

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS – MOSTAGANEM



Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie

Option : Microbiologie



THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT
3EME CYCLE LMD

Par

OUGUIRTI Nawal

THEME

**Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques
des huiles essentielles et/ou des extraits d'*Artemisia herba-alba* et de
Capparis spinosa de la région de Béchar**

Soutenu le	Devant le jury :		
Président	Cheriguene Abderrahim	Pr	Université de Mostaganem
Directeur de thèse	Bahri Fouad	Pr	Université de Mostaganem
Co-directeur de thèse	Bouyahyaoui Ahmed	MCB	Université de Béchar
Examineur	Djibaoui Rachid	Pr	Université de Mostaganem
Examinatrice	Doukani Koula	Pr	Univerisité de Tiaret

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à louange **Allah**, le tout puissant, et le miséricordieux d'avoir me donner le courage, la volonté, le savoir et la patience d'achever ce travail.

Je tiens à remercier et exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse, **Mr. Bahri F**, professeur à l'université de Mostaganem qui a guidé, et surveillé l'exécution de ce travail en me consacrant de son temps précieux . Je lui suis très reconnaissante pour la confiance, la patience, les conseils et particulièrement son esprit responsable critique et rigoureux.

J'adresse mes remerciements les plus respectueux à mon co-directeur de thèse **Mr. Bouyahyaoui A**, Maitre 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. Mes remerciements vont également aux membres de jury **Madame Doukani Koula, Mr. Cheriguene Abderahim, et Mr. Djibaoui Rachid** d'avoir accepté de présider et d'évaluer ce travail. J'ai le grand privilège que vous présidez et examinez ma thèse, je vous remercie pour l'importance que vous attachez à mon travail. Veuillez accepter l'expression de mon profond respect.

Je tiens à remercier **Mr. Belhaçaini H**, Professeur à l'université de Sidi-Bel Abbés pour l'authentification des espèces étudiées. Je remercie également **Mr. Wanner J**, de l'université de Wallerstein (Allemagne) d'avoir réalisé l'analyse chimique des huiles essentielles. Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements et de mon respect.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude et ma reconnaissance aux techniciennes de laboratoires Djahira, Amina pour leur aide, leur disponibilité, leur générosité, et leur rôle dans l'achèvement de ce travail. À Mme Smahi Kheira de l'université de Bechar pour ses précieux conseils, et ses encouragements.

Mes remerciements vont aussi à mes collègues de laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale Amira A, Sabria B, Asma B. à Malika B, Karima B, Sara, Kawter K, Abla.

Un remerciement particulier à Amira Amraoui, Lila Ouazani, Nasreddine Aloui, Younes Zaid, Yacine Hijazi et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail, tout d'abord à mon très cher papa pour son endurance et ses sacrifices illimités, l'homme qui a toujours cru en moi et su me redonner confiance et m'encourager aux moments difficiles de ma vie.

A celle qui m'a donné la vie, et celle qui m'a entretenu depuis mon enfance, mes chères mamans, les symboles de tendresse.

A mes frères et ma sœur.

A toutes la famille OUG'UIRTI

A ceux qui me sont chers

ملخص

يهدف هذا العمل المقدم في اطار الدراسة الكيمونباتية, الى تقييم بعض النشاطات البيولوجية لنبتتين ناميتين بصفة تلقائية في الجنوب الغربي الجزائري و هما *Artimisia herba-alba* و *Capparis spinosa* . حيث اوضح التحليل الكمي للمستخلصات الهيدروميثانولية (80%) للشايح , كذلك أوراق و فواكه الكبار انها غنية بمتعددات الفينول (9.1 ± 292.97 , 5.6 ± 124.06 , 5.1 ± 47.21 ملغ مكافئ حمض الغاليك /غ من المستخلص) , الفلافونويدات (0.71 ± 28.15 , 0.59 ± 28.44 , 0.09 ± 10.48 ملغ مكافئ الكرسيتين/غ من المستخلص) و كذلك بالعص (2.8 ± 25.3 , 2.1 ± 18.40 , 1.5 ± 17.1 ملغ مكافئ الكاتشين/غ من المستخلص) على التوالي. الزيت العطري الخاص ب *A.herba-alba* و المتحصل عليه بطريقة التقطير المائي أعطى مردودية 1.73 % , بينما تحليله بتقنية CPG/FID و CPG/SM أوضح أن α -thujone و β -thujone و camphre هي المكونات الأساسية و ذلك بالنسب التالية على الترتيب (48 % , 13.40 % , 13.10 %).

كما كشفت متابعة نشاط مضاد الميكروبات الخاص بالزيت العطري لـ *A.herba-alba* على سلالات مرجعية وسريرية أنه قادر على تثبيط و منع كافة السلالات بأدنى تراكيز مثبتة قدرت ما بين 2.5 الى 10 ملغ / مل بإستثناء *P.aeruginosa* التي أبدت عدم التأثر و بعض المقاومة. بينما أبدى مستخلص الشايح , اوراق و فواكه الكبار نشاط اقل اهمية في كبح البكتيريا وذلك على بعض السلالات, تراوحت أدنى التراكيز المثبطة بين 6.25 الى 50 ملغ/مل, 25 الى 100 , 3.75 ملغ / مل الى 200 ملغ / مل على الترتيب. أعطى المزج بين المستخلصات الثلاثة خاصة مزيج مستخلصي الشايح و اوراق الكبار تعاوني فعل. كما سمح مزج الزيت العطري لـ *A.herba-alba* مع econazole, amikacine , néomycine بزيادة قطر التثبيط و منه تقوية مفعول المضاد الميكروبي على معظم السلالات.

بيّن مستخلص أوراق *C.spinosa* فعالية كبيرة مضادة للجذور الحرة بتركيز مثبط بنسبة 50% ب 0.69 ± 44.85 ميكروغرام/مل, بينما بيّن مستخلص *A.herba-alba* قدرة ارجاعية للحديد بتركيز فعال بنسبة 50% ب 1.5 ± 95.77 ميكروغرام/مل. اعطاء المستخلصات الثلاثة لفئران Wistar عن طريق الفم و بجرعات متزايدة لم يبين أي تسامات باستثناء الزيت العطري لـ *A.herba-alba* الذي اعتبر نوعا ما سام بجرعة مميتة بنسبة 50% بين 50 و 500 ملغ/كغ. نتيجة عمل مضاد الالتهاب الخاص بالمستخلصات و الزيوت الاساسية أظهر تناقص و انخفاض معتبر في وذمة المخلب بحيث أكبر نسبة تثبيط و كبح سجلت بمستخلص أوراق الكبار (71.71%) بتركيز 400 ملغ/كغ .

الكلمات المفتاحية : *Artimisia herba-alba* , *Capparis spinosa* , الزيت العطري , نشاط مضاد الميكروبات , مضاد الالتهاب، فعل تعاوني.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude phytochimique, et l'évaluation de certaines activités biologiques des deux plantes poussant à l'état spontané au sud-ouest algérien, à savoir, *Artemisia herba-alba* et *Capparis spinosa*. L'analyse quantitative des extraits hydrométhanoliques (80%) de l'armoise blanche et des feuilles et fruits du câprier a montré leur richesse en polyphénols (292.97 ± 9.1 , 124.06 ± 5.6 , 47.21 ± 5.1 mg EAG/g d'ext), en flavonoïdes (28.15 ± 0.71 , 28.44 ± 0.59 , 10.48 ± 0.09 mg EQ/g d'ext), et en tanins (25.3 ± 2.8 , 18.40 ± 2.1 , 17.1 ± 1.5 mg EC/g d'ext) respectivement. L'huile essentielle d'*A.herba-alba* obtenue par hydrodistillation a donné un rendement de 1.73%. Son analyse par CPG/FID et CPG/SM a indiqué que l' α -thujone, le β -thujone et le camphre sont les principaux constituants à des taux de 48%, 13.40%, et 13.10% respectivement. L'évaluation de l'effet antimicrobien sur des souches référencées et cliniques a révélé que l'HE d'*A.herba-alba* possède un grand effet inhibiteur à l'égard de toutes les souches avec des CMI allant de 2.5 à 10 mg/mL à l'exception de *P. aeruginosa* qui a montré une certaine résistance. L'extrait de l'armoise blanche et des feuilles et fruits du câprier ont manifesté une activité moins importante avec des effets bactériostatiques vis-à-vis certaines souches, les CMI varient entre 6.25 à 50 mg/mL, 25 à 100 mg/mL, 3.75 à 200 mg/mL respectivement. L'étude de la combinaison entre les trois extraits a montré un synergisme dans l'association entre l'extrait d'armoise et celui des feuilles du câprier. Tandis que, le résultat de la potentialisation de l'effet antimicrobien a indiqué que l'association de l'HE d'*A.herba-alba* avec la néomycine, l'amikacine, et l'econazole permettait d'augmenter considérablement les diamètres des zones d'inhibition et donc de potentialiser leur effet contre la plupart des souches.

L'extrait des feuilles de *C.spinosa* a présenté l'activité antiradicalaire la plus importante avec une IC_{50} de $44.85 \pm 0.69 \mu\text{g/mL}$. Par ailleurs, l'extrait d'*A.herba-alba* a montré le plus grand pouvoir réducteur de fer avec une CE_{50} de $95.77 \pm 1.5 \mu\text{g/mL}$. L'administration orale des trois extraits avec des doses croissantes à des rats Wistar n'a montré aucune toxicité, sauf pour l'HE d'*A.herba-alba* qui est considérée modérément toxique avec sa DL_{50} entre 50 et 500 mg/kg. Le résultat de l'effet anti-inflammatoire des extraits et de l'HE a révélé des diminutions très significatives dans l'œdème de la patte ; dont le plus grand pourcentage d'inhibition a été enregistré avec l'extrait des feuilles du câprier (71.71%) à la dose de 400mg/Kg.

Mots clés : *Artemisia herba-alba*, *Capparis spinosa*, huile essentielle, effet antimicrobien, activité antiradicalaire, effet anti-inflammatoire, synergisme.

Abstract

The present work aimed to study the phytochemical composition, and to evaluate some biological activities of two wild plant that grow spontaneously in south-western Algeria, namely, *Artemisia herba-alba* and *Capparis spinosa*. The quantitative analysis of hydromethanolic extracts (80%) of white wormwood aerial parts, and caper leaves and fruits revealed their richness on phenolics (292.97±9.1, 124.06±5.6, 47.21±5.1 mg GAE/g ext), on flavonoids (28.15±0.71, 28.44±0.59, 10.48±0.09 mg QE/g ext), and tanins (25.3±2.8, 18.40±2.1, 17.1±1.5 mg CE/g ext) respectively. The obtained essential oil of *A.herba-alba* using hydrodistillation yielded 1.73%. GC-FID/GC-MS analysis indicated that the major compounds are α -thujone (48.0%), β -thujone (13.4%), and camphor (13.1%) respectively.

The results of the antimicrobial activity against clinical and referenced strains showed that EO of *A.herba-alba* possesses a great inhibitory effect against all the tested strains with MIC ranging between 2.5 and 10 mg/mL except *P.aeruginosa* strains that were less sensitive. The white wormwood and caper leaves and fruits extracts manifested less important activities with bacteriostatic effects toward some strains, the MICs varied between 6.25 and 50 mg/mL, 25 and 100 mg/mL, 3.75 and 200 mg/mL respectively. The combination carried between the three extracts gave a synergistic effect with the association between white wormwood and caper leaves extracts. However, the improvement in the antimicrobial potency demonstrated that combination of EO with Neomycin, Amikacin, and Econazole increased substantially inhibition diameters, and so the enhancement of their effect against all the strains. Moreover, *C.spinosa* leaves extract presented the greatest antiradical ability with an IC₅₀ of 44.85±0.69 μ g/mL. Whereas *A.herba-alba* extract showed the highest iron reducing power with an EC₅₀ of 95.77±1.5 μ g/mL. Oral administration of the three extracts at increasing doses to the rat Wistar had given no toxicity, while the EO seems to be moderately toxic with its LD₅₀ between 50 and 500 mg/kg. The anti-inflammatory effect of both extracts and EO exhibited highly significant decreases in paw edema, the greatest percentage inhibition was recorded with the caper leaves extract (71.71%) at the dose of 400mg/kg.

Keywords: *Artemisia herba-alba*, *capparis spinosa*, essential oil, antimicrobial activity, antiradical ability, anti-inflammatory effect, synergism.

Tables des matières

Table des matières	i
Liste des Tableaux.....	v
Liste des Figures.....	vii
Liste des abréviations.....	ix
Introduction.....	
Partie 1: Revue bibliographique	
Chapitre I : Phytothérapie et métabolites secondaires	
I.1. Phytothérapie et métabolites secondaires.....	3
I.2. Polyphénols.....	3
I.2.1. Classification	4
I.2.1.1. Phénols simples et acides phénoliques.....	4
I.2.1.2. Flavonoïdes.....	5
I.2.1.3. Tanins.....	6
I.2.1.4. Coumarines (C6-C3)	6
I.2.1.5. Stilbénes	7
I.2.1.6. Lignanes	7
I.2.2. Propriétés biologiques des polyphénols.....	7
I.3. Terpènes.....	8
I.3.1. Huiles essentielles	9
I.3.1.1. Répartition des huiles essentielles dans la plante.....	10
I.3.1.2. Composition chimique des huiles essentielles.....	10
I.3.1.2.1. Composés terpéniques.....	10
I.3.1.2.2. Phénylpropanoïdes.....	11
I.3.1.2.3. Composés d'origine divers	12
I.3.1.3. Facteurs influençant la composition chimique des HEs.....	12
I.3.1.4. Notion de chémotype	12
I.3.1.5. Intérêt des huiles essentielles.....	13
I.3.1.6. Toxicité des huiles essentielles	13
I.4. Alcaloïdes.....	14
Chapitre II : Activités biologiques des extraits des plantes	
II.1. Activité antimicrobienne.....	15
II.1.1. Généralités sur les infections nosocomiales.....	15
II.1.1.1. Pathogènes responsables des IN.....	16
II.1.1.2. Epidémiologie des infections nosocomiales.....	16
II.1.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	17
II.1.3. Place des phytomolécules dans la lutte contre les pathogènes.....	19
II.1.3.1. Activités antimicrobiennes des polyphénols	19
II.1.3.2. Mode d'action des polyphénols.....	20
II.1.3.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	21
II.1.3.4. Mode d'action des huiles essentielles	22

II.2. Activité anti-inflammatoire.....	23
II.2.1. Inflammation.....	23
II.2.1.1. Phases de l'inflammation aiguë.....	23
II.2.1.1.1. Phase vasculaire et plasmatique.....	24
II.2.1.1.2. Phase cellulaire.....	24
II.2.1.1.3. Phase de réparation.....	25
II.2.1.2. Inflammation chronique.....	25
II.2.3. Thérapeutiques de l'inflammation.....	26
II.2.4. Plantes médicinales anti-inflammatoires.....	26
II.3. Activité antioxydante.....	27
II.3.1. Stress oxydatif et inflammation.....	27
II.3.2. Radicaux libres.....	28
II.3.2.1. Production intracellulaire ou endogène.....	28
II.3.2.2. Production extracellulaire ou exogène.....	29
II.3.3. Antioxydants.....	29
II.3.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques.....	29
II.3.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	30
II.3.4. Activité antioxydante des plantes.....	31
Chapitre III : Monographie des plantes étudiées	
III.1. <i>Artemisia herba-alba</i> Asso.....	33
III.1.1. Systématique de la plante.....	33
III.1.2. Présentation de la plante et description botanique.....	33
III.1.3. Distribution Géographique.....	34
III.1.4. Composition chimique.....	35
III.1.5. Usage traditionnel.....	36
III.1.6. Intérêt économique de la plante.....	37
III.2. <i>Capparis spinosa</i> L.....	37
III.2.1. Systématique de la plante.....	37
III.2.2. Présentation de la plante et description botanique.....	38
III.2.3. Distribution Géographique.....	39
III.2.4. Composition chimique.....	40
III.2.5. Usage Traditionnel.....	41
III.2.6. Intérêt économique de la plante.....	42
Partie 2 : Partie expérimentale	
Chapitre IV : Matériel et méthodes	
IV.1. Matériel végétal.....	43
IV.2. Screening phytochimique.....	45
IV.2.1. Alcaloïdes.....	45
IV.2. 2. Tanins.....	45
IV.2.3. Les flavonoïdes.....	46
IV.2.4. Anthraquinones libres.....	46
IV.2.5. Saponosides.....	47

IV.2.6. Terpenoides.....	47
IV.2.7. Hétérosides stéroliques et triterpéniques.....	47
IV.2.8. Composés réducteurs.....	48
IV.2.9. Stérols et tri-terpènes.....	48
IV.2.10. Les coumarines.....	48
IV.2.11. Quinones libres.....	48
IV.2.12. Mucilages.....	48
IV.3. Extraction des huiles essentielles par hydro-distillation.....	48
IV.4. Extraction des extraits par Macération.....	49
IV.5. Analyse chimique de l'huile essentielle.....	50
IV.5.1. Analyse GC-FID.....	50
IV.5.2. Analyse GC-SM.....	50
IV.5.3. Identification des composés chimiques.....	51
IV.6. Dosage des composés phénoliques.....	51
IV.6.1. Dosage des polyphénols totaux.....	51
IV.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	52
IV.6.3. Dosage des Tanins condensés.....	52
IV.7. Activités antioxydantes.....	53
IV.7.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	53
IV.7.1.1. Test DPPH d'huile essentielle.....	53
IV.7.1.2. Test DPPH des extraits.....	53
IV.7.2. Test de FRAP.....	54
IV.8. Etude biologique.....	55
IV.8.1. Sensibilité des souches aux antibiotiques et antifongiques.....	56
IV.8.2. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits.....	56
IV.8.3. Etude de la combinaison entre les extraits.....	58
IV.8.4. Etude de la combinaison entre les antibiotiques et les extraits.....	59
IV.9. Etude Pharmacologique.....	60
IV.9.1. Etude de la toxicité aigüe.....	60
IV.9.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire <i>in-vivo</i>	61
Chapitre V : Résultats et discussion	
V.1. Screening phytochimique.....	63
V.2. Rendement d'extraction.....	65
V.3. Résultats d'analyse chimique.....	67
V.4. Analyse quantitative des extraits (Teneur en polyphénols, flavonoïdes, et tanins).....	69
V.5. Effets antioxydants.....	72
V.5.1. Piégeage du radical DPPH.....	72
V.5.2. Test de FRAP.....	76
V.6. Etude de l'activité antimicrobienne.....	79
V.6.1. Profils de sensibilité des souches testées vis-à-vis les agents antimicrobiens standards.....	79
V.6.2. Pouvoir antimicrobien des extraits.....	80
V.6.2.2. Détermination de la CMI et la CMB /CMF.....	83
V.6.2.3. Etude de la combinaison entre les extraits.....	87
V.6.3. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d' <i>A.herba-alba</i>	89
V.6.3.1. Technique de diffusion en milieu gélosé.....	89
V.6.3.2. Détermination de la CMI et la CMB/CMF.....	91
V.6.4. Etude de la combinaison entre les antibiotiques et les extraits.....	92

V.7. Etude pharmacologique.....	96
V.7.1. Test de toxicité aigüe.....	96
V.7.2. Activité anti-inflammatoire.....	97
Conclusion et perspectives.....	104
Références Bibliographiques.....	107
Annexes.....	138

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Coordonnées géographiques des sites de récolte des deux espèces	43
Tableau n° 2 : Liste des souches microbiennes testées	55
Tableau n° 3 : Résultats de criblage phytochimique des deux plantes <i>A.herba-alba</i> et <i>C.spinosa</i>	63
Tableau n° 4 : Rendement d'extraction en (%) de <i>Capparis spinosa</i> et d' <i>Artemisia herba-alba</i> .	65
Tableau n° 5 : Composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne d' <i>A.herba-alba</i> .	67
Tableau n° 6 : Teneurs des extraits hydrométhanoliques d' <i>A.herba-alba</i> et de <i>C. spinosa</i> en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.	70
Tableau n° 7 : Résultats des IC50 exprimés en (µg/ml) d'inhibition de DPPH des différents extraits.	73
Tableau n° 8 : Valeurs de la concentration inhibitrice 50 (µg/mL) de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique obtenues par le test de DPPH.	75
Tableau n° 9 : Valeurs de la concentration efficace 50 des extraits des espèces étudiées et de l'acide ascorbique	77
Tableau n° 10 : Antibiogramme et antifongigramme des différentes souches microbiennes utilisées.	81
Tableau n° 11 : Résultats de CMI et CMB des extraits d' <i>A.herba-alba</i> et de <i>C.spinosa</i> exprimés en (mg/mL).	84
Tableau n° 12 : Effets des trois extraits sur les différentes souches étudiées.	86
Tableau n° 13 : Valeurs des CIF, indice de CIF, et Effet inhibiteur de l'association de l'extrait d' <i>A.herba-alba</i> et d'extrait des feuilles de <i>C.spinosa</i> .	88
Tableau n° 14 : Valeurs des CIF, l'indice de CIF, et Effet inhibiteur de l'association des extraits des feuilles et fruits de <i>C.spinosa</i> .	88
Tableau n° 15 : Valeurs des CIF, l'indice de CIF, et Effet inhibiteur de l'association de l'extrait d' <i>A.herba-alba</i> et d'extrait des fruits de <i>C.spinosa</i> .	89
Tableau n° 16 : Diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d' <i>A.herba-alba</i> (mm).	90
Tableau n° 17 : CMI et CMB de l'huile essentielle d' <i>A.herba-alba</i> (mg/mL).	92

Tableau n° 18 : Diamètres d'inhibition (mm) de l'association des antibiotiques avec l'huile essentielle et les extraits d' <i>A.herba-alba</i> et de <i>C. spinosa</i> .	93
Tableau n° 19 : Effet d'extrait d' <i>A.herba-alba</i> et des feuilles et fruits de <i>C.spinosa</i> sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.	98
Tableau n° 20 : Effet de l'huile essentielle d' <i>A.herba-alba</i> sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.	100

Liste des figures

Figure 1 : Structure de base des principaux flavonoïdes.	5
Figure 2 : Structure chimique de l'acide gallique (A) et ellagique (B).	6
Figure 3 : Exemple de composés phénoliques flavonoïdes et non flavonoïdes.	8
Figure 4 : Structure de l'unité isoprénique.	8
Figure 5 : Exemple de structure des monoterpènes et sesquiterpènes.	11
Figure 6 : Exemple des composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des HEs.	11
Figure 7 : Mécanisme d'action et les cibles des HEs sur les cellules microbiennes.	23
Figure 8 : Réaction vasculo-exsudative et processus de migration des neutrophiles.	25
Figure 9 : Les ROS et RNS et leurs sources de facteurs endogènes et environnementaux.	30
Figure 10 : Différentes parties de la plante <i>A.herba-alba</i> dans son milieu naturel.	34
Figure 11 : Différentes parties de <i>C.spinosa L</i> dans son milieu naturel.	39
Figure 12 : <i>Artemisia herba-alba</i> .	43
Figure 13 : <i>Capparis spinosa</i> (feuilles et fruits).	44
Figure 14 : Carte géographique des zones de collecte des espèces étudiées.	44
Figure 15 : Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba-alba</i> .	49
Figure16 : Représentation graphique montrant une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH due à l'exposition à un antioxydant.	54
Figure 17 : (a) Administration orale de l'extrait ; (b) Injection sub-plantaire de la carragénine ;(C) Mesure de diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.	62
Figure 18 : Pourcentages d'inhibition de DPPH par les extraits et l'acide ascorbique.	73
Figure 19 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits.	73
Figure 20 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées d'acide ascorbique.	74
Figure 21 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en présence de l'huile essentielle d' <i>A.herba alba</i> , et de l'acide ascorbique.	75

Figure 22 : pouvoir réducteur de l'extrait d' <i>A.herba-alba</i> .	76
Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles de <i>C.spinosa</i> .	76
Figure 24 : pouvoir réducteur de l'extrait des fruits de <i>C.spinosa</i> .	76
Figure 25 : pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.	76
Figure 26 : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle d' <i>A.herba-alba</i> .	78
Figure 27 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des différents extraits obtenus avec les souches testées.	82
Figure 28 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème plantaire par les extraits d' <i>A.herba-alba</i> , de <i>C.spinosa</i> et du Diclofénac.	99
Figure 29 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème plantaire par l'huile essentielle d' <i>A.herba-alba</i> .	100

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien

HE : Huile essentielle

ERO : Espèce réactive à l'oxygène

DL50 : La dose létale 50

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

SM : Spectrométrie de masse

FID : Détecteur par ionisation de flamme

ATCC : American Type Culture Collection

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CIF : Concentration Inhibitrice Fractionnaire

TTC : 2,3,5-diphenyltetrazolium Chloride

EDS : Eau distillée stérile

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle

FRAP : Pouvoir antioxydant de réduction de fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

CI50 : Concentration inhibitrice 50

CE50 : Concentration efficace 50

MH : Mueller-Hinton

BS : Bouillon Sabouraud

Introduction

Au cours de ces dernières décennies, les infections associées aux soins de santé, appelées également des infections nosocomiales (IN) prennent véritablement de plus en plus d'ampleurs, qu'elles sont devenues un vrai problème de santé publique (OMS, 2010). Elles sont responsables de taux élevé de morbidité et de mortalité dans les hôpitaux. La principale cause de ces infections réfractaires est la multirésistance des bactéries aux antibiotiques, qui en résulte l'utilisation abusive et inappropriée de ces agents antimicrobiens (OMS, 2019 ; Sbayou *et al.*, 2014). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa* représentent les trois principales bactéries le plus souvent mise en cause (Angoue, 2020). D'une part face à ce grand problème, la recherche des substances alternatives à effet antimicrobien nécessite l'exploration de toutes les stratégies possibles.

D'autre part, l'utilisation des antioxydants de synthèse comme additif dans les secteurs d'agro-alimentaire, en cosmétique, et en pharmaceutique est suspecté d'avoir des effets controversés sur la santé humaine. En effet, les aspects de sécurité de ces antioxydants chimiques sont discutés car plusieurs effets carcinogènes, et tératogènes sont possibles (Dellal *et al.*, 2018 ; Tlili *et al.*, 2015). En outre, l'usage de façon routinière des anti-inflammatoires pour réduire la douleur lors de l'inflammation conduit à des effets graves. Ces agents peuvent engendrer des risques de toxicité gastro-intestinales, des accidents cardiovasculaires, et des troubles rénaux (Strate *et al.*, 2011). Pour ces raisons le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydations, ainsi que l'inflammation (Caplan *et al.*, 2017).

En conséquence les recherches actuelles sont basées sur la découverte de nouveaux antibiotiques, anti-oxydants et également des anti-inflammatoires principalement dans des sources naturelles, et parmi les solutions disponibles les métabolites secondaires des plantes représentent des sources prometteuses riches en plusieurs phytomolécules doués de plusieurs activités biologiques (Zhang et Ma., 2018). Les huiles essentielles et les extraits des plantes sont connus par leurs propriétés anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques, et antivirales (Luciardi *et al.*, 2016).

Ces constatations nous ont donné l'idée d'étudier les propriétés biologiques, pharmacologiques et phytochimiques des extraits et huiles essentielles des deux plantes médicinales poussant à l'état spontané en Algérie dans la wilaya de Bechar à savoir : *Artemisia herba-alba* et *Capparis spinosa*. Plusieurs études ont été menés sur les activités biologiques des extraits de ces deux espèces, ainsi

que la composition chimique des huiles essentielles d'*A.herba-alba* ((**Abu-Darwish et al., 2015; Bezza et al., 2010; Mighri et al., 2010 ;Chedraoui et al., 2017; Eddouks et al., 2017; Tlili et al., 2017**). Mais l'étude de leur toxicité, leur profil aromatique, leur effets anti-inflammatoires *in-vivo*, et le plus important leur combinaison avec les antibiotiques contre les microorganismes pathogènes reste limitée. Dans ce contexte, nous avons ciblé les objectifs suivants :

- ✓ Extraction et évaluation des teneurs des extraits en polyphénols, flavonoïdes et en tanins.
- ✓ Extraction des huiles essentielles de la partie aérienne d'*A.herba-alba*.
- ✓ Caractérisation chimique des huiles essentielles par CPG-SM.
- ✓ Evaluation de l'effet antimicrobien des extraits hydro-méthanoliques issues des deux espèces et de l'huile essentielle d'*A.herba-alba*
- ✓ Etude de l'effet antimicrobien de la combinaison des extraits des deux espèces étudiées
- ✓ Etude de l'effet antimicrobien de l'association des extraits avec les antibiotiques
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits et des huiles essentielles.
- ✓ Détermination de la toxicité des différents extraits et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in-vivo*.

Revue Bibliographique

Chapitre I

Phytothérapie et métabolites secondaires

I.1. Phytothérapie et métabolites secondaires :

Depuis la nuit du temps, l'homme apprécie les vertus thérapeutiques des plantes pour son bien-être. Au fil des siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales, l'homme a progressivement sélectionné celles qui lui sont bénéfiques accumulant ainsi des connaissances précieuses qu'il a transmises oralement d'une génération à une autre. Aujourd'hui, encore les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives, et l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (OMS, 2002).

La phytothérapie est l'utilisation des plantes ou formes galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction à des fins thérapeutiques (Sofowora, 2010). L'exploitation de ces ressources naturelles est encore capitale à l'heure actuelle, les produits naturels et leurs dérivés représentent plus d'un tiers de toutes les nouvelles entités moléculaires. En effet, plusieurs milliers de molécules chimiques différentes peuvent être bio-synthétisées par une plante. Leurs métabolites secondaires sont extrêmement diversifiés dont on trouve plus de 200 000 structures différentes qui peuvent avoir des rôles fonctionnels importants (Fahed, 2016). Beaucoup de ces substances servent de moyen de défense des plantes contre les prédateurs et les pathogènes. Ces composés phytochimiques marquent de manière originale, une famille, un genre, ou une espèce, de plante, et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. On trouve les métabolites secondaires dans toutes les parties de la plante mais leur distribution dépend généralement de leurs rôles. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : les composés phénoliques, les terpénoïdes, et les alcaloïdes (Hartmann, 2007; Marouf et Reynaud, 2007).

I.2. Polyphénols :

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des produits de métabolisme secondaire des plantes qui regroupe un ensemble varié de plus de 8000 molécules (Bruneton, 1993). Ils se caractérisent par la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones (noyau benzénique), lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH), libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthyle, ester, sucre..), ils peuvent être regroupés en différentes classes selon leur configuration chimique : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins et les lignines (Abbas *et al.*, 2017).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs dans les racines, les tiges, les fleurs, et les feuilles. Ce sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation qui se trouvent dans les légumes et fruits, les légumes secs et graines oléagineuses, les céréales, les olives, le café, et les jus de fruits. Les fruits et légumes contribuent environ pour la moitié de notre apport en polyphénols (**Middleton *et al.*, 2000**).

Un rôle important est attribué aux phénols dans la résistance des plantes aux maladies, Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. En effet l'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les zones avoisinantes est également observée à la suite de blessures causées par des facteurs mécaniques. De plus, les polyphénols sont connus aussi pour leur rôle dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur, pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, et enfin pour leurs propriétés antifongiques et antibactériennes (**Benhammou, 2012**).

I.2.1. Classification :

Il existe plusieurs classes des polyphénols, principalement, les acides phénoliques simples, les phénols simples, stilbènes, coumarines, tanins, quinones, flavonoïdes, lignanes, lignines et xanthones.

I.2.1.1. Phénols simples et acides phénoliques :

- **Phénols simple :** les phénols simples tels que le catéchol, gaulthérol, phloroglucinol sont plutôt rare dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs famille des plantes (Rosacées) (**Bruneton, 2009**).
- **Acides phénoliques :** Ils représentent tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques se trouvent en abondance dans les fruits et les aliments, et sont subdivisés en deux groupes :
 - **Acides hydroxybenzoïques :** ces acides présentent une structure en C6-C1, composés d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. Sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou

d'hétéroside. On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gallique et l'acide gentsique.

- **Acides hydroxycinnamiques** : dérivés de l'acide cinnamique et ont une structure de base (C6-C3) (**figure 3**). Leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones. Ils sont très répandus, rarement libres, souvent estérifiés et peuvent être acidifiés ou combinés avec d'autres sucres ou polyols tels que l'acide quinique (**Achat, 2013**).

I.2.1.2. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus représentatif et le plus étudié des composés phénoliques (**figure 1**) ; ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. De point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, à ce jour environ 4000 variétés flavoniques sont connus, et ont tous la même structure de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane, les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux aromatiques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (**de Rijke et al., 2006; YAO et al., 2004**).

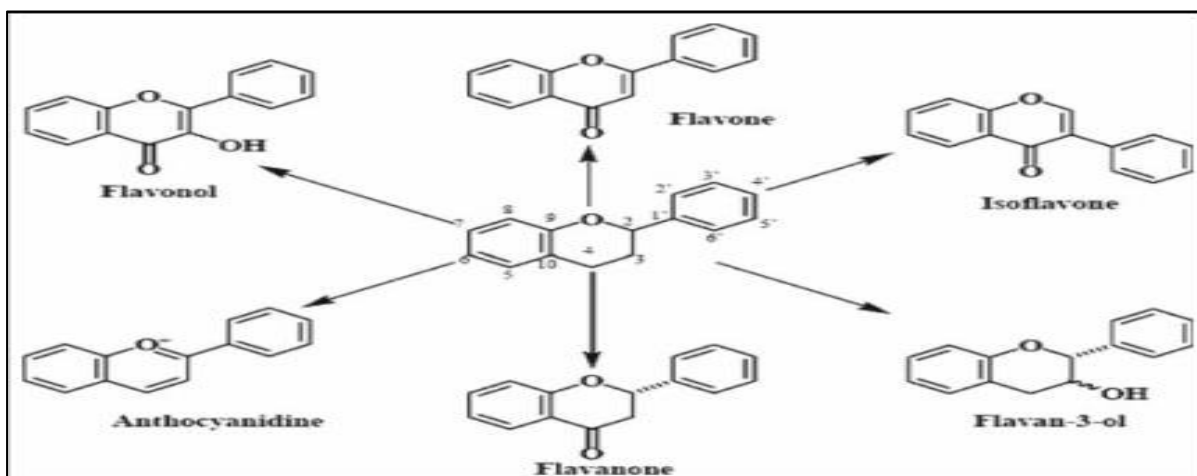


Figure 1 : Structure de base des principaux flavonoïdes (**Chira et al., 2008**).

Les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères. Le squelette

d'hydrocarbures est la base de subdivision des flavonoïdes en plusieurs sous-classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones ; isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanones, isoflavanones, auronnes (Effendi, 2008; Tsimogiannis et Oreopoulou, 2019).

I.2.1.3. Tanins :

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire très répandu dans le règne végétal particulièrement dans certaines familles (Fagacée, rosacées, conifères), et se trouvent dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines. Ce sont des molécules fortement hydroxylées ayant la capacité de former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux protéines, aux glucides et aux enzymes digestives en réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés ainsi à d'autres polymères tel que la cellulose et aux éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2010). Ils sont divisés en deux groupes : les tanins condensés constituent d'unité de flavan-3-ols ou flavan-3-diols, le plus souvent épicatechine et catéchine ; et les tanins hydrolysables qui peuvent libérer par hydrolyse chimique ou enzymatique une partie non phénolique (souvent de glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins) soit un dimère de ce même acide, l'acide èllagique (cas des èllagitannins) (figure 2) (Macheix, 1996).

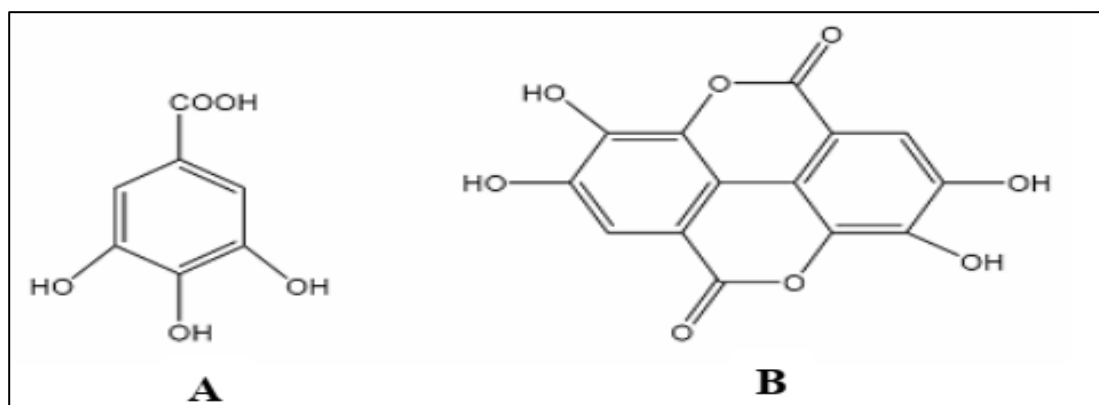


Figure 2 : Structure chimique de l'acide gallique (A) et ellagique (B) (Benhammou, 2012).

I.2.1.4. Coumarines (C6-C3) :

Sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné

avec des sucres, et constituent un moyen de défense aux attaques biotiques et abiotiques (**Bendif Hamdi, 2017**).

I.2.1.5. Stilbènes :

Composés phénoliques qui possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines produites par les plantes en réponse aux attaques des pathogènes (resveratrol, trans-resveratrol). Les principales sources sont les raisins, les vins, soja, les arachides (**figure 3**) (**Ozcan et al., 2014**).

I.2.1.6. Lignanes :

Résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Ils sont élaborés par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique ; ils se trouvent essentiellement dans les graines oléagineuses, celles de lin sont la source la plus importante, ensuite les haricot blanc, lentille, et certains légumes (**Dacosta, 2003**).

I.2.2. Propriétés biologiques des polyphénols :

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent plusieurs domaines particulièrement la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. De nos jours, leur rôle est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Nsemi, 2010**). Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres (hydroxy, anion superoxyde et des radicaux peroxy lipidiques), générés par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement et qui favorisent le vieillissement cellulaire. On attribue aussi aux flavonoïdes des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques antispasmodiques, antibactériennes, hépatoprotectrices, et vasodilatatrices, ils augmentent la résistance capillaire en diminuant ainsi la perméabilité membranaire (le diosmine extrait de *Ginkgo biloba L.*). Les anthocyanes sont également utilisés comme vasoprotecteur, mais aussi en ophtalmologie en raison de leur plus grande capacité d'améliorer la vision nocturne par la régénération du pourpre rétinien (myrtille, cassis). En outre, les tanins ont un certain pouvoir astringent, pour cela ils sont dotés par un effet vasculoprotecteur, anti-diarrhéique, et cicatrisant. Les tanins catéchiques du thé vert, et les coumarines ont également la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes, et ils préviennent la peroxydation des lipides membranaires (**Benhammou, 2012; Hennebelle et al., 2004; Rahman et al., 2006**).

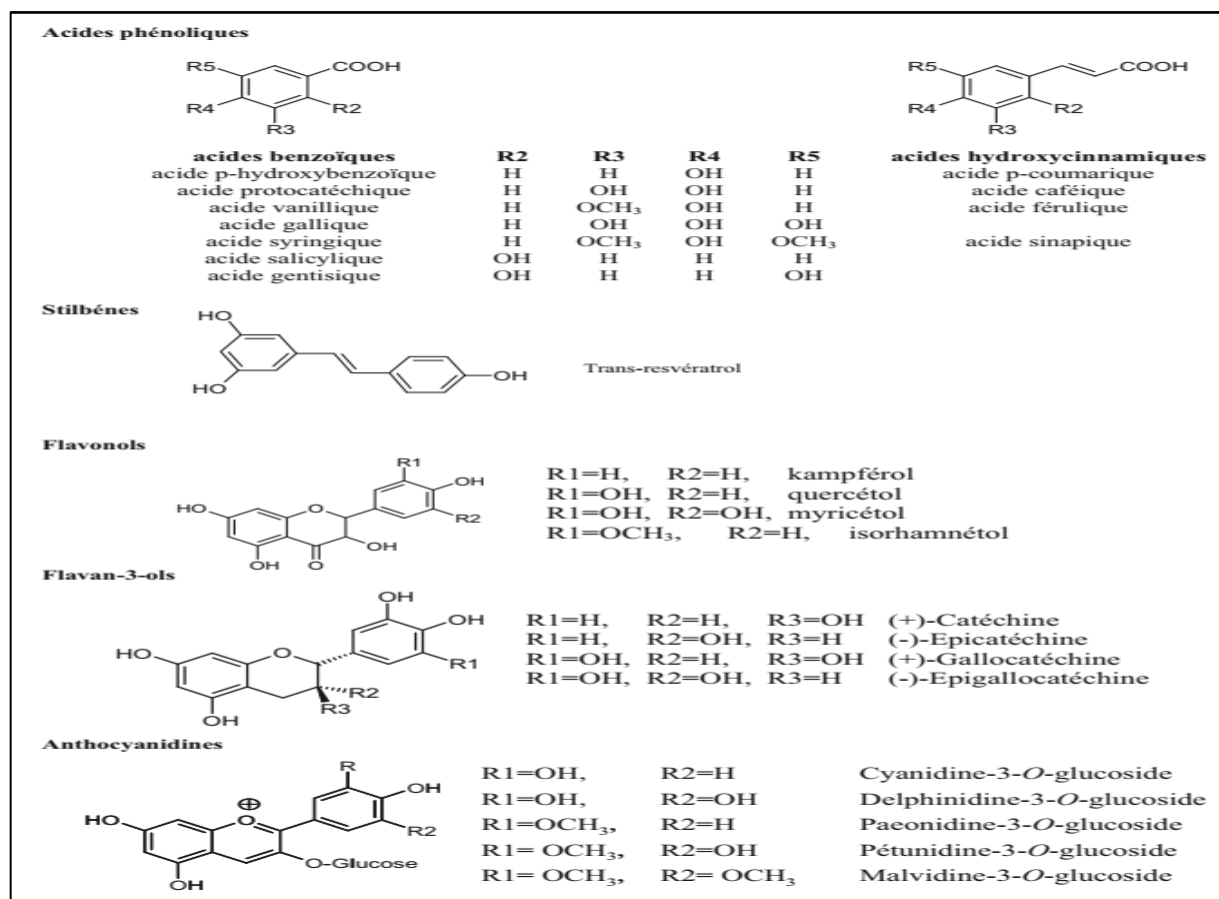


Figure 3 : Exemple de composés phénoliques flavonoïdes et non flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

I.3. Terpènes :

Les terpènes constituent l'un des principaux groupes de composants chimiques, qui sont à la fois structurellement et fonctionnellement différents. Ce sont des hydrocarbures naturels produits par une grande variété de plantes de structure cyclique ou de chaîne ouverte, leur structure de base la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) dérivées du 2-méthylbutadiène (Hernandez Ochoa, 2005).

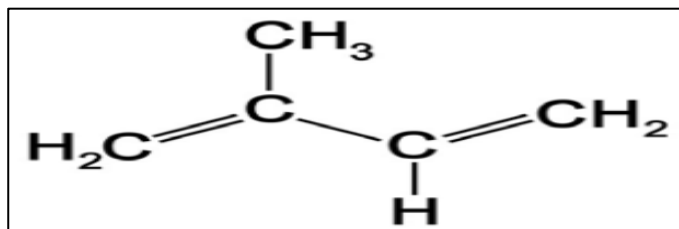


Figure 4 : Structure de l'unité isoprénique (Jouault, 2012)

Les terpènes sont classés en fonction du nombre et de l'organisation structurale des carbones formés par l'arrangement linéaire des unités isoprènes, suivi d'une cyclisation et de réarrangements du squelette carboné avec une caractéristique empirique connue sous le nom de règle de l'isoprène (**Ludwiczuk et al., 2017**). Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C_5) \times n ramifiées, on peut faire la classification suivante : hémiterpènes (n=1, C₅), les monoterpènes (n=2, C₁₀), les sesquiterpènes (n=3, C₁₅), les diterpènes (n=4, C₂₀), sesterpènes (n=5, C₂₅), les triterpènes (n=6, C₃₀), les tétraterpènes ou carotènes (n=8, C₄₀), et les polyterpènes (C_5H_8)_n (**Bendif Hamdi, 2017**). Les terpénoïdes sont un autre type, qui contient de l'oxygène. Le nom générique "terpène" était à l'origine appliqué aux hydrocarbures présents dans la térébenthine, il ne s'adresse aujourd'hui qu'aux mono-terpénoïdes hydrocarbonés. Les terpénoïdes sont plus connus en tant que composants majeurs des huiles essentielles qui comprennent des fractions responsables de l'odeur et/ou de l'arôme caractéristique de nombreuses plantes ; les mono- et sesquiterpénoïdes agissent comme des composés majeurs des HEs. Les monoterpénoïdes seuls représentent 90% et sont significativement associés à la formation d'une grande variété de structures (**Deschepper, 2017; Thormar, 2011**).

I.3.1. Huiles essentielles :

Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges liquides, volatiles, naturels, limpides et rarement colorés, liposolubles et solubles dans les solvants organiques, complexes de composés de faible poids moléculaire avec une densité généralement inférieure à celle de l'eau. Elles sont caractérisées par une forte odeur, et naturellement synthétisées par les plantes en tant que métabolites secondaires en réponse aux attaques des insectes, des herbivores et d'autres organismes (**Bakkali et al., 2008; Raut et Karuppayil, 2014**). Selon la Pharmacopée européenne l'HE est définie comme « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique » (**AFNOR, 2000**). Cette définition exclut les produits d'extraction obtenus par les solvants ou fluides supercritiques.

I.3.1.1. Répartition des huiles essentielles dans la plante :

En principe, les huiles essentielles se répartissent dans divers organes des plantes : graines (carvi), fleurs (origan), feuilles (citronnelle), bourgeons (pin), tiges (myrte), fruits (badiane), racines (vétiver), le bois (bois de rose) ou l'écorce (cannelier), stockées dans des structures spécialisées caractéristiques de chaque espèce ou famille ; dont les plus importantes sont les cellules sécrétrices, les osmophores, les cavités sécrétrices, les canaux sécréteurs, les trichomes glandulaires et les cellules épidermales (Bakkali *et al.*, 2008; Raut et Karuppayil, 2014).

