evaluate the free radical scavenging effect of *E. alata* extracts on DPPH radical. Volumes of 150 μL of extracts at various dilutions (0.0156-0.5 mg/mL) were mixed with 2850 μL DPPH working solution (24 mg/100 mL in methanol was diluted to obtain an absorbance of 1.1 ± 0.02 at 515 nm) for 30 min. The absorbance was then recorded at 515 nm. Ascorbic acid (0.003–0.12 mg/mL) and Trolox (0.006–0.2 mg/mL) were used as standards at the same conditions. The % inhibition of the extracts was calculated based on the following formula:

$$\% \text{ DPPH inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{control}}] \times 100.$$

The concentrations of samples providing 50% of antioxidant effect (IC_{50}) were determined using the graphs of antioxidant effect percentages against samples concentrations [5].

Data Analysis

Data analysis was assessed using one-way ANOVA by Tukey test in SPSS statistics (v. 25.0 program). All assays were evaluated in triplicates. The results are presented as means \pm standard deviation (SD) and differences are considered significant at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Extraction Yield

The extraction yield of the methanol (ME) and hydro-methanol (HME) extracts obtained for the aerial parts of *E. alata* are given in Table 1.

The highest yield was observed with the HME (15.01%) compared to the ME (12.92%). The difference in yield between the two extracts can be attributed to the extraction capacity of each solvent, each of which is capable of extracting well-defined

phytochemicals existing in *Ephedra alata* aerial part. The yield of the ME and HME of *E. alata* is lower than those found by Jaradat et al [1] in the different extracts of the fruits of *E. alata* collected in the Jenin area of Palestine, which are of the order of 29.0% in the methanolic extract. However, it is difficult to compare our findings with those of the literature, because the yield of extract varies depending on the extraction method and conditions, the solvent and the organ used, the geographical origin, the conditions and duration of storage, as well as the period of harvest [21].

Table 1. Yield, total polyphenols (TPC) and flavonoids (TFC) content of aerial parts extracts of *E. alata*

| <i>E. alata</i> aerial part extracts | Yield % | TPC (mg AGE/ g extract)±SD | TFC (mg CE/ g extract) ±SD |
|--------------------------------------|--------------------|----------------------------|----------------------------|
| ME | 12.92 ^a | 214.92 ± 0.01 ^a | 30.74 ± 0.008 ^a |
| HME | 15.01 ^b | 157.54 ± 0.05 ^b | 21.86 ± 0.002 ^b |

Results expressed are means ± SD (n=3). The letters (a and b) indicate a significant difference in the same column according to the Tukey test (p<0.05).

Phytochemical Screening

In this work, the qualitative phytochemical analysis of the ME and HME of the aerial part of *E. alata* showed the presence of phenols, reducing sugars, flavonoids and tannins in abundance while alkaloids, triterpenoïdes and steroids were scarcely present. The search for saponins and glycosides were revealed negative in both extracts (Table 2). The phytochemical study carried out on the *E. alata* plant showed results which are confirmed with other works, namely the presence of certain chemical families. On the other hand, we note that there is absence of other chemical families. This can be explained by a difference at the level of several parameters either geographical, physicochemical or biological parameters such as: the difference of the site of harvesting including the environment, light, precipitation, topography, season, soil type, harvesting period, genetic heritage the extraction procedure used and the part of the plant studied [22].

Table 2. Phytochemical screening test of *E. alata* aerial parts

| Phytochemicals | Reagent | ME | HME |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Flavonoids | Mg, HCl | + | ++ |
| Phenols | FeCl ₃ 2% | +++ | +++ |
| Tannins | FeCl ₃ 1% | ++ | ++ |
| Steroids | (CH ₃ CO) ₂ O, H ₂ SO ₄ | + | - |
| Triterpenoïdes | H ₂ SO ₄ | - | + |
| Saponins | H ₂ O (mousse) | - | - |
| Alkaloids | Dragendorff | + | + |
| Glycosides | H ₂ SO ₄ , FeCl ₃ | - | - |
| Reducing sugars | Fehling | ++ | ++ |

-: not detected; +: minimum content; ++: moderate content; +++: maximum content.

Determination of TPC and TFC

The contents of total phenols and flavonoids are determined from the equations of the linear regression of each calibration curve: $y = 7.598x$ ($R^2 = 0.998$) and $y = 4.391x$ ($R^2 = 0.99$), respectively. Results obtained for the ME and HME are summarizes in table 1.