I.3.1.2. Composition chimique des huiles essentielles :

Plus de 50 molécules à différentes concentrations peuvent entrer dans la composition chimique d'une huile essentielle. Les composants majoritaires peuvent représenter, eux seuls plus de 85% alors que les autres ne sont présents qu'à l'état de trace (Bhavaniramy *et al.*, 2019; Burt, 2004). Les HEs sont constituées principalement de deux groupes de composés selon la voie de biosynthèse empruntée : le groupe des terpénoïdes d'une part et des composés aromatiques dérivés de phénylpropanoïdes de l'autre part. En outre, quelques constituants aromatiques et aliphatiques sont également présents (Carson *et al.*, 2006).

I.3.1.2.1. Composés terpéniques :

Dans les HEs seuls les terpènes les plus volatiles seront rencontrés, dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : les monoterpènes et les sesquiterpènes (figure 5). Ces derniers peuvent être acyclique, monocyclique, bicyclique, ou tricyclique. Les monoterpènes sont formés à partir du couplage de deux unités isoprènes (C10). Ce sont les molécules les plus représentatives constituant 90% des huiles essentielles, permettant une grande variété de structures, et ils comportent plusieurs fonctions (carbures, alcool, aldéhyde, cétone, ester, éthers, phénols) (Bakkali *et al.*, 2008).

Tandis que les sesquiterpènes sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C15), constituant ainsi le groupe le plus diversifié, et contenant une grande variété de molécules (plus de 3000). Les lactones sesquiterpéniques se distinguent des autres sesquiterpénoïdes par la présence d'une γ -lactone. Elles sont majoritairement trouvées dans les *Asteraceae* où elles sont fréquemment localisées dans les poils sécréteurs des feuilles, des tiges et des bractées de l'inflorescence (Bruneton, 1999; Ludwiczuk *et al.*, 2017).

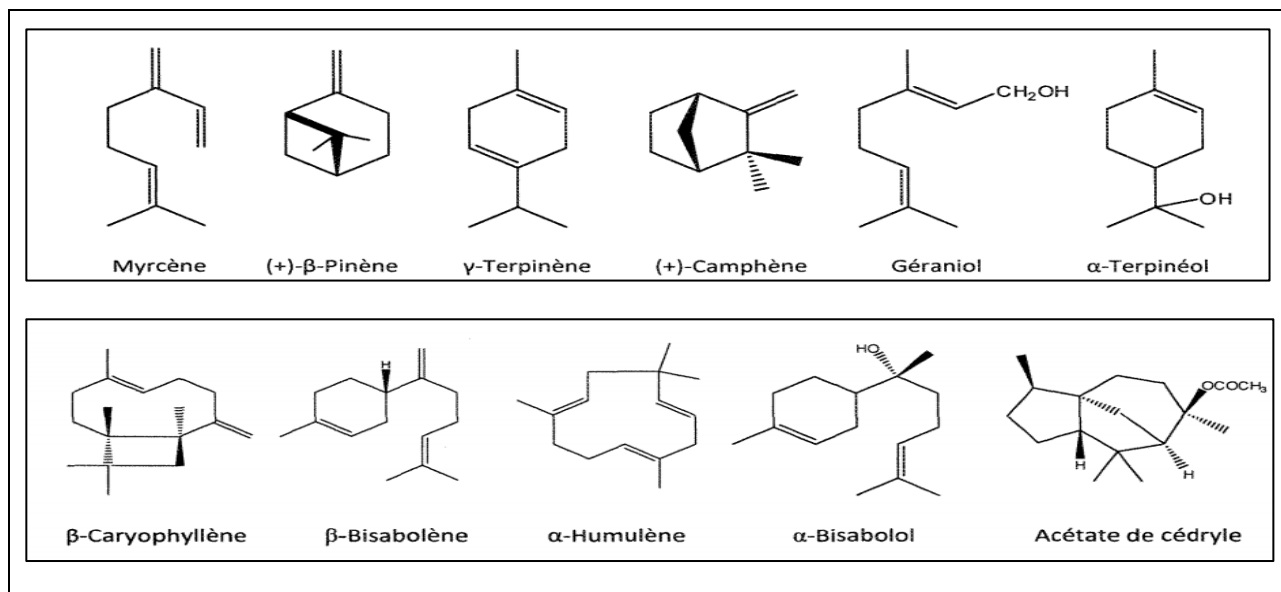


Figure 5 : Exemple de structure des monoterpènes et sesquiterpènes (Modzelewska *et al.*, 2005).

I.3.1.2.2. Phénylpropanoïdes :

Les phénylpropanoïdes sont des composés aromatiques dont le squelette de base est un noyau benzénique substitué par un groupe propènyle. Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Ils comprennent des aldéhyde cinnamiques ou cinnamaldéhyde (HE du cannelle), des phénols (eugénol de HE de girofle, chavicol), alcool cinnamique, des dérivées methoxy (anéthol de HE de fenouil et d'anis), et méthylène dioxy (safrol de HE de saffras), il est ainsi possible de trouver des lactones dérivées des acides cinnamiques comme les coumarines qui sont entraînables par la vapeur d'eau, et présentes dans certaines HES (cèleri) (figure 6) (Couic-Marinier & Lobstein, 2013).

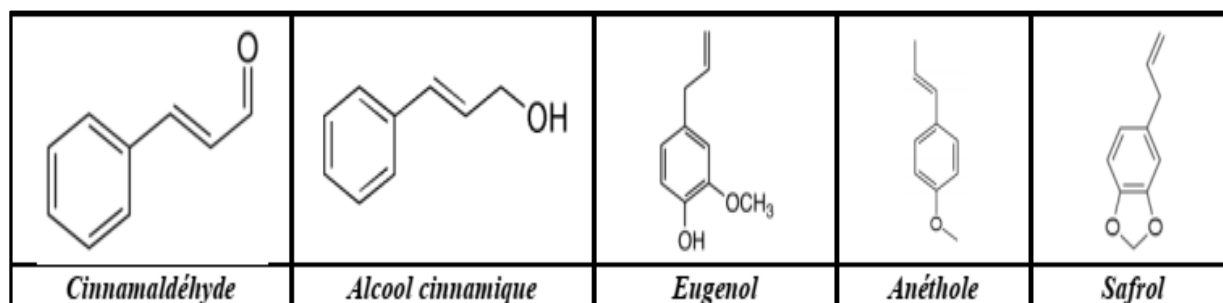


Figure 6 : Exemple des composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des HES (Fillatre, 2011).

I.3.1.3. Composés d'origine divers :

Des produits résultant de la transformation de molécules volatiles entraînés lors de l'hydro-distillation. Ce sont des composés issus de la dégradation des acides gras (le (3Z)-hexen-1-ol ou le décane obtenu à partir des acides linoléique et α -linoléique), ou dégradation des terpènes qui en résultent l'apparition des composants volatiles (les ionones provenant de l'auto-oxydation des carotènes) D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares (**Bruneton, 1999**).

I.3.1.4. Facteurs influençant la composition chimique des HEs :

Il existe beaucoup de facteurs pouvant influencer la composition chimique et le rendement en huile essentielle des plantes. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs extrinsèques d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons sont nombreuses. En effet, la teneur des différents composants de l'huile essentielle peut varier de façon remarquable pour une espèce donnée, tout au long du cycle végétatif en rapport avec l'âge de la plante et la période de récolte ou la saison. Du fait que certains composants chimiques se trouvent en abondance à des périodes précises par rapport à d'autres. par exemple les *Citrus* ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (**Bruneton, 1999; Dethier Tordeur, 1996**).

I.3.1.5. Notion de chémotype :

La notion de chémotype (chimiotype ou encore race chimique) est une notion clé en aromathérapie. En effet, au sein d'une même espèce de plante, botaniquement définie, synthétise une huile essentielle qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera ; ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes. L'exemple le plus marquant est celui de *Thymus vulgaris*, espèce morphologiquement homogène avec sept (7) chémotypes (thymol, carvacrol, linalol, thuyanol, α -terpinéol, géraniol, et paracymène) (**Deschepper, 2017; Keefover-Ring et al., 2009**). Ce polymorphisme chimique existe aussi pour bien d'autres espèces telle que *Origanum vulgare*, et *Mentha spicata* (**Barra, 2009**). Ces chémotypes Biochimiquement différent, présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes mais aussi des toxicités très variables (**Pibiri, 2005**).

I.3.1.6. Intérêt des huiles essentielles :

La diversité dans la composition chimique des HEs leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés connus et utilisés depuis longtemps. Ces propriétés offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit en parfumerie et cosmétique, en médecine et santé, en agro-alimentaire ou agriculture (Fillatre, 2011). Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les HEs sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. De plus les odeurs agréables qui caractérisent certaines HEs font d'elles des constituants primaires dans ce secteur, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers. Dans les industries alimentaires, on se sert essentiellement à des propriétés aromatisantes (menthe poivrée, romarin) dans les liqueurs, chewing gum, glaces. Outre, les HEs ou leurs isolats sont employés aussi bien comme des conservateurs pour leurs propriétés antibactériennes actives contre les principaux pathogènes d'origine alimentaires comme *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* et d'autres, pourtant un nombre limité d'additifs alimentaires contenant des HEs est actuellement commercialisé (Fahed, 2016; Friedman *et al.*, 2002). En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, et dans le traitement et la prévention des caries, ils entrent dans la préparation de certains bains de bouche antiseptique tel que Listerine (Claffey, 2003). De même les HEs sont intensivement explorées pour leur application comme agents antimicrobiens dans la lutte contre les infections bactériennes et virales, en particulier dans le milieu hospitalier ; en s'inspirant de leur rôle naturel comme agents de protection et de défense contre divers pathogènes infectant les plantes. Enfin, des applications possibles dans la lutte contre le stress oxydatif, l'inflammation, le diabète sont également exposées (Edris, 2007; Fillatre, 2011).

I.3.1.7. Toxicité des huiles essentielles :

Les HEs sont des molécules actives, et ne sont pas des produits anodins, elles présentent certains risques de toxicité, bien qu'en vente libre, y compris en dehors du circuit officinal. Le respect de la posologie et la durée de la prise est important. Il a été rapporté que les HEs possèdent en général une faible, voire très faible toxicité aiguë par voie orale, la majorité d'entre eux qui sont couramment utilisés ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus,

Girofle...etc), supérieur à 5g/kg pour (camomille, citronnelle, lavande, vétiver). D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g /kg comme le basilic, l'hysope, l'origan et la sarriette. Les plus toxiques ont une DL50 inférieure à 1g/kg, c'est le cas de boldo, chénopode, et du thuya (Bruneton, 1999).

I.4. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés hétérocycliques qui peuvent être constitués d'un ou de plusieurs atomes d'azote, leurs structures moléculaires sont complexes, plus ou moins basiques, et doués de propriétés pharmacodynamiques marquées même à des faibles doses (Debnath *et al.*, 2018; Zenk et Juenger, 2007). Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (la strychnine ou l'aconitine), de nombreux alcaloïdes sont utilisés depuis plusieurs centaines d'années en médecine et même aujourd'hui encore, considérés comme une classe d'une importance majeure dans le développement de nouveaux médicaments.

Certains alcaloïdes sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (codéine, morphine), dans le cadre de protocole de sédation (atropine), comme antiseptiques en raison de leur activité antibiotique (la berbérine dans les ophtalmiques et la sanguinarine dans les dentifrices), comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine). Ils ont également une action antitumorale (vincalécoblastine de la Pervenche, taxol, vincristine), comme des agents contre la goutte (colchicine) (Muanda, 2010).

Les alcaloïdes constituent l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires, il existe environ 5500 alcaloïdes sont connus actuellement avec différentes structures, on distingue généralement (Roy, 2017; Stöckigt *et al.*, 2002) :

- Les alcaloïdes vrais, qui sont les composés qui dérivent d'un acide aminé et présentent au moins un hétérocycle avec de l'azote comme l'atropine, la nicotine.
- Les proto-alcaloïdes qui dérivent d'acides aminés dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique comme l'adrénaline, éphédrine.
- Les pseudo-alcaloïdes, qui sont les composés, qui ne proviennent pas d'acides aminés comme la caféine, la théobromine.

Chapitre II

Activités biologiques des extraits des plantes

II.1. Activité antimicrobienne

II.1.1. Généralités sur les infections nosocomiales

Les infections nosocomiales (IN) prennent véritablement de plus en plus d'ampleurs, qu'elles sont devenues aujourd'hui un vrai problème de santé publique. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les (IN) peuvent être décrites comme « *des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement* » (OMS, 2010).

Une infection est de type nosocomial (IN) lorsqu'elle se déclare plus de 48 heures après l'admission d'un patient dans une unité de soins. De même, toute infection du site opératoire qui se révèle dans les 30 jours suivant une intervention chirurgicale est à priori nosocomiale, ce délai est porté à un an pour les infections survenant en cas de mise en place de matériel prothétique (prothèse articulaire, matériel métallique de fixation ou de suture) ou d'un implant (Chabni *et al.*, 2019; Popi, 2003).

Les IN les plus fréquemment rencontrées sont les infection des voies urinaires (IVU), les infection du site opératoire, les infections respiratoires, et les septicémies parmi lesquelles l'infection urinaire est la plus répandue, avec une prévalence d'environ 40 % (Rahimi-Bashar *et al.*, 2018).

Les agents pathogènes responsables peuvent avoir deux origines :

- Une **origine endogène** : Le malade s'infecte avec sa propre flore à la faveur d'un acte invasif (porte d'entrée) et/ou à raison d'une fragilité particulière. Cette flore est constituée des microorganismes abrités par le corps de ce patient, et peut être d'origine digestive, respiratoire, ou urogénitale (Horan *et al.*, 2008; Phaneuf, 2010).
- Une **origine exogène** : elle est due à des microorganismes abrités par l'environnement de proximité du patient au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent soit se transmettre d'un malade à un autre (infection croisée ou hétéro-infection), C'est le mode de contamination le plus fréquemment retrouvé lors d'épidémies. soit provoquées par les microorganismes du personnel ou des visiteurs (Xéno-infection), ou aussi liées à la

contamination de l'environnement hospitalier (Exo-infection) (**Horan et al., 2008; Hygis, 1998**).

II.1.1.1. Pathogènes responsables des IN :

Les agents microbiens impliqués dans les IN sont divers, dont 90% des cas sont causés par des bactéries. Parmi les bactéries les plus rencontrés, les bacilles à Gram négatif représentent environ 60% et les cocci à Gram positif 30%. Les trois bactéries le plus souvent en cause sont *Escherichia coli* (25%), *Staphylococcus aureus* (19%) et *Pseudomonas aeruginosa* (10%). Les champignons sont de plus en plus impliqués et *Candida albicans* fait partie des cinq premiers microorganismes impliqués dans les IN (**Angoue, 2020; OMS, 2008**).

Les infections virales nosocomiales sont moins bien connues que les bactériennes. Elles ont des cibles particulières : Enfants (le virus respiratoire syncytial VRS, Rotavirus, Enterovirus). L'hépatites B et C, HIV (transfusions, dialyse, injections), Cytomégalovirus (les immunodéprimés), virus de la grippe ; certains parasites tels que *Giardia lamblia* et *Sarcoptes scabies* peuvent également se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant (**Angoue, 2020; OMS, 2008; Pilly, 2016**).

II.1.1.2. Épidémiologie des infections nosocomiales :

Les IN constituent un véritable problème de santé publique universel, et les enquêtes de prévalence constituent l'outil de mesure pour leur surveillance. Selon l'OMS, En 2005 plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses contractées à l'hôpital. Dans les pays développés, ces infections touchent 5 à 10 % des patients (**OMS, 2008**). L'enquête nationale de la prévalence des IN réalisée en France, en 2012 a montré que les services de réanimation sont les plus touchés par ce problème avec un taux de prévalence de 26.3% ; dont les pneumonies (44.3%), et les bactériémies (16.4%), représentaient les IN les plus fréquentes, *Pseudomonas aeruginosa* était le germe le plus fréquemment isolé en réanimation adulte avec 14.8% des cas (**RAISIN, 2013**). En 2017, la prévalence des patients infectés a augmenté en court séjour, en particulier en services de chirurgie, par rapport à celle de 2012. Les quatre principales localisations en ES représentant 71,5% des sites infectieux documentés, voies urinaires (28,5%), sites opératoires (15,9%), pneumonies (15,6%), bactériémies (11,4%). Les quatre microorganismes les plus fréquents étaient *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et

Pseudomonas aeruginosa représentant la moitié des microorganismes isolés ; La prévalence des patients infectés par des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3e génération (C3G) est restée stable entre 2012 et 2017 (**Daniau et al., 2020**).

Peu de publications ont été produites par les pays en voie de développement. Une étude multicentrique a été menée dans 27 hôpitaux en Algérie, en Egypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie a enregistré un taux de prévalence global de 10,5%. Les localisations étaient surtout urinaires, pulmonaire et cutanée ; *E.coli* (17,2 %), *S.aureus* (12.5%), *P.aeruginosa* (9.2%), et *Klebsiella pneumoniae* (9,2 %) représentaient les principaux germes isolés (**Amazian et al., 2010**). L'enquête réalisée au niveau du CHU d'Oran, en 2016, a montré que le taux de prévalence des IN était de 8,5%. Les infections urinaires venaient en première position avec une fréquence de 41,3%. Les entérobactéries occupaient une fréquence de 45% de l'ensemble des germes retrouvés. 50% étaient productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE+), 100% des *Pseudomonas* ont été résistants à la ciprofloxacine, les *Acinetobacter* étaient des BMR (bactéries multirésistantes), Les *Staphylococcus aureus* (SA) étaient tous résistants à la méticilline (**Guertarni et al., 2017**). Le problème des IN a pris de l'ampleur ces dernières années, du fait que le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques remonte de plus en plus aux niveaux des hôpitaux. L'efficacité de ces molécules ne cesse de décroître malgré leurs succès initiaux, et la recherche d'alternative est devenue une nécessité.

II.1.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques :

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour le traitement et la prévention des infections dues à des bactéries, c'est l'une des découvertes qui ont révolutionné la médecine en contribuant à la lutte contre les maladies infectieuses et la diminution de la morbidité et la mortalité humaines, mais leur efficacité est menacée car les bactéries peuvent s'adapter et deviennent résistantes. Ce phénomène de résistance concerne plusieurs espèces bactériennes et touche plusieurs familles d'antibiotiques (**Fahed, 2016**).

La résistance d'une bactérie à un antibiotique est la faculté de cette dernière de supporter sans dommage une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration *in vivo* (**Garnier et Jarlier, 1996**) ; dont on distingue :

- **Résistance naturelle ou innée :**

La résistance naturelle ou intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne donnée, et délimite le spectre d'action de certains antibiotiques. Elle a pour support génétique le chromosome bactérien, est donc stable et se transmet à la descendance par un mode vertical, mais ne pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. On parle alors des caractères normaux ou sauvages du phénotype de l'espèce vis-à-vis des antibiotiques (**Veysièrè, 2019**). C'est le cas de certaines entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* qui présentent la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (Macrolides, Lincosamides, Streptogramines ...etc), ou encore les mycoplasmes bactéries sans paroi, ou bien par la synthèse des enzymes qui dégradent l'antibiotique (les bêta-lactamases chez *Klebsiella pneumoniae*) (**Galimand et al., 2005; Lamamra, 2018**).

- **Résistance acquise :**

Elle survient lorsque seules certaines souches d'une même espèce, naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes. Cette résistance résulte de mécanismes liés à l'ADN qui sont caractérisés par mutation ou par transfert de gènes. La résistance acquise par mutation est aussi qualifiée de résistance chromosomique. C'est un évènement ponctuel qui permet de contourner l'effet délétère de l'antibiotique, il est conditionné par l'utilisation d'antibiotiques, et ne concerne qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotique (**Bouden, 2019; Veysièrè, 2019**). La transmission d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides, les bactériophages, ou les transposons, favorise ainsi l'acquisition des résistances. Ce transfert horizontal de gènes de résistances peut être effectué par trois mécanismes qui sont : la conjugaison (transfert d'un plasmide d'une bactérie à une autre qui est compétente), la transformation (capture d'un ADN par la bactérie à partir du milieu), la transduction (via un bactériophage comme vecteur) (**Baudry et Brezellec, 2007**).

La vitesse de propagation des souches microbiennes résistantes est le résultat d'une utilisation abusive et accrue des antibiotiques, ce qui génère une pression sélective exercée par ces molécules et favorise l'apparition des mutations et du transfert génétique entraînant ainsi la survie et la diffusion des bactéries résistantes, et aboutissant à des impasses thérapeutiques de plus en plus courantes. Si la mutation favorise l'émergence d'une résistance à un antibiotique, celui-ci va

détruire les autres bactéries et sélectionner la souche mutante. Les mutants vont se multiplier et devenir prédominants (**Shallcross et Davies, 2014; Skandalis et al., 2021**).

II.1.3. Place des phytomolécules dans la lutte contre les pathogènes :

Les plantes médicinales constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques ; Ces molécules sont radicalement différentes des antibiotiques classiques. En effet, les huiles essentielles et les extraits des plantes ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes et ont formé la base de beaucoup d'application y compris, pharmaceutiques, thérapie naturelle et dans la conservation des aliments.

II.1.3.1. Activités antimicrobiennes des polyphénols :

Une des fonctions incontestées des composés phénoliques et des flavonoïdes est leur rôle dans la protection des plantes contre l'invasion des pathogènes (bactéries, champignons, virus..) ; alors il n'est pas surprenant qu'ils se soient révélés être des substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre un large éventail de microorganismes (**Cowan, 1999**). Parmi les polyphénols, les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leur large spectre et de leur activité antimicrobienne plus élevée que celle des autres polyphénols, et du fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer un certain nombre de facteurs de virulence microbiens (comme l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion des ligands de l'hôte, et la neutralisation de toxines bactériennes) ; en présentant ainsi une synergie avec les antibiotiques, ils peuvent augmenter ou restaurer l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance (**Daglia, 2012**). Il y'a lieu de mentionner quelques résultats importants publier ces dernières années : les extraits méthanoliques d'écorces de grenades (*Punica granatum*) contiennent des concentrations élevées de tanins hydrolysables, d'acide ellagique et d'acide gallique ont montré une activité contre *E. coli* O157:H7, *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae* et *L.monocytogenes* (**Coppo et Marchese, 2014**). De plus, l'évaluation de l'effet antimicrobien de *Pheonix dactylifera L* poussant en Arabie Saoudite contre *P.aeruginosa* résistante à l'imipénem (IRP) a montré que la CMI de la fraction chloroformique était de 0,05 mg/mL et la CMB était de 2 mg/mL. Les biofilms produits par 12 isolats d'IRP ont été complètement éradiqués avec un extrait à 5% après 1 heure du traitement. Il a été déterminé que les composés actifs étaient des flavonoïdes, notamment la quercétine, l'apigénine et la lutéoline (**Othman et al., 2019; Selim et al., 2012**) .

Parmi les plantes aussi contenant de différents composés phénoliques douées d'activités antimicrobiennes on peut citer :

Zingiber officinalis, *Premna resinosa*, *Thymus vulgaris*, *Boswellia carterii*, *Plicosepalus acaciae*, *Momordica balsamina*, *Cyperus rotundus*, *Nymphaea lotus*, *Vahlia dichotoma*, *Olea europaea*, *Eucalyptus globules*, *Rosmarinus officinalis*, *Curcuma longa*, *Haloxylan scoparium*, *Artemisia herba-alba*, et la liste est très longue (**Haida et al., 2020**; **Mohamed et al., 2010**; **Othman et al., 2019**).

II.1.3.2. Mode d'action des polyphénols :

Différents mécanismes sont probablement responsables de l'activité antimicrobienne des polyphénols ; il a été observé que l'activité antimicrobienne de nombreux phénols augmente avec l'élévation de leur caractère lipophile, ceci peut être directement lié à leurs interactions potentielles avec la membrane cellulaire ce qui induit des dommages irréversibles affectant à la fois la membrane et les enzymes intracellulaires (**Bouarab Chibane et al., 2019**). De plus, certaines études ont démontré que leur activité antimicrobienne est associée à la présence et à la position d'un groupe hydroxyle libre lié directement à un cycle aromatique en C6 comme système de délocalisation des électrons, ce qui favorise leur capacité à modifier l'intégrité de la membrane des cellules microbiennes. En outre, le groupe hydroxyle joue un rôle clé dans l'inactivation des enzymes microbiennes telles que l'ATPase, l'histidine décarboxylase, l'amylase et la protéase, l'inhibition de l'ATPase peut provoquer la perturbation de la respiration et par conséquent la lyse cellulaire (**Aguilar-Veloz et al., 2020**; **Rao et al., 2019**). Une étude a montré que la quercétine, l'un des principaux polyphénols du vin, a exercé un effet inhibiteur sur l'ADN gyrase d'*E.coli*. Ce flavonoïde a augmenté également la perméabilité de la membrane et a réduit son potentiel membranaire, empêchant ainsi la synthèse d'ATP dans cette bactérie (**Gutiérrez-del-Río et al., 2018**).

Les polyphénols peuvent inactiver la synthèse des acides aminés essentiels par interférence dans les réactions du phosphoenolpyruvate, de l'erythrose-4-phosphate et de l'acide shikimique. Cela favorise la production de tryptophane et diminue la production de phénylalanine ou de tyrosine, modifiant la structure de certaines protéines essentielles à la formation de la structure de l'appressorium fongique (**Pagnussatt et al., 2013**). Les tanins sont capables de bloquer l'activité de la catalase, provoquant un effet létal sur certains pathogènes (**Zhao et Drlica, 2014**). De même, ils

peuvent inhiber les enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol, le principal composant de la membrane cellulaire fongique, réduisant ainsi sa teneur intracellulaire (**Campoy et Adrio, 2017**). Les proanthoyacidines de la canneberge constituée principalement de tétramères et de pentamères d'épicatéchine avec au moins une liaison de type A, se sont avérées actives contre *E. coli* uropathogène, *S. mutans* cariogène et *S. aureus* résistant à l'oxacilline. Plusieurs mécanismes pourraient expliquer leur effet dans l'inhibition de la croissance bactérienne, tels que la déstabilisation et la perméabilisation de la membrane cytoplasmique, l'inhibition des enzymes microbiennes extracellulaires, les actions directes sur le métabolisme microbien, ou la séquestration des substrats nécessaires à la croissance microbienne, en particulier les micronutriments minéraux essentiels tels que le fer et le zinc (via la chélation de la proanthocyanidine avec les métaux), l'appauvrissement peut limiter sévèrement la croissance bactérienne (**Daglia, 2012; Dixon et al., 2005; Heinonen, 2007**).

II.1.3.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles :

La croissance des bactéries résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre une large gamme de souches pathogènes humaines, y comprise des souches chimiorésistantes. En effet, des études menées sur les huiles essentielles de certaines plantes ivoiriennes, *Ocimum gratissimum*, *O. cimumcanum*, *Xylopi aethiopica*, *Citrus aurantifolia*, *Lippia multiflora*, et *Monanthataxis capea* se sont révélées efficaces contre les bactéries multi-résistantes notamment les *E.coli* résistants aux céphalosporines de 3ème génération (C3GR), *E.coli* productrice de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) et staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) (**Oussou, 2009**). D'autres études sur les HEs d'agrumes, de lavande, de menthe, de genévrier, de l'arbre à thé, de thym et d'eucalyptus se révèlent particulièrement efficaces contre les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) (**Tohidpour et al., 2010**) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (**Fisher et Phillips, 2009**). Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre, à cause du mode d'action des HEs qui dépend en premier lieu de type et de caractéristiques de leurs composants actifs (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et de leurs effets synergiques (**Oussou, 2009; Zhiri, 2006**). Les interactions entre les constituants des huiles essentielles peuvent également affecter leur activité.

Par exemple, l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* est due à la synergie entre les principaux constituants : le carvacrol et le thymol (Lambert *et al.*, 2001). Outre, les HEs les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. De même, Le carvacrol, le *p*-cymène et le -terpinène de l'huile essentielle d'*Origanum acutidens*, ont des effets fongicides contre *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Monilinia fructicola* et *Rhizoctonia solani* (Kordali *et al.*, 2008).

II.1.3.4. Mode d'action des huiles essentielles :

En général, les activités antimicrobiennes des HEs sont fortement liées à leur hydrophobie. Cette caractéristique leur permet de pénétrer les cellules microbiennes et d'y provoquer des altérations fonctionnelles et structurales, ce qui augmente la perméabilité membranaire des germes et la perturbation de leurs systèmes de transport et de production d'énergie (Faleiro, 2011; Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018). Ce mécanisme justifie la sensibilité des bactéries à Gram positif aux HEs que les bactéries à Gram négatif, dont la présence de lipopolysaccharides dans leur membrane externe associée à des mécanismes d'efflux efficaces défavorise la pénétration des molécules hydrophobes. Cependant, il est probable que les HEs agissent sur plusieurs site d'action au niveau cellulaire (Burt, 2004; Hancock, 1997). Les principaux sites d'action des composants des HEs sont illustrés dans la figure 7.

Les HEs peuvent agir sur les protéines des micro-organismes et affecter la division cellulaire, comme elles peuvent coaguler le cytoplasme et causer des dommages directs aux lipides et protéines cellulaires. Les composés phénoliques des huiles essentielles sont capables d'interférer avec les systèmes enzymatiques dont, ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants structurels ou encore, perturber la fonctionnalité du matériel génétique. Les dommages causés sont associés à une fuite d'ions, à une réduction du potentiel membranaire, à un effondrement de la pompe à protons, à un épuisement du pool d'ATP et à une perte de macromolécules., tous ces événements conduisent à une altération des processus essentiels de la cellule et finalement à la lyse cellulaire (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018; Oussalah *et al.*, 2007). Certaines études ont montré que les HEs riche en phénols (thymol, eugénol et carvacrol) et en terpénoïdes oxygénés inhibent la respiration et provoquent également une fuite d'ions de potassium dans les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Rao *et al.*, 2019). De même, certaines HEs

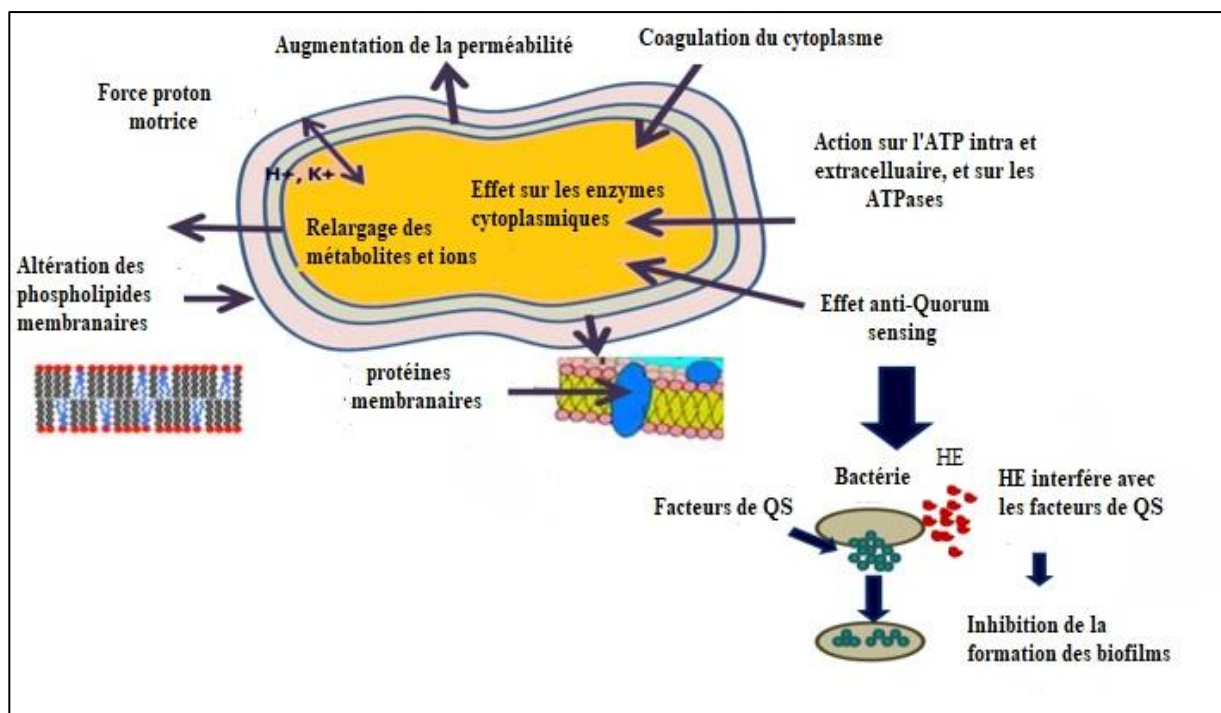


Figure 7 : Mécanisme d'action et les cibles des HEs sur les cellules microbiennes (Nazzaro *et al.*, 2013).

peuvent agir en inhibant le système de communication « Quorum sensing » des cellules microbiennes (Fahed, 2016; Nazzaro *et al.*, 2013).

II.2. Activité anti-inflammatoire

II.2.1. Inflammation :

La réponse inflammatoire est une réponse normale, immédiate et transitoire à toute agression extérieure compromettant l'intégrité de l'organisme. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, qui conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Hotamisligil, 2017). La réaction inflammatoire peut être déclenchée par plusieurs facteurs variés : agents infectieux (bactéries, virus, parasites...), substance étrangères, agent physique, lésions cyto-tissulaire post traumatique...etc. L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires : inflammation aigue, et inflammation chronique (Mansour, 2015).

II.2.1.1. Phases de l'inflammation aigue :

L'inflammation aigue est une étape initiale de l'inflammation (immunité innée), qui est déclenchée par une réponse immédiate à courte durée (quelques jours à quelques semaines) à un agent agresseur, d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. C'est un processus bénéfique pour l'organisme afin de retrouver son intégrité physiologique, elle guéri spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. La réponse inflammatoire aigue est schématiquement marquée par trois phases : phase vasculaire, phase cellulaire, et la phase de réparation (**Bollen et al., 2017; Wirtz et al., 2017**).

II.2.1.1.1. Phase vasculaire et plasmatique :

La réaction vasculo-exsudative se traduit cliniquement par quatre signes cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, la douleur, et l'œdème. Et comporte trois phénomènes débute par une **congestion active**, qui est liée à l'ouverture de sphincters précapillaires provoquer par la libération des facteurs humoraux (histamines, sérotonines, bradykinines), localement il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Cette congestion active s'exprime cliniquement par une chaleur et une rougeur, et elle est suivie par un gonflement et une douleur qui est due au passage d'un liquide appelé exsudat fait d'eau et de protéines dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses ; il s'agit de **l'œdème inflammatoire**, résulte d'une augmentation de la perméabilité vasculaire sous l'effet immédiat mais transitoire de l'histamine. **La diapédèse leucocytaire** est le troisième phénomène qui se caractérise par une migration des leucocytes hors les capillaires et veinules et leur accumulation dans le foyer lésionnel (**figure 8**). Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes (**Offenstadt et al., 2009; Rousselet et Vignaud, 2005**).

II.2.1.1.2. Phase cellulaire :

La diapédèse des leucocytes et la libération des cytokines est à l'origine de l'activation cellulaire. Les premiers sur place sont les polynucléaires neutrophiles qui vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule, Ce qui conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres.

Les macrophages ont pour fonction d'assurer la détergence grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (Serhan *et al.*, 2010).

II.2.1.1.3. Phase de réparation :

Elle débute par l'élimination de l'agent causal et les débris cellulaires et tissulaire. La réparation passe par la constitution d'un tissu conjonctif appelé bourgeon charnu qui va remplacer les tissus détruits au cours de l'inflammation. Il comporte des leucocytes de tissu de granulation, des fibroblastes et myo-fibroblastes, et des néo-vaisseaux sanguins, et constitué principalement de l'acide hyaluronique, collagène de type I et III et de fibronectine. Le bourgeon charnu évolue progressivement soit vers une cicatrice soit vers la reconstitution d'un tissu conjonctif identique au tissu préexistant à l'inflammation (Mescher, 2017).

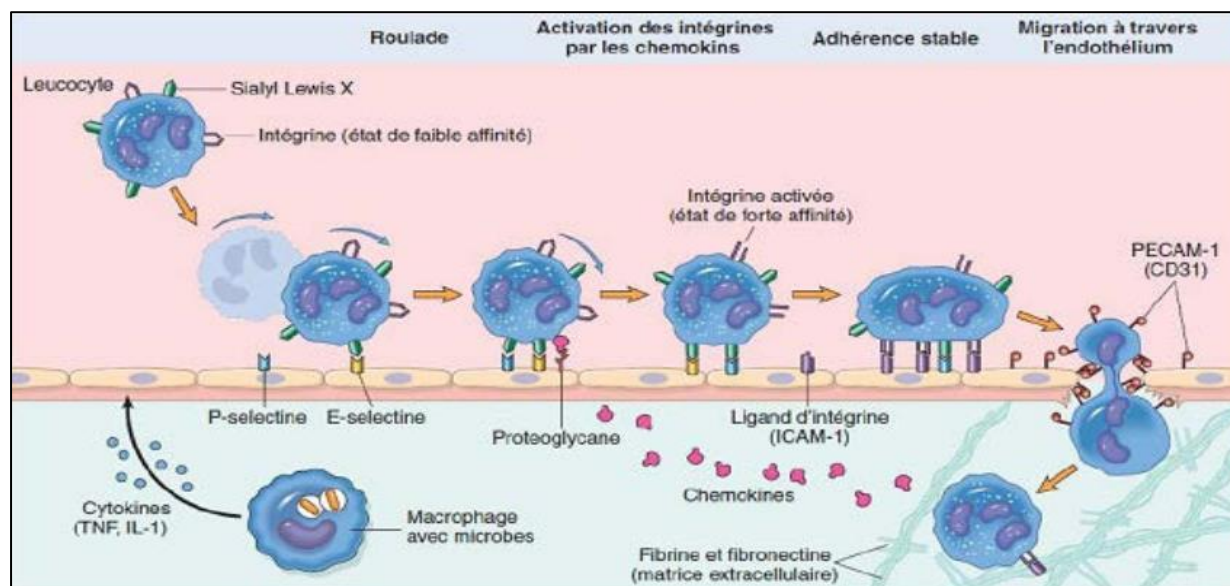


Figure 8 : Réaction vasculo-exsudative et processus de migration des neutrophiles (Mayadas *et al.*, 2014).

II.2.1.2. Inflammation chronique :

La persistance de la réaction inflammatoire et la perturbation de son contrôle physiologique conduisent au passage à la chronicité de l'inflammation. Elle est souvent associée à la résistance de l'agent pathogène à la phagocytose, ce qui induit une inflammation chronique qui se termine par des dommages tissulaires importants. D'autres types d'inflammations chroniques sont causés

par des maladies auto-immunes, où les antigènes du soi activent continuellement le système immunitaire. Elle est caractérisée par une durée étalée sur des mois ou des années, et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer, maladies neurodégénératives, l'athérosclérose (**Kunnumakkara et al., 2018; von Hundelshausen et al., 2017**).

II.2.3. Thérapeutiques de l'inflammation :

L'inflammation est un processus physiologique impliqué dans un grand nombre de maladies aiguës ou chroniques. Cependant, les médicaments actuellement commercialisés comme : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les anti-inflammatoires stéroïdiens (AS), les opioïdes, les anesthésiques locaux peuvent engendrer beaucoup d'effets indésirables tels que les accidents cardiovasculaires, ou les ulcères gastriques significativement associée à l'utilisation aiguë des AINS tels que le Diclofenac, le Kétoprofène, le Naproxène..etc (**Habibatni, 2018; Strate et al., 2011**) . Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes (AS) est associé à l'apparition de nombreux effets indésirables qui s'accroît avec l'augmentation de la posologie et la longue durée du traitement. Les troubles observés peuvent être aiguës tel que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement ; ou bien chroniques tel que la prise de poids, l'ostéoporose, et les cataractes (**Caplan et al., 2017**). D'où la nécessité de la recherche de nouvelles molécules qui pourraient agir directement sur les médiateurs de l'inflammation et de la douleur ayant ainsi moins d'effets secondaires.

II.2.4. Plantes médicinales anti-inflammatoires :

Les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle sont considérées comme une source alternative fiable à la recherche de nouvelles molécules avec plusieurs activités biologiques, notamment l'activité anti-inflammatoire (**Kazemi et al., 2018**). Plusieurs espèces de diverses familles dont les composés chimiques tels que les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles, sont présumés responsables de cette activité, citons par exemple :

***Zingiber officinalis* (gingembre) :** les composants remarquables sont l'huile essentielle, riche en zingibérène et camphène. Ainsi que le gingérol, acide caféique, et la curcumine qui possèdent des propriétés antalgiques et anti-inflammatoires. Les extraits de rhizome sont des puissants inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines et de la leucotriène (**Piccerelle, 2018; Setty et Sigal, 2005**).

***Salix sp* (saule):** l'action inhibitrice de l'extrait aqueux d'écorce de saule sur la synthèse des prostaglandines est mise en évidence par de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* avec une efficacité comparable à l'indométacine ou à l'acide acétylsalicylique (Untergehrer *et al.*, 2019). l'extrait d'écorce de saule inhibe la voie de la cyclooxygénase et des lipoxygénases (Koeberle et Werz, 2018).

***Curcuma longa* (curcuma) :** contient un pigment jaune la curcumine, un polyphénol qui inhibe la production des prostaglandines E2 et la voie de la cyclooxygénase. Il diminue de manière dose-dépendante la production de monoxyde d'azote et l'expression de son enzyme inductible en inhibant l'expression des gènes de IL-6 et IL-8 (Madden *et al.*, 2009; Mansour, 2015). De nombreuses autres plantes dotées des propriétés anti-inflammatoires peuvent être cités :

Aloe vera, Arnica montana, Harpagophytum procumbens, Urtica dioica, Nepeta cataria, Origanum vulgare Boswellia serrata, Citrus auranticum, Achillea millefolium, Rosmarinus officinalis, Thymus vulgaris, Melaleuca alternifolia, A.herba-alba, C.spinosa (El Azhary *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2013; Piccerelle, 2018; Qnais *et al.*, 2016).

II.3. Activité antioxydante

II.3.1. Stress oxydatif et inflammation :

Le stress oxydatif est un concept important en biologie et en médecine. Ce phénomène se produit dans les systèmes biologiques lorsqu'il y a une surproduction de ROS/RNS d'un côté et une déficience en antioxydants enzymatiques et non enzymatiques de l'autre. En d'autres termes, le stress oxydatif résulte des réactions métaboliques qui utilisent l'oxygène et représente une perturbation de l'état d'équilibre des réactions prooxydantes/antioxydantes (balance redox) dans les organismes vivants. L'excès de ROS associé à des dommages oxydatifs sur les biomolécules, notamment les protéines, les lipides et les acides nucléiques inhibant ainsi leur fonction normale. Pour cette raison, le stress oxydatif a été impliqué dans un certain nombre de maladies humaines ainsi que dans le processus de vieillissement. L'équilibre délicat entre les effets bénéfiques et nocifs des radicaux libres est un aspect très important des organismes vivants et est obtenu par des mécanismes appelés "régulation redox" (Favier, 2003; Valko *et al.*, 2007).

Au cours de l'inflammation, les neutrophiles, les monocytes/macrophages, sont recrutées sur le site de la lésion, ce qui conduit à une « stimulation de métabolisme oxydatif », due à une assimilation

accrue de l'oxygène, par conséquence la création d'un environnement cytotoxique due à une libération et une accumulation accrue d'espèces réactives de l'oxygène sur le site de dommage (ROS et RNS, respectivement et diverses protéases inflammatoire) (Ashley *et al.*, 2012). D'autre part, les cellules inflammatoires produisent également des médiateurs solubles, tels que les métabolites de l'acide arachidonique ou linoléique, des cytokines et des chimiokines, qui agissent par le recrutement de cellules inflammatoires plus loin du site de la lésion et la production de plus des radicaux libres. Ces médiateurs clés peuvent induire des changements dans les facteurs de transcription, ce qui entraîne aussitôt la médiation des réactions de stress cellulaire (Bayala, 2014).

II.3.2. Radicaux libres :

La production des espèces réactives à l'oxygène (ROS) est la conséquence d'un processus inévitable de la vie en aérobose. Par définition les radicaux libres sont des entités chimiques (molécules, atomes ,espèces..) possédant un électron non apparié ou célibataire sur leur couche périphérique ce qui leur confère une grande instabilité et un fort degré de réactivité sur les constituants des organismes vivants avec lesquels ils vont échanger un électron pour gagner une stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules (Migdal et Serres, 2011). La réactivité varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent. Les ROS incluent les composants radicalaires (RL) comme le superoxide (O_2^-), hydroxyl ($\cdot OH$), peroxy ($ROO\cdot$), et un groupe non radicalaire contient une grande variété de substances comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet, l'acide hypochloreux (HOCl), l'ozone, peroxydes organiques, aldéhydes, et le dioxyde (O_2) (del Río, 2015; Halliwell et Gutteridge, 2015). En parallèle des ERO et de l'oxygène singulet, l'organisme produit, à partir d'enzymes intracellulaires (les NO synthases) présentent dans la majorité des cellules, une autre catégorie de radicaux libres regroupés sous le terme d'espèces réactives de l'azote (ERN) (Dröge, 2002).

la production contrôlée d'ERO apparaît comme un mécanisme incontournable de la régulation et de la signalisation cellulaires qui participe au maintien de l'homéostasie radicalaire de la cellule (Migdal & Serres, 2011), dont On distingue deux types de production :

II.3.2.1. Production intracellulaire ou endogène :

La source des ERO dans les cellules est essentiellement les réactions enzymatiques, il s'agit principalement du NADPH-oxydase et la chaîne de transfert des électrons dans les mitochondries

via le complexe enzymatique. La production d'anions superoxydes par les neutrophiles et les macrophages est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase pendant la flambée respiratoire des cellules inflammatoires (**Dröge, 2002; Favier, 2003**). D'autres sources présentes au sein de différents compartiments cellulaires ou cytosolique et jouent également un rôle dans la modulation de la signalisation cellulaire : la xanthine oxydase, enzyme du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et peroxydase, les lipo-oxygénases (enzyme de la voie de l'acide arachidonique) (**Delattre, 2005**). Les différentes NO synthases (ou NOS) sont l'origine de la production concomitante dans un même lieu de (NO[•]) et de superoxyde qui s'avère très dommageable en donnant naissance au peroxy-nitrite (**Favier, 2003**).