Variable contents are found in the both plant extracts studied. The highest concentration of phenols (214.92 mg AGE/g extract) and flavonoids (30.74 mg CE/g extract) was measured in the ME, significantly different from HME ($p < 0.05$) (Table 1). The TPC are higher than those found by Jaradat et al. [12] in methanolic extract from the aerial part of Palestinian *E. alata* (47.62 mg AGE/g extract). Another study shows that the contents of total phenols in hexane, Ethyl acetate and ethanol extracts of Tunisian *E. alata* is 0.15, 58.47 and 164.58 mg AGE/g extract, respectively [23]. The work of Danciu et al. [16] performed on a hydroalcoholic extract of the same species revealed almost similar amounts of total phenols (156.226 mg AGE/g extract) compared to our HEM (157.54 mg AGE/g extract). More recently, work carried out on *E. alata* fruits reveals the presence of a higher amount of total flavonoids (98.95 mg RUE/g extract) than ours [1], in another work, the TPC and TFC found in the aerial parts is lower than our results (125.73 mg AGE/g and 27.89 mg QE/g extract, respectively) [2]. It is difficult to compare our findings with this work, because the use of different plant organ, different extraction method, different extraction solvents, and calibration curves (catechin, quercetin, rutin) reduce the reliability of the comparison between studies.

Antibacterial Activity

The antibacterial activity of the ME and HME of *E. alata* is done by the well diffusion and the microdilution methods. The obtained data are given as DIZ (Table 3), MICs and MBCs (Table 4). ME and HME demonstrated a dose-dependent antibacterial effect against selected pathogenic bacteria. Based on diameters of the inhibition zone values, both extracts were effective on gram-negative and especially on gram-positive bacterial strains (Table 3, Fig. 1). The MIC and MBC were 12.5 mg/mL and 50.0 mg/mL, respectively, For *E. coli*. In fact, the results showed that ME was effective, especially on *S. aureus* (MIC= 4.17 mg/mL, MBC= 12.5 mg/mL). According to a research developed by Danciu et al. [12], the hydroalcoholic extract for the Tunisia *E. alata* aerial parts showed a bactericidal activity, particularly against *S. aureus* and *E. feacalis* as Gram (+) bacteria, as well as against *Candida* spp with low concentration of MIC and MBC. Furthermore, the antibacterial effects obtained for the methanolic extract of *E. alata* are highest than ethylic and hexanic extracts [24]. Also, Ziani et al. [5] reported that the methicillin resistant and susceptible *S. aureus* (MRSA and MSSA), *E. coli* ESBL and *E. coli* strains were the most sensitive to the hydroethanolic extract of *E. alata* collected from Algeria. Recently, Dbeibia et al. [2] showed the significant activity of *E. alata* extracts against *S. aureus*.

Table 3. Diameter of inhibition (mm±SD) of *E.alata* extract

| Bacteria | Extracts (50 mg/ml) | | | Positive Control | | |
|------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------|------------|--|
| | ME | HME | TOB | AMP | DXT | |
| <i>E. coli</i> ATCC | 11.00±1.00 ^a | 8.50±0.87 ^a | 17.60±0.17 ^a | - | - | |
| <i>S. typhi</i> ATCC | 10.00±1.31 ^{a,b} | 8.00±0.73 ^{a,b} | 18.67±0.76 ^{a,b} | - | - | |
| <i>K. pneumoniae</i> ATCC | 8.00±1.00 ^{b,c} | 7.10±0.29 ^b | 19.83±1.04 ^{b,c} | - | - | |
| <i>K. pneumoniae</i> isolate | 7.57±0.81 ^c | 7.07±0.51 ^b | 00.00 ^{c,d} | - | - | |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC | 12.08±0.49 ^d | 13.03±1.70 ^c | 21.97±1.67 ^d | - | - | |
| <i>S. aureus</i> ATCC | 17.00±1.73 ^d | 16.03±1.00 ^c | 20.50±0.50 ^d | - | - | |
| <i>B. cereus</i> ATCC | 15.50±1.80 ^e | 8.33±0.58 ^d | 33.53±1.27 ^e | 25.33±0.76 | - | |
| <i>E. feacalis</i> ATCC | 11.55±0.64 ^e | 8.70±0.72 ^d | 13.67±0.46 ^e | - | 35.00±0.50 | |

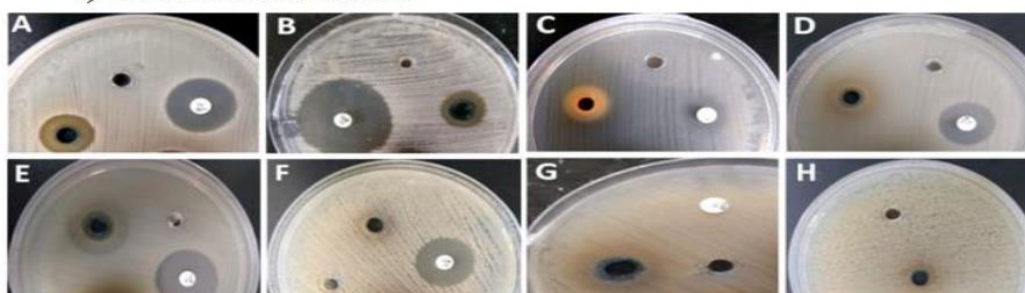
Results expressed are means ± SD (n=3). The letters (a–e) indicate a significant difference in the same column according to the Tukey test ($p < 0.05$)

The high content of phenolic compounds in the aerial part extracts of *E. alata* could explain the observed bioactivities. These compounds are known as the most dynamic substances, and they are responsible for the biological properties of a wide range of plant species. Currently, medicinal herbs and its phenolic substances has become an effective alternative with particularly low toxic effects for Biological control of pathogens [2].

Table 4. Minimum inhibitory and bactericidal concentration values of *E. alata* extracts

| Bacteria | MIC (mg/mL) | | MBC (mg/mL) | |
|------------------------------|-------------|----------|-------------|----------|
| | ME | HME | ME | HME |
| <i>E. coli</i> ATCC | 12.5±0.0 | 50.0±0.0 | 50.0±0.0 | >50 |
| <i>S. typhi</i> ATCC | 50.0±0.0 | 50.0±0.0 | >50 | >50 |
| <i>K. pneumoniae</i> ATCC | 25.0±0.0 | >50 | >50 | >50 |
| <i>K. pneumoniae</i> isolate | 50.0±0.0 | 50.0±0.0 | >50 | >50 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC | 8.33±3.61 | 50.0±0.0 | >50 | >50 |
| <i>S. aureus</i> ATCC | 4.17±1.80 | 25.0±0.0 | 12.5±0.0 | 50.0±0.0 |
| <i>B. cereus</i> ATCC | 8.33±3.61 | >50 | >50 | >50 |
| <i>E. feacalis</i> ATCC | 25.0±0.0 | >50 | >50 | >50 |

a) For methanolic extract



b) For hydromethanolic extract

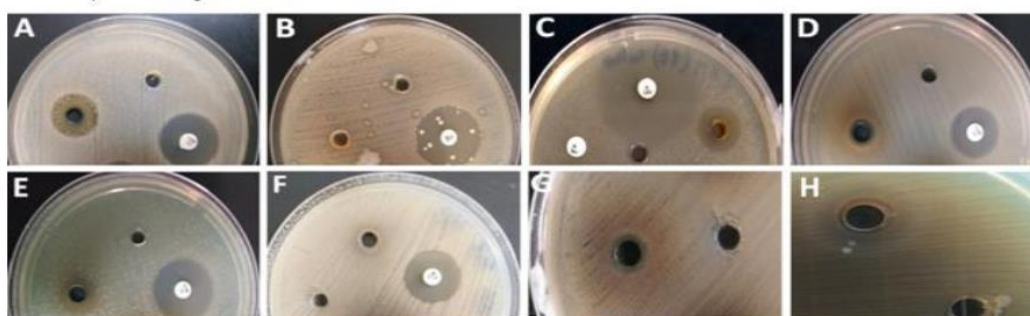


Fig. 1. Antibacterial activity of *E. alata* aerial parts extracts against pathogenic bacteria. A) *S. aureus*; B) *B. cereus*; C) *E. feacalis*; D) *E. coli*; E) *P. aeruginosa* ; F) *K. pneumoniae*; G) *K. pneumoniae* (isolate); H) *S. typhi*

Antioxidant Activity

The antioxidant power of extracts, Trolox and ascorbic acid is shown in Table 5. The antiradical activity of ME was the most potent ($IC_{50}=226.25 \mu\text{g/mL}$), considerably higher than the HME. Whereas the both extract demonstrated the significantly low antioxidants effect ($p<0.05$) compared to references standards.