II.3.2.2. Production extracellulaire ou exogène :

Les facteurs environnementaux peuvent impliquer directement ou indirectement dans la génération des radicaux libres comme l'alcool, des résidus de la fumée de cigarette, ou de nombreux médicaments (**figure 9**). Les métaux toxiques (chrome, cuivre, vanadium), mais aussi le cuivre et le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H₂O₂, par une réaction appelée réaction de Fenton. Les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux. Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres (**Favier, 2003**).

II.3.3. Antioxydants :

On peut envisager sous le terme « antioxydant » au sens large toute substance présente à de faibles concentrations capables de retarder, prévenir, ou d'inhiber de manière significative les dommages d'oxydation causés par les radicaux libres dans l'organisme. Les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (**Favier, 2003; Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Dans les conditions normales il existe un équilibre entre les activités physiologiques et les niveaux intracellulaires de ces antioxydants. Ces derniers peuvent être classés en deux catégories :

II.3.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques :

Les systèmes antioxydants enzymatiques constituent la première barrière de défense de l'organisme. Les principales enzymes antioxydantes des cellules comprennent de la superoxyde

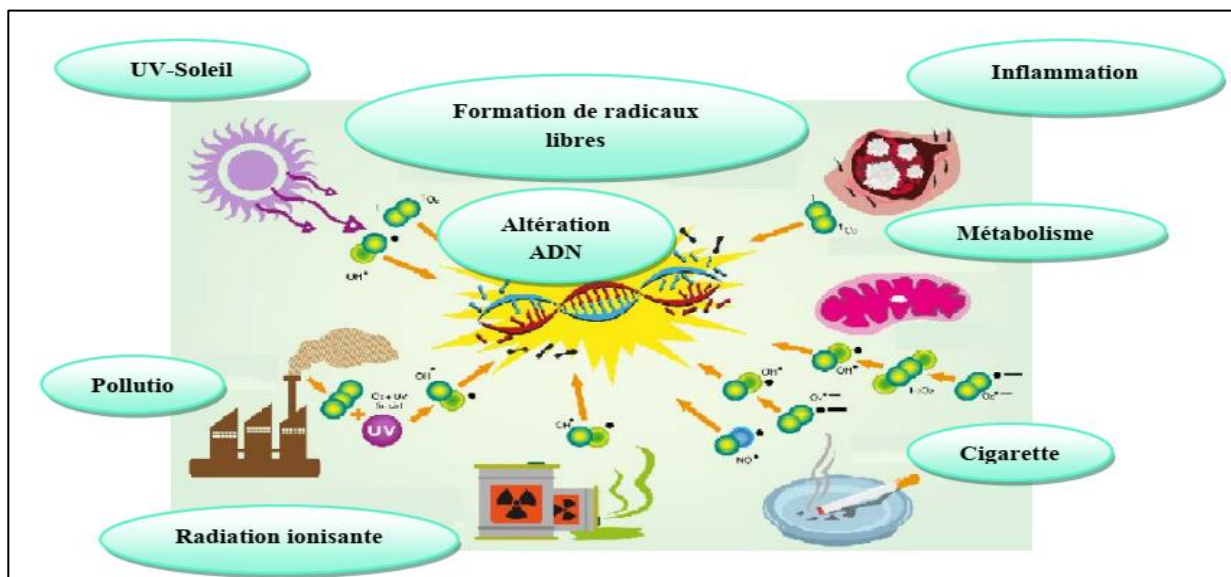


Figure 9 : Les ROS et RNS et leurs sources de facteurs endogènes et environnementaux (Habibatni, 2018).

dismutase (SOD), la catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GPx). Chacune de ces enzymes antioxydantes assure la détoxification d'un ROS particulier. Le SOD est l'enzyme antioxydante « Anti-O₂•⁻ » la plus importante dans toutes les cellules vasculaires, elle catalyse la transformation de l'anion superoxyde en H₂O₂ par une réaction de dismutation. La catalase se localise principalement dans les peroxysomes, mitochondries et dans les hématies, est capable de catalyser la décomposition de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Les GPx catalysent la décomposition de l'H₂O₂ mais également d'autres peroxydes organiques d'origine lipidique au sein des membranes plasmiques. La GPx des mammifères possède une grande affinité pour l'élimination d'H₂O₂ à des faibles concentrations plutôt que la catalase. L'activité de ces enzymes est très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium (Favier, 2003; Sen *et al.*, 2000; Sharma *et al.*, 2012). Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les thioredoxines, les glutaridoxines, les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, qui pourraient également jouer un rôle important dans la prévention du stress oxydatif dans les cellules (Sen *et al.*, 2000).

II.3.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques :

Ce sont les piègeurs des radicaux libres, dont leurs importances est capitale lorsque les activités enzymatiques sont insuffisantes, on distingue :

- **Systèmes antioxydants endogènes :**

le plus important est le glutathion (GSH), outre d'être un cofacteur de plusieurs enzymes de détoxification contre le stress oxydatif (GPx et la glutathion transférase), le GSH participe au transport des acides aminés à travers la membrane plasmique, il est capable de régénérer les antioxydants les plus importants, les vitamines C et E, pour les ramener à leurs formes actives ; le glutathion peut réduire le radical tocophérol de la vitamine E directement, ou indirectement, via la réduction du semi-déhydroascorbate en ascorbate (Masella *et al.*, 2005). L'ubiquinone (coenzyme Q10) est également considéré comme un antioxydant capable de piégeage de l'anion superoxyde au niveau des membranes cellulaires. Il existe d'autres antioxydants non enzymatique endogènes tels que : l'acide lipoiq, l'acide urique, bilirubine, la mélanine, la mélatonine, les hormones sexuelles (œstrogènes) ...etc (Sharma *et al.*, 2012).

- **Systèmes antioxydants exogènes :**

Ils dépendent des apports en alimentation, et comprennent majoritairement la vitamine C, E, les caroténoïdes (particulièrement la bêta-carotène). Ils agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire les transformant en molécules ou ion stable. De plus, la vitamine C associée à la vitamine E régénère la forme réduite de l' α -tocophérol par une réaction de transfert d'hydrogène. La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruit, soit régénérée par un autre système. D'autres composés dérivés de végétaux ou des plantes médicinales appartenant à de nombreuses familles tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les huiles essentielles, et les flavonoïdes peuvent jouer également un rôle similaire de piègeurs des radicaux libres (Favier, 2003; Pincemail *et al.*, 2002).

II.3.4. Activité antioxydante des plantes :

Il est intéressant de noter que les polyphénols de plantes sont considérés comme un "traitement préventif des maladies" en induisant des effets biologiques avec des applications thérapeutiques importantes sur des modèles *in vitro* et *in vivo* par l'activation des voies de réponses adaptatives au stress (Leri *et al.*, 2020; Trovato *et al.*, 2016). La plupart des polyphénols, et particulièrement les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces de ROS physiologiquement actifs. Leur effet antioxydant réside dans leur capacité de chélater les ions des métaux de transition capable de catalyser la formation de radicaux libres, et en évitant l'oxydation consécutive des biomolécules. En ce sens, la quercitrine chélate le fer qui est impliqué dans la génération du radical hydroxyle, et le resvératrol

chélate le cuivre, par conséquent réduisent l'oxydation des lipoprotéines LDL humaines (**Ferrali et al., 1997; Frankel et al., 1993**). Les anthocyanidines, la delphinidine et les cyanidines réduisent la concentration cellulaire de ROS également par ce mécanisme. Les polyphénols peuvent contribuer à maintenir l'activité de la NADPH oxydase à un niveau sans danger pour l'endothélium vasculaire (**Mitjavila et Moreno, 2012**). De plus certaines études précliniques ont également suggéré un rôle positif de la curcumine issue de la racine de curcuma comme stratégie thérapeutique adjuvante dans les troubles liés aux radicaux libres, en particulier les troubles neurodégénératifs (**Concetta Scuto et al., 2019; Mhillaj et al., 2019**).

Globalement les composés phénoliques exercent une activité antioxydante « directe » et « indirecte ». L'activité directe est liée à la chélation des métaux in vitro, au piégeage des ROS, à l'inhibition de la peroxydation lipidique, à la réduction de la formation d'hydroperoxydes et à la désactivation des composés excités. Les effets " indirects " sont principalement liés à la modulation des voies de signalisation cellulaire et de l'expression des gènes, à la régulation des enzymes de défense (**Ferrali et al., 1997; Mitjavila et Moreno, 2012**).

L'utilisation des huiles essentielles comme antioxydants naturels est une stratégie qui suscite un intérêt croissant, notamment dans la science alimentaire et la médecine alternative. Le potentiel antioxydant des HEs dépend principalement de leur composition chimique. Les HEs extraites de plantes médicinales comme la cannelle, la noix de muscade, le clou de girofle, le basilic, le persil, l'origan et le thym possèdent de puissants effets antioxydants en raison de la présence des composants majeurs le thymol et le carvacrol (**Aruoma, 1998; Bhavaniramy et al., 2019**). Ces composés phénoliques possédant des propriétés oxydo-réductrices significatives et jouent ainsi un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres et la décomposition des peroxydes (**Amorati et al., 2013; Koh et al., 2002**). L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains éthers, cétones, alcool, et aldéhydes monoterpénique tels que : linalool, 1,8-Cineole, geranial/neral, citronellal, isomenthone, menthone, et d'autres monoterpènes hydrocarbures (*A. absinthium* et *A. scoparia*) (**Bhavaniramy et al., 2019; Modzelewska et al., 2005**).

Chapitre III

Monographie des Plantes étudiées

III.1. *Artemisia herba-alba* Asso

III.1.1. Systématique de la plante :

Artemisia est le nom du genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis ; herba-alba signifie herbe blanche. La classification qu'occupe *Artemisia herba-alba* dans la systématique est la suivante (Mohamed *et al.*, 2010):

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous-tribu	Artemisiinae
Genre	<i>Artemisia</i>
Sous-genre	<i>Seriphidium</i>
Espèce	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso

III.1.2. Présentation de la plante et description botanique :

L'armoise blanche est une composée chaméphytique qui appartient au genre *Artemisia*, ce dernier regroupe plus de 400 espèces variées des sous-arbrisseaux de grande importance économique (Belhattab *et al.*, 2014 ; Dob and Benabdelkader 2006). En Algérie, l'*Artemisia herba-alba* Asso est l'une des onze espèces spontanées des *Artemisia* enregistrées, elle est présente dans les Hauts plateaux et en altitude dans le Sahara central (Quézel and Santa 1962). C'est une espèce vivace

caractérisée par une plasticité morphologique et une adaptation à des milieux variés ; une plante steppique, des climats arides et sous-arides de l’Afrique du Nord, du Moyen-Orient, ainsi que l’Espagne. C’est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées de 30 à 50 cm de long, d’aspect sec et blanchâtre. Les feuilles divisées en languettes fines, courtes, pubescentes, blanches et laineuses et des fleurs groupées en grappes, a capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre. Les bractées externes de l’involucre sont orbiculaires et pubescente (**Bezza et al., 2010 ; Wright 2001**). La floraison de cette espèce débute essentiellement du septembre jusqu’à décembre (**figure 10**). Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d’éviter ainsi les pertes d’eau ; elle se caractérise par sa forte production des graines et un pouvoir de régénération très élevé, un grand colonisateur du sol grâce à son système racinaire très dense et profond qui lui permet d’exploiter toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies. L’armoise résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés (**IUCN, 2005**).



Figure 10 : Différentes parties de la plante *A.herba-alba* dans son milieu naturel (**Bezza et al., 2010**).

III.1.3. Distribution Géographique :

L’espèce *Artemisia herba-alba* est un arbuste médicinal et aromatique qui est rencontrée dans les zones arides du bassin méditerranéen, et s’étend jusqu’au Nord-ouest de l’Himalayas. Cette plante est abondante dans la Péninsule Ibérique, et occupe des aires géographiques très vaste de l’Asie

centrale, elle atteint une plus grande population dans le centre de l'Espagne qui s'étend sur l'est, le sud-est et le sud de l'Espagne (Bertella *et al.*, 2018 ; Mohamed *et al.*, 2010).

III.1.4. Composition chimique :

Plusieurs études ont été effectuées sur les parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* au but de détermination de la composition chimique, et plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés dont les plus importants sont les sesquiterpènes lactones avec une grande diversité structurelle au sein du genre *Artemisia*. De plus les études sont basées sur les flavonoïdes et les huiles essentielles (Dif *et al.*, 2016; Mohamed *et al.*, 2010; Wright, 2001). Les flavonoïdes détectés au sein d'*Artemisia herba-alba* montrent une considérable diversité structurelle allant des flavonoïdes communs (flavones et flavonols glycosides), jusqu'aux flavonoïdes trop méthylés qui sont très inhabituel. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que la quercitine-3 glucoside et des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astéracées. Huit flavonoïdes O et C glycoside ont été isolés des feuilles et tiges d'*Artemisia herba-alba* collectés à Sinaï ; et deux flavonoïdes ont été isolés des parties aériennes recueillis au Liban soit l'hispiduline et le cirsilineol (Salah et Jäger, 2005). Concernant les composés phénoliques l'acide chlorogénique a été observé dans l'espèce *A. herba-alba* au cours d'une enquête réalisée sur 49 espèces des plantes médicinales marocaines ; dans une autre enquête sur les principes actifs anti-ulcérogènes d'*Artemisia herba-alba*, huit polyphénols et composants annexes ont été isolés, incluant l'acide chlorogénique , acide 4,5-O-dicafféylquinique, isofraxidin 7-O-β-D-glucopyranoside, acide 4-O-β-D glucopyranosylcaféique , rutine, schaftoside, isoschaftoside, et vicenin-2 (Mohamed *et al.*, 2010; Mouhajir *et al.*, 2001; Saleh *et al.*, 1987).

Au cours des dernières décennies, les travaux sur *A. herba-alba* sont focalisés sur l'huile essentielle; la caractérisation de sa composition chimique dans les différentes régions du monde a créé un grand polymorphisme et permet la définition de plusieurs chémotypes. Dans la plupart des cas il a été rapporté que l'huile essentielle d'armoise blanche est largement caractérisée par son teneur important en monoterpénoïdes principalement oxygénées tels que le 1,8-cinéole, le chrysanthenone, le chrysanthenol (et son acétate), α/β thujone et le camphre comme composant majoritaire. Selon Dob and Benabdelkader, (2006), les monoterpénoïdes sont les principaux composants (86.1%), suivis par les monoterpènes irréguliers (3.1%). En Algérie les monoterpènes représentent les composants majoritaires, essentiellement la présence de camphre, d'α et de β-

thujone, de 1,8 cineole, et des dérivés chrysanthenyles. Dans l'armoise du Maroc, 16 chémotypes ont été recensés avec en majorité des monoterpènes. En Tunisie, les monoterpènes oxygénés sont révélés être les principaux composants d'huile d'*A.herba-alba* extraite des parties aériennes de la plante des régions arides (Akrouit *et al.*, 2010). Les principaux composés sont l'eucalyptol, les thujones, la chrysenthenone, le camphre, le borneol, l'acétate de chrysanthenyle, l'acétate de sabinyle, la davanone et les éthers dérivés de la davanone (Bezza *et al.*, 2010). Dans une autre étude, Les Monoterpènes et les sesquiterpènes sont trouvés dans certains échantillons comme principaux composants (Mohsen et Ali, 2009). Dans l'huile de la Jordanie les monoterpènes sont prédominants accompagner par la santolinol ;Al-Shuneigat *et al.* 2015 a caractérisé la composition d'huile essentielle d'*A.herba-alba* du sud de la Jordanie, la chrysanthenol, 1,8 cineole, limonene et α -terpinenol sont trouvés comme principaux composants. Des études provenant d'Espagne ,montrent la présence majoritaire de camphre, d'eucalyptol, de *p*-cymene et de davanone (Abu-Darwish *et al.*, 2015).

III.1.5. Usage traditionnel :

Depuis longtemps, l'armoise blanche est reconnue par les populations pastorales et nomades par ses vertus purgatives. L'*Artemisia herba-alba* Asso est très utilisé au Moyen-Orient et en Afrique du nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinaux (Yashphe *et al.*, 1987). Elle était utilisée aussi comme aromatisant dans le thé et le café, puis elle est devenue une panacée dans la médecine traditionnelle arabo-musulmane pour traiter les désordres gastriques ainsi que pour son activité antihelminthique. Cette plante présente également un caractère vermifuge important pour les moutons et le bétail dans les régions du plateau algérien où elle pousse en abondance(Bezza *et al.*, 2010). *A.herba-alba* est utilisée aussi pour traiter les troubles inflammatoires, rhume, toux, bronchite, diarrhée, les maladies infectieuses (maladies de la peau, gale, syphilis), antiseptique et antipyrétique ainsi que contre les troubles menstruels et nerveux, la névralgies, Comme agent antitumorales, antispasmodiques, antigénotoxiques, et antidiabétiques (Abu-Darwish *et al.*, 2015; Jouad *et al.*, 2001; Mighri *et al.*, 2010).

L'huile essentielle d'armoise blanche a montré une potentielle activité antibactérienne et antifongique. L'activité antifongique *in vitro* a été évaluée sur différents micro-organismes, l'huile a montré une action très forte contre *Candida* et *Microsporum* ce qui soutient son utilisation thérapeutique dans le cas du diabète, pour traiter les infections fongiques concomitantes (*Candida*

albicans) qui peuvent se produire en raison d'une immunité diminuée (**Ouaritini et al., 2016**). Dans d'autres études un effet synergique dans l'inhibition de la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger* et de *Zygorrhynchus sp* de cette huile a été démontré, en association avec le chlorure de sodium ou d'acide gras. L'effet antibactérien de cette huile essentielle a été testé contre différentes bactéries causant des désordres intestinaux au but de déterminer son effet antispasmodique. L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi* (**Lakehal et A, 2016; Ouaritini et al., 2016; Zouari et al., 2010**). *A. herba-alba*. Possède une activité antioxydante modérée, et une teneur en composés phénoliques plus importante que les plantes alimentaires courantes selon des études réalisées en Algérie et en Jordanie sur certaines plantes médicinales (**S. Mansour et al., 2014; Mohamed et al., 2010**).

III.1.6. Intérêt économique de la plante :

En Algérie, les steppes à armoise blanche ont été et sont toujours considérés avec ceux à alfa, à sparte et à remth comme les meilleurs parcours pastoraux des zones steppiques (**Houmani et al., 2004; Lahmar-Zemiti & Aidoud, 2016**). L'armoise blanche est une espèce qui s'adapte à la sécheresse et à la pression animale, c'est une excellente fourragère dans les pâturages algériens, est donc tiennent une place importante dans l'économie des milieux steppiques basée principalement sur l'élevage ovin et en moindre degré caprin (**Nedjimi et Zemmiri, 2019; Nedjraoui, 2004**). Il a été rapporté que la production annuelle totale d'une steppe à armoise blanche varie entre 180 et 290 kg/ha, soit une productivité pastorale annuelle entre 120 et 180 UF/ha, avec une valeur énergétique moyenne variable selon le stade phénologique, de 0.30 à 0.63 UF/kg de matière sèche. Cette espèce présente un équilibre entre la composition en calcium et en phosphore, elle est très riche en protéines (11.46%), en lipide (16.50%) et en cellulose (26.73%) (**Abbassia et al., 2011; Ayad et al., 2008**).

III.2. *Capparis spinosa* L :

III.2.1. Systématique de la plante :

La classification du genre *Capparis* et *C. spinosa* L (câprier épineux) est critique en raison des taxons qui ont été proposés depuis le XIXe siècle , lorsque Candolle a établi la première approche

taxonomique de *Capparis* qui comprend *C.spinosa* et d'autres . La classification actuelle de cette espèce est la suivante (**Rajesh et al., 2009**) :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous-Embranchement	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Capparales
Famille	<i>Capparidaceae</i> ou <i>Capparaceae</i>
Genre	<i>Capparis</i>
Espèce	<i>Capparis spinosa</i> L

III.2.2. Présentation de la plante et description botanique :

C. spinosa est l'une des espèces les plus importantes de la famille de *Capparidaceae* qui a une grande diversité (environ 40-50 genres et 700-900 espèces). La *Capparidaceae* a été connue pour être étroitement apparentée à la famille des Brassicacées (Cruciferae) qui est riche en glucosinolates et flavonoïdes (**Zhang et Ma, 2018**). Les espèces appartenant au genre *Capparis* ont un caractère plésiomorphe (**Fici, 2001**). L'espèce *C. spinosa* est un arbuste pérenne à feuilles caduques d'hiver ; c'est un arbrisseau dressant avec des tiges flexueuses, épineuses (**figure 11**). Les feuilles sont alternes, ovales-arrondies, pétiolées, lancéolées ou oblong, lisses, vertes, et souvent un peu rougeâtre Les stipulations des feuilles peuvent être formées en épines, ce qui leur confère le nom "spinosa". Elle fournit un condiment recherché, la câpre, qui correspond au bouton floral de la plante. Le pétiole est rainuré ou entier, 0-2 cm. Les fleurs sont solitaires, quelque peu zygomorphes principalement noctoflorieux, composées de quatre grands sépales verts et de quatre pétales blancs veinés de rose et de nombreuses étamines avec des filaments allant jusqu'à 5 cm. Le fruit est ellipsoïdal, obovale ou oblong, rougeâtre, s'ouvre à la fin de la maturité. Les graines sont nombreuses et brun rougeâtre, lisses en forme de rein de 3 mm de longueur. Le nombre de graines

est environ 130/fruit avec un minimum de 15 graines pour les petits fruits et 400 pour les gros fruits. Les racines sont peu ramifiées et très profondes (Chedraoui *et al.*, 2017; Fadili *et al.*, 2017; Fici, 2014).



Figure 11: Différentes parties de *C.spinosa* L dans son milieu naturel (Chibani *et al.*, 2017).

Les capacités physiologiques permettant l'adaptation de *C.spinosa* aux conditions de sécheresse ont été vérifiées. La plante peut modifier la structure de ses feuilles, de ses tiges et de ses racines lorsque face aux zones sèches. Le xylème et les systèmes fibro-vasculaires augmentent et la région de transit entre la racine et la tige s'élargit pour augmenter la capacité d'absorption et de stockage de l'eau (Chedraoui *et al.*, 2017; Gan *et al.*, 2013).

III.2.3. Distribution Géographique :

Capparis spinosa pousse naturellement sur la côte atlantique de l'île des Canaries et le Maroc à la mer Noire, en Crimée et l'Arménie, et à l'est de la mer Caspienne et Iran (Chedraoui *et al.*, 2017; Inocencio *et al.*, 2000) . Il se propage en Afrique du Nord, Europe, Asie occidentale, Afghanistan et Australie. Cette plante aurait pu se développer sous les tropiques, puis s'est étendue au bassin méditerranéen et à l'Asie centrale. Les différentes sous-espèces et variétés ont des répartitions géographiques spécifiques. *C. spinosa subsp. spinosa* est distribué en Europe du Sud, en Afrique du Nord, y compris le Sahara, en arabe péninsule, et du Moyen-Orient à la Chine (Chedraoui *et al.*,

2017). Le câprier se développe naturellement dans les régions montagneuses, il s'adapte aux sols pauvres et résiste à la chaleur et à l'ensoleillement ; il tolère une température supérieure à 40° C lors des étés secs méditerranéens. Il est généralement situé à basse altitude, mais certaines plantes ont été trouvées à plus de 1000 m au-dessus du niveau de la mer (Fadili *et al.*, 2017; Stefanucci *et al.*, 2018). Les câpriers conviennent aux sols calcaires ou à des sols avec un taux modéré d'argile, dans les zones salines et halophytes. Ils tolèrent les sols salés, sableux ou rocheux, avec une faible quantité de matière organique comme en Inde ; ; cette plante pousse largement en été de mai à octobre (Stefanucci *et al.* 2018 ; Tlili *et al.* 2011). Le câprier est cultivé et exporté, les principales zones de production se trouvent dans les régions rurales du Maroc, du sud-est de la péninsule ibérique, de la Turquie , de la région sud et des îles italiennes (Moufid *et al.*, 2015; Stefanucci *et al.*, 2018).

III.2.4. Composition chimique :

Plusieurs études phytochimiques ont tenté d'élucider la composition chimique de *C. spinosa*. En général, Cette plante présente un panel de substances bioactives telles que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les stérols, les terpénoïdes , les tocophérols, les indoles et les acides phénoliques (Moufid *et al.*, 2015; Zhang et Ma, 2018). Parmi les flavonoïdes identifiés et quantifiés on trouve la rutine, quercétine, quercétine-3-rutinoside, kaempférol-3-rutinoside ; Les flavonoïdes ont fait l'objet d'une attention considérable pour leurs effets bénéfiques sur la santé en raison de leurs propriétés anti-oxydantes. Toutefois, une étude a révélé la présence de l' α - et γ -tocophérol dans les boutons florales (câpres), ainsi qu'un taux appréciable de vitamine C. La lutéine et la violaxanthine sont les principaux caroténoïdes et la principale forme de tocophérol détectée dans les feuilles était l' α -tocophérol (Moufid *et al.*, 2015; Tlili *et al.*, 2011). La plupart des travaux d'isolement et d'identification des alcaloïdes et des composés apparentés ont été axés sur les fruits de *C. spinosa* ,différents alcaloïdes aussi ont été détectés tels que la capparispine, capparispine 26-O- β -d-glucoside et cadabicine 26-O- β -d- chlorhydrate de glucoside (Mansour *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2010). Une autre étude sur l'infusé de câprier a permis d'identifier la rutine, le kaempférol 3-O-rutinoside et l'isorhamnetin 3-O-rutinoside comme flavonoïdes dominants, en plus de l'isoginkgétine, de la ginkgétine et de la sakuranétine qui ont démontré une activité anti-inflammatoire en inhibant le facteur nucléaire - kappa B (Zhou *et al.*, 2011). Ascrizzi et autres ont indiqués que les graines émettent des hydrocarbures sesquiterpéniques, les composés les plus

abondants étant le β -caryophyllène (45 %), suivi du α -guaïène (15 %), du bicyclogermacrène (12 %) et du germacrène B (8 %) (Ascrizzi *et al.*, 2016). Une étude récente a révélé la présence d'un taux élevés d'acides gras insaturés, des stérols, et de tocophérol dans les graines de *C.spinosa* (Moufid *et al.*, 2015).

III.2.5. Usage Traditionnel :

Capparis spinosa est l'une des plantes médicinales largement utilisées dans la médecine traditionnelle au long des civilisations pour soigner diverses maladies, ainsi que dans les préparations culinaires. Au Maroc, cette plante est traditionnellement utilisée dans le contrôle et le traitement du diabète et l'hypertension, et est considérée comme la plus communément consommée dans la cuisine marocaine. Les parties aériennes fraîches, en particulier les bourgeons floraux saumurés, les fruits non cuits et les pousses, sont conservées dans du sel, du vinaigre ou de la saumure et utilisées en apéritif avec des olives, du fromage et des noix ou comme supplément à la viande, aux salades, aux pâtes et à d'autres aliments. Les racines sont consommées par les Égyptiens et les Arabes pour traiter les maladies rénales, le foie, des problèmes d'estomac et des piqûres de scorpion. Les feuilles sont utilisées contre les problèmes de la peau, les maux d'oreilles. Les bourgeons non ouverts sont utilisés pour traiter les infections oculaires et prévenir la cataracte (Jouad *et al.*, 2001; Tili *et al.*, 2011).

En Algérie, l'écorce de la racine est utilisée en tant qu'anti-inflammatoire, contre le rhumatisme, des maux de tête, des maladies de la rate et du foie. Les graines sont utilisées pour les problèmes pulmonaires (Benseghir Boukhari, 2015). Les extraits aqueux de *C. spinosa* ont montré une activité anti-hyperglycémique et des effets contre l'obésité significatifs. En effet le traitement des souris diabétiques par l'extrait aqueux de fruits favorise la sensibilisation de l'insuline dans les tissus périphériques, ce qui se traduit par une production endogène de glucose (PEG) plus faible chez les souris traitées que chez les souris non traitées (Chedraoui *et al.*, 2017; Eddouks *et al.*, 2017). Il a été rapporté que *C. spinosa* est associé à une amélioration des paramètres des lipides plasmatiques ; et peut être utilisé pour le traitement d'hypercholestérolémie et du syndrome métabolique (Zhang et Ma, 2018). Dans une étude récente, Tili *et al.* (2017) ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles a restauré de manière significative les dommages des reins et du foie provoqués à cause du traitement du cancer le Cisplatine. Une grande activité antioxydante a été démontrée également par les extraits méthanoliques de baies de câpres ; plus spécifiquement,

des fruits sur des cellules de carcinome hépatocellulaire (HepG2) (Yu *et al.*, 2017). Les extraits aqueux des fruits et des feuilles de *C. spinosa* ont montré une meilleure activité anti-inflammatoire et également un effet antiarthritique (El Azhary *et al.*, 2017). Les fractions butanolique d'extrait hydrométhanolique de la Jordanie ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus epidermidis*, alors que les fractions d'éther de pétrole, d'hexane et d'eau ont montré un effet contre *Streptococcus faecalis* (Muhaidat *et al.*, 2013).

III.2.6. Intérêt économique de la plante :

C'est certainement l'usage qui présente le plus grand intérêt économique. Le plus important des divers organes de la plante utilisés dans l'alimentation est évidemment le bouton floral, ou câpre utilisé dans les pays méditerranéens particulièrement en France, en Italie et en Grèce. Les pays du Sud et de l'Est méditerranéens exportaient en grandes quantités des câpres saumurées aux pays occidentaux, les Etats-Unis étant le pays le plus grand consommateur des câpres. Cependant, l'urbanisation et l'évolution des styles de vie et des modèles de consommation des pays du Sud et de l'Est méditerranéens ont apporté une demande croissante pour les produits apéritifs et digestifs parmi lesquels les câpres est un nouveau marché a émergé pour cette plante au goût si particulier (Tozanli, 2018). L'Italie, l'Espagne, le Maroc, la Tunisie, la Turquie sont parmi les principaux pays producteurs et exportateurs de câpres, ; le Maroc exploite en même temps les câpriers spontanés pour les conditionner avant l'exportation (Chibani *et al.*, 2017; El amri *et al.*, 2019; Grimalt *et al.*, 2018). Le Câprier algérien occupe des espaces à particularité marginale ou terrains escarpés. Un commerce occasionnel avec l'extérieur est pratiqué. La récolte se fait sur les espèces épineuses spontanées par les ruraux à très faibles revenus, les câpres sont destinées à l'exportation et la demande en est forte. La consommation locale est presque nulle voire même inconnue dans certaines villes. Ce n'est que ces dernières années qu'on remarque le produit introduit timidement parmi les aliments exposés à la vente dans les grandes villes (Benseghir Boukhari, 2015; Tozanli, 2018).

Chapitre IV

Matériel et méthodes

IV.1. Matériel végétal :

L'espèce *Artemisia herba-alba* Asso a été récoltée durant le mois de décembre 2018 dans la région de Meridja, Bechar **figure 12 et 14**. Alors que l'espèce *Capparis spinosa* (El Kabbar), a été recueillie dans la région de Boukais, Bechar sud-ouest d'Algérie entre le mois de mai et juin 2018 **figure 13 et 14**. Ces deux plantes ont été authentifiées par le Pr. Belhaçaini Hachemi (université de Sidi-Bel Abbés, Algérie). Un voucher spécimen de chaque espèce (A.h a ONA 2018 ; C.s ONA 2018) a été déposé au niveau de Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Végétale (Université de Mostaganem, Algérie). Les coordonnées géographiques sont représentées dans le **tableau n°1**. La partie aérienne d'*A.herba-alba*, et les feuilles et les fruits de *C. spinosa* ont été par la suite rincés, puis mis à sécher à la température ambiante à l'air libre, et à l'ombre pendant 15 jours, jusqu'à la stabilisation de leur masse afin de préserver l'intégrité des molécules et d'éviter les risques d'oxydation des polyphénols (**Bendif Hamdi, 2017**).

Tableau n° 1 : Coordonnées géographiques des sites de récolte des deux espèces.

Espèce végétale	Région	Coordonnées géographiques
<i>Artemisia herba alba</i> Asso	Meridja (Bechar)	Altitude : 31.512m, longitude :2°35'370 O, Latitude :31°30'43.8N.
<i>Capparis spinosa</i> L	Boukais (Bechar)	Altitude :31.92m, longitude :2°27'.10.256 O, Latitude :31°55'.28.315N.



Figure 12: *Artemisia herba-alba* (Photo originale).



Figure 13 : *Capparis spinosa* (feuilles et fruits) (Photo Originale).

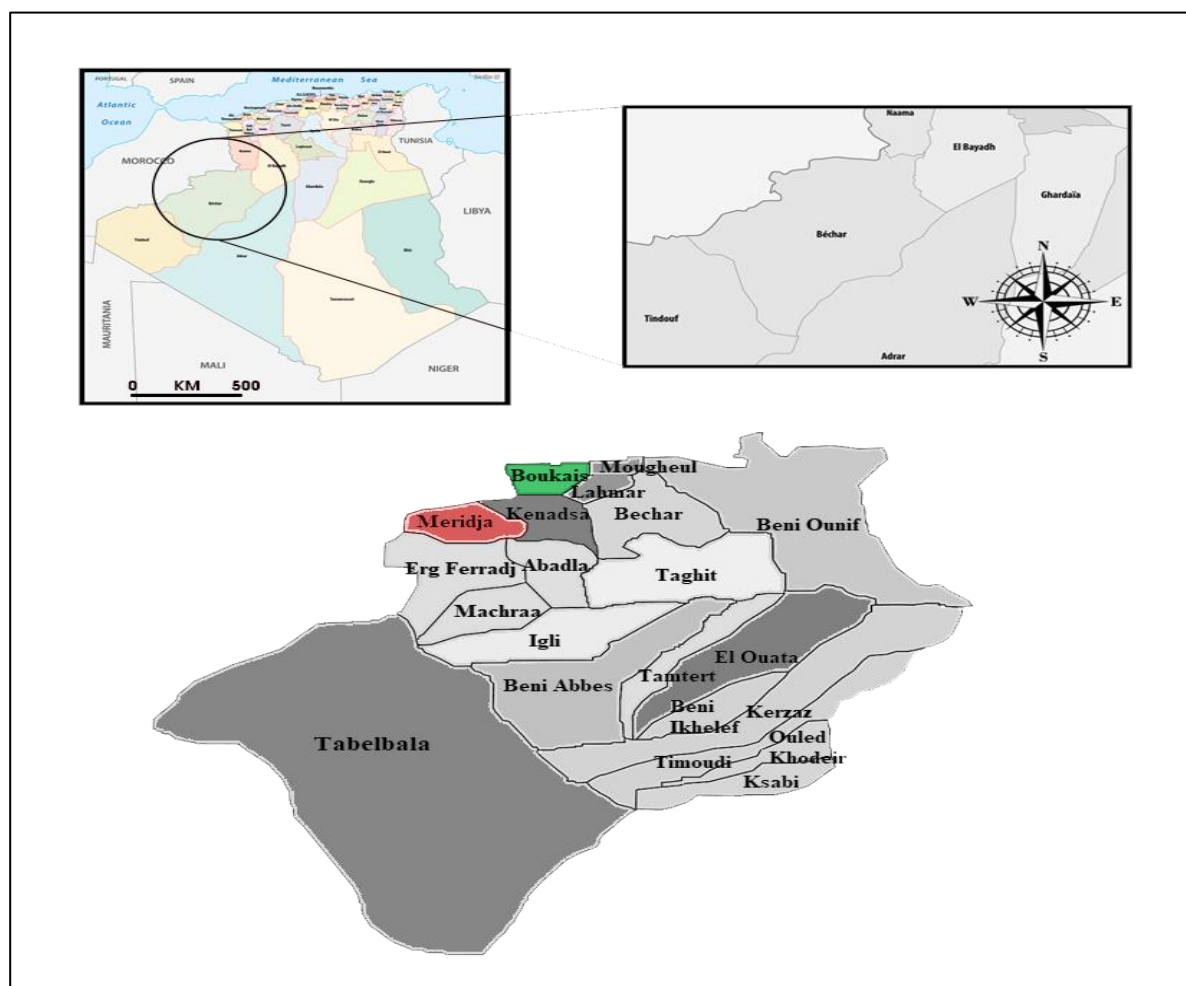


Figure 14 : Carte géographique des zones de collecte des espèces étudiées (Originale).

IV.2. Screening phytochimique :

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence les différents groupes de familles chimiques présents dans les plantes étudiées. En effet il consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés soit sur des réactions de coloration, ou sur la formation des complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principe actifs. Le principe consiste à l'épuisement de la matière végétale par des solvants à polarité croissante. L'étude tri-phytochimique a été réalisée sur la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba*, les feuilles et les fruits de *C.spinosa* basant sur les tests standards décrits par **Aworet, (2003), Trease et Evans (2002), et Khan et al. (2011).**

IV.2.1. Alcaloïdes:

Macération par l'eau acide :

10g de poudre végétale sèche sont introduit dans un erlenmeyer, à laquelle 50mL d'une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) dilué à 10% avec de l'eau distillée est ajoutée. Ce mélange est agité et macéré pendant 24h à une température ambiante du laboratoire, le macéré est filtré de manière à obtenir 50mL du filtrat. 1mL de la solution aqueuse acide a été mis dans trois tubes à essai, le contenu du premier tube a été traité avec 5 gouttes du réactif de Dragendroff, le deuxième avec 5 gouttes du réactif de Wagner, et le troisième avec 5 gouttes du réactif de Mayer. Le test est positif si des précipités rouge orange, brun, et blanc-jaunâtre sont formés respectivement.

IV.2. 2. Tanins :

1,5g du matériel végétal sec ont été placé dans 10mL de méthanol 80% est agité durant 15min puis filtré. À 1 mL de la solution à tester 1 mL d'eau a été ajouté et 1 à 2 gouttes de Solution de $FeCl_3$ à 2%, puis laisser reposer quelques minutes. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

- Réaction de Stiasny

5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 mL d'eau bouillante et laisser infuser 15 à 30 minutes. La suspension est filtrée et rincée avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 mL d'infusé à 5%.

La différenciation des tanins catéchiqes et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny,

15mL de Stiasny sont ajoutés (10mL de formol à 30% + 5mL HCl) à 30mL d'infusé à 5%. Le mélange est ensuite chauffé au bain marie à 90°C pendant 15min. L'obtention d'un précipité rose montre la présence de tanins catéchiques. Le mélange précédent est filtré et saturé par 5g d'acétate de sodium à laquelle 1ml d'une solution de chlorure de fer III à 1% est ajouté. Le développement d'une teinte bleu-noire témoigne la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

IV.2.3. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Du point de vue structural, ils se répartissent en plusieurs classes de molécules, est donc pratiquement plusieurs tests permettre la mise en évidence de différents types.

- **Réaction à la cyanidine**

Dans un tube à essai 5mL d'infusé à 5% est mis avec 5mL d'alcool chlorhydrique (Alcool à 95%, eau distillée, HCL à volumes égales), puis quelques copeaux de magnésium et 1mL d'alcool iso-amylque sont ajoutés. Il se développe dans l'espace de 3 minutes l'apparition d'une coloration rose orangée (Flavones), ou rose violacée (Flavonones), ou rouge (Flavonols, Flavonolols) dans la couche surnageante d'alcool iso-amylque témoigne la présence de flavonoïdes libres (génine).

- **LeucoAnthocyanes**

La réaction de la cyanidine est effectuée sans ajout de copeaux de magnésium avec chauffage au bain-marie pendant 15 min. il se développe une coloration rouge cerise ou violacée en présence des leuconanthocyanes, ou une teinte brun-rouge en présence de catéchols.

- **Anthocynes**

5mL d'acide sulfurique est ajouté à 5ml d'infusé à 5%, puis 5 mL de NH₄OH. La coloration qui s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacée en milieu basique, indique la présence d'anthocyanes.

IV.2.4. Anthraquinones libres (Réaction de Bornträger) :

A 1 g de poudre végétale, un volume de 10 mL de chloroforme est ajouté. Le mélange est chauffé au bain-marie pendant 3 min, puis filtré à chaud et complété à 10 mL si nécessaire. A l'extrait

chloroformique, on ajoute 1mL du NH_4OH à 20% (v/v). Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge.

IV.2.5. Saponosides

2g de poudre dans 100mL d'eau distillée ont été portés à reflux, on porte le mélange à ébullition modérée (décoction) pendant 30 minutes. Après filtration et refroidissement le volume a été ajusté à 100mL d'eau distillée. À partir de cette solution mère, 9 tubes à essai ont été préparés : Le premier tube avec un contenu de 1mL de solution mère et complété jusqu'à 10mL avec 9mL d'eau distillée, le deuxième tube avec 2mL de solution mère et 8mL d'eau distillée. Répéter l'opération jusqu'au 9ème tube. Chacun des tubes a été agité manuellement et horizontalement pendant 2 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1cm indique la présence de saponosides. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm permet de calculer l'indice de mousse.

$$\text{Idm} = 1000 / N$$

- Idm : Indice de mousse ;
- N : Numéro du tube dans la hauteur de la mousse est de 1 cm.

IV.2.6. Terpenoides : (Test de Slakowski)

Une quantité de 5g du matériel végétal est mise en contact avec 50 mL de méthanol dans un bécher, l'ensemble est agité pendant une heure à l'air ambiant, le mélange est filtré pour obtenir l'extrait méthanolique. À 1 mL de ce dernier, 0,4 mL de chloroforme (CHCl_3) et 0.6 mL de H_2SO_4 concentré ont été additionnés. La présence des terpénoïdes est mise en évidence par l'apparition d'un anneau marron à l'interphase.

IV.2.7. Hétérosides stéroliques et triterpéniques

Evaporer 10 mL de l'extrait méthanolique, le résidu obtenu a été traité avec 0,5 mL de chloroforme et 0,5 mL d'anhydride acétique. Le mélange est partagé dans deux tubes à essai. L'un servant de témoin, et dans le second, 1 à 2 mL de H_2SO_4 concentré sont rajoutés. À la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte (présence des hétérosides stéroliques) ou violette (présence des hétérosides triterpéniques).

IV.2.8. Composés réducteurs :

La détection des composés réducteurs consiste à traiter 1 mL de l'extrait méthanolique avec 2 mL d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.

IV.2.9. Stérois et tri-terpènes :

L'extrait éthérique est préparé en mélangeant 10 g de poudre et 200 mL d'éther diéthylique, le mélange est laissé macérer pendant 24 heures. Les Stérois et tri-terpènes ont été identifiés par la réaction de Liebermann-Burchard. Après avoir évaporé à sec 10 mL de l'extrait éthérique, le résidu a été dissout dans 1 mL d'anhydride acétique puis 1 mL de chloroforme. Le mélange a été ensuite partagé dans deux tubes à essai, le premier servant de témoin, et le deuxième auquel 1 à 2 mL de H₂SO₄ concentrés ont été ajoutés. À la zone de contact des deux liquides, s'il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette, la présence de stérois et tri-terpènes sera révélée.

IV.2.10. Coumarines :

Un test simple a été effectué, elle consiste à évaporer 5 mL d'extrait éthérique, puis 2 mL d'eau chaude est ajouté au résidu. La solution est partagée entre 2 tubes à essais. La présence des coumarines est révélée après l'ajout dans l'un des tubes de 0,5 mL de NH₄OH à 25%. La fluorescence est observée sous U.V à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube contenant l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

IV.2.11. Quinones libres :

À 10 mL de l'extrait étudié (éthérique) sont ajoutées quelques gouttes de NaOH 0,1 N. La présence des quinones libres est confirmée si la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet.

IV.2.12. Mucilages :

1 mL de décocté à 10% et 5 mL d'alcool absolu sont introduits dans un tube à essai. L'obtention d'un précipité floconneux après quelques minutes d'agitation indique la présence de mucilages.

IV.3. Extraction des huiles essentielles par hydro-distillation :

La distillation est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des composés aromatiques volatiles. L'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* a été extraite par hydro-distillation en utilisant un appareil de type Clevenger (**Figure 15**). Cela consiste à immerger directement 100g de la matière végétale dans un ballon de 2L rempli d'eau distillée surmonté d'une colonne reliée à un réfrigérant. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3h dans un chauffe-ballon. Les vapeurs ascendantes provenant de l'alambic se condensent par refroidissement. L'huile essentielle obtenue est stockée à 4°C dans des tubes en verre fermés hermétiquement à l'obscurité, afin d'éviter son oxydation à l'air et la lumière jusqu'à son utilisation (**Abdelli et al., 2017**).



Figure 15 : Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*.

IV.4. Extraction des extraits par Macération :

Les parties aériennes des deux plantes (feuilles et fruit pour *C. spinosa*) préalablement broyées en poudre (10g) sont mises en contact avec 100mL de mélange méthanol/eau (80/20). Le mélange est soumis à une agitation pendant 48h à température ambiante à l'abri de la lumière. Après une double filtration sur papier filtre, les filtrats hydro-méthanoliques sont concentrés à sec sous pression réduite à une température modérée (45°C) dans un évaporateur rotatif Büchi (**Allemagne**). Les extraits bruts obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement d'extraction, et conservés à froid (4°C) jusqu'à leur usage (**Bruneton, 1993; Fadili et al., 2017**).

Détermination du rendement des extractions :

Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule ci-dessous :

$$R (\%) = M'/M \times 100$$

R : rendement d'extraction en pourcentage.

M' : masse de l'extrait sec ou d'huile essentielle en gramme.

M : masse de la matière végétale en gramme.

IV.5. Analyse chimique de l'huile essentielle :

La séparation et l'identification des constituants de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS). Le principe de la technique consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (Gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse.

L'analyse chromatographique a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Thermo Fisher Scientific Trace GC Ultra équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), utilisant une colonne capillaire SE-52 (95% polydiméthylsiloxane, 5% polydiphénylsiloxane) 50 m de longueur, avec 0,25 mm de diamètre, et d'une épaisseur du film de 0.1 µm. La température du four est maintenue à 60°C pendant 1 minute, puis programmée à 230°C avec un gradient de 3°C/min, la température de l'injecteur (mode split/splitless) et du détecteur a été fixée à 250°C. Le gaz vecteur était l'hélium 5.0 avec un débit constant de 1.5 mL/min. L'échantillon de l'huile essentielle (0.1 µL) a été injecté par le mode split à un rapport de fuite de 1 :100 (**Grob,1986**).

L'analyse GC-MS a été réalisée à l'aide d'un chromatographe couplé à un spectromètre de masse de type Thermo Fisher Scientific ISQ ; avec chauffage de l'interface à 250°C, La fragmentation est effectuée par impact électronique d'intensité de 70 eV, filament 50 µA, plage de balayage 40-500 amu. Les données SM et FID ont été obtenues dans un seul GC à l'aide d'un séparateur SM-FID, il est composé d'un séparateur en Y en quartz, d'une courte colonne de restriction en silice fondue de 0,1mm de diamètre (environ 20 cm) servant d'entrée à l'interface GC-SM, et d'une colonne en silice fondue désactivée d'environ 1 m de diamètre (0,25 mm) servant de ligne de transfert vers le détecteur FID. La colonne de restriction a été utilisée pour limiter le débit dans le vide du SM et empêcher l'insertion de gaz de combustion provenant du FID, qui fonctionnait à la pression

atmosphérique. De plus, le débit dans la colonne analytique devait être supérieur au débit entrant dans le détecteur SM, qui était limité à environ 1mL/min par la ligne de restriction. Le débit de la colonne GC devait également être constant, sinon le rapport de division FID/SM changerait avec la température. Cette configuration a donné un chromatogramme FID et MS avec des temps de rétention (RT) presque identiques, facilitant ainsi l'attribution des pics FID à chaque substance (Grob,1986).

IV.5.1. Identification des composés chimiques :

Le logiciel Thermo Xcalibur 2.2 a été utilisé pour identifier les composés en corrélant les spectres de masse avec ceux de bases de données (NIST 08, Wiley 8^{ème} édition, la bibliothèque Adams) (Adams, 2007; NIST 17, 2017), la bibliothèque de terpénoïdes MassFinder. Les indices de rétention (RI) ont été établis en comparant ceux calculés avec les données de la littérature ou les composés de référence. La quantification a été obtenue en utilisant des calculs de surface de pic normalisée sans facteurs de réponse relatifs du FID.

IV.6. Dosage des composés phénoliques :

L'analyse quantitative des composés phénoliques : polyphénols totaux (PT), flavonoïdes totaux (FT), et tanins condensés (TC) est réalisée par le dosage spectrométrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Jenway (6715 UV-Vis). La raison principale du choix de ces composés réside dans le fait que la majorité des activités biologiques des plantes leurs sont attribués.

IV.6.1. Dosage des polyphénols totaux (PT) :

La teneur en polyphénols totaux des extraits hydrométhanoliques a été déterminée au moyen du réactif de Folin-ciocalteu suivant le protocole décrite par Li *et al.* (2006) ; Nasri *et al.* (2017). Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols à un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur bleue produite est proportionnelle au contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

Mode opératoire :

Brièvement ,500µL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) a été ajouté à 100µL de chaque extrait (1mg/mL préparé dans l'eau distillée), après 4 min 400µL d'une solution de carbonate de

sodium (7.5%) ont été additionné au milieu réactionnel. Après 2h d'incubation à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 765nm. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établi avec l'acide gallique (0-150µg/mL) et exprimée en mg EqAG/g d'extrait ou de matière sèche.

IV.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de *C.spinosa* et d'*Artemisia herba-alba* a été quantifiée selon la méthode au chlorure d'aluminium décrite par **Bahorun et al. (1996)**. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) entraînant un complexe rose qui absorbe à 430nm.

Mode opératoire :

500µL de différents extraits (1mg/mL) préparés dans le méthanol est mis dans des tubes à essai sur lesquels 500µL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2% (préparé dans le méthanol) a été ajouté. Le mélange est laissé incuber 15min à température ambiante à l'obscurité, avant la lecture de l'absorbance à 430nm. La quercitrine (0-40µg/mL) est utilisée comme standard. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine et les résultats sont exprimés en mg Eq de quercétine/g d'extrait.

IV.6.3. Dosage des Tanins condensés (Proanthocyanidines) :

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de vanilline décrite par **Broadhurst et Jones, (1978); Heimler et al. (2006)**. La vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu.

Mode opératoire :

À 200µL de chaque échantillon ou standard dilué dans le méthanol, un volume de 1.5mL de la solution de vanilline (à 4% dans le méthanol) a été ajouté, puis on ajoute 750µL de HCL concentré, Après 15 minutes d'incubation au bain marie à 30°C, l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0-500 µg/mL), les résultats sont exprimés en mg Eq de catéchine par g d'extrait de plante.

IV.7. Activités antioxydantes :

Les extraits et les huiles essentielles sont testés pour évaluer leur capacité antioxydante, deux différents tests sont utilisés, à savoir le DPPH qui détermine l'effet piégeant (scavenger), et FRAP qui détermine le pouvoir réducteur.

IV.7.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

Le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) est l'un des premiers radicaux utilisés pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques. Ce composé ayant une couleur violette, vire au jaune en présence des capteurs de radicaux libres, à cause de sa réduction en une forme non radicalaire 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) (**Figure 16**), en acceptant un atome d'hydrogène entraînant une diminution de son absorbance. La cinétique de décoloration est suivie à 517nm (**Sánchez-Moreno, 2002**).

IV.7.1.1. Test DPPH d'huile essentielle :

Pour les huiles essentielles la méthode équimolaire décrite par **Goudjil et al. (2015)** ; **Mighri et al. (2010)** est utilisée. L'huile essentielle a été diluée dans le méthanol, puis 1 mL de l'huile à différentes concentrations est mélangé avec 1mL de solution méthanolique de DPPH à 0.004% dans le méthanol. Parallèlement le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1mL de solution de DPPH.

IV.7.1.2. Test DPPH des extraits :

Concernant les extraits, l'activité a été évaluée selon le protocole décrite par **Cuendet et al. (1997)** ; **Nasri et al. (2017)**. 50µl des extraits à différentes concentrations a été mélangé avec 1250µL de DPPH à 0.004% dans le méthanol. Dans ce cas le contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µL de méthanol avec 1250µL de DPPH. Le blanc est représenté par le méthanol.

Le contrôle positif est représenté par la solution d'acide ascorbique préparé à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Le test est répété trois fois pour chaque échantillon. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) :

$$I\% = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle}} \times 100$$

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres a été déterminée graphiquement à partir de l'équation de la régression linéaire.

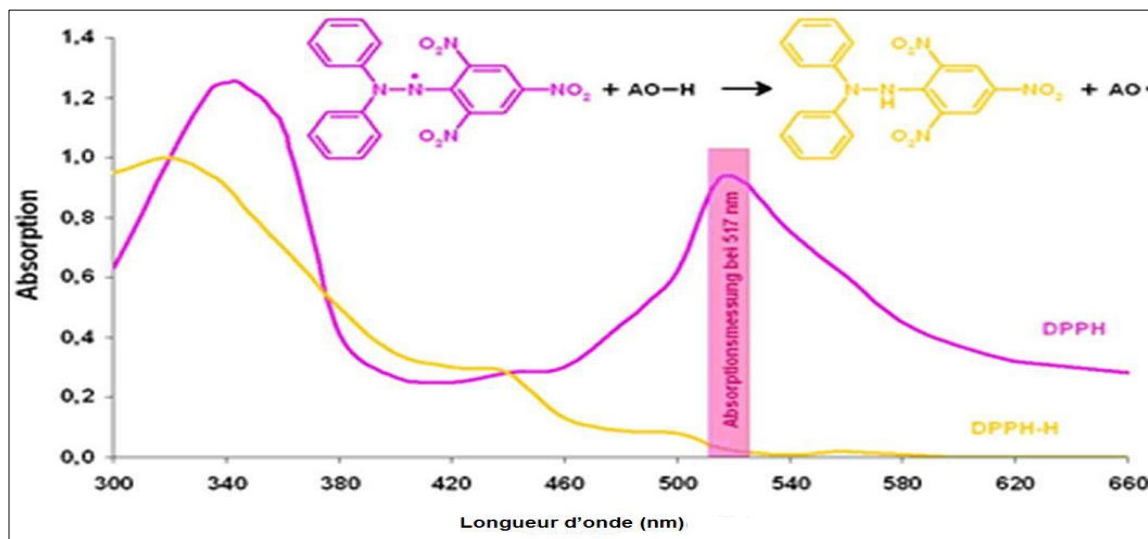


Figure16 : Représentation graphique montrant une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH due à l'exposition à un antioxydant (Pérez et Aguilar, 2013).

IV.7.2. Test de FRAP :

Cette technique est basée sur la capacité des huiles essentielles et des extraits de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}), ce qui induit le virage de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert de fer ferreux.

Mode opératoire :

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles et des extraits a été déterminé selon le protocole préconisé par Oyaizu, (1986). Un volume de 2.5mL de solution tampon phosphate (0.2M, PH6.6), et de 2.5mL de ferrocyanure du potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% est mélangé avec 1mL de chacune des solutions éthanoliques d'huile essentielle ou bien d'extrait à différentes concentrations. Le mélange est incubé à 50°C au bain-Marie pendant 20min, puis refroidi à température ambiante, 2.5mL d'acide trichloracétique (10%) a été ajouté pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm, puis 2.5mL de surnageant est mélangé avec 2.5mL d'eau distillée et 0.5mL d'une solution de FeCl_3 (0.1%). Après 10min d'incubation l'absorbance des solutions a été mesurée à 700nm, en utilisant l'eau distillée comme blanc. Une solution d'acide ascorbique

préparée dans les mêmes conditions à différentes concentrations est utilisée comme contrôle positif.

La valeur CE50 est la concentration efficace en extrait ou l'huile essentielle qui fournit 0,5 d'absorbance, elle est déterminée par interpolation à partir de l'équation de la régression linéaire.

IV.8. Etude biologique :

Souches microbiennes testées :

Pour chaque espèce végétale, la nature des composants phytochimiques et la teneur en substance ou l'ensemble des substances biologiquement actives sont à l'origine des activités biologiques de chaque extrait ou d'huile essentielle. Au but d'évaluer cette activité nous avons testé la sensibilité de quatre souches fournies par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire de la wilaya de Béchar, Leur identification a été effectuée à l'aide d'un automate **VITEK**, et sept souches de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie (**Tableau 2**). La pureté des souches a été confirmée par coloration de gram et des ensemencements sur des milieux sélectifs à savoir milieu HEktoen et Mac Conkey pour les entérobactéries, milieu Chapman pour les staphylocoques et milieu Sabouraud pour les levures.

Tableau n°2 : Liste des souches microbiennes testées.

Souches	Code	Gram	Source
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Positif	Milieu hospitalier
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Négatif	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Négatif	
<i>Escherichia coli</i>	-	Négatif	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	Positif	Institut Pasteur D'Algérie
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Négatif	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC700603	Négatif	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Négatif	
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659	Négatif	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	Positif	
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231		

ATCC: American Type Culture Collection.

Préparation de l'inoculum :

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 heures sur bouillon nutritif pour les bactéries, et 48h sur bouillon Sabouraud pour les levures en les diluant dans l'eau physiologique la turbidité de chaque suspension est ajustée à 0.5 à l'échelle de MacFarland qui correspond à $(1-2) \times 10^8$ UFC/mL pour les bactéries et $(1-5) \times 10^6$ UFC/mL pour les levures (Abdelli *et al.*, 2019; Balouiri *et al.*, 2016).

IV.8.1. Sensibilité des souches aux antibiotiques et antifongiques :

La sensibilité aux antibiotiques et antifongiques est déterminée selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie par la méthode de diffusion de disque sur milieu gélosé (CLSI, 2012). Les boîtes de Pétri contenant les milieux Mueller Hinton et Gélose Sabouraud ont étéensemencé par étalement de 100 μ L d'inoculum bactérien ou fongique, des disques d'antibiotiques Annexe et des disques imprégnés de 15 μ l d'une solution d'antifongique (100 μ g/ml) sont déposés sur les boîtes inoculées des souches à tester à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de Pétri ont été laissées diffuser à température ambiante pendant 1h avant de les incuber à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures. Les expériences sont effectuées en trois répétitions. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et la sensibilité est déterminée en se référant aux tableaux de CASFM (2014) ; CASFM (2018).

IV.8.2. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits :

➤ Technique de diffusion en milieu gélosé (Méthode de Vincent) :

Afin de tester l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits, nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme (CLSI, 2012). En plus de sa fiabilité et reproductibilité, cette méthode est utilisée comme étape préliminaire à des études approfondies (Balouiri *et al.*, 2016). Les milieux coulés en boîte de Pétri sontensemencés avec 100 μ L de suspension microbienne ajustée à 0.5 MacFarland ; des disques de papier Whatman stériles de 6mm de diamètre contenant 15 μ L de l'huile essentielle, ou 15 μ L des extraits hydrométhanoliques de la partie aérienne d'*A. herba-alba* ou des feuilles ou fruits de *C. spinosa* à une concentration de 50mg/mL. En parallèle des boîtes témoins sont utilisées comme contrôle négatif pour vérifier la croissance des différentes souches.

Les boîtes sont laissées à température ambiante avant d'être incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries, et 25°C pendant 48h pour les levures (Chebaibi *et al.*, 2011, 2016).

➤ **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

La CMI correspond à la plus faible concentration en huile essentielle ou extrait capable d'éliminer la croissance de 90% de la population microbienne (Skandamis *et al.*, 2001). La détermination des CMI vis-à-vis des souches microbiennes est réalisée par la technique de microdilution en milieu liquide. Une microdilution des huiles essentielles à tester dans le DMSO à 10% est produite dans des tubes de manière à générer une gamme de dilution à base de 2. La gamme de concentration est reproduite dans des microplaques de 96 puits. 15µL de chaque dilution est transféré dans les puits de la microplaque. Puis 170µL de BMH inoculé avec 15µL d'une suspension bactérienne à 10⁶ UFC/mL, ou 170µL de BS inoculé avec 15µL d'une suspension fongique à 10⁸ UFC/mL (Chebaibi *et al.*, 2016). Les concentrations finales des huiles essentielles sont comprises entre 10mg/mL à 0.019mg/mL (soit 1.5 à 0.0029% (V/V)).

Concernant les extraits hydrométhanoliques des feuilles et des fruits de *C.spinosa*, et de la partie aérienne d'*A.herba-alba*, la même technique de microdilution sur microplaque de 96 puits est utilisée suivant la technique décrite par Chebaibi *et al.* (2011) ; Ennacerie *et al.* (2017) avec quelques modifications. Les solutions mères des différents extraits ont été préparées en dehors des microplaques dans l'eau distillée stérile à partir desquels des dilutions géométriques à raison de 2 ont été réalisées. 50µL de chaque dilution a été transférée dans les puits convenables. Puis 100µL de BMH ou BS contenant 10µL de la suspension bactérienne ou fongique ajustée à 0.5 MacFarland a étéensemencé dans chaque puits. Dans les deux méthodes chaque ligne est réservée pour une souche, le dernier puits sert pour le contrôle positif contenant BMH/BS et l'inoculum, alors que le 11^{ème} puits sert pour le contrôle négatif (EDS ou DMSO 10%). Les concentrations finales des extraits sont comprises entre 100mg/mL à 0.4mg/mL pour les extraits d'*A.herba-alba* et les feuilles de *C. spinosa*, et entre 200mg/mL et 0.8mg/L pour l'extrait des fruits.

Après 18h d'incubation pour les bactéries et 48h pour les levures, la CMI est déterminée à partir du premier puits où aucune croissance n'est visible. La lecture est effectuée après l'ajout de 20µL de TTC (2,3,5-diphényltétrazolium Chloride) préparé extemporanément dans l'eau physiologique stérile (0.9% NaCl). Les microplaques sont réincubées pendant 10 à 30 min, la viabilité des cellules dans chaque puits est détectée par l'apparition d'une coloration rose (Balouiri *et al.*, 2016;

Chebaibi et al., 2011). Le nombre de répétitions est de trois fois au cours des trois expériences successives.

➤ **Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB/CMF) :**

La concentration minimale bactéricide ou fongicide correspond à la plus faible concentration de l'extrait ou de l'huile essentielle qui produit une réduction de 99.9% de l'inoculum microbien initial (**Skandamis et al., 2001**). À l'aide d'une anse calibrée 2µL est prélevé à partir des puits montrant une absence totale de la croissance microbienne, et est ensemencé sous forme des stries de 5cm de diamètre dans des boîtes de Pétri contenant gélose MH ou Sabouraud. Les boîtes sont incubées à 37°C pour les bactéries et 25°C pour les levures. Les stries avec aucune croissance microbienne représentent la CMB/CMF. Toutes les expériences sont réalisées en triplet.

En se référant au rapport CMB/CMI ou CMF/CMI, l'effet antimicrobien peut être jugé comme suit :

Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI <4 : effet bactéricide ou fongicide.

Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI >4 : effet bactériostatique ou fongistatique (**Sbayou et al., 2014**).

IV.8.3. Etude de la combinaison entre les extraits :

La méthode de « checkerboard » est utilisée au but d'étudier la combinaison entre les extraits des deux plantes. Elle se base tout d'abord sur la préparation des solutions mères et des séries de dilutions de chaque extrait à part en commençant d'une concentration égale à 2×CMI, ces dilutions sont utilisées pour préparer les différentes combinaisons. Chaque microplaque est consacrée à l'étude d'une souche microbienne. Le long de l'axe des x à travers la plaque de microtitration, un volume de 50 µL de chaque dilution d'extrait A a été ajouté dans chaque puits du 1^{er} au 6^{ème} puits. En ce qui concerne l'axe des y, un volume de 50 µL de chaque dilution d'extrait B a été ajouté dans chaque puits du 1^{er} au 6^{ème} puits aussi. 100µL de bouillon BMH/BS contenant 10µL d'inoculum ajustée à 0.5 MacFarland a été ensuite ajouté dans chaque puits. Les septièmes puits servent pour le contrôle négatif alors que les huitièmes pour le contrôle positif. Les microplaques ont été scellées et incubé à 37°C pendant 24h pour les souches bactériennes, et à 25°C pendant 48h pour les souches fongiques (**Chraïbi et al., 2019; Ennacerie et al., 2017**). La croissance microbienne est déterminée en ajoutant 20µL du tétrazolium (0.4mg/mL). Après une incubation supplémentaire d'environ 10

à 30 minute, l'interprétation des résultats est faite par le calcul des concentrations inhibitrices fractionnaires (CIF). Les valeurs de l'indice CIF ont été calculées en utilisant la formule suivante :

$$\Sigma ICIF = CIFA + CIFB$$

CIFA= CMI A en présence de B/CMI A seule

CIF B= CMI B en présence de A/ CMI B seule

Si le $ICIF \leq 0.5$: synergisme total, si $0.5 < ICIF \leq 0.75$: synergisme partiel, si $0.75 < ICIF \leq 2$: effet indifférent, si $ICIF > 2$: antagonisme (**Didry et al., 1993; Sharma et al., 2020**).

IV.8.4. Etude de la combinaison entre les antibiotiques et les extraits :

La découverte des nouvelles molécules antimicrobiennes ne permet pas de remplacer les antibiotiques. Cependant ces molécules peuvent récompenser leur utilisation excessive et de lutter contre la résistance acquise par les germes pathogènes, et ce peut être achevé par la combinaison des antibiotiques avec de ces phytomolécules. Pour chaque souche on a testé deux antibiotiques. Après avoirensemencé par écouvillonnage les boites de Pétri contenant MH ou GS avec l'inoculum microbien ajusté à 0.5 MacFarland. Cinq disques d'antibiotique ont été déposés à la surface de la gélose. Pour évaluer l'effet de la combinaison 15µL de différents extraits (100mg/mL) ou d'huile essentielle a été ajouté à chacun d'eux. Les boites de Pétri sont laissées à 4°C pendant 1 heure avant de les mettre en incubation à 37°C pendant 24h pour les souches bactériennes, et 25°C pendant 48h pour les levures les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (**Ennacerie et al., 2017**).

L'interaction entre les disques d'antibiotiques et les extraits ou l'huile essentielle peut produire quatre différents effets :

Effet indifférent : l'activité de l'extrait ou l'huile essentielle n'a aucune influence sur l'activité de l'antibiotique

Effet additif (Addition) : l'effet de l'association est égal à la somme des effets produits par chacun séparément

Synergie : l'effet de l'association est significativement supérieur à la somme des effets obtenus par chaque agent séparément.

Antagonisme : l'effet de l'association est inférieur à la somme des effets obtenus par chacun séparément (Ocampo *et al.*, 2014).

IV.9. Etude Pharmacologique :

IV.9.1. Etude de la toxicité aigüe :

➤ **Matériel biologique :**

Les tests *in vivo* ont été évalués chez des rats Wistar mâles et femelles pesant de 150-200g de poids corporel provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils ont été mis dans des cages en polypropylène avec un accès libre à l'eau et alimentés de façon régulière. Ils ont été acclimatés à l'environnement de laboratoire pendant une semaine avant l'expérimentation, avec un cycle lumière/obscurité de 12h.

➤ **Toxicité aigüe :**

Le test de la toxicité aigüe des extraits et des huiles essentielles a été réalisé selon les lignes directrices de l'Organisation de coopération et de développement économique (OECD) 423 pour les essais des produits chimiques, méthode par classe de toxicité aigüe, adoptée le 23 juillet 2001 (OECD, 2002). Ce test consiste à administrer par prise unique les doses expérimentales aux animaux et d'observer leur comportement et toute manifestation de toxicité, augmentation dans l'activité, agitation, asthénie, convulsion, coma et mort. Ces observations sont faites régulièrement pendant une période allant de 24h jusqu'à une semaine (Amezouar *et al.*, 2013; Paschapur *et al.*, 2009).

• **Mise en œuvre pratique :**

La toxicité aigüe des extraits et des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *C. spinosa* est réalisée sur des rats en adoptant un processus séquentiel utilisant trois animaux du même sexe par étape ; et donc les animaux sont randomisés par groupe de trois rats (n=3) pour chaque dose. Ils sont mis à jeun pendant 16h, puis pesés et marqués juste avant l'administration du traitement. Les rats sont reçus par gavage gastrique v.o., des doses de 50,300,500,2000 mg/kg, respectivement de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* préparer dans le Tween 80 à 1%, ou des extraits des feuilles et des fruits de *C. spinosa*, et de la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* préparer dans l'eau distillée stérile (EDS). Les groupes témoins n'ont reçu que le véhicule (gp1 :10ml/kg de Tween 80 à 1%, gp2 : 10ml/kg EDS). Les animaux ont été mis en observation pendant 2h avant de

leur donner à manger et à boire pour noter les cas de mort immédiate, et les changements dans leurs comportements en comparaison avec le groupe témoin. L'observation a continué pendant 48h puis sept jours pour noter le taux de mortalité et toutes les modifications physiques et comportementales des rats traités (Amezouar *et al.*, 2013; El Hachimi *et al.*, 2017). Des grosses nécropsies sont réalisées sur les rats morts et sacrifiés en analysant les organes cibles (l'estomac, reins, foie, cœur, poumons, cerveau).

IV.9.2. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire *in-vivo* :

➤ Inflammation aigüe induite par la carragénine :

La recherche des propriétés anti-inflammatoires des huiles essentielles et des extraits a été réalisée sur le modèle de l'œdème plantaire induite chez le rat (mâles et femelles de 150-200g) par l'injection de 0.1ml de la carragénine 1% (p/v) dans la voute plantaire de la patte droite, technique inspirée de celle décrite par Winter *et al.* (1962). Pour ce faire, les rats ont été mis à jeun 16h avant l'expérimentation avec accès libre à l'eau. Ils ont été répartis en 4 lots de 6 rats pour chaque produit testé. Lot I (témoin ou contrôle) a reçu 10mL/kg de Tween 80 à 1% (HE) ou 10ml/kg de EDS (extraits). Le lot II (standard) a reçu le Diclofénac 10mg/kg comme anti-inflammatoire de référence. Lot III et IV ont reçu l'huile essentielle à des doses de 50 et 100mg/kg pour les lots HEs ; ou des extraits à des doses de 200 et 400mg/kg pour les lots des extraits. Une heure après le gavage, chaque groupe d'animaux a reçu par injection sou-plantaire de 100µL de carragénine à 1% (p/v) dans la patte droite (Abdel Jaleel *et al.*, 2016). L'évaluation de l'œdème a été suivie par l'enregistrement du diamètre de la patte enflammée à l'aide d'un pied à coulisse immédiatement avant l'injection de l'agent phlogistique (V0) et puis chaque heure pendant 6h (Vt).

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème a été calculé selon la formule suivante (Abdelli *et al.*, 2017):

$$\text{inhibition \%} = \frac{(Vt - V0)_{\text{contrôle}} - (Vt - V0)_{\text{test}}}{(Vt - V0)_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où V0 est le volume de la patte avant l'injection de la carragénine, et Vt est le volume de la patte a t temps après injection de la carragénine.



Figure 17 : (a) Administration orale de l'extrait ; (b) Injection sub-plantaire de la carragénine ;(C) Mesure de diamètre de gonflement de la patte à l'aide d'un pied de coulisse digital.

Analyse statique :

Les résultats statistiques de l'activité anti-inflammatoire ont été exprimés en moyenne \pm SEM des diamètres d'inhibition. L'étude statistique a été réalisée par le logiciel SPSS en utilisant ANOVA suivie du test *post-hoc* Tukey.

Chapitre V

Résultats et discussion

V.1. Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les différents extraits préparés à partir de la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba*, et des feuilles et fruits de *Capparis spinosa*, en utilisant des solvants de polarité croissante (l'éther diéthylique, le méthanol, et l'eau), et des réactifs spécifiques de révélation. Les résultats expérimentaux obtenus des tests phytochimiques des deux plantes sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°3 : Résultats de criblage phytochimique des deux plantes *A.herba-alba* et *C.spinosa*.

Métabolites secondaires		<i>A.herba-alba</i>	<i>C.spinosa</i> feuilles	<i>C.spinosa</i> fruits
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	-	-	++
	Flavonoïdes			
	Anthocyanes	-	-	-
	Leucoanthocyanes	-	+	+
	Catéchols	+	+	+
	Flavonoïdes libres	+++ (Flavone, gènine)	+++ (Flavonone)	++ (Flavone)
Anthraquinones libres		+	++	++
Saponosides	Indice de mousse	++ (125)	+++ (143)	++ (125)
	Alcaloïdes			
	Réactif de Mayer	++	++	-
	Réactif de Wagner	++	++	-
Coumarines		+	+	+
Quinones libres		++	++	++
Stérols et Triterpènes		+++	+++	+
Terpénoides		+++	++	-
Tanins	Tanins catéchiques	+++	+++	+++
	Tanins galliques	-	-	-
Hétérosides stéroliques		-	-	+
Hétérosides triterpéniques		++	++	-
Mucilages		+	+	+

(+) : présence, (++) : plus ou moins riche, (+++) : très riche (-) : absence.

Plusieurs études phytochimiques ont tenté d'élucider les phyto-constituants de *C.spinosa*, rapportent que cette espèce présente différents composants bioactifs dans toutes ses parties, et sont doués d'importants effets biologiques et pharmacologiques (Mollica *et al.*, 2017; Stefanucci *et al.*, 2018). Effectivement, nous constatons que les feuilles et les fruits de l'espèce *Capparis spinosa* contiennent les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les terpénoides, les saponosides, les coumarines, les stérols et triterpènes, les dérivés anthracéniques, les mucilages à des intensités plus ou moins variables. Par contre des différences entre les composants des deux parties de la plante ont été observé ; du fait que l'analyse phytochimique a montré aussi l'absence des alcaloïdes et des hétérosides triterpéniques dans les fruits, et les composés réducteurs et les hétérosides stéroliques dans les feuilles. Nos résultats sont en concordance avec ceux obtenus par AL-Azawi *et al.* (2018); Fadili *et al.* (2017). En effet, ils ont indiqué la présence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes, des anthraquinones libres, et des alcaloïdes dans les feuilles et fruits, tandis qu'on remarque l'absence des alcaloïdes dans les fruits de notre plante, malgré qu'ils sont rapportés dans plusieurs travaux (Tlili *et al.*, 2011; Vahid *et al.*, 2017; Zhang et Ma, 2018). De plus, les saponosides qui sont absents dans les résultats des travaux précités sont présents en abondance dans notre plante. D'autre part, les essais phytochimiques faites par Meddour *et al.* (2013) signalent l'absence des tanins dans les extraits de *C.spinosa* alors que nos analyses indiquent leurs présence.

Les résultats de screening phytochimique d'*Artemisia herba-alba* mentionnés dans le **tableau n°3** révèlent la présence en grande abondance de divers phyto-composants notamment les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins catéchiques, les terpénoides, les stérols et triterpènes, les quinones libres, les hétérosides triterpéniques, les anthraquinones, les saponosides et les mucilages. Ces résultats corroborent ceux obtenus par les travaux de Dif *et al.* (2016); Gacem *et al.* (2019). En effet, ces derniers ont affirmé la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponosides, des alcaloïdes et des terpénoides, alors que Kahlouche-Riachi *et al.* (2015); Sellami *et al.* (2010) ont signalé respectivement l'absence des alcaloïdes, des saponosides, des leucoanthocyanes, des quinones libres, et des coumarines. La nature des composants phytochimiques mise en évidence sont connus pour des propriétés pharmacologiques et biologiques intéressantes qui peuvent contribuer à l'utilisation des plantes étudiés ; il s'agit essentiellement : des flavonoïdes qui sont souvent présentés comme antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques, antispasmodiques, hépatoprotecteurs (Bruneton, 2009; Rahman *et al.*, 2006). Les tanins sont dotés des pouvoirs

astringents, anti-diarrhéiques, antioxydants, antiseptiques, et anti-inflammatoires (**Hennebelle et al., 2004**), les coumarines avec leurs effets antioxydants. Les alcaloïdes Quant à eux, connus pour leurs propriétés analgésiques, cytotoxiques, et antiarhythmiques (**Zenk et Juenger, 2007**). Ces métabolites secondaires jouent aussi un rôle important dans la défense de la plante contre les agressions externes, leurs distributions peuvent changer durant le développement de la plante, ceci peut être due aux facteurs environnementaux qui stimulent leur biosynthèse.

V.2. Rendement d'extraction :

Les rendements moyens d'extraction des extraits de *C.spinosa* et d'*A.herba-alba* et des huiles essentielles de la partie aérienne d'*A.herba-alba* sont représentés dans le **tableau n°4**. Le rendement est déterminé par rapport au poids total de la matière végétale sèche, et est exprimé en pourcentage.

Tableau n°4 : Rendement d'extraction en (%) de *Capparis spinosa* et d'*Artemisia herba-alba*.

Extrait/HES	<i>Capparis spinosa</i>		<i>Artemisia herba-alba</i>	
	Feuilles	Fruits	Extrait	Huiles essentielles
Rendement (%)	14.78	22.74	27.97	1.73

La préparation des extraits à partir des feuilles et fruits de *C. spinosa* et de la partie aérienne d'*A.herba-alba* a été réalisée par macération, en utilisant le méthanol à 80%. Ce dernier est un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques et des polyphénols relativement polaires d'origine végétale. Nos résultats montrent que le méthanol à 80% a donné des rendements plus ou moins importants pour les deux espèces étudiées dont le taux plus élevé a été enregistré avec l'extrait d'*A.herb-alba* à un pourcentage de 27.97%.

Les résultats du rendement des feuilles et fruits de *C.spinosa* sont beaucoup plus supérieurs à ceux rapportés par **Fadili et al. (2017)**; **Meddour et al. (2013)** et **Ennacerie et al. (2017)** avec respectivement des extraits méthanoliques et éthanoliques obtenus par la même méthode d'extraction. Quand à *A.herba-alba*, des études antérieures faites sur cette espèce ont pu démontrer un rendement d'extraction de l'extrait éthanolique et méthanolique de 16.1% et 8.14%

respectivement (**Gacem et al., 2019; Orhan et al., 2010**), ce qui est beaucoup plus inférieur à notre valeur.

Il faut noter que d'une manière générale, le rendement semble être lié à la polarité et le volume de solvant d'extraction qui a une grande importance, les paramètres d'extraction solide-liquide des polyphénols, les conditions et la durée de stockage, et de la récolte. La variation du rendement peut être attribuée également à l'origine géographique de la plante et aux polarité des différents composants (**Ben El Hadj Ali et al., 2014; Bouden, 2019; Khlifi et al., 2013**).

L'huile essentielle de la partie aérienne d'*A.herba-alba* extraite par hydrodistillation a permis de donner un rendement de 1.73%. La teneur en HE dans notre plante est relativement proche à celui trouvé par **Benmeddour et al. (2019)** avec l'espèce provenant de Biskra 1.93%, et plus important par rapport à ceux obtenus par **Bertella et al., (2018) ; Goudjil et al. (2016) ; Rekkab et al. (2016)** à Batna, Djelfa, Oum El Bouaghi à des valeurs de 0.6%, 0.54%, et 1% respectivement. D'autre part, des résultats inférieurs à nôtres ont été obtenus par *A.herba-alba* récoltée dans les hauts plateaux de l'Algérie : Bordj Bou Arreridj, Djelfa, M'sila, Batna, Draa Echikh et Boussâada (**Dahmani-Hamzaoui & Baaliouamer, 2010**).

En comparant nos résultats avec des travaux réalisés en dehors de l'Algérie, une étude menée au Maroc sur la plante fraîche et sèche a révélé un rendement d'extraction trop faible de 0.25% et 0.21% (**Ouaritini et al., 2016**). Tandis que, dans une autre étude faite sur le même espèce cultivée et spontanée a démontrée des taux élevés de 1.5%, et 1.8% et qui sont légèrement proche à nos résultats (**Aljaiyash et al., 2018**). De même, **Bachrouch et al. (2015)** ont rapporté que les feuilles d'*A.herba-alba* donnent un rendement élevé de (2%) par comparaison avec celles d'*A.absinthium* récoltées en Tunisie. Cependant, en Jordanie le rendement obtenu par **Qnais et al. (2016)** été de 0.45% moins faible que le nôtre.

Ces variations sont dues à plusieurs facteurs tels que la période de récolte, l'origine géographique, la génétique de la plante, les paramètres morphologiques et écologiques, ainsi que la durée de séchage, l'organe végétal utilisé, le stade de la croissance et la méthode d'extraction (**Akrout et al., 2010; Sefidkon et al., 2007; Viljoen et al., 2006**).

V.3. Résultats d'analyse chimique :

L'huile essentielle de la partie aérienne d'*A. herba-alba* analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-MS) nous a permis d'isoler et d'identifier 54 composants résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n° 5 : Composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne d'*A. herba-alba*.

N°	Composés	IR	Aire %	N°	Composés	IR	Aire%
1	1-octene	791	0.1	29	1-decen-3-ol	1178	0.2
2	cis-salvene	851	0.1	30	terpinen-4-ol	1185	0.3
3	tricyclene	929	0.3	31	cryptone	1192	0.1
4	α -thujene	931	0.5	32	α -terpineol	1196	0.1
5	α -pinene	940	0.3	33	myrtenal	1204	0.4
6	camphene	957	3.6	34	cis-p-menth-2-en-7-ol	1210	0.3
7	thuja-2,4(10)-diene	961	0.1	35	verbenone	1216	0.1
8	1-octen-3-ol	975	tr.	36	3-isopropylphenol	1224	0.4
9	sabinene	979	0.9	37	n-hexyl-2-methylbutanoate	1235	tr.
10	β -pinene	985	0.2	38	isobornyl formate	1238	0.1
11	myrcene	991	0.16	39	cumin aldehyde	1247	0.3
12	verbenene	997	tr.	40	carvone	1249	0.1
13	α -phellandrene	1010	0.4	41	piperitone	1261	0.9
14	α -terpinene	1022	0.9	42	6-camphenol	1284	0.3
15	<i>p</i> -cymene	1028	1.0	43	thymol	1289	0.1
16	limonene	1034	0.1	44	carvacrol	1300	0.4
17	β -phellandrene	1036	0.5	45	(Z)-jasmone	1404	0.6
18	1,8-cineole	1037	0.5	46	(E)- β -caryophyllene	1441	0.1
19	γ -terpinene	1063	1.4	47	allo-aromadendrene	1492	0.5
20	terpinolene	1094	0.5	48	bornyl isovalerate	1520	0.1
21	α -thujone	1114	48.0	50	isobornyl isovalerate	1529	0.1
22	β -thujone	1123	13.4	51	δ -cadinene	1538	0.1
23	trans-sabinol	1146	0.1	52	bornyl angelate	1616	0.1
24	trans-pinocarveol	1149	0.1	53	isobornyl angelate	1623	tr.
25	camphre	1154	13.1	54	xanthoxylin	1682	0.2

26	sabina ketone	1162	0.6		Monoterpènes oxygénés		80.3
27	pinocarvone	1170	0.3		Monoterpènes		10.9
28	bornéol	1175	1.3		hydrocarbonés		
					Sesquiterpènes oxygénés		0.2
					Total		94.1%

IR : Indice de Réention, **tr** : trace.

L'analyse chimique d'huile essentielle d'armoise blanche montre qu'elle est principalement constituée d'un mélange de monoterpènes oxygénés (80,3 %), suivis par des monoterpènes hydrocarbures (10,9 %), et une très faible quantité de sesquiterpènes oxygénés (0,2 %), l'ensemble identifié représente ainsi un total de 94.1%. L' α -thujone, le β -thujone et le camphre sont les principaux constituants à des taux de 48%, 13.40%, et 13.10% respectivement. D'autres composants sont également présents à des pourcentages appréciables : le camphène (3,6 %), le γ -terpinène (1,4 %), le bornéol (1,3 %) et le *p*-cymène (1,0 %). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Said et al. (2016)** à des pourcentages de 72,7%, 11,8%, 15,5%, et 45,4%, 32,8%, 21,8% d' α -thujone, β -thujone, et du camphre respectivement à Beni-Ouenif (Béchar, Algérie) et dans les montagnes de l'Atlas (Merrakech, Maroc). De même, **Belhattab et al. (2014)** ont rapporté que l' α -thujone comme composant majeur a été trouvé dans l'espèce de Bougaa, Bousaada et Boutalleb, avec du camphre et de la chrysanthène. Des observations similaires ont été faites par **Aljaiyash et al. (2018)** avec des huiles essentielles extraites des espèces cultivées et spontanées du Maroc, dont l' α -thujone (31.1–17.9%), le camphre (0.2–7.5%), l'artemisyl acétate (0.5–1.3%) et le β -thujone (0.2–1.3%) sont considérés comme des composés majoritaires. Le thujone est trouvée aussi dans les huiles essentielles d'armoise blanche de Biskra, et de sud de la Jordanie (**Abu-Darwish et al., 2015; Benmeddour et al., 2019**).

L'huile essentielle à chémotype thujone a également été trouvée dans certains échantillons de sud de la Tunisie en association avec d'autres composants majeurs soit : le cis-chrysanthényl acétate, le sabinyl acétate, le Chrysanthène, et le borneol (**Akrout et al., 2010; Mighri et al., 2010; Zouari et al., 2010**). Le cis-chrysanthényl acétate est considéré aussi comme le constituant le plus abondant des huiles essentielles de Biskra (Algérie), et de l'Espagne (**Arroyo et al., 2018; Bezza et al., 2010**). En outre, les résultats des travaux réalisés par **Mohsen et Ali, (2009)** sur 18 échantillons d'huiles essentielles collectées de différentes régions en Tunisie ont révélé la présence de 10 composants majoritaire qui sont : cinéole, thujones, chrysanthène, camphre, borneol,

chrysanthenyl acétate, sabinyl acétate, davana ethers et le davanone, avec des concentrations supérieures à 10%. De même **Aouadi et al. (2014)** ; **Younsi et al. (2018)** ont démontrées que les huiles essentielles d'armoise blanche de la Tunisie sont riches en camphre, α -thujone, trans-sabinyl acetate, β -thujone, chrysanthenone, germacrene D, et du 1,8-cinéole. Des résultats relativement différents ont été obtenus sur les échantillons collectés à Batna (**Bertella et al., 2018**), au nord du Sahara algérienne (**Dahmani-Hamzaoui & Baaliouamer, 2010**), à Djelfa (**Lakehal et A, 2016**), en Tunisie (**Bachrouch et al., 2015**), et au Maroc (**Imelouane et al., 2010; Paolini et al., 2010**) mis en exergue le camphre comme composant principal.

Toutefois, certains constituants chimiques secondaires ont été décrits par d'autres auteurs comme composés majeurs d'*A.herba-alba*. C'est le cas de 1,8-cineole trouvé dans 11 échantillons en Espagne, ainsi en Jordanie, et en Algérie (**Abu-Darwish et al., 2015; Rekkab et al., 2016; Salido et al., 2004**). L' α -terpineol (47.33%), et le Borneol (35.68%) principaux constituants des huiles essentielles extraites des espèces du rif oriental du Maroc et de l'Atlas Saharien (**Ouaritini et al., 2016**), le Davanone (42.8%) souligné par **Goudjil et al. (2016)** à Djelfa. La piperitone identifié dans les espèces d'Arabie Saoudite avec un pourcentage exceptionnellement élevée (44.6%) (**Al-Wahaibi et al., 2020**), la Chrysanthenone (16.2%) principal composant d'huile essentielle extraite du Nord-est Algérien (**Rekkab et al., 2016**), et le caryophyllene acetate (10.75%) trouvée dans certaines espèces jordaniennes (**Qnais et al., 2016**).

Il semble que l'espèce *A.herba-alba* est caractérisée par un polymorphisme, et une variabilité intra-spécifique très importante dans le profil chimique de ses huiles essentielles, qui en résulte l'apparition de différents chémotypes. Comme citer précédemment, cette variabilité est peut-être liée à la génétique de la plante, l'origine géographique, la période de récolte, et aux paramètres environnementaux et morphologiques.

V.4. Analyse quantitative des extraits (Teneur en polyphénols, flavonoïdes, et tanins) :

Les différents extraits bruts de l'armoise blanche et du câprier obtenus par extraction solide-liquide ont été analysés quantitativement pour leurs contenus en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, et proanthocyanidines, les résultats sont déterminés à partir de la régression linéaire des courbes d'étalonnages, et exprimés respectivement en mg équivalent d'acide gallique, mg équivalent quercitine, et mg équivalent catéchine par g d'extrait de la plante (**Tableau n°6**).

Tableau n°6 : Teneurs des extraits hydrométhanoliques d'*A.herba-alba* et de *C. spinosa* en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.

Extraits de plantes	Polyphénols totaux mg EAG/g d'Ext	Flavonoïdes totaux mg EQe/g d'Ext	Tanins condensés mg EC/g d'Ext
Ext d' <i>A.herba alba</i>	292.97±9.1	28.15±0.71	25.3±2.8
Ext de <i>C.spinosa</i> feuilles	124.06±5.6	28.44±0.59	18.40±2.1
Ext de <i>C.spinosa</i> fruits	47.21±5.1	10.48±0.09	17.1±1.5

Selon le tableau les valeurs des composants phénoliques des différents extraits hydrométhanoliques varient entre 292.97±9.1 mg EAG/g d'extrait (*A. herba-alba*) et 47.21±5.1 mg EAG/g d'extrait (*C. spinosa* fruits), on remarque que les polyphénols sont significativement plus répons dans l'armoise blanche. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté que le genre *Artemisia* a un profil riche en composés phénoliques qui peuvent contribuer à ses activités biologiques (Ali *et al.*, 2017). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Khelifi *et al.* (2013)** avec des teneurs totales en polyphénols, flavonoïdes et tanins d'extrait hydrométhanolique de 123,95±4,30 mg GAE, 19,74±0,17 mg QE et 5.47±0.09 mg EC/g MS respectivement. Comparativement des valeurs moins importantes en polyphénols et en tanins ont été enregistrée par **Dif *et al.* (2016)** avec l'extrait méthanolique (43,614±0,623, 20.182±1.92 mg/mL) de l'espèce provient d'el Bayadh, et qui sont inférieures à nos résultats. **Sekiou *et al.* (2021)** ont montré que les teneurs de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A.herba-alba* en polyphénols a été 83.59 ± 0.96 mg EAG/g d'extrait, et en flavonoïdes qui a été 25.7 ± 0.95 mg EQe/g d'extrait, ce même extrait a été riche en tanins condensé à une valeur de 8.75 ± 0.5 mg EC/g MS, ce qui est sensiblement proche à nos résultats. Cependant, **Bourgou *et al.* (2017)** ont rapporté que la fraction aqueuse est moins riche en polyphénols par rapport à la fraction d'acétate d'éthyle (40,00 mg, 87,50 mg /GAE/g de MS). En revanche, **Bakchiche *et al.* (2018)** ont enregistré des valeurs en polyphénols et flavonoïdes inférieurs aux nôtres avec des extraits éthanoliques, elles étaient respectivement de 22.41±0.08 mg EAG et 2.39±0.13 mg ER/g de MS.

En outre, **Eddine et al. (2016)** ont prouvé que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus efficace dans l'extraction des polyphénols, flavonoïdes et proanthocyanidines par rapport à l'extrait aqueux, et chloroformique dont les meilleurs taux enregistrés étaient respectivement de 92.29 ± 3.25 mg EAG, 61.24 ± 2.04 mg RT, 25.47 ± 0.95 mg CAE/g de poids sec. On peut constater que le type de solvant et la méthode d'extraction sont les principaux facteurs qui déterminent les rendements en composants chimiques de la matière végétale.

Concernant les extraits de *C. spinosa*, les résultats montrent que les feuilles et les fruits sont riches en phénols totaux à des taux qui varient entre 124.06 ± 5.6 et 47.21 ± 5.1 mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont de manière intéressante plus importants par rapport à ceux trouvés par **Fadili et al. (2017)**, dont ils ont enregistré des valeurs plus faibles en polyphénols (3.8 mg EAG, 2.89 mg EAG/g d'extrait) dans les feuilles et les fruits respectivement, avec une teneur des flavonoïdes de 7.85 ± 0.1 mg EQe/g d'extrait dans les feuilles et leur absence dans les fruits de la plante, ce qui peut être confirmé l'abondance des tanins dans les fruits en comparaison avec les flavonoïdes. De plus, **Tili et al. (2017)** ont observé des taux des phénols et flavonoïdes de 23.37 ± 0.4 mg EAG, et 9.05 ± 0.27 mg EQe/g de poids sec avec l'extrait méthanolique des feuilles de l'espèce de la Tunisie, ce qui est sensiblement proche à nos résultats. Les résultats de **Meddour et al. (2013)** ont suggéré des teneurs en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des bourgeons à fleurs, fleurs et fruits ont été de 29.01 ± 0.84 µg EAG/mg et 5.97 ± 0.42 µg ER/mg d'extrait, ce qui est inférieur aux résultats trouvés avec les fruits.