According to Jaradat et al. [10] and Jerbi et al. [24], the aerial part of Palestinian *E. alata* and stem of Tunisian *E. alata* for the methanolic extract have a significant free radical scavenger DPPH ($IC_{50}=16.03 \mu\text{g/mL}$ and $27.0 \mu\text{g/mL}$, respectively). Moreover, Al-rimawi et al. [25] showed that the hydroethanolic extract of Palestinian *E. alata* had the highest radical scavenger DPPH activity ($78 \mu\text{g/mL}$) when compared to pure ethanolic and aqueous extract. There was a significant correlation between DPPH and TPC in all extracts (hydroethanolic, aqueous and ethanolic). Also, Danciu et al. [12] reported strong antioxidant activity ($7453 \mu\text{mol Trolox/g}$) in the hydroethanolic extract of *E. alata*. The difference of the bioactive substances present in different plant extracts and their contents could be explained the discordance among the antioxidant effect of plant extracts [26].

Table 5. DPPH radical scavenging assay of *E. alata* extracts

| Extracts | R ² | IC ₅₀ (μg /mL) |
|---------------|----------------|---------------------------|
| ME | 0.992 | 226.58±0.003 ^a |
| HME | 0.986 | 266.0±0.003 ^b |
| Trolox | 0.997 | 71.56±0.004 ^c |
| Ascorbic acid | 0.999 | 48.83±0.002 ^d |

Results expressed are means±SD (n=3). The letters (a–d) indicate a significant difference according to the Tukey test ($p<0.05$)

CONCLUSION

Medicinal plants contain active ingredients that can be used to treat disease. The antioxidant and antibacterial effects of secondary metabolites in plants could explain their therapeutic properties. Qualitative and quantitative phytochemical analysis showed that crude extract (ME and HME) are a sources of various metabolites compounds with interesting biological properties. In fact, the both extracts demonstrated antibacterial activities in a dose dependant – manner, especially against Gram-positive bacteria, as well as antioxidant effect. *Ephedra alata* aerial part can be an important source in search of natural bioactive substance with antioxidant and antibacterial properties.

Acknowledgement. We would like to thank Misses Naas amina, Yesla asmaa, Aberkane elalia and Bettouati zineb; Mrs. Amroun salah and Miss. Mekraf souhila laboratory engineers in the University of Hassiba Benbouali, chlef, Algeria, for the facilities given for the realization of this work

Conflict of Interest. The authors declared that there is no conflict of interest.

Authorship Contributions. Concept: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M., Design: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M., Data Collection or Processing: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M., Analysis or Interpretation: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M., Literature Search: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M., Writing: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M., Reading and review: A.B., F.B, A.B., M.K., M.M.

Financial Disclosure. This research received no grant from any funding agency/sector.