Les résultats de **Aliyazicioglu et al. (2013)** et **Bonina et al. (2002)** sur l'extrait méthanolique lyophilisé montrent la richesse des fruits de *C. spinosa* en polyphénols avec un taux de 37.01 ± 0.03 mg EAG/100g de poudre sèche et des boutons floraux avec une valeur de 65.13 ± 5.53 mg ER/g d'extrait. De même, **Baghiani et al. (2012)** ont enregistré des teneurs de 25.01 ± 1.64 µg EAG/100 mg, 31.37 ± 4.27 µg EQ/100 mg d'extrait de polyphénols et flavonoïdes respectivement dans les extraits chloroformiques de la partie aérienne.

On remarque que les feuilles contiennent la plus grande quantité de polyphénols que les fruits dans nos échantillons. En effet, **Arrar et al. (2013)**; **Rajhi et al. (2019)** ont démontré que les polyphénols et les flavonoïdes sont plus abondants dans les feuilles, les fleurs, les fruits et enfin les racines, ce qui corrobore nos résultats. Tandis que **Akkari et al. (2016)** ont observé des quantités plus élevées en polyphénols, flavonoïdes, et en tanins dans l'extrait aqueux des boutons floraux par

rapport à celui des feuilles fraîches, ils ont aussi prouvé que la teneur totale en polyphénols de ces extraits a été plus importante au stade de la floraison qu'au stade végétatif. Mais toutes ces études confirment la richesse de l'espèce *C. spinosa* en ces molécules bioactives. La différence des teneurs peut être expliquée par la variabilité du métabolisme phénolique dans les différentes parties de la plante qui peut changer pendant la période de croissance, ceci peut être lié aux conditions climatiques et environnementales (sécheresse, température chaude, forte exposition solaire, salinité), qui stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires (Fadili *et al.*, 2017). D'une manière générale, nous pouvons attribuer les différences en composés phénoliques et en flavonoïdes à des facteurs génétiques, à l'origine géographique, aux conditions de croissance et la période de récolte, la partie étudiée, le mode opératoire et le solvant utilisé.

V.5. Effets antioxydants :

Les effets antioxydants des extraits d'armoise blanche et du câprier sont évalués par deux méthodes complémentaires : piégeage des radicaux libres DPPH, et la réduction de fer FRAP.

V.5.1. Piégeage du radical DPPH :

L'évaluation de la capacité des extraits d'armoise blanche et du câprier à piéger le radical libre de DPPH, a été effectuée par la mesure de son absorbance et en suivant sa cinétique de décoloration en présence de différentes concentrations des extraits, une diminution de l'intensité de la couleur de DPPH indique la présence des molécules antiradicalaires dans le milieu. Parallèlement aux différents extraits, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont illustrés dans les **figures 18, 19, 20**. Les valeurs des IC₅₀ sont présentées dans le **tableau 7**. Il est admis que plus cette valeur est basse, plus l'extrait est puissant vis-à-vis les radicaux libres.

On constate que tous les extraits testés possèdent une capacité antiradicalaire dose-dépendante. L'extrait hydrométhanolique des feuilles de *C. spinosa* a montré le plus grand pourcentage d'inhibition de 94.98%, avec une concentration inhibitrice 50 de $44.85 \pm 0.69 \mu\text{g/mL}$, suivi par l'extrait d'armoise blanche avec un taux d'inhibition de 93.14% et une IC₅₀ de $56.92 \pm 4 \mu\text{g/mL}$. Tandis que l'extrait des fruits du câprier a donné une activité moins importante par rapport aux autres avec un taux d'inhibition de 67% et une IC₅₀ égal à $483.42 \pm 71 \mu\text{g/mL}$.

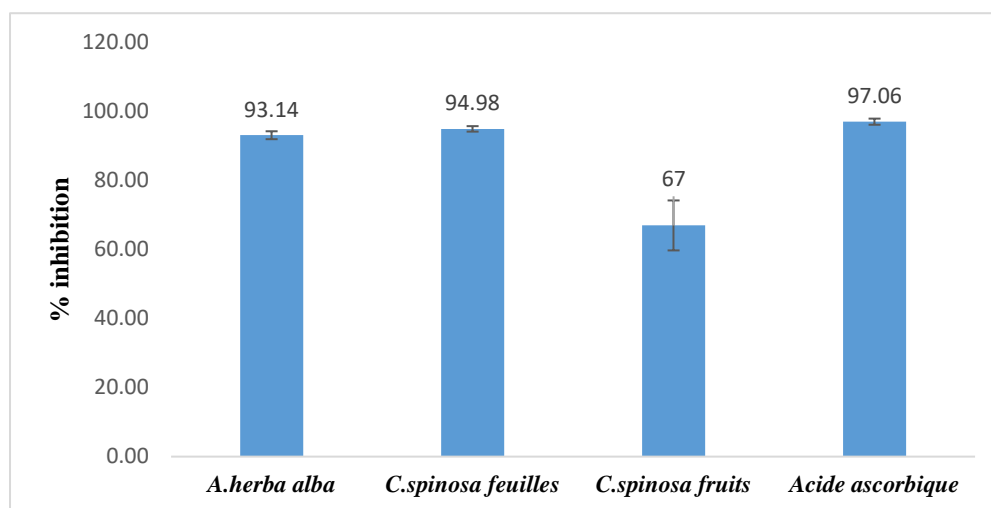


Figure 18 : Pourcentages d’inhibition de DPPH par les extraits et l’acide ascorbique.

Tableau n° 7 : Résultats des IC50 exprimés en (µg/ml) d’inhibition de DPPH des différents extraits.

Produit	<i>A.herba-alba</i>	<i>C.spinosa</i> feuilles	<i>C.spinosa</i> fruits	Acide Ascorbique
IC50 (µg/mL)	56.92±4	44.85±0.69	483.42±71	9.90±1.02

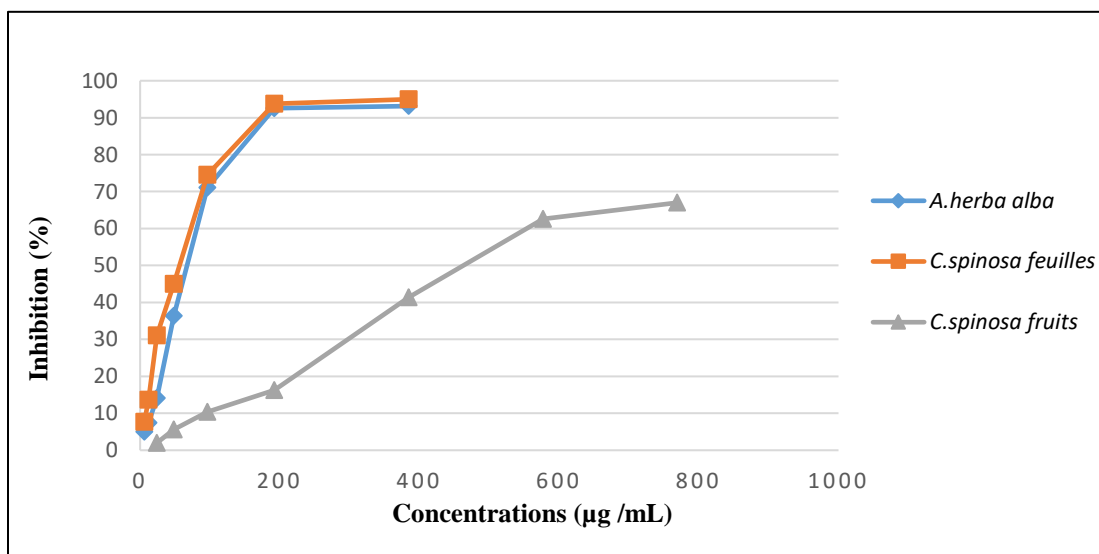


Figure 19 : Pourcentages d’inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits

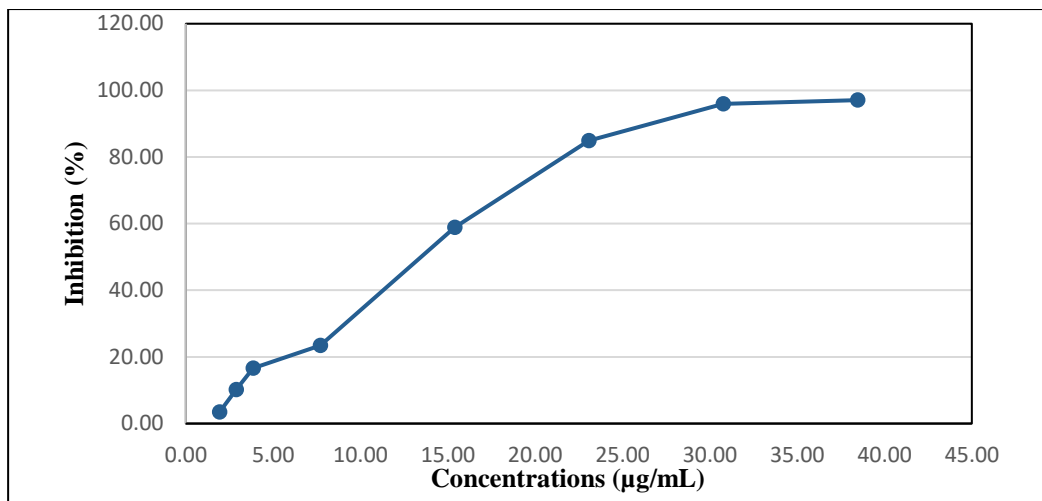


Figure 20 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées d'acide ascorbique.

Cette activité antiradicalaire des extraits pourrait être due à leur richesse en polyphénols et surtout en flavonoïdes. L'activité antioxydante de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions en adoptant le même mode opératoire. Ce dernier a manifesté un potentiel plus puissant sur le radical libre DPPH par rapport aux extraits avec une IC50 plus importante de $9.90 \pm 1.02 \mu\text{g/mL}$.

Les résultats de l'effet antioxydant de *C. spinosa* obtenus sont en accord avec ceux rapportés par **Bhojar et al. (2018)**; **Grimalt et al. (2018)**; **Tlili et al. (2017)**, dont ils ont prouvé que les différentes parties de cette espèce possèdent un puissant pouvoir antioxydant. Nos résultats montrent que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration en polyphénols mais également de la nature et la conformation structurale des molécules antioxydantes présentes dans l'extrait. En effet, les polyphénols ayant plus des groupements hydroxyles dans le cycle phényle possèdent un grand potentiel de piégeage des radicaux libres (**Fadili et al., 2017**; **Torres de Pinedo et al., 2007**). De même, l'activité antiradicalaire des composés phénoliques est dépendante aussi du degré d'hydroxylation et de polymérisation de ces composés contenus dans l'extrait. Une autre étude a montré que les flavonoïdes ayant des groupements 3', 4'-dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3-OH sur le cycle C (ex : flavan-3-ol), ou une double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo- sur le cycle C (ex : flavonol) possèdent une grande capacité de scavenging (**Kchaou et al., 2013**).

Concernant *A. herba-alba*, plusieurs études ont signalé l'effet antioxydant de cette espèce. En effet, **Bourgou et al. (2017)** ont indiqué que les fractions d'acétate d'éthyle et d'eau de l'armoise blanche

présentaient de fortes activités avec des IC₅₀ de 18 et 32 µg/ml respectivement. Des résultats moins importantes ont été enregistré par **Dif et al. (2016)**, et **Sekiou et al. (2021)** successivement avec les extraits méthanoliques et aqueux (IC₅₀=0.086mg/mL, 30.46±0.45 mg/mL). Il faut de noter qu'il est difficile de comparer les données de piégeage de radical DPPH avec celles enregistrés dans la littérature tant que différents modes opératoires, différentes parties et unités d'expression ont été utilisées.

La **figure 21** montre une augmentation des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A.herba-alba*, il atteint son maximum 71.08% à la concentration 34000µg/mL (34mg/mL). Ce résultat indique que cette huile possède un faible pouvoir antioxydant avec une IC₅₀ de 17.87±1.79 mg/mL (**tableau n° 8**), et qui est nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Tableau n° 8 : Valeurs de la concentration inhibitrice 50 (µg/mL) de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique obtenues par le test de DPPH

Produit	HES d' <i>A.herba alba</i>	Acide Ascorbique
IC ₅₀ (µg/mL)	17866±179	4.87±0.34

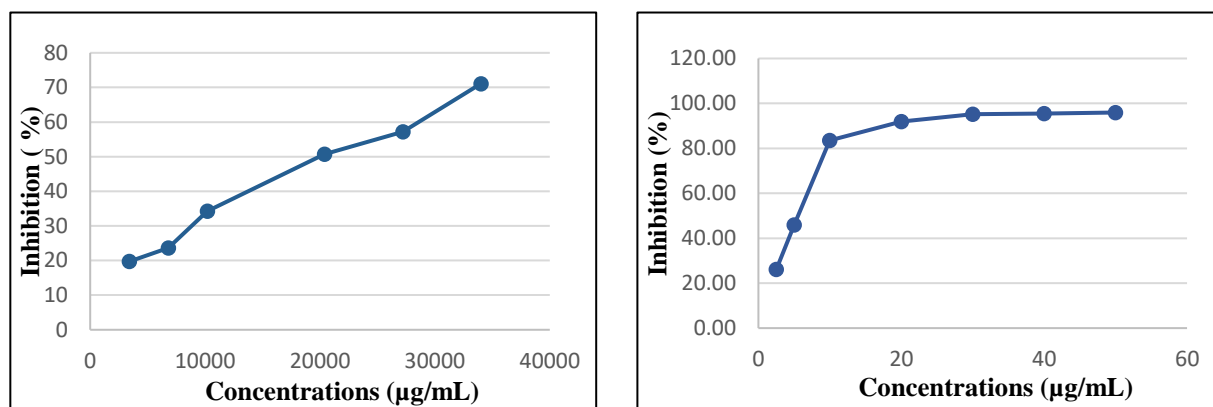


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en présence de l'huile essentielle d'*A.herba alba*, et de l'acide ascorbique

Il est admis que la dominance des composés non phénoliques dans les huiles essentielles d'*A.herba-alba* peut être liée à leur faible pouvoir antioxydant. Nos résultats sont en concordance avec ceux obtenus par **Akrout et al. (2010)**, **Mighri et al. (2010)**. De même, des résultats similaires ont été

trouvés avec les huiles essentielles d'autres espèces d'*Artemisia* comme *A.absinthium*, *A.beinnis*, *A.dracunculus*, *A.longifolia* et qui sont dominés par des composants non phénoliques (Lopes-Lutz et al., 2008). Toutefois, Andrade et al. (2013) ont signalé que la faible activité antioxydante peut être attribuer aux terpènes hydrocarbonés qui sont incapables de donner un atome d'hydrogène au DPPH, et à cause de la faible solubilité qu'ils présentent dans le milieu réactionnel du test, qui utilise le méthanol ou l'éthanol comme solvant.

V.5.2. Test de FRAP :

Dans ce test, la capacité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle est révélé par le virage de couleur du milieu, qui due à la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de la couleur est mesurée et s'exprimée en DO, cette intensité est proportionnelle au pouvoir antioxydant de différents extraits testés, les résultats sont illustrés dans les figures 22,23,24,25.

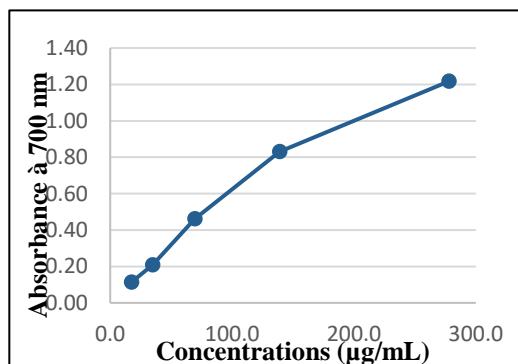


Figure 22 : pouvoir réducteur de l'extrait d'*A.herba-alba*.

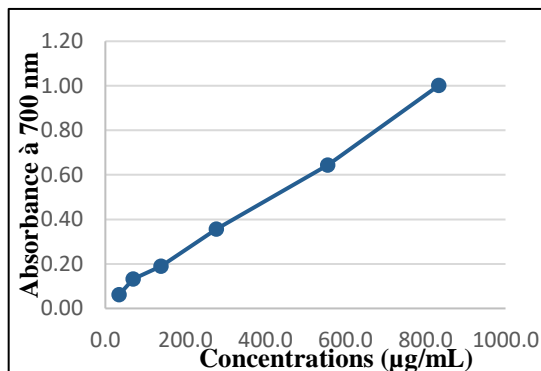


Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait des feuilles de *C.spinosa*.

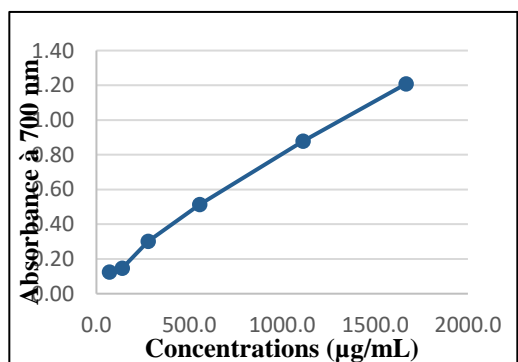


Figure 24 : pouvoir réducteur de l'extrait des fruits de *C.spinosa*.

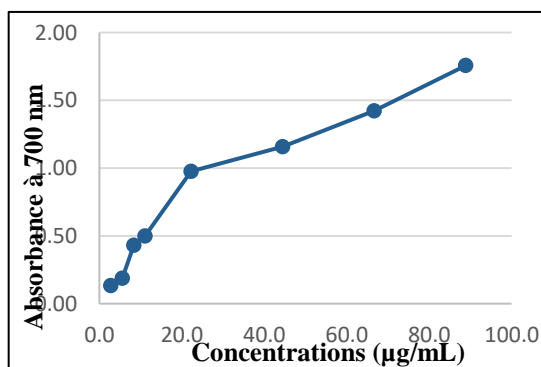


Figure 25: pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

Le pouvoir réducteur des extraits est concentration-dépendant (dose-dépendant). A la concentration 277.8 $\mu\text{g/mL}$, le pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique d'armoise blanche est largement supérieur (DO=1.22) par rapport aux extraits du câprier, mais nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique. Pour l'extrait de *C.spinosa*, il s'est avéré que les feuilles possède une capacité plus marquée à réduire le fer par rapport aux fruits, et reflétée par une densité optique maximale atteinte à une concentration de 833.3 $\mu\text{g/mL}$. Tandis que celle des fruits était de 1667 $\mu\text{g/mL}$.

La détermination de la concentration efficace en extraits qui fournit 0.5 d'absorbance (CE_{50}) permet d'évaluer leur potentiel antioxydant. Plus cette concentration est basse plus l'extrait exprime un puissant pouvoir antioxydant. On remarque que la capacité à réduire le fer ferrique en fer ferreux est variable entre les extraits des deux parties de la même plante. Selon le **tableau 9**, l'extrait des fruits de *C.spinosa* présente une valeur plus faible en CE_{50} de $619.38 \pm 17 \mu\text{g/mL}$, par rapport à celle des feuilles ($413.9 \pm 18 \mu\text{g/mL}$). De même, la meilleure valeur a été enregistrée avec l'extrait d'*A.herba-alba* ($95.77 \pm 1.5 \mu\text{g/mL}$), néanmoins, ces résultats restent inférieurs comparativement avec ceux de l'antioxydant de référence.

Tableau n° 9 : Valeurs de la concentration efficace 50 des extraits des espèces étudiées et de l'acide ascorbique

Produit	<i>A.herba-alba</i>	<i>C.spinosa</i> feuilles	<i>C.spinosa</i> fruits	Acide Ascorbique
CE50 ($\mu\text{g/mL}$)	95.77 ± 1.5	413.9 ± 18	619.38 ± 17	15.67 ± 1.24

La figure 26 montre le pouvoir réducteur en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle d'armoise blanche. On remarque que la plus faible DO (0.25) a été enregistrée à une concentration d'huile essentielle de 2000 $\mu\text{g/mL}$ (2mg/mL), alors que la plus grande DO (1.03) à une concentration de 15 mg/mL. Ces résultats confirment que l'huile essentielle d'*A.herba-alba* possède un potentiel antioxydant modérément faible avec une CE_{50} de $11.2 \pm 0.27 \text{ mg/mL}$.

Il est bien connu qu'il n'existe pas, à l'heure actuelle, de méthode universelle, unique et fiable traduisant la capacité antioxydante. En effet, il est généralement nécessaire d'effectuer plusieurs tests pour juger de l'effet antioxydant global d'un extrait d'une ressource végétale ou alimentaire. De ce fait, nous avons utilisé deux tests simples, rapides et reproductives, et plus utilisés à savoir : le test DPPH, et le test FRAP (**Prior et al., 2005**).

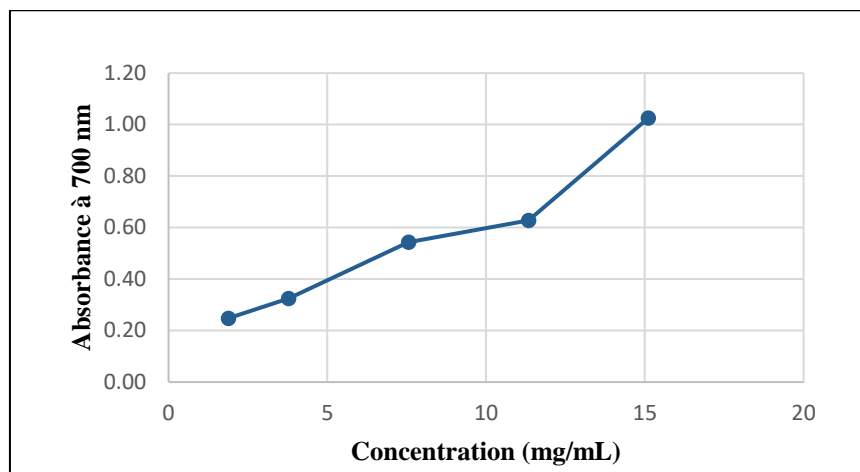


Figure 26 : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle d'*A. herba-alba*

Il a été rapporté qu'une valeur de CE50 d'un extrait inférieur à 10mg/mL indique que ce dernier est doté des propriétés antioxydante efficaces (AL-Azawi *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2008).

Effectivement, Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les extraits de la partie aérienne d'*A. herba-alba* et des feuilles et fruits de *C. spinosa* ayant une forte capacité antioxydante. De plus, plusieurs études ont signalé la puissante activité antioxydante d'*A. herba-alba*. Gacem *et al.* (2019) ont montré que l'extrait méthanolique et aqueux de cette espèce ont donnée des CE50 plus élevée de 0.91 ± 0.92 , 2.42 ± 0.11 mg/mL respectivement. Alors que Bourgou *et al.* (2017) ont trouvé des valeurs de 150 et 280 μ g/mL avec les fractions d'acétate d'éthyle et d'eau respectivement. En revanche, les résultats obtenus avec les extraits des feuilles et fruits de *C. spinosa* corroborent ceux révélés par Aliyazicioglu *et al.* (2013) ; Allaith, (2014) ; Bhojar *et al.* (2018). Généralement, les propriétés réductrices de toutes les échantillons testés sont associés à la présence des molécules qui peuvent rompre la chaîne de radicaux libres en donnant un hydrogène. Dans la présente étude les composés phénoliques des extraits des deux plantes ont montré un pouvoir réducteur élevée sur le fer ferrique. En raison de leurs caractéristiques redox, ils agissent comme des agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et des neutralisateurs de l'oxygène singlet. Leur potentiel redox joue un rôle important dans la détermination de la capacité antioxydante (Rice-Evans *et al.*, 1997).

V.6. Etude de l'activité antimicrobienne :

V.6.1. Profils de sensibilité des souches testées vis-à-vis les agents antimicrobiens standards :

Les souches bactériennes et fongiques sélectionnées au cours de cette étude sont celles qui causent un problème d'antifongothérapie et d'antibiothérapie, et qui sont responsables d'infections nosocomiales. Pour cela, le profil de susceptibilité à un panel de plus de 10 antibiotiques, et des antifongiques est porté sur le **tableau n° 10**. La classification des souches bactériennes en catégories « Sensible, **S** », « Intermédiaire, **I** », et « Résistante, **R** » est définie par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CASFM, 2014, 2018**) ce qui permet de définir le phénotype des différentes souches étudiées. L'intervalle de résistance se varie selon la souche et chaque antibiotique utilisé, généralement les Gram- sont considérés résistantes si les diamètres sont <14 pour les beta-lactamines <16 pour les aminosides, et <19 pour les quinolones. Concernant les Gram+, elles sont considérées résistantes si les diamètres d'inhibition sont <20 pour les beta-lactamines et les aminosides, <17 pour les macrolides, et <19 pour les quinolones. Toutefois, il n'existe aucune norme officielle en tant que référence pour l'interprétation de résultats antifongiques. Cependant, les diamètres critiques à lesquels les souches fongiques sont considérées comme résistantes aux antifongiques standards sont ≤ 13 mm pour les triazoles, et elles sont sensibles à des diamètres ≥ 17 mm (**Amar et al., 2013; Bouyahyaoui et al., 2016**).

D'après ces résultats on remarque une variabilité dans la sensibilité des souches testées vis-à-vis les antibiotiques et les antifongiques. Toutes les bactéries ont montré une résistance aux bêta-lactamines (amoxicilline, ampicilline, oxacilline, pipéracilline...etc), et à l'augmentin. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 7 ± 00 à 32 ± 00 mm (inclue le diamètre de disque), la plus grande zone d'inhibition a été enregistrée avec le chloramphénicol vis-à-vis la souche clinique de *S.aureus*. On note également une certaine résistance des Gram-négatifs aux aminosides (néomycine, amikacine) pour les deux souches *E.coli* (clinique et référenciée) à l'acide nalidexique pour les deux souches de *P.aeruginosa* (clinique et de référence), et la souche *K.pneumoniae* ATCC700603. Certaines souches testées ont une résistance généralement similaires à celles comparables dans les travaux de **Chebaibi et al. (2011, 2016)** dont ils ont trouvé une résistance des Gram- (*E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*) aux bêta-lactamines et aux aminosides (amikacine, tobramycine), et des Gram+ (*S.aureus*) à l'erythromycine et au bactrim. De même, ce résultat a montré des fortes résistances de *S.aureus* ATCC6538, *B.cereus*

ATCC10876, et la souche clinique *S.aureus* aux mêmes antibiotiques, et une sensibilité modérée aux autres. De plus, la souche de *C.albicans* ATCC10231 s'est avérée aussi résistante à tous les antifongiques mis en test.

Toutefois, une sensibilité intermédiaire est observée avec la doxycycline, le chloramphénicol et la gentamycine vis-à-vis certaines souches. Tandis qu'une forte sensibilité a été enregistrée avec les Quinolones (norfloxacine) contre toutes les bactéries testées. **Bouyahyaoui et al. (2016)** ont trouvé que les souches cliniques testées sont sensibles à la gentamicine et au chloramphénicol (à l'exception de *P.aeruginosa*), et sont résistantes à la doxycycline à l'exception de *K.pneumoniae* qui a montré une sensibilité intermédiaire, ceci est en désaccord avec nos résultats.

V.6.2. Pouvoir antimicrobien des extraits :

V.6.2.1. Technique de diffusion en milieu gélosée (méthode de Vincent) :

Face à la résistance microbienne aux agents synthétiques, beaucoup des travaux se focalisent sur la recherche des produits naturels dotés des propriétés antimicrobiennes sans effet néfaste dans les extraits des plantes. Pour cela les extraits de l'armoise blanche et du câprier ont été testés pour leurs activités inhibitrices de la croissance microbienne.

A la lecture des résultats obtenus dans la **figure 30**, on peut noter une variabilité des diamètres des zones d'inhibition exprimés par les différents extraits vis-à-vis les souches étudiées, ce qui indique que les souches microbiennes réagissent différemment avec les différents extraits testés.

Tous les extraits ont réagi positivement sur presque la totalité des souches étudiées. On remarque aussi que l'extrait d'*A.herba-alba* est doué de propriétés antibactériennes très appréciées vis-à-vis les Gram+ et les Gram-, il a exhibé des zones d'inhibition comprises entre 11.33 ± 1.5 et 26.33 ± 2.3 mm, dont les plus grandes zones d'inhibition ont été enregistrées vis-à-vis les souches *E.coli* ATCC 25922 (26.33 ± 2.3), et *P.mirabilis* ATCC 35659 (22.33 ± 0.6).

Tableau n° 10 : Antibiogramme et antifongigramme des différentes souches microbiennes utilisées.

ATB	E.c1	E.c2	P.a1	P.a2	K.p1	K.p2	P.m	S.a1	S.a2	B.c	C.a
AMK	12.00±2.65 (R)	13.00±1.73 (R)	24.00±4.58 (S)	21.67±0.58 (S)	20.67±1.15 (S)	19.67±0.58 (S)	18.33±2.08 (S)	15.67±4.62 (R)	20.00±0.00 (S)	15.67±1.53 (R)	-
CN	18.00±3.46 (I)	27.67±0.58 (S)	30.67±1.53 (S)	22.67±1.53 (S)	14.00±1.00 (R)	19.00±1.00 (I)	21.33±1.53 (S)	29.00±1.73 (S)	21.67±2.08 (S)	17.33±3.08 (S)	-
NOR	28.33±0.58 (S)	25.33±3.79 (S)	31.00±2.65 (S)	31.00±1.73 (S)	21.33±1.15 (S)	19.67±0.58 (I)	24.67±2.08 (S)	28.00±3.46 (S)	23.33±1.15 (S)	22.33±1.53 (S)	-
(C)	27.00±1.73 (S)	19.00±1.00 (I)	-	-	19.00±1.00 (I)	21.33±1.15 (S)	14.33±1.15 (R)	23.33±1.15 (S)	32.00±0.00 (S)	24.67±4.04 (S)	-
DOX	27.00±1.70 (S)	19.00±1.00 (I)	19.00±0.00 (I)	19.00±0.00 (I)	19.00±1.00 (I)	21.33±1.00 (S)	24.67±2.08 (S)	24.00±4.00 (S)	27.33±3.06 (S)	26.33±3.79 (S)	-
TOB	15.00±4.00 (I)	15.67±0.58 (I)	23.33±2.08 (S)	22.00±1.00 (S)	13.67±1.15 (R)	16.33±2.31 (S)	21.67±2.89 (S)	26.67±1.15 (S)	21.33±3.21 (S)	18.00±2.00 (S)	-
SXT	17±00 (S)	16±00 (S)	-	-	14.33±0.58 (I)	20.67±0.58 (S)	13.33±0.58 (I)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	-
N	15±00 (R)	11±00 (R)	10.33±1.53 (R)	16±00 (I)	15±00 (R)	13±00 (R)	11±00 (R)	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	-	23±1.0 (R)	9.67±1.53 (R)	15±1.0 (R)	-
NAL	23.33±1.53 (S)	20.67±0.58 (S)	6±00 (R)	6±00 (R)	14.33±0.58 (R)	20.33±0.58 (S)	21.0±00 (S)	-	-	-	-
AML	10±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	-	-	-	-
AUG	13±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	8±00 (R)	9±00 (R)	10±00 (R)	-	-	-	-
OXA	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	-
PRL	7±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	7±00 (R)	14±00 (R)	15±00 (R)	14±00 (R)	-	-	-	-
AMP	8±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	13±00 (R)	7±00 (R)	6±00 (R)	-
CAR	6±00 (R)	6±00 (R)	-	-	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	-	-	-	-
KZ	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	6±00 (R)	-	-	-	-
Eco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13±0 (R)
Clo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7±0 (R)
Mico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7±0 (R)

E.c1 : *Escherichia coli* ATCC 25922, P.a 1 : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, K.p1: *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, P.m : *Proteus mirabilis* ATCC35659, S.a1 : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, B.c : *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Candida albicans* ATCC 10231. (E.c2 : *Escherichia coli*, P.a 2 : *Pseudomonas aeruginosa*, K.p 2 : *Klebsiella pneumoniae*, S.a 2 : *Staphylococcus aureus*) souches isolées du milieu hospitalier et identifiées par le système VITEK.

AMK (Amikacine 30µg), CN (Gentamycine 30µg), NOR (Norfloxacin 10µg), C (Chloramphénicol 30µg), DOX (Doxycycline 30µg), TOB (Tobramycine 10µg) SXT (Sulfaméthoxazole-Triméthoprim 25µg), N (Néomycine 30µg), E (Erythromycine 15µg), NAL (Acide Nalidixique 30µg), AML (Amoxicilline 30µg), AUG (Augmentin 30µg), OXA (Oxacilline 5µg), PRL (Pipéracilline 30µg), AMP (Ampicilline 10µg), CAR (Carbénicilline 100µg), KZ (Céfazoline 30µg), Eco, clo, Mico (Econazole, Clotrimazole, Miconazole 100µg/ml).

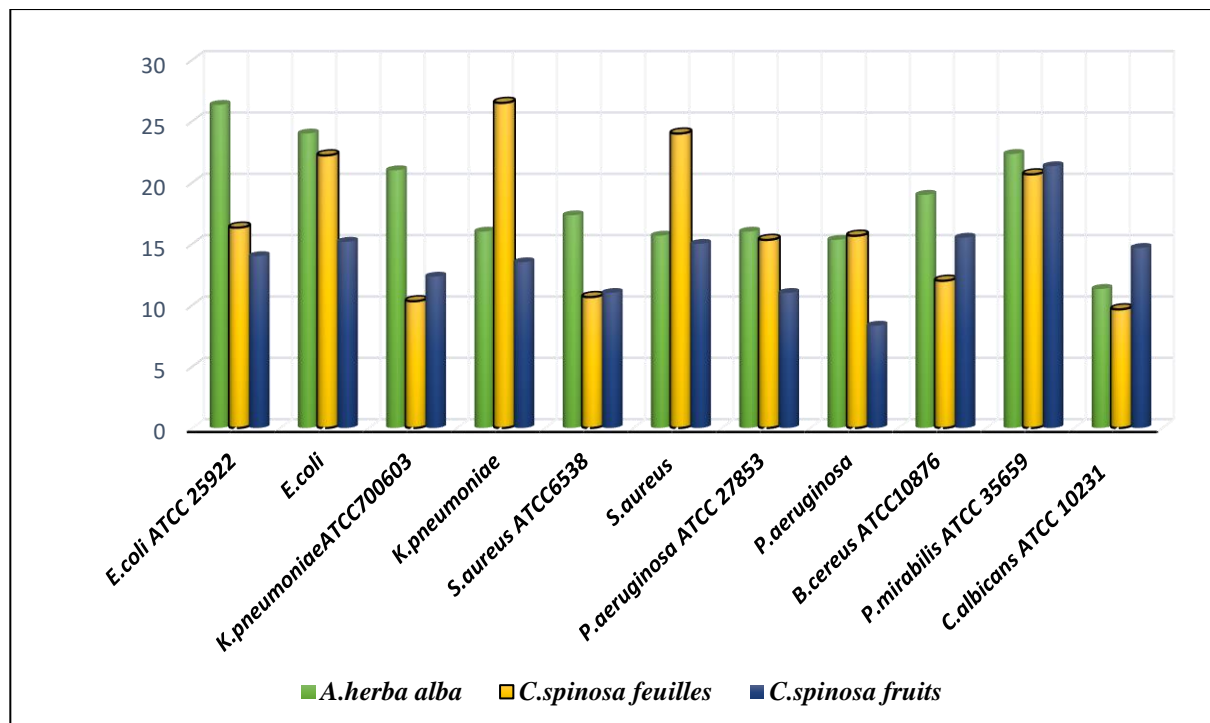


Figure 27 : Diamètres moyens des zones d'inhibition des différents extraits obtenus avec les souches testées.

Ces mêmes résultats montrent des diamètres d'inhibition plus importants contre les souches *E.coli* (24 ± 4.0), *P.aeruginosa* ATCC 27853 (16 ± 1.0), *P.aeruginosa* (15.33 ± 0.6), *S.aureus* ATCC 6538 (17.33 ± 1.2) et *S.aureus* (15.67 ± 1.2) par rapport à ceux rapportés par **Kahlouche-Riachi et al. (2015)** avec les mêmes espèces (≤ 12 mm) en étudiant les trois fractions (acétate d'éthyle, acétate de diéthyle, et le 1-butanol). Alors que les travaux portés par **Boujelal, (2013)** ont montré que l'extrait méthanolique d'*A.herba-alba* a donné un diamètre d'inhibition de 13 ± 0.6 mm pour la souche *E.coli* ATCC 25922 ce qui reste plus inférieurs que le nôtre.

Quant à l'extrait des feuilles de *C.spinosa* il a permis d'avoir des diamètres des zones d'inhibition qui se varient entre 9.67 ± 1.2 et 26.5 ± 1.5 mm. Cependant celui des fruits de *C.spinosa* a montré des halos d'inhibition moins importants, le plus grand diamètre d'inhibition a été visualisé autour des disques de *P. mirabilis* ATCC 35659 (21.33 ± 2.3). **Alomari et al. (2019)** ont travaillé sur les extraits d'acétate d'éthyle et de n-butanol des feuilles du câprier, et ils ont trouvé une activité modérée de 10 à 18 mm contre *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus* à une concentration de 100mg/mL, ce qui est moins important des diamètres reportés pour les mêmes souches dans ce travail (entre 10 et 24 mm). Cependant les résultats enregistrés avec l'extrait des fruits à l'égard des souches cliniques *E.coli*

et *S.aureus* (15.17 ± 0.3 , 15 ± 0.0 mm) sont plus ou moins inférieurs à ceux trouvés par **Gull et al. (2015)** (20.9 ± 0.1 , 17.7 ± 0.5 mm) avec l'extrait méthanolique. Dans d'autres études, ce même type d'extrait des fruits immatures s'est révélé inactif sur les souches *E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa* quel que soit la dose (**Meddour et al., 2013**).

Comme a été rapporté dans la littérature, on considère qu'un extrait est inactive s'il produit des diamètres des zones d'inhibition inférieurs ou égaux à 8mm, intermédiaire pour des diamètres compris entre 8 et 14mm, moyennement efficace entre 14 et 20 mm. Pour des diamètres supérieurs à 20 mm il est très efficace (**Sfeir et al., 2013**). Au vu des résultats précédents, nous avons fait ressortir que l'extrait de l'armoise blanche se révèle être très efficace vis-à-vis les souches *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 700603, et *P.mirabilis* ATCC 35659, et la souche clinique *E.coli*. Cette efficacité est notée pour l'extrait des feuilles du câprier contre les souches cliniques *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* et *P.mirabilis* ATCC 35659. Ces extraits ont montré une activité moyenne à l'égard des autres souches. Les deux souches de *P. aeruginosa* clinique et de référence semble être plus résistantes à l'extrait des fruits du câprier, cela est lié à leur grande capacité à développer des résistances à de nombreux antibiotiques, d'où leur implication est très fréquente dans les infections nosocomiales (**Mann et al., 2000**). Par ailleurs, les trois extraits ont un effet intermédiaire comparables vis-à-vis la souche fongique *C.albicans* ATCC 10231.

La comparaison des résultats avec le profil de l'antibiogramme nous permet de noter que globalement, les diamètres des zones obtenues avec les extraits hydrométhanoliques surtout de l'armoise et des feuilles du câprier sont plus importants que ceux obtenus avec les bêta-lactamines, les aminosides (néomycine) ; approximativement pareils aux halos d'inhibition exprimés par les antifongiques contre *C.albicans*, le chloramphénicol et la doxycycline vis-à-vis les Gram-, mais moins important à ceux obtenus à l'égard des Gram+. Ces résultats sont également moins important par rapport à ceux obtenus avec la norfloxacine et la gentamycine à l'exception des souches de références *K.pneumoniae* ATCC700603 et *B.cereus* ATCC10876 qui ont montré une certaine résistance à ce dernier.

V.6.2.2. Détermination de la CMI et la CMB /CMF :

Le test de diffusion en milieu gélosé ce n'est qu'un criblage des activités antimicrobiennes des extraits des plantes, il permet de sélectionner l'extrait qui donne plus d'activité pour chaque souche étudié, ainsi de se rapprocher aux concentrations d'autre essai microbiologique complémentaire

qui sert à la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), et la concentration minimale Bactéricide/ Fongicide. Les résultats sont repris dans le **tableau n°11**.

Tableau n° 11 : Résultats de CMI et CMB des extraits d'*A.herba-alba* et de *C.spinosa* exprimés en (mg/mL).

Souches	<i>A.herba alba</i>		<i>C.spinosa</i> feuilles		<i>C.spinosa</i> fruits	
	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12.5	25	50	100	12.5	25
<i>E.coli</i>	50	50	100	100	25	200
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	25	>100	100	>100	100	>200
<i>P.aeruginosa</i>	50	>100	100	>100	200	>200
<i>K.pneumoniae</i> ATCC700603	50	50	50	50	100	200
<i>K.pneumoniae</i>	50	100	100	100	200	200
<i>S.aureus</i> ATCC6538	50	100	50	50	200	200
<i>S.aureus</i>	50	100	100	100	100	100
<i>B.cereus</i> ATCC10876	12.5	50	25	50	3.75	100
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	6.25	50	100	100	3.75	100
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	25	25	50	50	50	50

La CMI des extraits des deux plantes a été déterminée par la technique de microdilution. Selon les résultats, l'extrait de l'armoise blanche présente une CMI allant de 6.25 à 50 mg/mL. Tandis que, celles des extraits des feuilles et fruits de *C. spinosa* se varient entre 25 à 100 et entre 3.75 à 200 mg/mL respectivement.

Nos résultats confirment une fois de plus l'efficacité des extraits de *C.spinosa* et viennent appuyer les résultats publiés par **AL-Azawi et al. (2018)** qui ont révélé l'effet de l'extrait méthanolique à une concentration de 100 mg/mL contre les souches de *S.aureus*, *E.coli*, et *K.pneumoniae* en engendrant des diamètres d'inhibition entre 17 et 21mm, et une CMI de 75, 100, 100 mg/mL respectivement. Ces valeurs sont également conformes avec nos résultats à l'égard des souches cliniques *E.coli*, et *K.pneumoniae* voire même pour la souche *P.aeruginosa* où la CMI trouvée par ces auteurs était de 250mg/mL. **Gull et al. (2015)** ont signalé que les extraits méthanoliques issues de différentes parties du câprier se sont avérés plus efficace que les extraits éthanoliques et acétoniques contre les bactéries à Gram+ et à Gram-. De plus, la CMI enregistrée avec l'extrait des fruits de *C.spinosa* vis-à-vis les deux souches *B.cereus* ATCC 10876, et *E.coli* ATCC 25922 (3.25,

12.5 mg/mL) sont similaires à ceux trouvés par **Mahboubi et Mahboubi, (2014)** avec les mêmes souches cliniques, et une concentration plus importante a été notée à l'égard de la souche fongique *C.albicans* (6.4 mg/mL).

Cependant, l'étude réalisée par **Mahasneh, (2002)** a révélé que l'extrait butanolique de *C.spinosa* a montré une activité modérément efficace contre les souches fongiques *C.albicans* et *A.flavus*. Alors que nos résultats sont plus importants par rapport à ceux trouvés par **Rajhi et al. (2019)** qui ont signalé que l'extrait méthanolique des feuilles et fruits s'est révélé moins actif sur les souches testées dont des faibles effets antibactériens ont été démontrés vis-à-vis les souches *S.aureus*, *E.coli*, et *E.faecalis* avec des concentrations qui arrive jusqu'à 1g/mL. En revanche, **Mazarei et al. (2017)** ont suggéré que les polysaccharides des feuilles de *C.spinosa* exhibent un large effet antimicrobien contre *E.coli*, *S.dysenteriae*, et *S.thypi*.

Nos résultats de l'extrait hydrométhanolique d'*A.herba-alba* semblent être plus importants que celles apportés par **Seddik et al. (2010)** qui ont mentionné une absence totale d'une activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de l'armoise contre toutes les souches sélectionnées. Tandis que, **Abdelah Bogdadi et al. (2007)** ont montré que les extraits éthanoliques et méthanoliques ont un effet antimicrobiens prometteur sur certaines souches testées (*B.cereus*, *S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *C.albicans*) avec des CMI entre 8 à plus de 16mg/mL ; ces concentrations sont plus ou moins inférieures que les nôtres (12.5 à 50 mg/mL).

Il existe plusieurs facteurs influençant la détermination de l'activité antimicrobienne (**Tagnaout et al., 2016**). En effet, la variabilité des résultats des extraits de plantes peut dépendre de contenu en polyphénols ; qui se dépendent eux même de la méthode de préparation des extraits et de la nature du solvant utilisé (**Zhang et Ma, 2018**). Il faut noter que plus la valeur de la concentration minimale inhibitrice est faible plus l'activité antimicrobienne de l'extrait est significative (**Famuyide et al., 2019**). L'effet est considéré bactéricide/fongicide si le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI est inférieur à 4, et il est considéré comme bactériostatique si ce rapport est supérieur à 4 (**Sbayou et al., 2014**).

Tableau n° 12 : Effets des trois extraits sur les différentes souches étudiées.

Souches	<i>A.herba-alba</i>		<i>C.spinosa feuilles</i>		<i>C.spinosa fruits</i>	
	CMB/CMI CMF/CMI	Effet	CMB/CMI CMF/CMI	Effet	CMB/CMI CMF/CMI	Effet
<i>E.coli</i> ATCC 25922	2	Bactéricide	2	Bactéricide	2	Bactéricide
<i>E.coli</i>	1	Bactéricide	1	Bactéricide	8	Bactériostatique
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	4	Bactériostatique	>2	Bactériostatique	>2	Bactériostatique
<i>P.aeruginosa</i>	>2	Bactériostatique	>1	Bactériostatique	>2	Bactériostatique
<i>K.pneumoniae</i> ATCC700603	1	Bactéricide	1	Bactéricide	2	Bactéricide
<i>K.pneumoniae</i>	2	Bactéricide	1	Bactéricide	1	Bactéricide
<i>S.aureus</i> ATCC6538	2	Bactéricide	1	Bactéricide	1	Bactéricide
<i>S.aureus</i>	2	Bactéricide	1	Bactéricide	1	Bactéricide
<i>B.cereus</i> ATCC10876	4	Bactériostatique	2	Bactéricide	26	Bactériostatique
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	8	Bactériostatique	1	Bactéricide	26	Bactériostatique
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	1	Fongicide	1	Fongicide	1	Fongicide

Les résultats du **tableau n°12** montrent que tous les extraits ont manifesté des propriétés actives. L'extrait des feuilles du câprier a exercé un effet bactéricide envers nos souches étudiées à l'exception de *P.aeruginosa*. De même, un effet bactériostatique a été enregistré pour l'extrait d'*A.herba-alba* et des fruits de *C.spinosa* à l'égard des souches *P.aeruginosa*, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *P.mirabilis* ATCC 35659, et *B.cereus* ATCC 10876. La différence de la réponse bactérienne pourrait être dû aux différences structurales entre les parois cellulaires (**A. Sharma et al., 2009**). Toutefois, **Ennacerie et al. (2017)** ont constaté que l'extrait éthanolique des fruits du câprier présente un potentiel bactéricide plus intense que celui des boutons floraux contre les souches testées (CMB/CMI entre 1 et 3). Ce pouvoir peut être expliqué par la différence de composition chimique des organes d'une même plante et leur richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Arrar et al., 2013**). Dans cet égard, l'activité antimicrobienne des deux plantes est due aux différentes molécules chimiques présentes dans leurs extraits. En effet, les extraits des deux plantes étudiées se sont révélés globalement riche en polyphénols, flavonoïdes et

en tanins. Des études antérieures ont signalé que la quantité importante en flavonoïdes (apigénine, lutéoline), ainsi que les acide phénoliques (acide protocatéchique, acide caféique, les dérivés d'acide gallique, et l'acide ferulique) trouvés dans la phase acétate d'éthyle pourraient être responsables de certaines des activités biologiques d'*A.herba-alba* dont l'activité antimicrobienne, et donc pour son utilisation tradithérapeutique (**Kahlouche-Riachi et al., 2015; Seddik et al., 2010**). En revanche, une étude récente a conclu que l'hydroquinone, l'acide vanillique, la quercétine présentes dans chacune des différentes fractions d'*A.herba-alba* issues de l'extraction par l'acétate d'éthyle et de l'éthanol sont responsables de sa forte activité antibactérienne (**Mohammed et al., 2021**).

Les mécanismes d'action de ces composés naturels sont expliqués de différente manière selon les auteurs. Selon **Basli et al. (2012); Narayana et al. (2001)** le mécanisme de toxicité des flavonoïdes contre les microorganismes se fait soit par privation des ions métalliques comme le fer, soit par des interactions non spécifiques avec la membrane cellulaire par l'établissement des ponts d'hydrogènes (avec les adhésines) ce qui endommage irréversiblement à la fois la membrane et les enzymes intracellulaires. De même, les flavonoïdes connus pour leur pouvoir antioxydant pourraient avoir un effet inhibiteur de l'activité bactérienne par la chélation de fer, en empêchant ainsi la pénétration intracellulaire des cofacteurs Ca^{2+} à la cellule bactérienne. L'inhibition de la croissance bactérienne par les tanins peut dépendre de leur structure et leur degré de polymérisation mais ceci n'est pas toujours le cas. Ces derniers peuvent exercer leurs effets en se complexant avec les protéines par des interactions covalentes et non covalentes (**Cowan, 1999; Sivakumaran et al., 2004**).

V.6.2.3. Etude de la combinaison entre les extraits :

Le test de synergisme par la méthode de « Checkerboard » a été utilisé pour évaluer l'effet de la combinaison des trois extraits contre les souches qui ont répondu par un effet bactériostatique. L'indice de la concentration inhibitrice fractionnaire est déterminé (ICIF) pour chaque combinaison. Selon le **tableau n°13**, l'association de l'extrait d'*A.herba-alba* et celui des feuilles de *C.spinosa* a montré des (ICIF) entre 0.41 et 0.81 indiquant ainsi des effets synergiques à l'égard de toutes les souches testées.

Tableau n°13 : Valeurs des CIF, indice de CIF, et Effet inhibiteur de l'association de l'extrait d'*A.herba-alba* et d'extrait des feuilles de *C.spinosa*.

Souches	essai	CMIC A.h a	CMIC CFs	CIFc (A.h a)	CIFc (CFs)	ΣCIFc	CIFI	Effet
<i>E.coli</i>	1	3.125	50	0.0625	0.5	0.56	0.81	Synergie partielle
	2	3.125	100	0.0625	1	1.06		
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	1	3.125	6.25	0.5	0.0625	0.56	0.56	Synergie partielle
	2	3.125	6.25	0.5	0.0625	0.56		
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	1	12.5	50	0.25	0.5	0.75	0.75	Synergie partielle
	2	12.5	50	0.25	0.5	0.75		
<i>P.aeruginosa</i>	1	12.5	50	0.25	0.5	0.75	0.75	Synergie partielle
	2	12.5	50	0.25	0.5	0.75		
<i>B.cereus</i> ATCC10876	1	1.56	6.25	0.0624	0.125	0.19	0.41	Synergie totale
	2	3.125	6.25	0.125	0.125	0.25		

Tableau n°14 : Valeurs des CIF, l'indice de CIF, et Effet inhibiteur de l'association des extraits des feuilles et fruits de *C.spinosa*.

Souches	essai	CMIC CFs	CMIC CFt	CIFc (CFs)	CIFc (CFt)	ΣCIFc	CIFI	Effet
<i>E.coli</i>	1	50	6.25	0.125	0.5	0.625	0.63	Synergie partielle
	2	50	6.25	0.125	0.5	0.625		
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	1	100	3.75	0.25	1	1.25	1.25	indifférent
	2	100	3.75	0.25	1	1.25		
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	1	100	25	0.25	1	1.25	1.25	indifférent
	2	25	100	0.25	1	1.25		
<i>P.aeruginosa</i>	1	100	25	0.25	1	1.25	1.25	indifférent
	2	100	25	0.25	1	1.25		
<i>B.cereus</i> ATCC10876	1	25	25	0.5	0.5	1	1	indifférent
	2	25	25	0.5	0.5	1		

L'association de l'extrait des feuilles et fruits de *C. spinosa* a révélé des indices CIF variant entre 0.63 et 1.25 (**Tableau n°14**), cette combinaison a donné un effet synergique contre la souche *E.coli* clinique. Tandis que l'effet est indifférent contre les autres souches étudiées. **Ennacerie et al. (2017)** ont montré que la combinaison des deux extraits éthanoliques des boutons floraux et des fruits a donné des CIFI plus importants (entre 0.024 et 0.09) indiquant un effet synergique très

Tableau n°15 : Valeurs des CIF, l'indice de CIF, et Effet inhibiteur de l'association de l'extrait d'*A.herba-alba* et d'extrait des fruits de *C.spinosa*.

Souches	essai	CMIc A.h a	CMIc CFt	CIFc (A.h a)	CIFc (CFt)	ΣCIFc	CIFI	Effet
<i>E.coli</i>	1	50	50	1	1	2	2	indifférent
	2	50	50	1	1	2		
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	1	3.125	200	0.0625	1	1.06	1.06	indifférent
	2	3.125	200	0.0625	1	1.06		
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	1	50	50	1	0.5	1.5	1.5	Indifférent
	2	50	50	1	0.5	1.5		
<i>P.aeruginosa</i>	1	6.25	200	0.125	2	2.125	2.13	Antagonisme
	2	6.25	200	0.125	2	2.125		
<i>B.cereus</i> ATCC10876	1	25	3.12	1	0.0312	1.031	1.03	Indifférent
	2	25	3.12	1	0.0312	1.031		

intéressant contre *P.aeruginosa* et *K.pneumoniae*. Toutefois, la combinaison entre l'extrait de l'armoise blanche et des fruits du câprier a montré des indices CIF supérieur à 2 pour la souche clinique *P. aeruginosa*. Les autres souches ont néanmoins donné un effet indifférent (**Tableau n°15**). L'effet synergique issu de la capacité antibactérienne acquise par la combinaison entre les différents extraits à l'égard de certaines souches peut s'expliquer par le fait que chaque extrait contient divers composés phytochimiques qui peuvent agir différemment ; les flavonoïdes lipophiles perturbent l'intégrité des membranes microbiennes (**Olajuyigbe et Afolayan, 2012**). Alors que les tanins précipitent les protéines microbiennes (**Prasad et al., 2008**). Puisque ces différentes molécules végétales bioactives ont une cible métabolique bactérienne, leur combinaison dans les extraits va provoquer l'attaque de plusieurs cibles simultanément, ce qui peut rendre les bactéries plus sensibles à leur effet, d'où l'observation d'une action synergique (**Al-Bayati, 2008; van Vuuren et Viljoen, 2011**).

V.6.3. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* :

V.6.3.1. Technique de diffusion en milieu gélosé :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'armoise blanche a été évaluée sur les 11 souches par la méthode de diffusion de disque. Les résultats des diamètres d'inhibition obtenus

varient entre 10.00 ± 0.0 et 36.00 ± 0.9 mm (**Tableau n°16**). Les diamètres générés par l'huile essentielle sont très variables selon la souche testée. On note également une activité plus prononcée sur Les Gram+ que les Gram-. De même, un effet important a été enregistré contre *B.cereus* ATCC 10876, *S.aureus* ATCC 6538, *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 700603, et la souche clinique *K.pneumoniae* qui étaient très sensibles avec des zones d'inhibition de 36.00 ± 0.9 , 31.17 ± 0.8 , 23.33 ± 1.5 , 20.67 ± 1.5 et 21.00 ± 1.5 respectivement, celles-ci sont supérieures aux halos d'inhibition obtenus avec la gentamycine, les aminosides et avec les bêta-lactamines. Cependant l'effet de l'HE est inférieur à celui enregistré avec la norfloxacine particulièrement à l'égard des Gram-.

Tableau n°16 : Diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* (mm).

souches	Huile essentielle d' <i>A.herba alba</i> (15µl)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	23.33±1.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603	20.67±1.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10.00±0.0
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	21.33±1.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	31.17±0.8
<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876	36.00± 0.9
<i>Escherichia coli</i>	19.92±1.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21.00± 1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19.92±1.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.67±1.2
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	17.33±1.5

L'activité inhibitrice exercée contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 a été nettement moins importante avec un diamètre d'halos d'inhibition de 10 ± 0.0 mm, ce qui est inférieur par rapport aux diamètres enregistrés avec les quinolones, les aminosides à l'exception de la néomycine, et à la tétracycline. La différence de la réponse bactérienne pourrait être dû aux différences structurales entre les parois cellulaires. Les Gram négatives ont une membrane phospholipidique externe, qui rend la paroi imperméable aux composés chimiques antimicrobiens, tandis que les Gram positives possèdent une couche de peptidoglycane qui est perméable à ces substances (A. Sharma *et al.*, 2009). De

plus, nos résultats corroborent plusieurs travaux qui ont signalé que les huiles essentielles sont légèrement plus actives contre les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif (**Zouari et al., 2010**). Toutefois, le diamètre d'inhibition enregistré vis-à-vis la souche fongique *C.albicans* ATCC10231 (17.33 ± 1.5 mm) est supérieur aux antifongiques de référence. En outre, les présents résultats sont relativement comparables à ceux d'autres études évaluant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*A.herba-alba* (**Akrout et al., 2010**; **Al-Wahaibi et al., 2020**; **Sbayou et al., 2014**).

V.6.3.2. Détermination de la CMI et la CMB/CMF :

Dans le **tableau n°17** sont consignés les résultats des CMI et CMB/CMF (mg/mL) de l'huile essentielle de l'armoise blanche. A la lecture des résultats obtenus, on constate que la CMI de l'huile essentielle varie entre 2.5 et 10 mg/mL. La plus faible concentration a été enregistrée vis-à-vis la souche clinique *K.pneumoniae* ($3.75 \mu\text{L/mL}$). Ces concentrations sont presque similaires à celles trouvés par **Bertella et al. (2018)** avec d'autre chémotype d'huile essentielle d'armoise blanche à l'égard des souches de *S.aureus* (MRSAA1, MRSAB1) et *B.cereus* avec des CMI et CMB de 5 et 10mg/mL respectivement. De plus, l'huile essentielle a montré un important effet inhibiteur de type bactéricide contre les microorganismes étudiés à l'exception de *P. aeruginosa*. Effectivement, **Lakehal et Meliani, (2016)** ont révélé que l'huile essentielle d'*A.herba-alba* est active sur toutes les souches testées à l'exception de *P.aeruginosa* dont aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée. Ces mêmes auteurs ont montré une forte activité à l'égard de la souche *S.aureus* avec une CMI de 0.1mg/mL, ce qui est supérieur à nos résultats. **Imelouane et al. (2010)** ont signalé que le camphre qui représente le composant majeur de leur chémotype exerce un effet bactériostatique sur *P.aeruginosa*. Par ailleurs, **Sbayou et al. (2014)** ont trouvés que l'effet bactéricide de l'huile essentielle d'armoise blanche vis-à-vis les souches testées étaient entre 1.25 à $10 \mu\text{L/mL}$, ceux-ci sont légèrement inférieurs à les nôtres (3.75 à $15 \mu\text{L/mL}$). De même, des résultats importants ont été rapporté par plusieurs auteurs avec d'autres chémotypes d'*A.herba-alba* (**Mighri et al., 2010** ; **Ouaritini et al., 2016**).

D'après **Dorman et Deans, (2000)**, l'activité antibactérienne d'une huile essentielle est en relation avec sa composition chimique, à la configuration structurale et aux groupes fonctionnels des constituants majoritaires, et à l'éventuelle interactions synergiques entre ces derniers et les composants mineurs. Ce qui pourrait expliquer la variation entre même espèce de différente région

du monde. Toutefois, l'action antimicrobienne de notre HE peut être attribuée à sa richesse en trois composés principaux (α -thujone, β -thujone, et le Camphre) qui ont été rapportés pour leur pouvoir antibactérien contre plusieurs souches testées (Delamare *et al.*, 2007; Lopes-Lutz *et al.*, 2008; Radulović *et al.*, 2017). Ces monoterpènes oxygénés sont capables de détruire l'intégrité cellulaire, en entraînant une altération de la perméabilité membranaire ; La membrane ainsi perde sa structure et devient plus perméable aux ions. La lésion de la membrane cellulaire peut également permettre la dissipation du gradient pH et la diminution du potentiel membranaire (Goudjil *et al.*, 2016). D'autre part, certaines études ont trouvé que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément (Bhavaniramy *et al.*, 2019; Burt, 2004). Cette dominance par rapport à un seul composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les constituants mineurs à l'activité des huiles essentielles (Kordali *et al.*, 2005; Lahlou, 2004).

Tableau n°17 : CMI et CMB de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* (mg/mL).

Souches	CMI	CMB/CMF	CMB/CMI CMF/CMI	Effet
<i>E.coli</i> ATCC 25922	5	5	1	Bactéricide
<i>E.coli</i>	10	10	1	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	>10	>10	>1	Bactériostatique
<i>P.aeruginosa</i>	>10	>10	>1	Bactériostatique
<i>K.pneumoniae</i> ATCC700603	5	5	1	Bactéricide
<i>Kpneumoniae</i>	2.5	5	2	Bactéricide
<i>B.cereus</i> ATCC10876	10	10	1	Bactéricide
<i>S.aureus</i> ATCC6538	5	10	2	Bactéricide
<i>S.aureus</i>	10	10	1	Bactéricide
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	5	5	1	Bactéricide
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	5	5	1	Bactéricide

V.6.4. Etude de la combinaison entre les antibiotiques et les extraits :

Deux antibiotiques et un antifongique à lesquelles la majorité des souches sont résistantes ont été choisis dans cette étude. Les résultats de la combinaison sont démontrés dans le **tableau n°18**.

Tableau n°18 : Diamètres d'inhibition (mm) de l'association des antibiotiques avec l'huile essentielle et les extraits d'*A.herba-alba* et de *C. spinosa*.

Souches bactériennes	Antibiotique/ Antifongique	Diamètres des zones d'inhibition (mm)				
		ATB seul	Résultats de combinaison			
			HE d' <i>A.herba-alba</i>	Extrait <i>A.herba-alba</i>	Extrait <i>C.spinosa</i> feuilles	Extrait <i>C.spinosa</i> fruits
<i>E.coli</i> ATCC 25922	NEO	15±00	45	29	29	30
	AMK	15.00±2.65	31	29	24	24
	Ext/ HES seul	-	23.33±1.5	26.33±2.3	16.33±2.3	14±1.00
<i>E.coli</i>	NEO	11±00	33	29	29	30
	AMK	13.00±1.73	35	32	26	26
	Ext/ HES seul	-	19.92±1.00	24±4.0	22.22±1.2	15.17±0.3
<i>K.pneumoniae</i> ATCC700603	NEO	15±00	40	11	20	14
	AMK	20.67±1.15	34	28	27	22
	Ext/ HES seul	-	20.66±1.5	21±1.0	10.33±0.6	12.33±1.2
<i>K.pneumoniae</i>	NEO	13±00	44	19	20	14
	AMK	24±00	38	33	22	34
	Ext/ HES seul	-	21±1.00	16±1.7	26.5±1.5	13.5±0.9
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	NEO	10.33±1.53	13	11	12	11
	AMK	24±1.15	27	25	29	27
	Ext/ HES seul	-	10±00	16±1.00	15.33±0.6	11±00
<i>P.aeruginosa</i>	NEO	16±00	16	11	12	11
	AMK	26±0.58	29	31	31	25
	Ext/ HES seul	-	19.92±1.9	15.33±0.6	15.67±0.6	8.33±1.2
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	NEO	11±00	35	25	25	25
	AMK	19±2.08	41	19	19	19
	Ext/ HES seul	-	21.33±1.5	22.33±0.6	20.67±1.2	21.33±2.3
<i>B.cereus</i> ATCC10876	NEO	7±00	40	26	30	20
	AMK	20±1.53	36	33	30	28
	Ext/ HES seul	-	36±0.9	19.0±1.0	12±1.7	15.5±0.9
<i>S.aureus</i> ATCC6538	NEO	6±00	41	15	14	21
	AMK	13±00	45	16	14	23
	Ext/ HES seul	-	31.17±0.8	17.33±1.2	10.67±1.2	15±00
<i>S.aureus</i>	NEO	6±00	29	15	15	25
	AMK	20±00	39	20	21	24
	Ext/ HES seul	-	13.67±1.2	15.67±1.2	24±00	15.5±0.9
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	Econazole	15.5±00	55	41	13	20
	Ext/ HES seul	-	17.33±1.5	11.33±1.5	9.67±1.2	14.67±0.6

Dans la recherche d'agents antimicrobiens plus efficaces pour traiter les infections, la thérapie combinée devient une stratégie importante car les interactions synergiques peuvent potentiellement augmenter l'efficacité, réduire la toxicité, guérir plus rapidement, prévenir l'émergence de la résistance et offrir un spectre d'activité plus large que les régimes de monothérapie (**Olajuyigbe et Afolayan, 2012**). Par conséquent, nous avons étudié les interactions de deux antibiotiques avec les plantes médicinales afin d'identifier les effets synergiques et/ou antagonistes capables de fournir des conseils pour l'utilisation empirique, de réduire le coût et la durée de la thérapie antimicrobienne. L'effet est considéré comme synergique si les combinaisons présentent une élévation du diamètre de la zone d'inhibition combinée par 5mm (**Ranjan et al., 2012**). Les résultats des diamètres d'inhibition sont rapportés dans le **tableau n°18**.

Des effets antibactériens variables et significatifs sont obtenus en associant l'huile essentielle et les extraits des deux espèces aux deux antibiotiques. Les zones d'inhibition enregistrées avec certaines souches sont supérieures à celle de l'antibiotique seul. Selon ces résultats on peut constater que l'association de l'HE de l'armoise blanche avec la néomycine a contribué à la potentialisation des diamètres des zones d'inhibition, elle a exercé un effet synergique à l'égard de toutes les souches testées avec des diamètres allant de 29 à 45 mm à l'exception de *P.aeruginosa* (clinique et référenciée) qui ont permis d'avoir un effet indifférent. Le meilleur effet synergique (55mm) est obtenu à l'égard de la souche fongique *C.albicans* ATCC10231, en combinant l'econazole avec l'HE de l'armoise blanche, avec une potentialisation de 254.83% par rapport à l'effet de l'antifongique seul (15.5mm). De même, l'association de l'HE avec l'amikacine a montré des effets synergiques vis-à-vis toutes les souches sauf *P.aeruginosa* (clinique et référencié), et *B.cereus* ATCC 10876. Les halos d'inhibition se varient entre 31 et 45mm, dont le meilleur diamètre a été enregistré contre la souche *S.aureus* ATCC6538 (45mm) avec une potentialisation de 246.15% par rapport à l'effet de l'amikacine seul (13mm). Cette dernière est aussi sensible lorsqu'elle est testée en associant l'extrait des fruits de *C.spinosa* avec la néomycine et l'amikacine (21 et 23mm). De plus, l'extrait des fruits du câprier a montré un synergisme avec la néomycine vis-à-vis les souches *E.coli* ATCC25922, *E.coli*, *S.aureus* (entre 25 et 30mm) ; et avec l'amikacine contre les souches *E.coli* ATCC 25922, *E.coli*, *K.pneumoniae*, et *B.cereus* ATCC 10876 (entre 24 et 34mm).

En outre, le synergisme a été également noté contre *B.cereus* ATCC10876 dans la combinaison de la neomycine avec l'extrait de l'armoise ; et contre *E.coli*, *K.pneumoniae* ATCC 700603,

K.pneumoniae, *P.aeruginosa*, et *B.cereus* ATCC10876 dans l'association de ce dernier avec l'amikacine. La meilleure valeur enregistrée était 41mm à l'égard de la souche fongique *C.albicans* ATCC10231 dans l'association d'extrait d'armoise-econazole par rapport à ce dernier seul (15.5mm) avec un pourcentage d'élévation de 164.51%. Cette même souche a montré un effet antagoniste dans la combinaison de l'antifongique avec l'extrait des feuilles de *C.spinosa* (13mm).

En revanche, d'autres combinaisons de l'extrait des feuilles du câprier réalisé avec la néomycine et l'amikacine sont très actives contre la souche de *B.cereus* ATCC 10876 (30mm) particulièrement par rapport à la néomycine seul (7mm). Cette même combinaison a présenté un bon effet synergique à l'égard de toutes les souches à l'exception de *S.aureus* (clinique et référenciée) et *P.mirabilis* ATCC 35659 qui ont permis d'avoir des effets indifférents et/ ou additifs.

Il faut de noter que les aminosides agissent sur les sous-unités 30S des ribosomes en provoquant des erreurs dans la lecture du code génétique lors de la traduction des protéines, par conséquence la perturbation et la destruction de la machinerie cellulaire (**Michel-Briand, 1978**). La capacité des huiles essentielles à renforcer l'effet antibactérien de l'antibiotique peut être attribuée à des composants hydrophobes dans les HEs qui peuvent interagir avec les lipides membranaires, ce qui perturbent sa structure et augmente sa perméabilité, de sorte que l'antibiotique peut facilement traverser la barrière membranaire, en renforçant son efficacité antibactérienne (**Sikkema et al., 1995**). Un autre mécanisme de synergisme possible par l'induction de l'inhibition de la pompe d'efflux par l'huile essentielle ce qui provoque l'augmentation de la rétention de l'antibiotique dans la cellule bactérienne du fait de l'incapacité à l'extrusion de ce dernier par ces pompes à efflux et donc de réduire sa dose efficace (**Shahverdi et al., 2007; K. Sharma et al., 2020**).

Plusieurs études ont signalé également qu'il existe des interactions variées entre les antibiotiques et les extraits de plantes (**Aiyegoro et al., 2011; Betoni et al., 2006**). En accord avec ces dernières, notre étude a démontré un synergisme, une additivité/indifférence et un antagonisme entre les extraits hydrométhanoliques d'*A.herba-alba*, *C. spinosa* et les deux antibiotiques de la classe des aminosides. Les effets synergiques indiquent que les combinaisons antimicrobiennes étaient plus efficaces que l'activité des agents individuels. L'augmentation de la taille des zones d'inhibition résultant de l'association de l'extrait et de l'antibiotique indiquent l'amélioration du potentiel bactéricide de l'extrait et de l'antibiotique en tant qu'agents antibactériens combinés ; ces variations ont été jugées comme étant due aux différents mécanismes d'action (**Pei et al., 2009**). En effet, la

capacité de ces combinaisons à inhiber les bactéries résistantes a montré qu'elles ont soit attaqué différents sites cibles séparément, soit été combinées pour surmonter les mécanismes de résistance inhérents aux isolats. Etant donné que les polyphénols ou les flavonoïdes peuvent interagir avec les antibiotiques pour renforcer leurs mécanismes d'action sur les sites cibles pour lesquels l'antibiotique a été conçu ; **Sato et al. (2004)** ont signalé des potentiels antimicrobiens et de modulation de la résistance des flavonoïdes et des polyphénols, la combinaison des extraits avec les antibiotiques pourrait avoir modifié les propriétés de résistance inhérentes aux bactéries pour les rendre plus efficaces. De plus, le rôle initial de chaque phytoconstituant dans l'activité antimicrobienne et dans leur combinaison avec des antibiotiques ne doit pas être sous-estimé. Les flavonoïdes perturbent les membranes microbiennes, et les tanins précipitent les protéines microbiennes (**Esimone et al., 2006; Tsuchiya et al., 1996**). Ces composés phytochimiques dans l'extrait pourraient avoir agi seuls ou en synergie avec d'autres composés pour des activités antibactériennes efficaces. Alors que la double attaque des extraits avec des antibiotiques sur différents sites cibles a été notée, les phytoconstituants couplés avec les antibiotiques ciblant des sites spécifiques pourraient avoir formé un complexe avec des propriétés antibactériennes améliorées (**Olajuyigbe et Afolayan, 2012**). L'intérêt de ces résultats ne concerne pas seulement l'antibiothérapie, mais il peut avoir une importance considérable dans les industries pharmaceutiques, agro-alimentaires et cosmétiques.

V.7. Etude pharmacologique :

V.7.1. Test de toxicité aigüe :

L'administration orale des extraits hydrométhanoliques d'*A.herba-alba* et des feuilles et fruits de *C.spinosa* à des doses de 50,300,2000, et jusqu'à 5000 mg/kg aux rats Wistar n'a induit aucun signe de toxicité aigüe et aucun changement de comportement des animaux, mort, ou coma n'ont été observé au cours des 24h d'observation. Concernant l'huile essentielle de l'armoise blanche l'administration de la dose 2000 mg/kg a provoqué la mortalité totale du lot des rats (2 après 30 min et 1 rat après 40 min), à la dose de 300mg/kg l'huile essentielle a induit la mort d'un seul rat après 30 min de gavage. Une respiration rapide, une convulsion, un déséquilibre, une salivation et saignement ont été remarqués avant la mort. Cependant aucun signe de toxicité n'a été enregistré à l'administration de la dose 50mg/kg.

Cette étude est basée sur la méthode de toxicité aiguë par catégorie (ATC) décrite par la ligne directrice OECD 423 (OECD, 2002). Elle se base sur un processus séquentiel qui n'utilise que trois animaux de même sexe par étape au but de minimiser le nombre des animaux utiliser et de réduire la variabilité. Cette huile essentielle appartient à la catégorie 4 (>300-2000 mg/kg) selon la classification établie par le GHS (Globally Harmonized classification System). Elle est modérément toxique avec sa dose létale médiane (DL₅₀) entre 50 et 500 mg/kg d'après l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner (Ahmed et Azmat, 2014). Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Bertella *et al.* (2018), le comportement anormal des animaux a été observé avec une dose de 500 mg/kg, et la DL₅₀ était de 650 mg/Kg. Selon E. Qnais *et al.* (2014) l'HE d'*A. herba-alba* de la Jordanie à la dose unique de 4000 mg/kg n'a montrée aucun signe de toxicité, la DL₅₀ était donc supérieure à 4000 mg/kg, ce qui indique un faible profil de toxicité.

Les trois autres extraits sont inclassables (DL₅₀>5000 mg/kg). Il faut signaler qu'il existe très peu de rapports dans la littérature concernant la toxicité des extraits de ces deux espèces ; Kadi *et al.* (2019) ont mentionné qu'aucun signe de toxicité n'a été détecté lors de l'administration du décocté d'*A. herba-alba* à une dose de 2000 mg/kg ce qui confirme la sureté de cette espèce. Cependant, Tlili *et al.* (2017) ont rapporté qu'il n'y a pas de preuve de toxicité aiguë de l'extrait méthanolique de *C. spinosa* chez les rats. Ces mêmes auteurs ont trouvé que l'administration de la dose sélectionnée pour le traitement (200 mg/kg), n'a pas entrainer de mortalité ni de changement de comportement des animaux. De même, Oudah *et al.* (2020) ont montré que les doses 25, 50 et 100mg/kg d'extrait polyphénolique des feuilles utilisées pour l'étude de la toxicité aiguë se sont révélées non toxique ce qui supporte nos résultats .

V.7.2. Activité anti-inflammatoire :

Dans la présente étude, l'effet anti-inflammatoire des extraits d'*A. herba-alba* et de *C. spinosa* sont évalués sur un modèle de rat Wistar par le test de l'inflammation induite par la carragénine. L'œdème plantaire et le pourcentage d'inhibition sont estimés en comparaison avec un anti-inflammatoire de référence, le Diclofénac. Les résultats du **tableau n° 19** illustrent les effets des extraits issus des deux plantes sur l'augmentation de l'épaisseur de la patte des rats en fonction du temps. Après injection de la carragénine à 1% dans la patte droite des rats témoins, on note une augmentation progressive du volume de l'œdème plantaire pour atteindre son seuil maximal (6.73±0.29 mm) après 5 heures. Par ailleurs, l'administration préventive du Diclofénac (10 mg/kg)

a réduit de façon très à hautement significative l'évolution de l'œdème à partir du 4^{ème} heure dans le groupe standard (5.16 ± 0.12 mm) en comparaison avec le groupe témoin (6.57 ± 0.21 mm).

L'administration de l'extrait des feuilles et fruits de *C.spinosa* à différentes doses a montré une diminution hautement significative ($p < 0.001$) de l'œdème, et ce à partir de 4 heures pour l'extrait des feuilles (400 mg/kg) et à partir de 5 heures pour ce des fruits (400 mg/kg). Toutefois, l'extrait d'*A.herba-alba* est légèrement moins efficace, d'où une diminution moins importante, et aucune différence significative n'a été enregistrée par rapport au groupe témoin.

La Figure 28 représente les pourcentages d'inhibition de l'œdème plantaire par les extraits et le standard en fonction des heures. On constate que l'administration orale de l'extrait des feuilles et fruits du câprier ont montré des pourcentages d'inhibition très significative surtout avec les doses 400 mg/kg à 6 heures soit 71.71% et 67.76% pour l'extrait des feuilles et fruits respectivement.

Tableau n° 19 : Effet d'extrait d'*A.herba-alba* et des feuilles et fruits de *C.spinosa* sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.

Traitement	Épaisseur de la patte (mm)					
	1H	2H	3H	4H	5H	6H
Control	6.59 ± 0.24	6.37 ± 0.20	6.33 ± 0.21	6.57 ± 0.21	6.73 ± 0.29	6.54 ± 0.04
Standard 10 mg/kg	6.57 ± 0.21	6.04 ± 0.15	5.60 ± 0.16	$5.16 \pm 0.12^{**}$	$4.48 \pm 0.13^{***}$	$4.28 \pm 0.11^{***}$
Cfs 200 mg/kg	6.20 ± 0.14	6.02 ± 0.18	$5.27 \pm 0.16^*$	$5.44 \pm 0.20^{**}$	$5.44 \pm 0.16^{***}$	$5.15 \pm 0.21^{***}$
Cfs 400 mg/kg	6.71 ± 0.27	5.91 ± 0.20	$5.08 \pm 0.18^{**}$	$4.90 \pm 0.23^{***}$	$4.57 \pm 0.19^{***}$	$4.53 \pm 0.15^{***}$
Cft 200 mg/kg	6.29 ± 0.33	6.13 ± 0.29	5.70 ± 0.24	5.41 ± 0.19	$4.95 \pm 0.25^*$	$5.19 \pm 0.26^{**}$
Cft 400 mg/kg	6.55 ± 0.31	6.26 ± 0.22	5.79 ± 0.19	$5.19 \pm 0.32^{**}$	$4.95 \pm 0.25^{***}$	$4.47 \pm 0.15^{***}$
A.h a 200 mg/kg	6.29 ± 0.15	6.07 ± 0.44	5.81 ± 0.23	5.60 ± 0.08	5.79 ± 0.15	5.59 ± 0.06
A.h a 400 mg /kg	6.72 ± 0.19	6.21 ± 0.33	6.06 ± 0.26	6.21 ± 0.30	5.83 ± 0.53	5.60 ± 0.06

Valeurs exprimées en Moyenne \pm SEM ; contrôle : eau distillée ; Standard : Diclofénac ; Cfs : extrait des feuilles de *C.spinosa* ; Cft : extrait des fruits de *C.spinosa* ; A.h a : extrait d'*A.herba-alba* ; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (n=6).

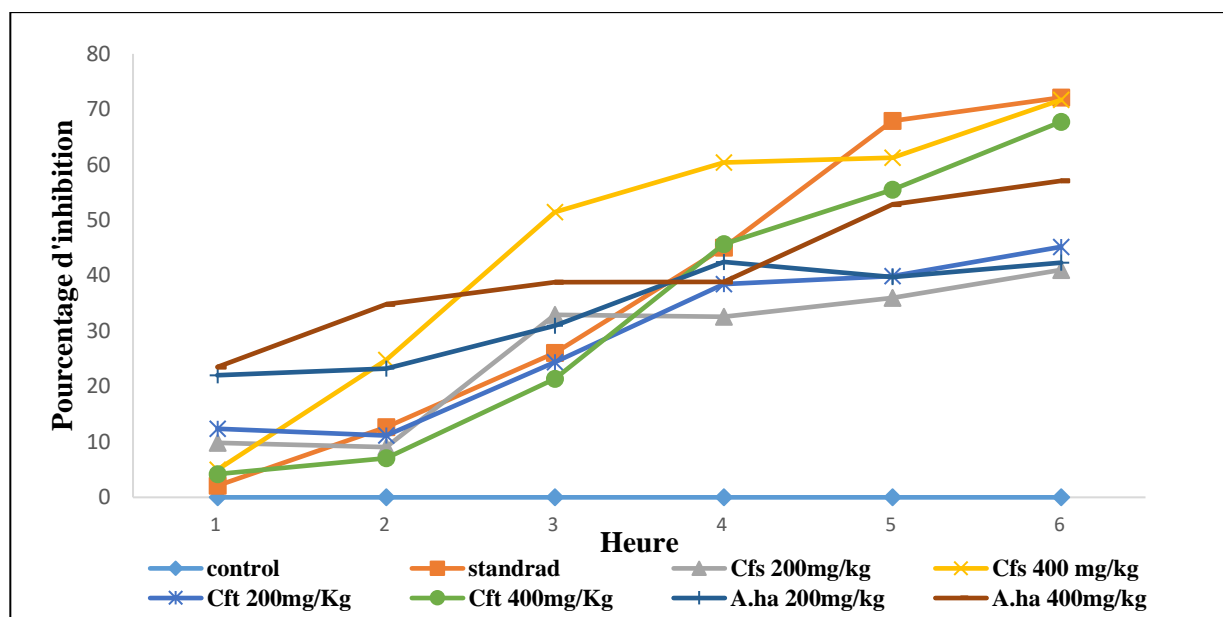


Figure 28 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème plantaire par les extraits d'*A.herba-alba*, de *C.spinosa* et du Diclofénac.

On peut remarquer que l'inhibition de l'œdème est légèrement similaire entre les feuilles du câprier et l'anti-inflammatoire de référence (72.13%). Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Aichour et al. (2018)** avec les mêmes extraits des feuilles et fruits qui étaient de 60.7% et 57.14% respectivement.

Par ailleurs, *A.herba-alba* a exhibé des pourcentages d'inhibition de 42.33 et 57.10% à des doses de 200 et 400 mg/kg respectivement. On a relevé que l'extrait d'*A.herba-alba* exerce un effet sur les deux phases de l'inflammation du fait que le pourcentage d'inhibition était plus élevé dans la première et deuxième heure de l'inflammation que ceux observés avec les extraits de *C.spinosa*, ce dernier a manifesté un grand effet surtout sur la deuxième phase de l'inflammation. **Abdel Jaleel et al. (2016)** ont trouvé des pourcentages d'inhibition de 46.8%, 35% et 62.5% après le traitement par l'extrait aqueux d'*A.herba-alba* à des doses de 400, 200, 100 mg/kg, ce qui est un peu plus important que les nôtres.

Les résultats du **tableau n° 20** montrent l'évolution progressive du volume de la patte en fonction des heures chez différents lots des rats à savoir témoin, standard ou bien prétraités par l'huile essentielle d'armoise blanche.

Tableau n° 20 : Effet de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.

Traitement	Epaisseur de la patte				
	1H	2H	3H	4H	5H
Controle	6.70±0.18	6.55±0.1	6.52±0.07	6.72±0.26	6.39±0.25
Standard 10mg/kg	7.08±0.19	6.11±0.17	5.67±0.16*	5.24±0.13***	4.35±0.03***
HE 50mg/kg	6.40±0.17	5.49±0.17**	5.19±0.22***	5.73±0.16***	5.42±0.04**
HE 100mg/kg	5.95±0.09	5.51±0.03**	4.64±0.13***	5.16±0.13***	5.24±0.12***

Valeurs exprimées en Moyenne±SEM ; Control : tween 80 à 1% ; Standard : Diclofénac ; HE : huile essentielle d'*A.herba-alba** $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$ (n=6).

Nous constatons que l'administration orale préventive de l'huile essentielle de l'armoise blanche réduit progressivement le volume de l'œdème de la patte à partir de la deuxième heure avec une différence significative élevée ($P<0,001$) entre la troisième et la cinquième heure par rapport au groupe témoin. Cette huile essentielle a exhibé un pourcentage d'inhibition de 44,07 % et 44,37 % aux doses de 50 et 100 mg/kg respectivement après cinq heures (**Figure 29**). Cependant, cette activité reste nettement moins efficace que celle de l'anti-inflammatoire de référence (Diclofenac 66,05%).

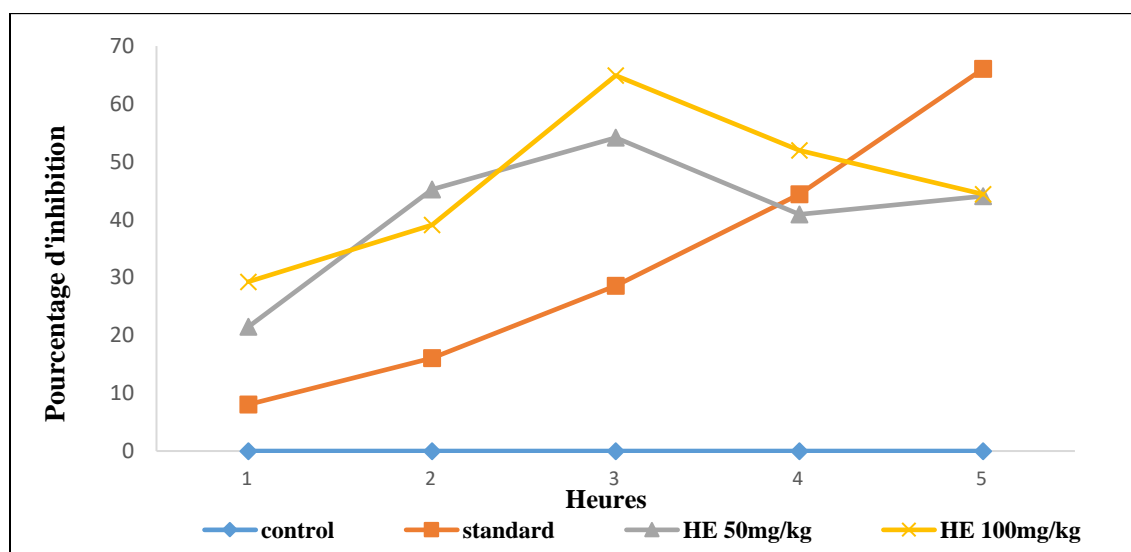


Figure 29 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème plantaire par l'huile essentielle d'*A.herba-alba*.

L'œdème plantaire induit par l'injection de la carragénine est un modèle animal bien établi et largement utilisé pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de différents produits naturels. Le mécanisme cellulaire et moléculaire par lequel la carragénine induit le processus inflammatoire est connu. En effet, ce dernier provoque la libération des médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. Ce phénomène se caractérise par une réponse bi-phasique dont la phase initiale est associée à la production rapide de l'histamine, de la sérotonine (environ 1h), et de la bradykinine (1h 30 à 3h) qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème (**Crunkhorn et Meacock, 1971; Ouédraogo et al., 2012**). La seconde phase (au-delà de 3h) est principalement due à la libération des prostaglandines, aux protéases, lysosomes, l'oxyde nitrique, et associée à la migration des neutrophiles dans le site inflammatoire où elles libèrent d'autres médiateurs inflammatoires et cytotoxiques, ce qui provoque la production accrue et l'accumulation des espèces réactives à l'oxygène qui contribuent à la réponse inflammatoire en causant des dommages cellulaires (**Ashley et al., 2012; El Hachimi et al., 2017**).

L'analyse de l'effet anti-œdémateux de l'extrait hydrométhanolique des deux espèces nous permet de conclure qu'il prévient de façon significative l'œdème plantaire dans les deux phases de l'inflammation aiguë et de manière dose-dépendante. Cette action peut être expliquée dans la phase précoce par l'inhibition de la synthèse et/ou la libération des médiateurs pro-inflammatoires (l'histamine, la sérotonine, et la bradykinine). Toutefois, il a été rapporté que l'œdème induit par la carragénine chez le rat est connu pour être sensible aux inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX), et a été utilisé pour évaluer l'effet anti-inflammatoire des agents non-stéroïdiens qui inhibent particulièrement la synthèse des prostaglandines par l'enzyme COX (**Kumar et al., 2001**). Basant sur ce rapport, on peut déduire que l'action de nos extraits dans la phase tardive peut être dû à l'inhibition des COX conduisant à l'inhibition de la synthèse ou la libération des prostaglandines. Cette activité inhibitrice équivaut à celle de l'anti-inflammatoire non stéroïdien (Diclofenac) particulièrement pour l'extrait de *C.spinosa*.

De plus, la formation des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique fait intervenir de nombreuses réactions oxydatives (via la cyclo-oxygénase). Les produits résultants de l'action de ces enzymes sont des hydroperoxydes instables qui entraînent la libération des radicaux libres ; pour cela l'intervention des peroxydases ou des capteurs des radicaux libres à ces niveaux permettrait de limiter l'inflammation (**Riciotti & FitzGerald, 2011**). Nos extraits ont montré des

bons effets antioxydants par les tests DPPH et FRAP, avec des CI_{50} et des CE_{50} plus importantes. Ces données nous permettent d'émettre une hypothèse quant au mode d'action de ces extraits sur la diminution de l'état inflammatoire, du fait que leurs principes actifs présentent un pouvoir piègeur des radicaux, diminueraient ainsi l'inflammation.

Dans une étude *in-vivo* réalisée sur un modèle de souris *swiss albinos*, **El Azhary et al. (2017)** ont rapporté que les souris traitées avec l'extrait des feuilles de *C.spinosa* a significativement réduit l'œdème et l'infiltration des cellules immunitaires dans le site inflammatoire par rapport au contrôle. De manière intéressante, ces auteurs ont démontré en utilisant RT-qPCR que cet extrait a probablement agit en inhibant l'expression du gène des cytokines, notamment IL-17, $IFN\gamma$ et IL-4. De même, diverses études ont montré que les flavonoïdes sont capables de moduler l'expression des enzymes impliquer dans l'inflammation en inhibant les facteurs de transcription. En effet, **Zhou et al. (2011)** ont signalé que les biflavonoïdes isolés des fruits de *C.spinosa* inhibent le facteur NF- κ B, un facteur de transcription connu pour son rôle important dans divers processus biologiques y compris l'inflammation. Ce dernier est également nécessaire à la survie des cellules T, à leur prolifération et l'expression du gène des cytokines (**Oh et Ghosh, 2013**). En outre, les flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. Il a été montré que les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, le Kaemférol, et la myrecétine bloquent l'action des cyclo-oxygénases (COX) (**Ghedira, 2005; Jang et al., 2002**).

L'activité anti-œdémateuse de l'extrait de la partie aérienne d'*A.herba-alba* est soutenue par les travaux de **E. Qnais et al., (2014)** qui a montré que les deux flavonoïdes isolée de cette espèce (astragaline, eupatiline), ainsi que l'extrait aqueux exerce un effet sur la synthèse des prostaglandines par les cyclo-oxygénases. De plus, il a été démontré que les flavonoïdes isolés de l'extrait de l'armoise blanche affectent également la production de l'oxyde nitrique ; l'activité inhibitrice pourrait être dû à l'inhibition de la production de iNOS et/ou de son activité (**Khelifi et al., 2013; Messaoudene et al., 2011**). L'effet inhibiteur de l'oxyde nitrique par l'espèce *A.herba-alba* peut concerter l'utilisation traditionnelle de cette plante dans le traitement de certaines maladies inflammatoires. Il faut de noter que d'après nos recherches, il n'existe aucune étude, jusqu'à présent, sur l'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles *in-vivo* de l'espèce *A.herba-alba* évalué par le test de l'œdème plantaire. Cependant **Qnais et al. (2016)** ont signalé que l'huile

essentielle d'*Artemisia herba-alba* a inhibé le processus inflammatoire induit par l'injection sous-cutanée de la carragénine en réduisant la migration cellulaire, le volume des exsudats, la concentration en protéines et les médiateurs inflammatoires (IL-6, TNF, PGE2, et NO) produits dans la poche. De même, **Abu-Darwish et al. (2015)** ont démontré que l'huile essentielle de l'armoise blanche inhibe *in-vitro* la production d'oxyde nitrique (NO) induite par les LPS en travaillant sur des modèles de cellules macrophages et microgliales.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

En Algérie, la médecine traditionnelle trouve toujours sa place dans la population. L'usage des plantes médicinales dans le domaine de la santé est très accentué grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. L'objectif assigné par cette étude s'inscrit dans le cadre de la contribution à la caractérisation phytochimique, la valorisation et la détermination des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits hydrométhanoliques d'*Artemisia herba-alba* et *Capparis spinosa* poussant à l'état spontané, au sud-ouest algérien.