REFERENCES

- [1] Jaradat, N., Dacca, H., Hawash, M., Abualhasan, MN. (2021): *Ephedra alata* fruit extracts: phytochemical screening, anti-proliferative activity and inhibition of DPPH, α -amylase, α -glucosidase, and lipase enzymes. *Journal of BMC Chemistry* 15(1):41. <https://doi.org/10.1186/s13065-021-00768-9>
- [2] Dbeibia, A., Ben Taheur, F., Altammar, KA., Haddaji, N., Mahdhi, A., Amri, Z., Mzoughi, R., Jabeur, C. (2021): Control of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from auricular infections using aqueous and methanolic extracts of *Ephedra alata*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 29: 1021–1028. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.071>
- [3] Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015): Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects: A review. *Journal of Functional Foods* 18: 820-897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- [4] Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B. (2014): Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 5(5): 393-396. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.416>
- [5] Ziani, B.E.C., Heleno, S.A., Bachari, K., Dias, M.I., Alves, M.J., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. (2019): Phenolic compounds characterization by LC-DAD-ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Ephedra alata* Decne. *Food Research International* 116: 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.041>
- [6] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000): The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews* 52: 673-839.
- [7] Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2007): Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry* 45(34): 244-249. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.02.001>
- [8] Ouguirti, N., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Wanner, J. (2021): Chemical characterization and bioactivities assessment of *Artemisia herba-alba* Asso essential oil from South-western Algeria. *Natural Volatiles, Essential Oils* 8(2): 27-36. <https://doi.org/10.37929/nveo.844309>
- [9] Al-Qarawi, A. A., Abd Allah, E. F., & Abeer, H. (2012): Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus*. *Pakistan Journal of Botany* 44(1): 425-428.
- [10] Jaradat, N., Hussien, F., & Al Ali, A. (2015): Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of *Ephedra alata*. *Journal of Materials Environmental Science* 6(6): 1771-1778.
- [11] Ould el hadj, M.D., Hadj mahammed, M., Zabeirou, H. (2003): Place of the spontaneous plants samples in the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional east Sahara). *Courrier du Savoir* 3 : 47-51
- [12] Danciu, C., Muntean, D., Alexa, E., Farcas, C., Oprean, C., Zupko, I., Bor, A., Minda, D., Proks, M., Buda, V., Hancianu, M., Cioanca, O., Soica, C., Popescu, S., Dehelean, C.A. (2019): Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of *Ephedra alata* Decne. Hydroalcoholic extract against the MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules* 24: 1-15. <https://doi.org/10.3390/molecules24010013>
- [13] Lamine, J.B., Boujbiha, M.A., Dahane, S., Cherifa, A.B., Khlifi, A., Chahdoura, H., Yakoubi, M.T., Ferchichi, S., El Ayeb, N., Achour, L. (2019): α -amylase and α -glucosidase inhibitor effects and pancreatic response to diabetes mellitus on wistar rats of *ephedra alata* areal part decoction with immunohistochemical analyses. *Environ. Sci. Pollut. Res* 26: 9739-9754. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04339-3>
- [14] Ibragic, S., Sofic, E. (2015): Chemical composition of various *Ephedra* species. *Bosnian Journal of Basic Medical sciences* 15: 21-27. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2015.539>

- [15] Pandey, A., Tripathi, S. (2014): Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP* 115(25): 115-9.
- [16] Ozkok, A., D'arcy, B., Sorkun, K. (2010): Total phenolic acid and total flavonoid content of Turkish pine honeydew honey. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 2: 65-71. <https://doi.org/10.3896/IBRA.4.02.2.01>
- [17] Zou, Y., Lu, Y., Wei, D. (2004): Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in Vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:5032-5039. <https://doi.org/10.1021/jf049571r>
- [18] Ahmad, I., Beg, A.Z. (2001): Antimicrobial and Phytochemical Studies on 45 Indian Medicinal Plants against Multi-Drug and Resistant Human Pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* 74: 113-123. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00335-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00335-4)
- [19] Aref, H. L., Bel Hadj Salah, K., Fekih, A., Chemli, R., Mars, M., Aouni, M., Chaumon, J.P., Said, K. (2011): Variability in antimicrobial activity of latex from two varieties of *Ficus carica*. *African Journal of Microbiology Research* 5(12): 1361-1367. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.101>
- [20] Thaiponga, K., Boonprakoba, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrnes, D.H. (2006): Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- [21] Zheng, CD., Duan, YQ., Gao, JM., Ruan, ZG. (2010): Screening for antilipase properties of 37 traditional Chinese medicinal herbs. *Chin Med J* 73(6): 319-324. [https://doi.org/10.1016/S1726-4901\(10\)70068-X](https://doi.org/10.1016/S1726-4901(10)70068-X)
- [22] Akhtar, A., ul-Haq, I., Mirza, M. (2015): Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry* 11(8): 1223-1235. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.013>
- [23] Bourgou, S., Ezzine, Y., Ben Mansour, R., Dakhlaoui, S., Selmi, S., Bachkouel, S., Msaada, K., Aidi-Wannes, W., Hiroko, I., Megdiche-Ksouri, W. (2020): Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African Journal of Botany* 135: 421-428. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.09.033>
- [24] Jerbi, A., Zehri, S., Abdnabi, R., Gharsallah, N., Kammoun, M. (2016): Essential oil composition, free-radical-scavenging and antibacterial effect from stems of *Ephedra alata* in Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 19: 1503-1509. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1219275>
- [25] Al-Rimawi, F., Abu-Lafi, S., Abbadi, J., Alamarneh, A.A.A., Sawahreh, R.A., Odeh, I. (2017): Analysis of phenolic and flavonoids of wild *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 14: 130-141. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i2.1>
- [26] Mokrani, A., Madani, K. (2016): Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Sep. Purif. Technol.* 162: 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043>.