Avant d'aborder les activités biologiques, un screening phytochimique a été réalisé pour identifier les différentes classes de métabolites existants dans les deux espèces étudiées. Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, des stérols et triterpènes, des coumarines, des quinones libres dans la partie aérienne d'*A.herba-alba* et les feuilles et fruits de *C.spinosa*, avec l'absence des terpénoïdes et des alcaloïdes dans les fruits de cette dernière.

Par ailleurs, l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de la partie aérienne d'armoise blanche a donné un rendement de 1.73%. L'analyse de l'huile essentielle obtenue par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) a permis d'identifier 54 composants chimiques représentant 94.1% du total de l'huile essentielle. L' α -thujone, le β -thujone et le camphre sont les principaux constituants à des taux de 48%, 13.40%, et 13.10% respectivement. D'autres composants se trouvent également à des pourcentages appréciables : le camphène (3,6 %), le γ -terpinène (1,4 %), le bornéol (1,3 %) et le *p*-cymène (1,0 %).

En outre, les extraits hydrométhanoliques bruts (80%) de la partie aérienne de l'armoise blanche et des feuilles et fruits du câprier ont été mis à une analyse quantitative des polyphénols, des flavonoïdes et des anthocyanidines par des méthodes colorimétriques. Les résultats du dosage spectrophotométrique ont révélé la richesse de nos extraits. Les taux les plus élevés des polyphénols se trouvent dans l'extrait d'*A.herba-alba* (292.97 ± 9.1 mg EAG/g d'ext), suivi par les feuilles de *C.spinosa* (124.06 ± 5.6 mg EAG/g d'ext), puis les fruits avec des taux moins élevés (47.21 ± 5.1 mg EAG/g d'ext).

Toutefois, L'effet antioxydant des extraits d'*A.herba-alba* et de *C.spinosa* estimé *in-vitro* via le piégeage des radicaux libres DPPH, et le test FRAP a été significativement intéressant. Les résultats obtenus ont permis de constater qu'ils possèdent une forte capacité antioxydante avec des IC₅₀ entre 56.92±4, et 483.42±71 µg/ml, l'activité antiradicalaire est dépendante du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits. Tandis que l'huile essentielle de l'armoise blanche a montré un potentiel antioxydant modérément faible (IC₅₀ = 17866±179 µg/mL) par rapport à celle enregistré avec l'acide ascorbique (IC₅₀= 4.87±0.34 µg/mL).

De plus, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits a été réalisée sur des souches de référence et d'autres cliniques par la méthode de diffusion en milieu gélosé. La CMI a été déterminée par microdilution en milieu liquide. Les résultats les plus prometteurs obtenus sont ceux de l'huile essentielle d'*A.herba alba* contre toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*. Les CMI et CMB/CMF se varient entre 2.5 à 10mg/mL, et 5 à 10mg/mL respectivement. Les résultats de cette activité ont montré également que les extraits de l'armoise blanche et des feuilles et fruits du câprier ont un effet antimicrobien moins important que celui obtenu avec l'huile essentielle avec des effets bactériostatiques à l'égard de certaines souches bactériennes. Cependant, l'étude de la combinaison entre les trois extraits par la méthode de « checkerboard » a montré des effets à la fois, synergiques, indifférents et antagonistes, dont le synergisme a été enregistré avec la combinaison entre l'extrait d'*A.herba-alba* et celui des feuilles de *C.spinosa* contre toutes les souches testées. Les mécanismes d'action de chaque composé phénolique et sa combinaison contre diverses bactéries sont très compliqués, et nécessitent des études plus approfondies pour savoir les molécules bioactives et le rapport entre l'activité antibactérienne et la structure des composés chimiques dans les extraits examinés.

Par ailleurs, la potentialisation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits des deux espèces a été également réalisée au cours de cette étude. Nous avons pu montrer particulièrement que l'association de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* avec deux antibiotiques et un antifongique classique à savoir la néomycine, l'amikacine et l'econazole permettait d'augmenter considérablement les diamètres des zones d'inhibition et donc de potentialiser leur effet contre la plupart des souches.

En revanche, l'administration orale des trois extraits avec des doses croissantes à des rats Wistar n'a montré aucune toxicité, sauf pour l'HE d'*A.herba-alba* qui est considérée modérément toxique

avec sa DL_{50} entre 50 et 500 mg/kg. L'activité anti-inflammatoire des trois extraits réalisée *in-vivo* sur des rats Wistar a donné des résultats significatifs à hautement significatifs à des doses de 200 et 400mg/kg avec des valeurs comparables au standard. Cependant, l'huile essentielle d'*A.herba-alba* a exercé un effet légèrement important à des doses de 50 et 100mg/kg.

Cette étude peut être considérer comme une source d'information importante puisqu'elle apporte la preuve que les deux espèces étudiées possèdent un potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire. De même, elle valide scientifiquement l'utilisation traditionnel de ces deux plantes et montre l'intérêt de leur future exploitation. Ces résultats peuvent être approfondis par des travaux en perspectives :

- Le fractionnement des extraits et l'identification des molécules bioactives responsables des différentes activités biologiques par HPLC et par d'autres techniques plus performantes.
- L'évaluation *in-vitro* et *in-vivo* de l'effet antioxydant de chaque composé phénolique pris séparément pour comprendre le mode d'action et mettre en évidence le principe actif et/ou une éventuelle synergie entre les différents composants phénoliques.
- L'études du mode d'action, et du rapport des interactions entre les différents composants chimiques dans les extraits responsables de l'effet antimicrobien.
- L'évaluation d'autres activités biologiques *in-vivo* et *in-vitro* des deux plantes telles que l'effet sur l'inflammation chronique, et l'activité anti-cancéreuse par la méthode de cytotoxicité.

Références

Bibliographique

Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., Ishtiaq, A., Hussain, S., et Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689–1699.

Abbassia, A., Benchaben, H., Ayad, N., et Maatoug, M. (2011). Densité et taux de recouvrement de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) de la steppe occidentale d'Algérie. *Secheresse*, 22, 192–196.

Abdel Jaleel, G. A. R., Abdallah, H. M. I., et Gomaa, N. E. L. S. (2016). Pharmacological effects of ethanol extract of Egyptian *Artemisia herba-alba* in rats and mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), 44–49.

Abdelah Bogdadi, H. A., Kokoska, L., Havlik, J., Kloucek, P., Rada, V., et Vorisek, K. (2007). *In Vitro*. Antimicrobial Activity of Some Libyan Medicinal Plant Extracts. *Pharmaceutical Biology*, 45(5), 386–391.

Abdelli, W., Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., et Jirovetz, L. (2017). Chemical Composition and Anti-inflammatory Activity of Algerian *Thymus vulgaris* Essential Oil. *Natural Product Communications*, 12(4), 611-614.

Abdelli, W., Bahri, F., Sysak, A., Szumny, A., Pawlak, A., et Obmińska-Mrukowicz, B. (2019). Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of Algerian *Thymus vulgaris* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 76(6), 1051–1059.

Abu-Darwish, M. S., Cabral, C., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Efferth, T., et Salueiro, L. (2015). *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): Chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 153–160.

Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat. En Co-tutelle : Université de Béjaïa/ Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. Algérie/France.261p.

Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (4th ed). Allured Pub. Corp.

AFNOR (Association Française de Normalisation). (2000). A.F.N.O.R, les huiles essentielles. Monographie relative aux huiles essentielles, Paris.

Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., González, Y. V., et Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020). Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science et Nutrition*, 8(6), 2555–2568.

Ahmed, M., et Azmat, A. (2014). Acute toxicity (lethal dose 50 calculation) and histopathological effects of methanolic extract of *Berberis vulgaris* in mice. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(9), 10.

Aichour, R., Benzidane, N., Arrar, L., Charef, N., et Baghiani, A. (2018). Hepatoprotective and Anti-inflammatory Activities of Algerian *Capparis spinosa*. L. *Annual Research et Review in Biology*, 25(3), 1–12.

Aiyegoro, O., Adewusi A., Oyedemi, S., Akinpelu, D., et Okoh, A. (2011). Interactions of Antibiotics and Methanolic Crude Extracts of *Azelaia Africana* (Smith.) Against Drug Resistance Bacterial Isolates. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(7), 4477–4503.

Akkari, H., Chir, F.B., Hajaji, S., Rekik, M., Sebai, E., Hamza, H., Darghouth, M., et Gharbi, M. (2016). Potential anthelmintic effect of *Capparis spinosa* (Capparidaceae) as related to its polyphenolic content and antioxidant activity. *Veterinárni Medicína*, 61(6), 308–316.

Akrout, A., Jani, H. E., Amouri, S., et Neffati, M. (2010). screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, et *Thymus capitatus* HOFF. et link. growing wild in the southern of tunisia. *Recent Research in Science and Technology*, 2(1), 29-39.

AL-Azawi, A. H., Ghaima, K. K., et Salih, H. H. (2018). Phytochemical, antibacterial and antioxidant activities of *Capparis spinosa* L. Cultivated in iraq. *Bioscience Research*, 15 (3), 2611-2618.

Al-Bayati, F. A. (2008). Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(3), 403–406.

Ali, M., Abbasi, B. H., Ahmad, N., Khan, H., et Ali, G. S. (2017). Strategies to enhance biologically active-secondary metabolites in cell cultures of *Artemisia* – current trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(7), 833–851.

Aliyazicioglu, R., Eyupoglu, O. E., Sahin, H., Yildiz, O., et Baltas, N. (2013). Phenolic components, antioxidant activity, and mineral analysis of *Capparis spinosa* L. *African Journal of Biotechnology*, 12(47), 6643–6649.

Aljaiyash, A., Kasrati, A., Alaoui Jamali, C., et Chaouch, A. (2018). Effect of cultivation on chemical composition and bioactivities of essential oils from *Artemisia herba-alba* Asso grown in Morocco. *Biochemical Systematics and Ecology*, 81, 74–79.

Alkurd, R. A., Takruri, H. R., et Al-Sayyed, H. (2010). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 265-274.

Allaith, A. A. A. (2014). Assessment of the antioxidant properties of the caper fruit (*Capparis spinosa* L.) from Bahrain. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 19(1), 1–7.

Alomari, A. A., Fadlelmula, A. A., et Harzali, H. (2019). Phytochemical Study and Antimicrobial Activity of Two Medicinal Plants from Al-Baha Region. *Oriental Journal of Chemistry*, 35(6), 1782–1788.

Al-Shuneigat, J., Sarayreh, S. A., Al-Qudah, M., Al-Tarawneh, I., Al-Saraireh, Y., et Al-Qtaitat, A. (2015). GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from Wild *Artemisia herba-alba* Grown in South Jordan. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 5 (3), 297–302.

Al-Wahaibi, L. H. N., Mahmood, A., Khan, M., et Alkathlan, H. Z. (2020). Comparative study on the essential oils of *Artemisia judaica* and *A. herba-alba* from Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 2053–2065.

Amar, C. S., Ashish, J., Hajare, V., Sreekantha., Yogesh, B., et Vinodchandran. (2013). Study of prevalence and antifungal susceptibility of *Candida*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2).

Amazian, K., Rossello, J., Castella, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L., Abdelmoumene, T., et Fabry, J. (2010). Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16(10), 1070–1078.

Amezouar, F., Badri, W., Hsaine, M., Bourhim, N., et Fougrach, H. (2013). Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc. *Pathologie Biologie*, 61(6), 254–258.

Amorati, R., Foti, M. C., et Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835–10847.

Andrade, M. A., das Graças Cardoso, M., de Andrade, J., Silva, L. F., Teixeira, M. L., Valério Resende, J. M., da Silva Figueiredo, A. C., et Barroso, J. G. (2013). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2(4), 384–397.

Angoue, T. A. A. (2020). Prévalence des Infections nosocomiales dans 10 services du CHU du Point G. Thèse de Doctorat. Université de Bamako.Mali.147p.

Aouadi, D., Luciano, G., Vasta, V., Nasri, S., Brogna, D. M. R., Abidi, S., Priolo, A., et Salem, H. B. (2014). The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisia herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Meat Science*, 97(2), 237–243.

Arrar, L., Benzidane, N., Krache, I., Charef, N., Khennouf, S., et Baghiani, A. (2013). Comparison between polyphenol contents and antioxidant activities of different parts of *Capparis spinosa* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(2), 70–74.

Arroyo, A. I., Pueyo, Y., Pellissier, F., Ramos, J., Espinosa-Ruiz, A., Millery, A., et Alados, C. L. (2018). Phytotoxic effects of volatile and water-soluble chemicals of *Artemisia herba-alba*. *Journal of Arid Environments*, 151, 1–8.

Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199–212.

Ascrizzi, R., Cioni, P. L., Giusti, G., Pistelli, L., et Flamini, G. (2016). Patterns in Volatile Emission of Different Aerial Parts of Caper (*Capparis spinosa* L.). *Chemistry et Biodiversity*, 13(7), 904–912.

Ashley, N. T., Weil, Z. M., et Nelson, R. J. (2012). Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43(1), 385–406.

Aworet, S. (2003). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au gabon: Le *Strychnos icaia* baillon (mbundu), loganiacée. Thèse de Doctorat. Université de Bamako, faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-Stomatologie. Mali.

- Ayad, N., Benchaben, H., et Maatoug, M. (2008).** Dynamique des peuplements d'*Artemisia herba-alba* Asso dans la steppe du Sud oranais (Algérie occidentale). *Sècheresse*, 18 (3), 193-198.
- Bachrouch, O., Ferjani, N., Haouel, S., et Jemâa, J. M. B. (2015).** Major compounds and insecticidal activities of two Tunisian *Artemisia* essential oils toward two major coleopteran pests. *Industrial Crops and Products*, 65, 127–133.
- Baghiani, A., Ameni, D., Boumerfeg, S., Adjadj, M., Djarmouni, M., Charef, N., Khennouf, S., et Arrar, L. (2012).** Studies of Antioxidants and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of Root and Aerial Parts of Medicinal Plant *Capparis Spinosa* L. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(1), 25–32.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., et Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), 1086–1089.
- Bakchiche, B., Guenane, H., Rezzoug, M., et Gherib, A. (2018).** DPPH Free Radical Scavenging Activity of Ethanolic Extracts of Twenty-two Medicinal Species from South Algeria (Laghouat region). *Journal of Medical and Surgical Research*, 4, 469–474.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., et Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Balouiri, M., Sadiki, M., et Ibnsouda, S. K. (2016).** Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Barra, A. (2009).** Factors Affecting Chemical Variability of Essential Oils: A Review of Recent Developments. *Natural Product Communications*, 4(8), 1147-1154.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., et Oukil, N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2–9.
- Baudry, C., et Brezellec, H. (2007).** Microbiologie-Immunologie : Cahiers du Préparateur (2e édition). Groupe Liaisons, France.
- Bayala, B. (2014).** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des

lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse de Doctorat. Université de Blaise Pascale, France, 224p.

Belhattab, R., Amor, L., Barroso, J. G., Pedro, L. G., et Cristina Figueiredo, A. (2014). Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(2), 243–251.

Ben El Hadj Ali, I., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M., et Harzallah-Skhiri, F. (2014). Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. Organs. *Industrial Crops and Products*, 62, 188–195.

Bendif, Hamdi. (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques *Lamiaceae*: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. etamp; Reut.) Greuter etamp; *Burdet* et *Rosmarinus eriocalyx* Jord etamp; *Fourr.* Thèse de Doctorat. Ecole normale supérieure de kouba-alger. Alger, 199p.

Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen, 174p.

Benmeddour, T., Zeraib, A., Laouer, H., et Lahmar, Z. (2019). Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of Algerian *Vitex agnus-castus* and *Artemisia herba-alba*. *Asian Journal of Applied Sciences*, 12(3), 114–122.

Benseghir Boukhari, L. A. (2015). Biofacteurs de développement du Câprier épineux (*Capparis spinosa* L.) en Algérie. Université Baji Mokhtar, Annaba, 212p.

Bertella, A., Benlahcen, K., Abouamama, S., Pinto, D. C. G. A., Maamar, K., Kihal, M., et Silva, A. M. S. (2018). *Artemisia herba-alba* Asso. Essential oil antibacterial activity and acute toxicity. *Industrial Crops and Products*, 116, 137–143.

Betoni, J. E. C., Mantovani, R. P., Barbosa, L. N., Di Stasi, L. C., et Fernandes Junior, A. (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(4), 387–390.

Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., et Kaloustian, J. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*, 8(5), 277–281.

- Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., et Baskaran, D. (2019).** Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain et Oil Science and Technology*, 2(2), 49–55.
- Bhojar, M. S., Mishra, G. P., Naik, P. K., et Singh, S. B. (2018).** Evaluation of Antioxidant Capacities and Total Polyphenols in Various Edible Parts of *Capparis spinosa* L. Collected from Trans-Himalayas. *Defence Life Science Journal*, 3(2), 140.
- Bollen, J., Trick, L., Llewellyn, D., et Dickens, C. (2017).** The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: A systematic review of experimental studies. *Journal of Psychosomatic Research*, 94, 47–55.
- Bonina, F., Puglia, C., Ventura, D., Aquino, R., Tortora, S., Sacchi, A., Saija, A., Tomaino, A., Pellegrino, M. L., et de Caprariis, P. (2002).** In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L buds. *Journal of Cosmetic Science*, 53(6), 321–335.
- Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., et Oulahal, N. (2019).** Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives: Plant polyphenols for food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1457–1474.
- Bouden, I. (2019).** Etude de l'activité antiarthritique, antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Matricaria pubescens*. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif, 151p.
- Boujelal, A. (2013).** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, 95p.
- Bourgou, S., Bettaieb Rebey, I., Mkadmini, K., Isoda, H., Ksouri, R., et Ksouri, W. M. (2017).** LC-ESI-TOF-MS and GC-MS profiling of *Artemisia herba-alba* and evaluation of its bioactive properties. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 99(Pt 1), 702–712.
- Bouyahyaoui, A., Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., et Jirovetz, L. (2016).** Antimicrobial Activity and Chemical Analysis of the Essential Oil of Algerian *Juniperus phoenicea*. *Natural Product Communications*, 11(4), 519-522.

- Broadhurst, R. B., et Jones, W. T. (1978).** Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788–794.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie BRUNETON Jean. Librairie Lavoisier, France.
- Bruneton. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales par Jean Bruneton. Lavoisier, France.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie-phytochimie-plantes médicinales. Lavoisier, France.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Campoy, S., et Adrio, J. L. (2017).** Antifungals. *Biochemical Pharmacology*, 133, 86–96.
- Caplan, A., Fett, N., Rosenbach, M., Werth, V. P., et Micheletti, R. G. (2017).** Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: A comprehensive review: A review of glucocorticoid pharmacology and bone health. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(1), 1–9.
- Carson, C. F., Hammer, K. A., et Riley, T. V. (2006).** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: A Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50–62.
- CASFM. (2014).** Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie.
- CASFM. (2018).** Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie.
- Chabni, N., Metri, A., Moussouni, A., Fatmi, A., Azzaoui, H., Otmani, S., Smahi, S., et Meguenni, K. (2019).** Place de l'infection nosocomiale dans la morbi-mortalité néonatale "hôpital mère enfant Tlemcen Algérie". *Libanese Science Journal*, 20(3), 503–523.
- Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., et Ed-Dra, A. (2016).** Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355–362.
- Chebaibi, A., Rhazi Filali, F., Amine, A., et Zerhouni, M. (2011).** Effet bactéricide (*in vitro*) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum* L.) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158–164.
- Chedraoui, S., Abi-Rizk, A., El-Beyrouthy, M., Chalak, L., Ouaini, N., et Rajjou, L. (2017).** *Capparis spinosa* L. in A Systematic Review: A Xerophilous Species of Multi Values and

Promising Potentialities for Agrosystems under the Threat of Global Warming. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1845.

Chibani, F., Skouri-Gargouri, H., Salem, A. B., Ghorbel, A., et Zoghalmi, N. (2017). Using genetic structure data and phylogenetic criteria in attributing prioritization scores for conservation of spontaneous *Capparis spinosa* L. populations from Tunisia. *Journal for Nature Conservation*, 37, 96–105.

Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., et Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75–82.

Chraïbi, M., Fikri-Benbrahim, K., Edryouch, A., Fadil, M., et Farah, A. (2019). Caractérisation chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et *Myrtus communis* et leur effet antibactérien synergique. *Phytothérapie*.

Claffey, N. (2003). Essential oil mouthwashes: A key component in oral health management. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(s5), 22–24.

CLSI, 2012. (2012). CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

Concetta Scuto, M., Mancuso, C., Tomasello, B., Laura Ontario, M., Cavallaro, A., Frasca, F., Maiolino, L., Trovato Salinaro, A., Calabrese, E. J., et Calabrese, V. (2019). *Curcumin, Hormesis* and the Nervous System. *Nutrients*, 11(10), 2-17.

Coppo, E., et Marchese, A. (2014). Antibacterial activity of polyphenols. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 15(4), 380–390.

Couic-Marinier, F., et Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22–25.

Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. microbiol. rev.*, 12 (4), 564–582.

Crunkhorn, P., et Meacock, S. C. (1971). Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenin. *British Journal of Pharmacology*, 42(3), 392–402.

Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., et Dyatmiko, W. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80(4), 1144–1152.

- Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Éditions Yves Dacosta, France.
- Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181.
- Dahmani-Hamzaoui, N., et Baaliouamer, A. (2010).** Chemical Composition of Algerian *Artemisia herba-alba* Essential Oils Isolated by Microwave and Hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 514–517.
- Dellal, A., Toumi-Benali, F., Dif, M. M., Bouazza, S., Brikhou, S., et Mekhfi, N. (2018).** Anti-inflammatory, Analgesic and Antioxidant Activities of the Hydroalcoholic Extract from Celery (*Apium graveolens*) Leaves. *Phytothérapie*, 16(S1), S237–S244.
- Daniau, C., Caillat-Vallet, E., Glorion, S., Buonocore, L., Aupée, M., Péfau, M., Simon, L., Claver, J., Bajolet, O., Alfandari, S., Berger-Carbonne, A., et Coignard, B. (2020).** Healthcare-associated infections in healthcare facilities: results of french national point prevalence survey, 2017. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH)*, (21), 412-437.
- de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., et Brinkman, U. A. T. (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography. A*, 1112(1–2), 31–63.
- Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., Singh, M. K., Maiti, D., et Manna, K. (2018).** Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials Today Chemistry*, 9, 56–72.
- del Río, L. A. (2015).** ROS and RNS in plant physiology: An overview. *Journal of Experimental Botany*, 66(10), 2827–2837.
- Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L., et Echeverrigaray, S. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*, 2(100), 603–608.
- Delattre, J. (2005).** *Radicaux libres et stress oxydant*. Librairie Lavoisier, France, 548p.
- Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de Doctorat. Université de Marseille, France, 172p.
- Dethier Tordeur, M. (1996).** Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier 2, France, 182p.

- Didry, N., Dubreuil, L., et Pinkas, M. (1993).** Microbiological properties of protoanemonin isolated from *Ranunculus bulbosus*. *Phytotherapy Research*, 7(1), 21–24.
- Dif, M. M., Benali Toumi, F., Boukaaza, H., Mokaddem, F., Benyahia, M., et Bouazza, S. (2016).** Phenolic content and antioxidant activity of *Artemisa herba-alba*, a medicinal plant from Algerian arid zone. *Phytothérapie*. 1077-9.
- Dixon, R. A., Xie, D.-Y., et Sharma, S. B. (2005).** Proanthocyanidins—a final frontier in flavonoid research?. *New Phytologist*, 165(1), 9–28.
- Dob, T., et Benabdelkader, T. (2006).** Chemical composition of the Essential Oil of *Artemisia herba-alba* Asso Grown in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18(6), 685–690.
- Dorman, H. J. D., et Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316.
- Dröge, W. (2002).** Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95.
- Eddine, L. S., Redha, O. M., et Ladjel, S. (2016).** Influence of solvent extraction on phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory activities of aerial parts extract from Algerian *Artemisia herba-alba*. *Journal of Pharmacy Research*, 10 (1), 58-64.
- Eddouks, M., Hebi, M., Ajabli, M., El Hidani, A., Sulpice, T., et Burcelin, R. (2017).** Étude de l'activité antidiabétique de *Capparis spinosa* L. et de *Calamintha officinalis* Moench chez la souris diabétique. *Phytothérapie*.
- Edris, A. E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*, 21(4), 308–323.
- Effendi, L., Yajun, Y., Matheos, A.G.K. (2008).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab.Eng.*, 8 (2), 172-181.
- El amri, N., Errachidi, F., Bour, A., et Chabir, R. (2019).** Characterization of Moroccan raw and processed caper berries. *Materials Today: Proceedings*, 13, 841–849.
- El Azhary, K., Tahiri Jouti, N., El Khachibi, M., Moutia, M., Tabyaoui, I., El Hou, A., Achtak, H., Nadifi, S., Habti, N., et Badou, A. (2017).** Anti-inflammatory potential of *Capparis spinosa* L. *in vivo* in mice through inhibition of cell infiltration and cytokine gene expression. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17 (81).

- El Hachimi, F., Alfaiz, C., Bendriss, A., Cherrah, Y., et Alaoui, K. (2017).** Activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Phytothérapie*, 15(3), 147–154.
- Ennacerie, F., Filali, F. (2017).** Antibacterial synergistic effect of extracts of the organs of *capparis spinosa* and in combination with antibiotics. *International Journal of Advanced Research*, 5(9), 1238–1247.
- Esimone, C. O., Iroha, I. R., Ibezim, E. C., Okeh, C. O., et Okpana, E. M. (2006).** *In vitro* evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against *staphylococcus aureus*. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1082-1086.
- Esposito, S., Esposito, I., et Leone, S. (2012).** Considerations of antibiotic therapy duration in community- and hospital-acquired bacterial infections. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(11), 2570–2575.
- Fadili, K., Zerkani, H., et Amalich, S. (2017).** phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 5 (2), 108-118.
- Fahed, L. (2016).** Diversité chimique et potentiel antimicrobien d'huiles essentielles de plantes libanaises. Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme, Lebanon, 174p.
- Faleiro, M. L. (2011).** The mode of antibacterial action of essential oils. *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 2, 1143–1156.
- Famuyide, I. M., Aro, A. O., Fasina, F. O., Eloff, J. N., et McGaw, L. J. (2019).** Antibacterial and antibiofilm activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated south African *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) species and their selectivity indices. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1–13.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 14, 108-115p.
- Ferrali, M., Signorini, C., Caciotti, B., Sugherini, L., Ciccoli, L., Giachetti, D., et Comporti, M. (1997).** Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Letters*, 416(2), 123–129.
- Fici, S. (2001).** Intraspecific variation and evolutionary trends in *Capparis spinosa* L. (Capparaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 228(3), 123–141.

- Fici, S. (2014).** A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (Capparaceae) from the Mediterranean to Central Asia. *Phytotaxa*, 174(1), 1-24.
- Fillatre, Y. (2011).** Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers. France, 288p.
- Fisher, K., et Phillips, C. (2009).** In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils. *British Journal of Biomedical Science*, 66(4), 180–185.
- Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., et Kinsella, J. E. (1993).** Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet (London, England)*, 341(8852), 1103–1104.
- Friedman, M., Henika, P. R., et Mandrell, R. E. (2002).** Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 65(10), 1545–1560.
- Gacem, M. A., Telli, A., Gacem, H., et Ould-El-Hadj-Khelil, A. (2019).** Phytochemical screening, antifungal and antioxidant activities of three medicinal plants from Algerian steppe and Sahara (preliminary screening studies). *SN Applied Sciences*, 1(12), 1721.
- Galimand, M., Sabtcheva, S., Courvalin, P., et Lambert, T. (2005).** Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(7), 2949–2953.
- Gan, L., Zhang, C., Yin, Y., Lin, Z., Huang, Y., Xiang, J., Fu, C., et Li, M. (2013).** Anatomical adaptations of the xerophilous medicinal plant, *Capparis spinosa*, to drought conditions. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 54(2), 156–161.
- Garnier, B., et Jarlier, V. (1996).** Bêta-lactamines et bacilles à Gram négatif. *Feuillets de Biologie*, XXXVII(212), 13-20p.
- Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169.
- Goudjil, M. B., Ladjel, S., Bencheikh, S. E., Hammoya, F., Bensaci, M. B., Zighmi, S., et Mehani, M. (2016).** Bioactivity of *Artemisia herba alba* essential oil against plant pathogenic fungi. *Der Pharma Chemica*, 8 (3), 46-52.

Goudjil, M. B., Ladjel, S., Bencheikh, S. E., Zighmi, S., et Hamada, D. (2015). Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laureus nobilis* Lauraceae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(1),379-385.

Grimalt, M., Hernández, F., Legua, P., Almansa, M. S., et Amorós, A. (2018). Physicochemical composition and antioxidant activity of three Spanish caper (*Capparis spinosa* L.) fruit cultivars in three stages of development. *Scientia Horticulturae*, 240, 509–515.

Guetarni, N., Besbes, F. Z., Derkaoui, A., Zoubir, A., et Zouagui, S. (2017). Infections Nosocomiales (IN) : Enquête de prévalence et d'identification des facteurs de risque dans un centre hospitalier universitaire de la région ouest d'Algérie, 2016. *La Revue Médicale De L'HMRUO*, 4 (2),584-590.

Gull, T., Anwar, F., Sultana, B., Alcayde, M. A. C., et Nouman, W. (2015). Capparis species: A potential source of bioactives and high-value components: A review. *Industrial Crops and Products*, 67, 81–96.

Gutiérrez-del-Río, I., Fernández, J., et Lombó, F. (2018). Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: Terpenoids, polyphenols and thiols. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 309–315.

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

Halliwell, B., et Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine (Fifth edition). Oxford University Press.

Hancock, R. E. (1997). The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends in Microbiology*, 5(1), 37–42.

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years' research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22), 2831–2846.

Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F., et Romani, A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99(3), 464–469.

Heinonen, M. (2007). Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics—a Finnish perspective. *Molecular Nutrition et Food Research*, 51(6), 684–691.

- Hennebelle, T., Sahpaz, S., et Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3–6.
- Hernandez Ochoa, L. R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- Horan, T. C., Andrus, M., et Dudeck, M. A. (2008).** CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *American Journal of Infection Control*, 36(5), 309–332.
- Hotamisligil, G. S. (2017).** Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*, 542(7640), 177–185.
- Houmani, M., Houmani, Z., et Skoula, M. (2004).** Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes. *Acta Botanica Gallica*, 151(2), 165–172.
- Hygis, N. (1998).** *Hygiène hospitalière*. Presses Universitaires Lyon, France.
- Imelouane, B., Bachiri, A. E., Ankit, M., Khedid, K., Wathelet, J. P., et Amhamdi, H. (2010).** Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* Asso grown in morocco. *Banat's Journal of Biotechnology*, (2), 48-55.
- Inocencio, C., Rivera, D., Alcaraz, F., et Tomás-Barberán, F. A. (2000).** Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in mediterranean countries. *European Food Research and Technology*, 212(1), 70–74.
- IUCN. (2005).** A Guide To Medicinal Plants In North Africa. Centre of Mediterranean cooperation, Malaga, Spain.
- Jang, D. S., Cuendet, M., Hawthorne, M. E., Kardono, L. B. S., Kawanishi, K., Fong, H. H. S., Mehta, R. G., Pezzuto, J. M., et Kinghorn, A. D. (2002).** Prenylated flavonoids of the leaves of *Macaranga conifera* with inhibitory activity against cyclooxygenase-2. *Phytochemistry*, 61(7), 867–872.
- Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., et Eddouks, M. (2001).** Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology*, 77(2–3), 175–182. 6

Jouault, S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France, 147p.

Kadi, I., Ouinten, M., Gourine, N., et Yousfi, M. (2019). Synergistic antinociceptive activity of combined aqueous extracts of *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-Alba* in several acute pain models. *Natural Product Research*, 33(6), 875–878.

Kahlouche-Riachi, F., Djerrou, Z., Ghoribi, L., Djaalab, I., Mansour-Djaalab, H., Bensari, C., et Youcef, hamdi pacha. (2015). Chemical characterization and antibacterial activity of phases obtained from extracts of *Artemisia herba alba*, *Marrubium vulgare* and *Pinus pinaster*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7, 270–274.

Kazemi, S., Shirzad, H., et Rafieian-Kopaei, M. (2018). Recent Findings in Molecular Basis of Inflammation and Anti-inflammatory Plants. *Current Pharmaceutical Design*, 24(14), 1551–1562.

Kchaou, W., Abbès, F., Blecker, C., Attia, H., et Besbes, S. (2013). Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products*, 45, 262–269.

Keefover-Ring, K., Thompson, J., et Linhart, Y. (2009). Beyond six scents: Defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, 24, 117–122.

Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S., Laghari, M. K., Laghari, M. Y., Hussain, I., et Murad, W. (2011). Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(25),6017-6023.

Khlifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., et Bouajila, J. (2013). Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 202–208.

Koeberle, A., et Werz, O. (2018). Natural products as inhibitors of prostaglandin E2 and pro-inflammatory 5-lipoxygenase-derived lipid mediator biosynthesis. *Biotechnology Advances*, 36(6), 1709–1723.

Koh, K. J., Pearce, A. L., Marshman, G., Finlay-Jones, J. J., et Hart, P. H. (2002). Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *The British Journal of Dermatology*, 147(6), 1212–1217.

Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., et Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99(18), 8788–8795.

Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A., et Yildirim, A. (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(24), 9452–9458.

Habibatni Sofiane. (2018). Etude phytochimique et pharmacologique de deux plantes appartenant à la famille des Astéraceae et Fabaceae. Cas de : *Onopordum acanthium* L. et *Spartium junceum* L. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri, Constantine, 120p.

Kumar, S., Bajwa, B., Kuldeep, S., et Kalia, A. (2013). Anti-Inflammatory Activity of Herbal Plants: A Review. *IJAPBC*, 2(2), 272-281.

Kumar, V., Singh, P. N., et Bhattacharya, S. K. (2001). Anti-inflammatory and analgesic activity of Indian *Hypericum perforatum* L. *Indian Journal of Experimental Biology*, 39, 339-343.

Kunnumakkara, A. B., Sailo, B. L., Banik, K., Harsha, C., Prasad, S., Gupta, S. C., Bharti, A. C., et Aggarwal, B. B. (2018). Chronic diseases, inflammation, and spices: How are they linked? *Journal of Translational Medicine*, 16(14).

Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research : PTR*, 18(6), 435–448.

Lahmar-Zemiti, B., et Aidoud, A. (2016). Suivi à long-terme dans la steppe d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* asso.) du sud-oranais (Algérie) : facteurs et indicateurs de changements. *Revue d'écologie (Terre et vie)*, 71 (2), 168-177.

Lakehal, S., et A, M. (2016). Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Artemisia herba-alba* Asso Grown in Algeria. *Medicinal Chemistry*, 6(6), 435-439.

Lamamra, M. (2018). Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss. (*Syn. Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., et Nychas, G.-J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of *Oregano* essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453–462.

LEE, Y.-L., Jian, S.-Y., Lian, P.-Y., et Mau, J.-L. (2008). Antioxidant properties of extracts from a white mutant of the mushroom *Hypsizigus marmoreus*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 116–124.

Leri, M., Scuto, M., Ontario, M. L., Calabrese, V., Calabrese, E. J., Bucciantini, M., et Stefani, M. (2020). Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1250.

Li, B. B., Smith, B., et Hossain, Md. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 182–188.

Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., et Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732–1738.

Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., et Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. In *Pharmacognosy*. Simone, B., Rupika, D. Elsevier. (Pp. 233–266).

Macheix, J.-J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : Quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta Botanica Gallica*, 143(6), 473–479.

Madden, K., Flowers, L., Salani, R., Horowitz, I., Logan, S., Kowalski, K., Xie, J., et Mohammed, S. I. (2009). Proteomics-based approach to elucidate the mechanism of antitumor effect of curcumin in cervical cancer. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 80(1), 9–18.

Mahasneh, A. M. (2002). Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytotherapy Research: PTR*, 16(8), 751–753.

Mahboubi, M., et Mahboubi, A. (2014). Antimicrobial activity of *Capparis spinosa* as its usages in traditional medicine. *Herba Polonica*, 60 (1), 39–48.

Mann, C. M., Cox, S. D., et Markham, J. L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30(4), 294–297.

- Mansour, R. B., Jilani, I. B. H., Bouaziz, M., Gargouri, B., Elloumi, N., Attia, H., Ghrabi-Gammar, Z., et Lassoued, S. (2016).** Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of *Capparis spinosa*. *Cytotechnology*, 68(1), 135–142.
- Mansour, S. (2015).** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium L* , *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides*—*Etude in vivo*. Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran.
- Mansour, S., Djebli, N., Ozkan, E. E., et Mat, A. (2014).** *In vivo* anti-inflammatory activity and chemical composition of *Hypericum scabroides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, S514–S520.
- Marouf, A., et Reynaud, J. (2007).** *La botanique de A à Z - 1 662 définitions: 1 662 définitions*. Dunod, France.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., et Giovannini, C. (2005).** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577–586.
- Mayadas, T. N., Cullere, X., et Lowell, C. A. (2014).** The multifaceted functions of neutrophils. *Annual Review of Pathology*, 9, 181–218.
- Mazarei, F., Jooyandeh, H., Noshad, M., et Hojjati, M. (2017).** Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 224–231.
- Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., et Ayachi, A. (2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparispinosa L. *Lebanese Science Journal*, 14(1), 49-60.
- Mescher, A. L. (2017).** Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration (Oxford, England)*, 4(2), 39–53.
- Messaoudene, D., Belguendouz, H., Ahmedi, M., Benabdekader, T., Otmani, F., Terahi, M., Youinou, P., et Touil-boukoffa, C. (2011).** *Ex vivo* effects of flavonoïds extracted from *Artemisia herba alba* on cytokines and nitric oxide production in Algerian patients with Adamantiades-Behçet's disease. *Journal of Inflammation*, 8(1), 35.

- Mhillaj, E., Cuomo, V., Trabace, L., et Mancuso, C. (2019).** The Heme Oxygenase/Biliverdin Reductase System as Effector of the Neuroprotective Outcomes of Herb-Based Nutritional Supplements. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 11.
- Michel-Briand, Y. (1978).** Mechanism of action of antibiotics: some examples. *Comptes rendus des seances de la Societe de biologie et de ses filiales*, 172(4), 609–627.
- Middleton, E., Kandaswami, C., et Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673–751.
- Migdal, C., et Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405–412.
- Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H., et Neffati, M. (2010).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3), 380–386.
- Mitjavila, M. T., et Moreno, J. J. (2012).** The effects of polyphenols on oxidative stress and the arachidonic acid cascade. Implications for the prevention/treatment of high prevalence diseases. *Biochemical Pharmacology*, 84(9), 1113–1122.
- Modzelewska, A., Sur, S., Kumar, S. K., et Khan, S. R. (2005).** Sesquiterpenes: Natural products that decrease cancer growth. *Current Medicinal Chemistry. Anti-Cancer Agents*, 5(5), 477–499.
- Mohamed, A. E.-H. H., El-Sayed, M. A., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., et Mohamed, N. S. (2010).** Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec. Nat. Prod.*, 4 (1), 25.
- Mohammed, M. J., Anand, U., Altemimi, A. B., Tripathi, V., Guo, Y., et Pratap-Singh, A. (2021).** Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and Antibacterial Activity of White Wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Plants*, 10(1), 164.
- Mohsen, H., et Ali, F. (2009).** Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia. *Molecules*, 14(4), 1585–1594.
- Mollica, A., Zengin, G., Locatelli, M., Stefanucci, A., Mocan, A., Macedonio, G., Carradori, S., Onalapo, O., Onalapo, A., Adegoke, J., Olaniyan, M., Aktumsek, A., et Novellino, E. (2017).** Anti-diabetic and anti-hyperlipidemic properties of *Capparis spinosa* L.: *In vivo* and *in vitro* evaluation of its nutraceutical potential. *Journal of Functional Foods*, 35, 32–42.

- Moufid, A., Farid, O., et Eddouks, M. (2015).** Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* Linn. *International Journal of Diabetology et Vascular Disease Research*, 3, 99–104.
- Mouhajib, F., Pedersen, J. A., Rejdali, M., et Towers, G. H. N. (2001).** Phenolics in Moroccan medicinal plant species as studied by electron spin resonance spectroscopy. *Pharmaceutical Biology*, 39(5), 391–398.
- Muanda. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France, 295p.
- Muhaidat, R., Al-Qudah, M. A., Al-Shayeb, A., Jacob, J. H., Al-Jaber, H. I., Hussein, E., Al-Tarawneh, I. N., et Orabi, S. T. A. (2013).** Chemical profile and antibacterial activity of crude fractions and essential oils of *Capparis ovata* Desf. And *Capparis spinosa* L. (*Capparaceae*). *International Journal of Integrative Biology*, 14(1), 39.
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., et Krishna, D. R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 33(1), 2–16.
- Nasri, M., Bedjou, F., Porras, D., et Martínez-Flórez, S. (2017).** Antioxidant, anti-inflammatory, and analgesic activities of *Citrus reticulata* Blanco leaves extracts: An *in vivo* and *in vitro* study. *Phytothérapie*, 1-13.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., et De Feo, V. (2013).** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474.
- Nedjimi, B., et Zemmiri, H. (2019).** Salinity Effects on Germination of *Artemisia herba-alba* Asso: Important Pastoral Shrub from North African Rangelands. *Rangeland Ecology et Management*, 72(1), 189–194.
- Nedjraoui, D. (2004).** Evaluation des ressources pastorales des régions steppiques algériennes et définition des indicateurs de dégradation. *Unité de Recherche sur les ressources Biologiques Terrestres URBT, BP 295, Alger, Algérie*, 239-243.
- NIST 17 / NIST 20 Mass Spectral Library**, NIST 2020/2017 Database, *Agilent Format Available*. (2017).
- Nsemi, F. M. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, France, 296p.

- Ocampo, P. S., Lázár, V., Papp, B., Arnoldini, M., Wiesch, P. A. zur, Busa-Fekete, R., Fekete, G., Pál, C., Ackermann, M., et Bonhoeffer, S. (2014).** Antagonism between Bacteriostatic and Bactericidal Antibiotics Is Prevalent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), 4573–4582.
- OECD. (2002).** Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing.
- Offenstadt, G., Boles, J.-M., Bollaert, P.-E., Jaeger, A., Saulnier, F., Wolff, M., et Zéni, F. (2009).** *Réanimation médicale*. Elsevier Masson, France.
- Oh, H., et Ghosh, S. (2013).** NF- κ B: Roles and regulation in different CD 4⁺ T-cell subsets. *Immunological Reviews*, 252(1), 41–51.
- Olajuyigbe, O. O., et Afolayan, A. J. (2012).** Synergistic Interactions of Methanolic Extract of *Acacia mearnsii* De Wild. With Antibiotics against Bacteria of Clinical Relevance. *Int. J. Mol. Sci.*, 18, 8915-8932.
- OMS. (2002).** *Organisation Mondiale de la Santé*. (2002). *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005*. WHO/EDM/TRM/2002.1, Genève, Suisse.
- OMS. (2008).** *OMS. Prévention des infections nosocomiales*. 2ème édition. 80 p.
- OMS. (2010).** *Organisation mondiale de la santé. 2010. Pourquoi un Défi mondial sur les infections nosocomiales*.
- OMS.(2019).** Santé en 2019 : les dix menaces mondiales identifiées par l'OMS.
- Orhan, I. E., Belhattab, R., Şenol, F. S., Gülpinar, A. R., Hoşbaş, S., et Kartal, M. (2010).** Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare subsp. Glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 566–571.
- Othman, L., Sleiman, A., et Abdel-Massih, R. M. (2019).** Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Frontiers in Microbiology*, 10, 911.
- Ouaritini, Z. B., Chraïbi, M., Benbrahim, K. F., Ez-zriouli, R., Boukhira, S., Darkaoui, N., et Derwich, E. H. (2016).** Phytochemical and antibacterial Activity of the Essential Oil of *Artemisia herba-alba* from Morocco. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 11(6), 40-45.
- Oudah, S., Al-Salih, R. M., Sajid, H., et B. Roomi, A. (2020).** Study of the role of polyphenolic extract of *Capparis spinosa* L. leaves as acute toxicity and antibacterial agent. *Plant Archives*, 19, 3821–3829.

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

Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., et Lacroix, M. (2007). Antimicrobial effects of alginate-based films containing essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* present in bologna and ham. *Journal of Food Protection*, 70(4),901-908.

Oussou, K. R. (2009). Étude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de Doctorat. Université de Cocody-Abidjan, Cote d'Ivoire, 241p.

Oyaizu, M. (1986). Studies on Products of Browning Reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315.

Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., et Delikanli, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393–396.

Pagnussatt, F. A., Kupski, L., Darley, F. T., Filoda, P. F., Ponte, É. M. D., Garda-Bufferon, J., et Badiale-Furlong, E. (2013). *Fusarium graminearum* growth inhibition mechanism using phenolic compounds from Spirulina sp. *Food Science and Technology*, 33, 75–80.

Paolini, J., Ouariachi, E., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Desjobert, J.-M., Costa, J., et Muselli, A. (2010). Chemical variability of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from East Morocco. *Chemical Papers*, 64(5), 550-556.

Paschapur, M. S., Patil, M. B., Kumar, R., et Patil, S. R. (2009). Evaluation of aqueous extract of leaves of *Ocimum kilimandscharicum* on wound healing activity in albino wistar rats. *Int J PharmTech Res*, 1, 544–550.

Pei, R.-S., Zhou, F., Ji, B.-P., et Xu, J. (2009). Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *Journal of Food Science*, 74(7), M379-383.

Pérez, J. A. M., et Aguilar, T. A. F. (2013). Chemistry of natural antioxidants and studies performed with different plants collected in Mexico. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-a Role for Antioxidants*, 59.

- Phaneuf, M. (2010).** Les infections nosocomiales—Agir ensemble pour des milieux cliniques sains et sécuritaires. 26.
- Pibiri. (2005).** Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huile essentielle. Thèse de doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne. France. 161p.
- Piccerelle, P. P. (2018).** La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la Pharmacie. Thèse de Doctorat. Université de Marseille, France, 99p.
- Pilly, E. (2016).** Pilly E, Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France). *Maladies infectieuses et tropicales. 25ème édition. Paris : Alinéa Plus ; 2015. 648 p.*
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., et Defraigne, J.-O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme, 16(4), 233–239.*
- Popi. (2003).** Popi. Maladies infectieuses. *Paris : CMIT, 185-224*
- Prasad, R. N., Viswanathan, S., Devi, J. R., Nayak, V., Swetha, V. C., Parathasarathy, N., et Rajkumar, J. (2008).** Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *Samanea saman*. *Journal of Medicinal Plants Research, 2(10), 268-270.*
- Qnais, E. Y., Alatshan, A. Z., et Bseiso, Y. G. (2016).** Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Artemisia herba-alba* essential oil. *Journal of Food, Agriculture et Environment, 14(2), 20-27.*
- Qnais, E., Raad, D., et Bseiso, Y. (2014).** Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of an Extract and Flavonoids from *Artemisia Herba-Alba* and Their Mechanisms of Action. *Neurophysiology, 46(3), 238–246.*
- Quézel, P., et Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique.
- Radulović, N. S., Genčić, M. S., Stojanović, N. M., Randjelović, P. J., Stojanović-Radić, Z. Z., et Stojiljković, N. I. (2017).** Toxic essential oils. Part V: Behaviour modulating and toxic properties of thujones and thujone-containing essential oils of *Salvia officinalis* L., *Artemisia absinthium* L., *Thuja occidentalis* L. and *Tanacetum vulgare* L. *Food and Chemical Toxicology, 105, 355–369.*
- Rahimi-Bashar, F., Karami, P., Khaledi, A., Dehghan, A., Seifrabie, M. A., et Hedayat Yaghoobi, M. (2018).** Evaluation of the Prevalence of Nosocomial Infection in Different Wards

of Be'sat Hospital of Hamedan. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 5(2), 31–35.

Rahman, I., Biswas, S. K., et Kirkham, P. A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1439–1452.

RAISIN. (2013). *RAISIN, enquête nationale des IN en France 2013*.

Rao, J., Chen, B., et McClements, D. J. (2019). Improving the Efficacy of Essential Oils as Antimicrobials in Foods: Mechanisms of Action. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1), 365–387.

Rajesh, P., Selvamani, P., Latha, S., Saraswathy, A., et Kannan, V. R. (2009). A review on Chemical and Medicobiological Applications of *Capparidaceae* Family. *Phcog Rev*, 3 (6), 378-387.

Rajhi, I., Dhia, M. T. B., Abderrabba, M., Ouzari-Hadda, I., et Ayadi, S. (2019). Phytochemical screening, in vitro antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of *Capparis Spionsa* L. different parts from Tunisia. *J. Mater. Environ. Sci*, 10(3), 234-243.

Raut, J. S., et Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264.

Rekkab, S., Abaza, I., Chibani, S., Kabouche, A., et Kabouche, Z. (2016). Chemical composition of the essential oil of aerial parts of *Artemisia herba-alba* Asso. From Oum El-Bouaghi (Algeria) and chemotaxonomic survey. *J. Mater. Environ. Sci*, 7(12), 4383-4390.

Rice-Evans, C., Miller, N., et Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159.

Riciotti, E., et FitzGerald, G. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986-999.

Ronald L, Prior., Xianli, Wu., et Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*, 53(10), 4290-4302.

Rousselet, M., et Vignaud, J. M. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. Association française des enseignants et chercheurs en anatomie pathologie (AFECAP), 1-57.

Roy, A. (2017). A Review on the Alkaloids an Important Therapeutic Compound from Plants. *International Journal of Plant Biotechnology*, 3(2),9.

Said, M. E.-A., Vanloot, P., Bombarda, I., Naubron, J.-V., Dahmane, E. M., Aamouche, A., Jean, M., Vanthuyne, N., Dupuy, N., et Roussel, C. (2016). Analysis of the major chiral compounds of *Artemisia herba-alba* essential oils (EOs) using reconstructed vibrational circular dichroism (VCD) spectra: En route to a VCD chiral signature of EOs. *Analytica Chimica Acta*, 903, 121–130.

Salah, S. M., et Jäger, A. K. (2005). Two flavonoids from *Artemisia herba-alba* Asso with in vitro GABAA-benzodiazepine receptor activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), 145–146.

Saleh, M. a. M., El-Negoumy, S. I., et Abou-Zaid, M. M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 26(11), 3059-3064.

Salido, S., Valenzuela, L. R., Altarejos, J., Nogueras, M., Sánchez, A., et Cano, E. (2004). Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(3), 265–277.

Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121–137.

Sato, Y., Shibata, H., Arai, T., Yamamoto, A., Okimura, Y., Arakaki, N., et Higuti, T. (2004). Variation in synergistic activity by flavone and its related compounds on the increased susceptibility of various strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to β -lactam antibiotics. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24(3), 226–233.

Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Manresa, A., et Zerouali, K. (2014). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia herba-alba* and *Mentha pulegium* Essential Oils. *Journal of life sciences*, 8(1), 35-41.

Seddik, K., Nadjet, I., Abderrahmane, B., Daoud, H., et Lekhmici, A. (2010). Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. Leaves and some phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(13), 1273-1280.

Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z., et Ahmadi, S. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chemistry*, 100(3), 1054–1058.

Sekiou, O., Boumendjel, M., Taibi, F., Tichati, L., Boumendjel, A., et Messarah, M. (2021). Nephroprotective effect of *Artemisia herba alba* aqueous extract in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(1), 53–61.

Selim, S., Alfy, S. E., Al-Ruwaili, M., Abdo, A., et Jaouni, S. A. (2012). Susceptibility of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to flavonoid glycosides of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tamar growing in Al Madinah, Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 416–422.

Sellami, S., Mezrket, A., et Dahmane, T. (2010). Activité nématocide de quelques huiles essentielles contre *Meloidogyne incognita* Nematicidal activity of some essential oils against *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, 38, 195-201.

Sen, C., Packer, L., et Hänninen, O. (2000). Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Elsevier Science.

Serhan, C. N., Ward, P. A., et Gilroy, D. W. (Eds.). (2010). Fundamentals of inflammation. Cambridge University Press.

Setty, A. R., et Sigal, L. H. (2005). Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: Mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 34(6), 773–784.

Sfeir, J., Lefrançois, C., Baudoux, D., Derbré, S., et Licznar, P. (2013). In Vitro Antibacterial Activity of Essential Oils against *Streptococcus pyogenes*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2013.

Shahverdi, A. R., Monsef-Esfahani, H. R., Tavasoli, F., Zaheri, A., et Mirjani, R. (2007). Trans-cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil reduces the clindamycin resistance of *Clostridium difficile* in vitro. *Journal of Food Science*, 72(1), S055-058.

Shallcross, L. J., et Davies, D. S. C. (2014). Antibiotic overuse: A key driver of antimicrobial resistance. *The British Journal of General Practice*, 64(629), 604–605.

Sharma, A., Chandraker, S., Patel, V. K., et Ramteke, P. (2009). Antibacterial activity of medicinal plants against pathogens causing complicated urinary tract infections. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(2), 136.

Sharma, K., Guleria, S., Razdan, V. K., et Babu, V. (2020). Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Industrial Crops and Products*, 154, 112569.

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., et Pessaraki, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26.

Sikkema, J., de Bont, J. A., et Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59(2), 201–222.

Sivakumaran, S., Molan, A. L., Meagher, L. P., Kolb, B., Foo, L. Y., Lane, G. A., Attwood, G. A., Fraser, K., et Tavendale, M. (2004). Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. *Phytochemistry*, 65(17), 2485–2497.

Skandalis, N., Maeusli, M., Papafotis, D., Miller, S., Lee, B., Theologidis, I., et Luna, B. (2021). Environmental Spread of Antibiotic Resistance. *Antibiotics*, 10(6), 640.

Skandamis, P., Fasseas, K., et Nychas, G.-J. (2001). Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157: H7. *Italian Journal of Food Science*, 13, 65–75.

Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. *Ed. Karthala*, 22p.

Stefanucci, A., Zengin, G., Locatelli, M., Macedonio, G., Wang, C.-K., Novellino, E., Mahomoodally, F., et Mollica, A. (2018). Impact of different geographical locations on varying profile of bioactives and associated functionalities of Caper (*Capparis spinosa* L.). *Food and Chemical Toxicology*, 118, 181-189.

Stöckigt, J., Sheludk, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., et Stöckigt, D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of Chromatography. A*, 967(1), 85–113.

Strate, L. L., Liu, Y. L., Huang, E. S., Giovannucci, E. L., et Chan, A. T. (2011). Use of Aspirin or Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs Increases Risk for Diverticulitis and Diverticular Bleeding. *Gastroenterology*, 140(5), 1427–1433.

Tagnaout, I., Zerkani, H., Mahjoubi, M., Bourakhouadar, M., Alistiqsa, F., Bouzoubaa, A., et Zair, T. (2016). Phytochemical Study, Antibacterial and Antioxidant Activities of Extracts of

Capparis spinosa L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(12), 1993-2006.

Thormar, H. (2011). Lipids and essential oils as antimicrobial agents. *Wiley (2011), UK, 315p.*

Tlili, N., Elfalleh, W., Saadaoui, E., Khaldi, A., Triki, S., et Nasri, N. (2011). The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia*, 82(2), 93–101.

Tlili, N., Feriani, A., Saadoui, E., Nasri, N., et Khaldi, A. (2017). *Capparis spinosa* leaves extract: Source of bioantioxidants with nephroprotective and hepatoprotective effects. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 87, 171–179.

Tohidpour, A., Sattari, M., Omidbaigi, R., Yadegar, A., et Nazemi, J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142–145.

Torres de Pinedo, A., Peñalver, P., et Morales, J. C. (2007). Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, 103(1), 55–61.

Tozanli, S. (2018). Étude du marché algérien intérieur et import/export de la pistache, de la câpre, de l'amande amère et du safran. *Programme d'action pilote pour le développement rural et l'agriculture, ENPARD, Algérie, 75p.*

Trease, G. E., et Evans, W. C. (2002). Pharmacognosy 15th edition. Saunders publishers, London, 584p.

Trovato, A., Siracusa, R., Di Paola, R., Scuto, M., Ontario, M. L., Bua, O., Di Mauro, P., Toscano, M. A., Petralia, C. C. T., Maiolino, L., Serra, A., Cuzzocrea, S., et Calabrese, V. (2016). Redox modulation of cellular stress response and lipoxin A4 expression by *Hericium Erinaceus* in rat brain: Relevance to Alzheimer's disease pathogenesis. *Immunity et Ageing*, 13(23), 11.

Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., et Iinuma, M. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50(1), 27–34.

Untergehrer, M., Kiermaier, J., Reintjes, S., Heilmann, J., et Jürgenliemk, G. (2019). Identification of phase-II metabolites from human serum samples after oral intake of a willow bark

extract. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 57, 396–402.

Vahid, H., Rakhshandeh, H., et Ghorbani, A. (2017). Antidiabetic properties of *Capparis spinosa* L. and its components. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 92, 293–302.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., et Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry et Cell Biology*, 39(1), 44–84.

Van Vuuren, S., et Viljoen, A. (2011). Plant-based antimicrobial studies—Methods and approaches to study the interaction between natural products. *Planta Medica*, 77(11), 1168–1182.

Veyssiere, A. (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. Université de Bordeaux, France, 107p.

Viljoen, A. M., Demirci, B., Başer, K. H. C., Potgieter, C. J., et Edwards, T. J. (2006). Microdistillation and essential oil chemistry—A useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus* (Lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 72(1), 99–104.

Von Hundelshausen, P., Agten, S. M., Eckardt, V., Blanchet, X., Schmitt, M. M., Ippel, H., Neideck, C., Bidzhekov, K., Leberzammer, J., Wichapong, K., Faussner, A., Drechsler, M., Grommes, J., van Geffen, J. P., Li, H., Ortega-Gomez, A., Megens, R. T. A., Naumann, R., Dijkgraaf, I., ... Weber, C. (2017). Chemokine interactome mapping enables tailored intervention in acute and chronic inflammation. *Science Translational Medicine*, 9(384).

Winter, C. A., Risley, E. A., et Nuss, G. W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 111(3), 544–547.

Wirtz, S., Popp, V., Kindermann, M., Gerlach, K., Weigmann, B., Fichtner-Feigl, S., et Neurath, M. F. (2017). Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation. *Nature Protocols*, 12(7), 1295–1309.

Wright, C. W. (2001). *Artemisia*. CRC Press, Etats-Unis, 296p.

Yashphe, J., Feuerstein, I., Barel, S., et Segal, R. (1987). The Antibacterial and Antispasmodic Activity of *Artemisia herba alba* Asso. II. Examination of Essential Oils from Various Chemotypes. *International Journal of Crude Drug Research*, 25(2), 89–96.

Younsi, F., Rahali, N., Mehdi, S., Boussaid, M., et Messaoud, C. (2018). Relationship between chemotypic and genetic diversity of natural populations of *Artemisia herba-alba* Asso growing wild in Tunisia. *Phytochemistry*, 148, 48–56.

Yu, L., Yang, J., Wang, X., Jiang, B., Sun, Y., et Ji, Y. (2017). Antioxidant and antitumor activities of *Capparis spinosa* L. and the related mechanisms. *Oncology Reports*, 37(1), 357–367.

Zenk, M. H., et Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68(22), 2757–2772.

Zhang, H., et Ma, Z. (2018). Phytochemical and Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* as a Medicinal Plant. *Nutrients*, 10(2), 116.

Zhao, X., et Drlica, K. (2014). Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress. *Current Opinion in Microbiology*, 21, 1–6.

Zhiri, A. (2006). *Zhiri A. (2006).* Aromathérapie. *Nutranews*, Ed: Fondation libre choix. 2-16.

Zhou, H., Jian, R., Kang, J., Huang, X., Li, Y., Zhuang, C., Yang, F., Zhang, L., Fan, X., Wu, T., et Wu, X. (2010). Anti-inflammatory Effects of Caper (*Capparis spinosa* L.) Fruit Aqueous Extract and the Isolation of Main Phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12717–12721.

Zhou, H.-F., Xie, C., Jian, R., Kang, J., Li, Y., Zhuang, C.-L., Yang, F., Zhang, L.-L., Lai, L., Wu, T., et Wu, X. (2011). Biflavonoids from Caper (*Capparis spinosa* L.) Fruits and Their Effects in Inhibiting NF-kappa B Activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3060–3065.

Zouari, S., Zouari, N., Fakhfakh, N., Bougatef, A., et Ayadi, M. A. (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 871-880.

Annexes

Annexe n°1

Réactifs de screening phytochimique

1. Réactif de Mayer

Chlorure mercurique (HgCl ₂).....	1.358g
Iodure de potassium (KI).....	5g
Eau distillée	100mL

2. Réactif de Wagner

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

3. Réactif de Stiansny

Formol à 30%.....	10mL
HCL concentré.....	5mL

Annexen°2

Composition des milieux de culture

Mueller Hinton Agar (MHA)

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysat 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

Annexe n°3 :

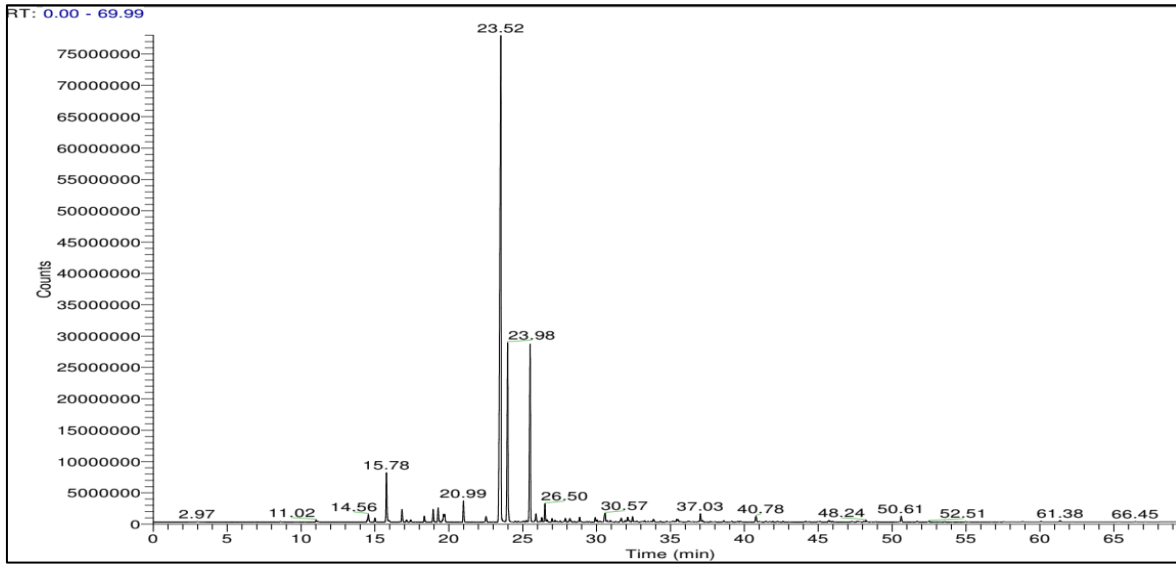


Figure n°1 : Chromatogramme de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*.

Annexe 4

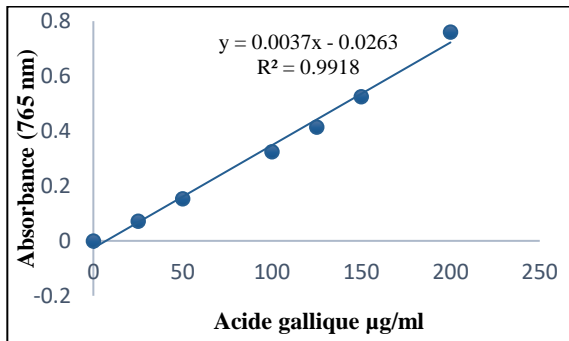


Figure n°1 : Droite d'étalonnage d'acide gallique.

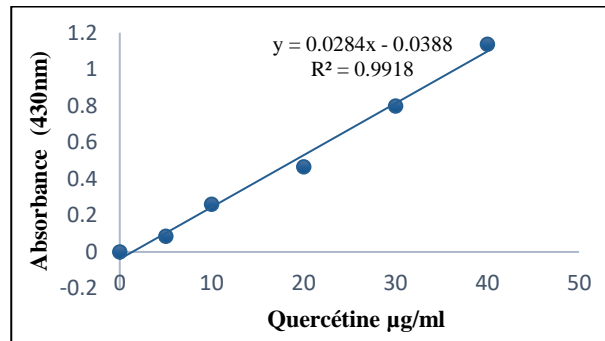


Figure n°2 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.

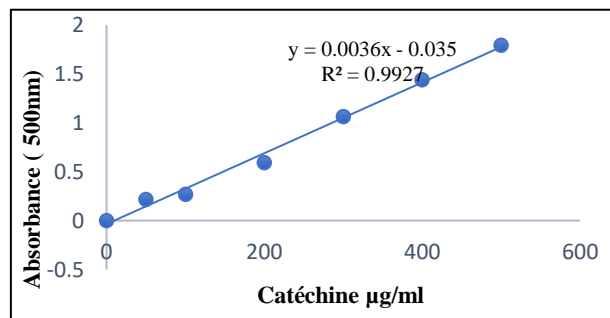


Figure n°3 : Droite d'étalonnage de la catéchine.

Annexe n°5


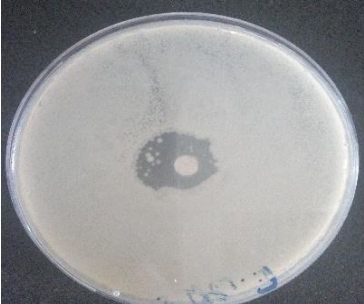

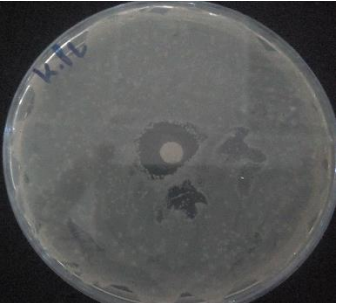
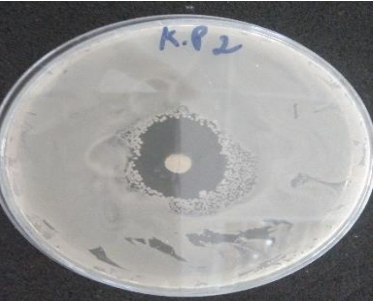


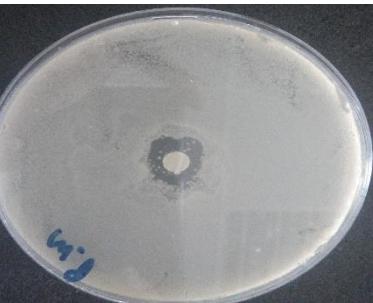
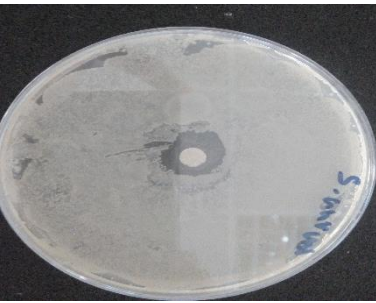
		
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	<i>Escherichia coli</i> 25922	<i>Escherichia coli</i> (Clinique)
		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Clinique)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (clinique)	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538

Figure n°1 : Résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielles d'*Artemisia herba-alba* vis-à-vis quelques souches bactériennes.


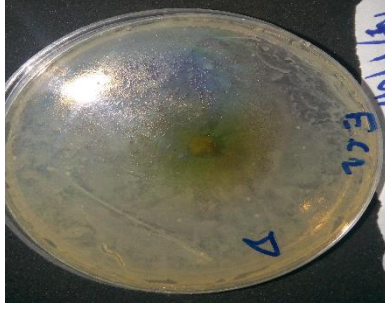
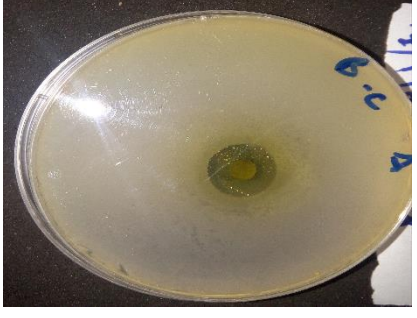
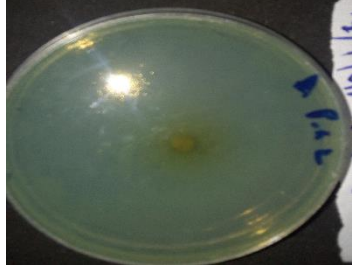
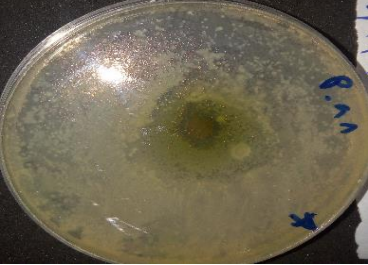

		
<i>Escherichia coli</i> 25922	<i>Escherichia coli</i> (Clinique)	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876
		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (clinique)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603

Figure n°2 : Résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait hydrométhanolique d'*Artemisia herba-alba* vis-à-vis quelques souches bactériennes.

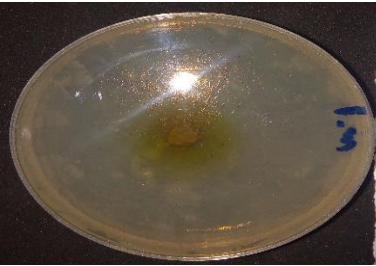
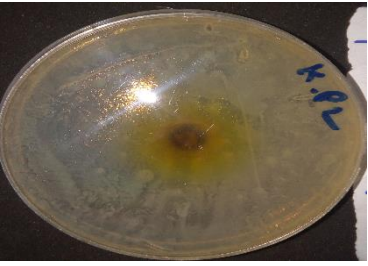
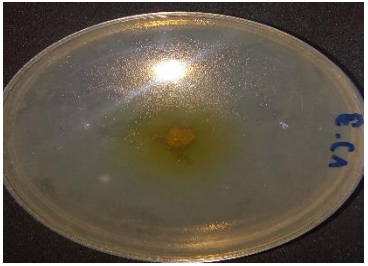

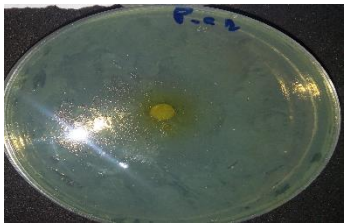
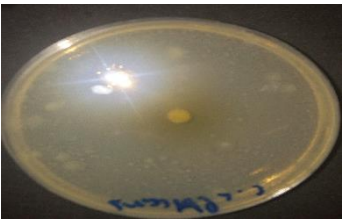
		
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (clinique)	<i>Escherichia coli</i> (clinique)
		
<i>Staphylococcus aureus</i> (clinique)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231

Figure n°3 : Résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *Capparis spinosa* vis-à-vis quelques souches bactériennes.

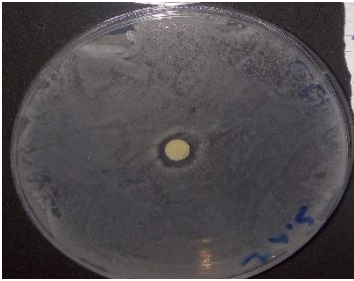
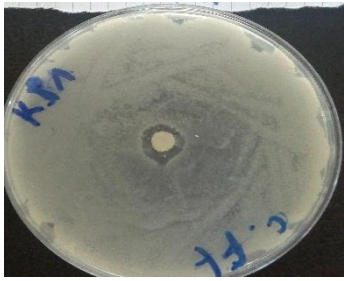
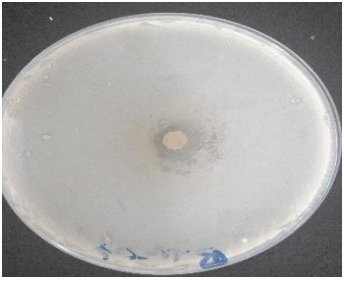

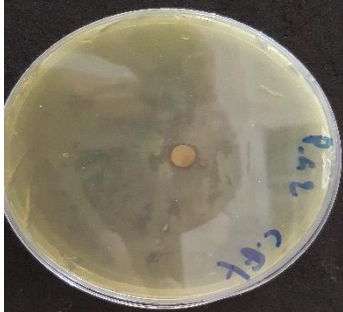

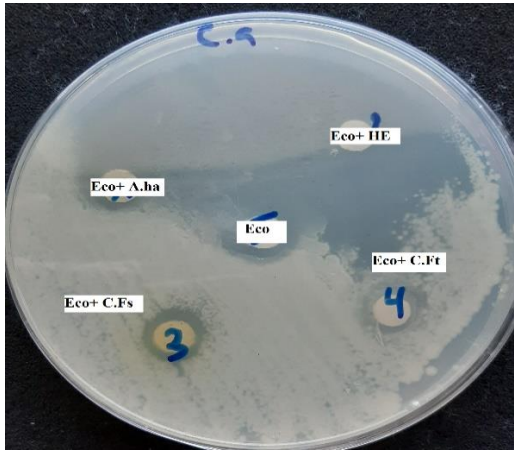
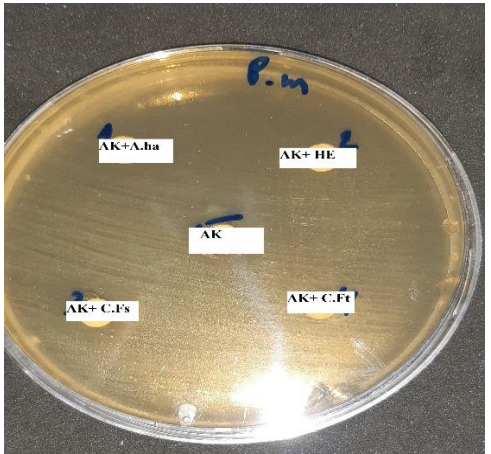
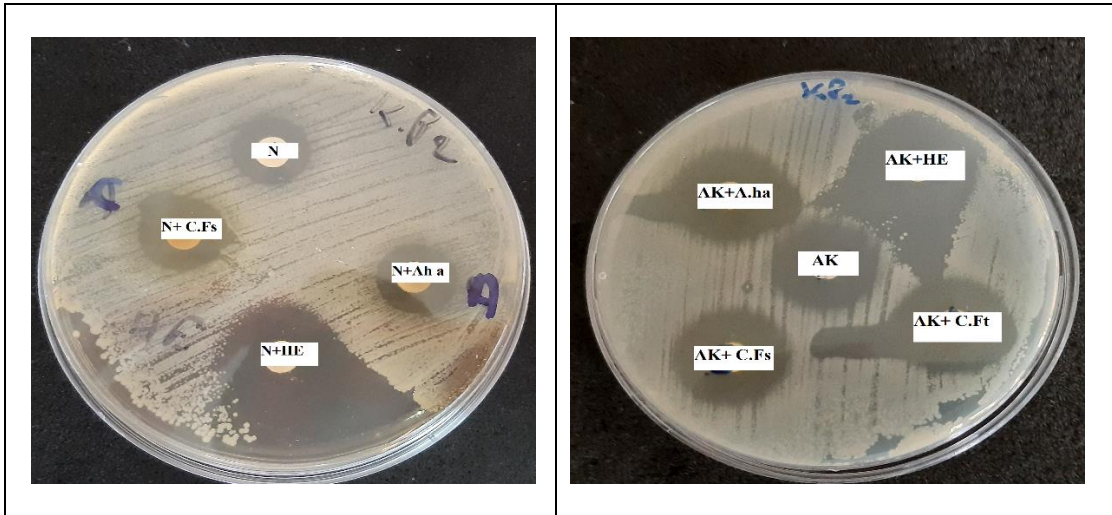
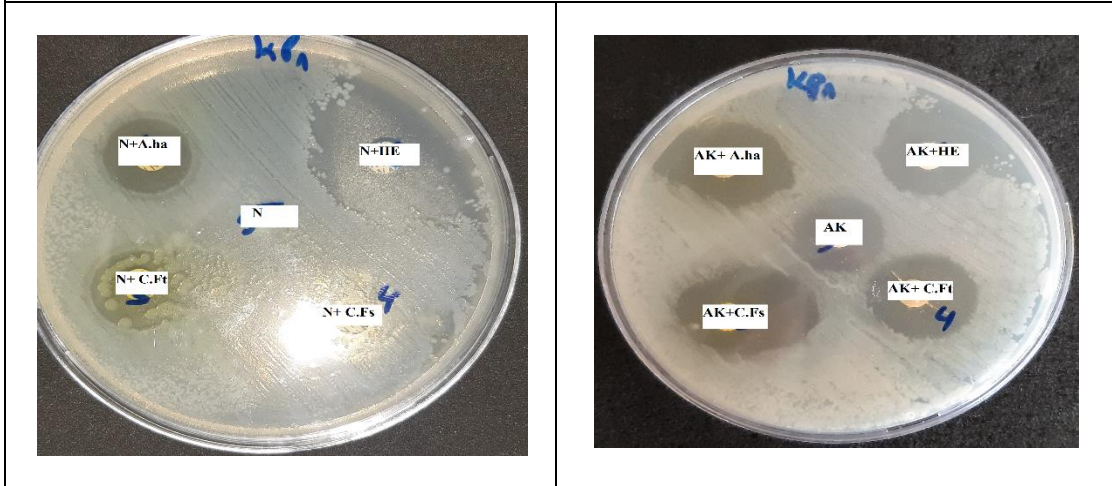
		
<i>Staphylococcus aureus</i> (clinique)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659
		
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (clinique)	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231

Figure n°4 : Résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait hydrométhanolique des fruits de *Capparis spinosa* vis-à-vis quelques souches bactériennes.

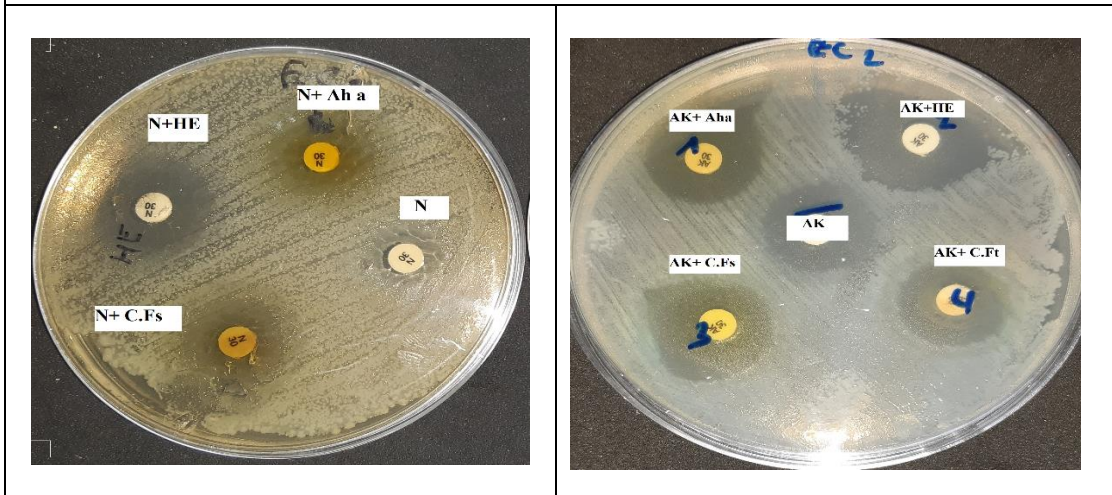
	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659



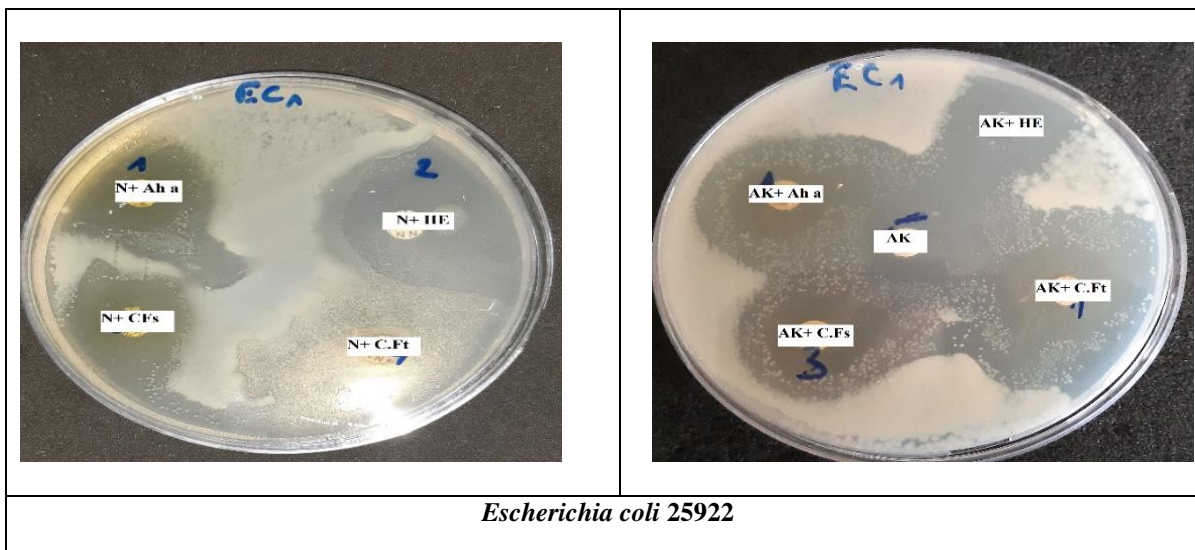
Klebsiella pneumoniae (clinique)



Klebsiella pneumoniae ATCC 70060



Escherichia coli (clinique)



Escherichia coli 25922

Figure n°5 : résultats du synergisme entre les extraits, l'huile essentielle et les deux antibiotiques.

A.h a : *Artemisia herba-alba*, C.Fs: feuilles de *Capparis spinosa*, C.Ft : fruits de *Capparis spinosa* ; HE : huile essentielle d'*A. herba-alba*, Eco : Econazole, N : Néomycine, AK : Amikacine.

Annexe n°6

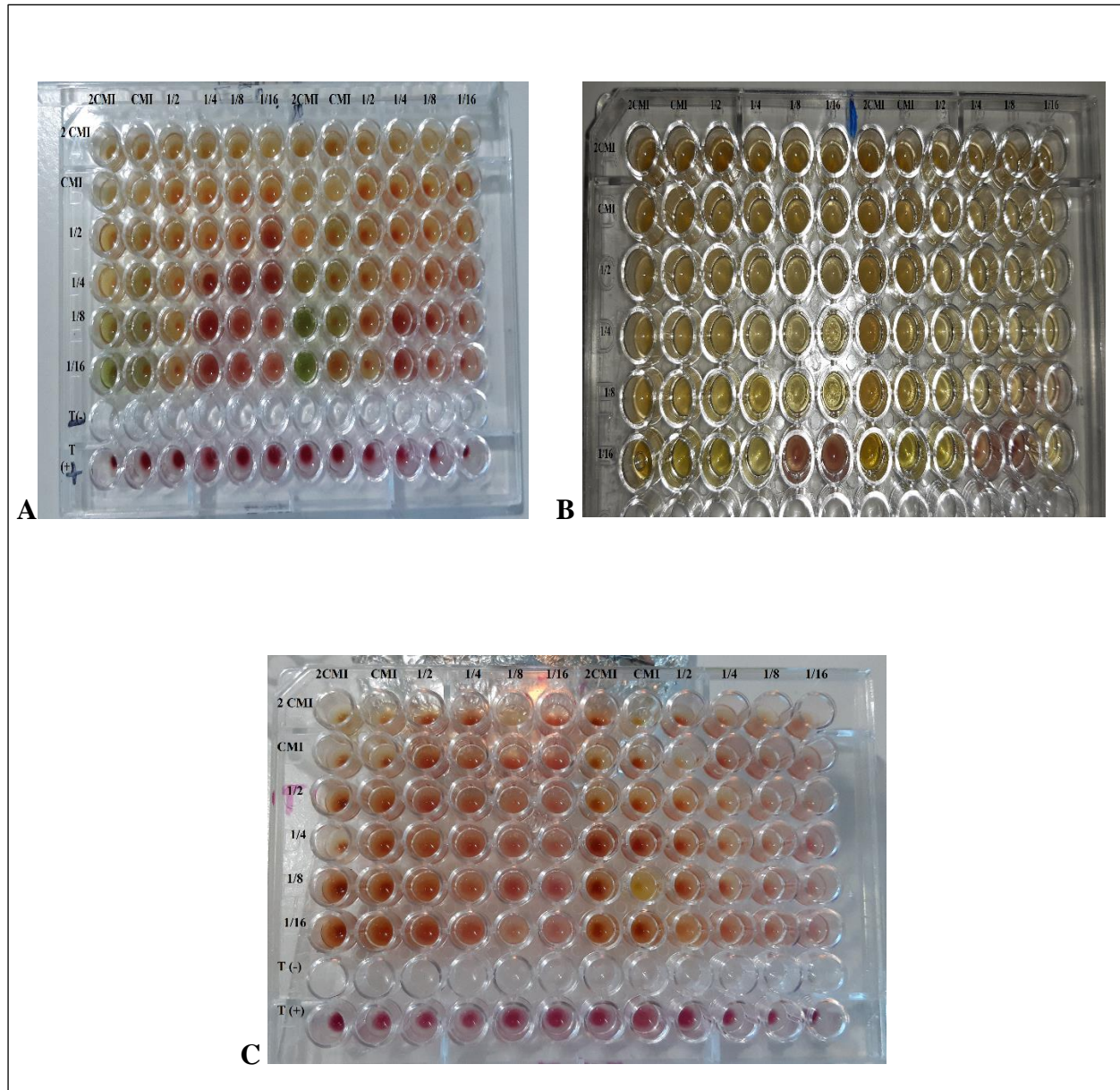


Figure n°1 : Résultats de la combinaison entre les extraits vis-à-vis quelques souches.

A : Synergisme partiel dans la combinaison entre l'extrait d'*A.herba-alba* et celui des feuilles de *C.spinosa* contre *E.coli* (clinique), **B :** Synergisme total dans l'association des mêmes extraits vis-à-vis *B.cereus* ATCC 10876, **C :** Effet antagoniste dans l'association de l'extrait des feuilles et fruits de *C.spinosa* contre *P.aeruginosa* (clinique).

Annexe n°7



Figure n°1 : Effet de l'extrait hydrométhanolique d'*A.herba-alba* sur l'oedème plantaire après 6h

A : patte normale , **B :** groupe contrôle, **C :** groupe standard (Diclofenac), **D :** groupe traité par 200mg/kg de p.c d'extrait d'*A.herba-alba*, **E :** groupe traité par 400mg/kg de p.c d'extrait d'*A.herba-alba*.

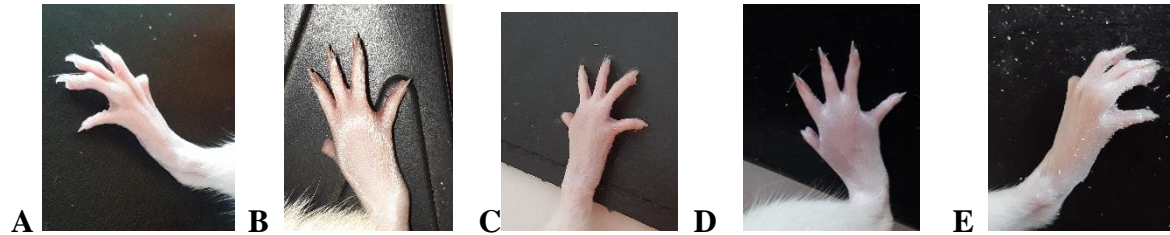


Figure n°2 : Effet de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *C.spinosa* sur l'oedème plantaire après 6h.

A : patte normale, **B :** groupe contrôle, **C :** groupe standard (Diclofenac), **D :** groupe traité par 200mg/kg de p.c d'extrait des feuilles de *C.spinosa* , **E :** groupe traité par 400mg/kg de p.c des feuilles de *C.spinosa*.

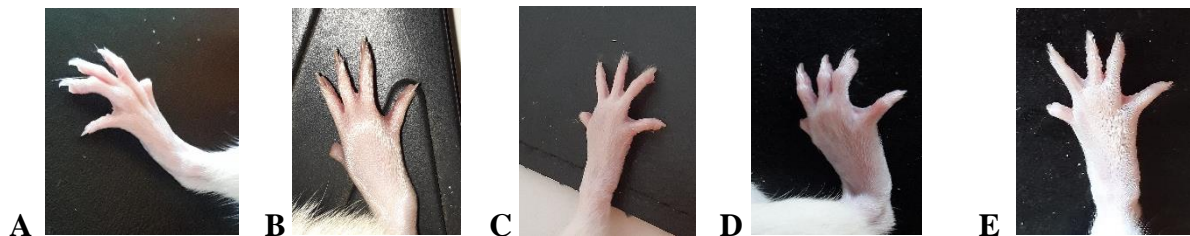


Figure n°3 : Effet de l'extrait hydrométhanolique des fruits de *C.spinosa* sur l'oedème plantaire après 6h.

A : patte normale, **B :** groupe contrôle, **C :** groupe standard (Diclofenac), **D :** groupe traité par 200mg/kg de p.c d'extrait des fruits de *C.spinosa* , **E :** groupe traité par 400mg/kg de p.c des fruits de *C.spinosa*.

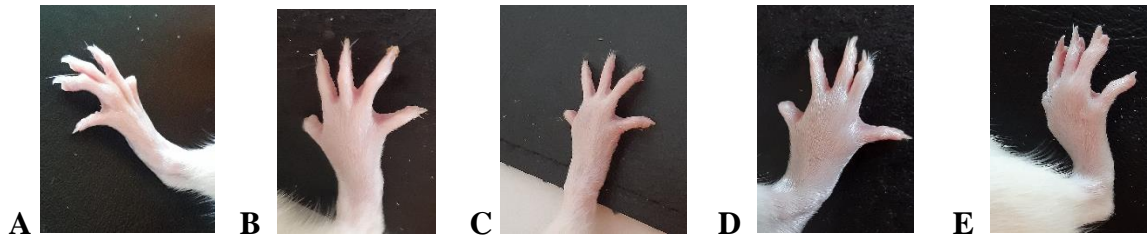


Figure n°4 : Effet de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* sur l'oedème plantaire après 5h.

A : patte normale, **B** : groupe contrôle, **C** : groupe standard (Diclofenac), **D** : groupe traité par 50 mg/kg de p.c de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* , **E** : groupe traité par 400mg/kg de p.c de l'huile essentielle d'*A.herba-alba*.

Travaux scientifiques

Communications nationales :

- Nawal OUGUIRTI, Fouad BAHRI, Ahmed BOUYAHYAOUI, Chemical characterization and biological activities of *Artemisia herba-alba* essential oil from south-western Algeria. 2^{ème} Séminaire National des Sciences d'Interfaces Chimie-Biologie, Faculté des sciences et de la Technologie (Université de Souk-Ahras, Algérie), 20 Février 2021.

Communications internationales :

- OUGUIRTI Nawal, BAHRI Fouad, BOUYAHYAOUI Ahmed, Phytochemical screening and antibacterial activity of *Zygophyllum album* and *Artemisia herba-alba* from Bechar region. 3rd International Seminar on Biology Bioresources & Food Safety (3rd SIB) (Université de Bechar, Algérie). 16-19 Novembre 2019.
- OUGUIRTI Nawal, BAHRI Fouad, BOUYAHYAOUI Ahmed, Phenolic components, antioxidant activity of *Artemisia herba-alba* and *Capparis spinosa*. 1st International Symposium 'Environment & Sustainable Development'. Institute of Extract Sciences and Nature and Life Sciences (Université de Rélizane, Algérie), le 10 et 11 Février 2020

