



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie appliquée قسم : البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie et hygiène hospitalière

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Approches thérapeutiques anti-infectieuses non-antibiotiques ; activités antioxydante, antimicrobienne et antibiofilm des écorces de *Citrus limon* et des graines de *Peganum harmala*.

Présenté par : TADJINE Maroua

Le : 12/06/2024

BELGHIT Abdelmalek

Jury d'évaluation :

Président: Dr. KHELILI Kaoutar (MCA – Université Frères Mentouri, Constantine1).

Encadrant : Dr. CHERFIA Radia (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine1).

Examineur: Dr. BAALI Nacera (MCA – Université Frères Mentouri, Constantine1).

**Année universitaire
2023 - 2024**

Remerciements

*Louange à Dieu, par la grâce duquel de bonnes actions sont accomplies pour nous. C'est un grand honneur d'avoir **Dr. CHERFIA Radia** (MCB, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1) comme encadrant de notre mémoire. Nous lui exprimons tous nos remerciements et notre appréciation pour sa patience, sa gentillesse, son aide et son soutien.*

Nous tenons à remercier sincèrement les membres du jury :

***Dr. KHELILI Kaoutar** (MCA, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1) pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury.*

***Dr. BAALI Nacera** (MCA, Département de Biologie Animale - UFM Constantine 1) qui a accepté d'évaluer ce travail et qui nous honorent de leur présence.*

*Nous tenons à témoigner toute nos gratitude à l'ingénieur de laboratoire de biologie végétale **SARA** pour sa confiance et son soutien inestimable.*

*Un grand merci à **Dr. BOUDERSA Nabil**, ingénieur de laboratoire de physiologie des plantes pour son aide précieux et sa disponibilité.*

A tous les enseignants du département de biologie appliquée.

Nos parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Dédicaces

C'est un grand honneur pour moi de dédier ce petit ouvrage aux plus Chers Monde, ce sont eux qui m'ont permis de poursuivre mes études dans les meilleures conditions qui m'ont appris à ne jamais abandonner.

Mes chers parents

À mon cher père Tadjine Nouredine;

Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension, et chaque sacrifice que tu as fait pour moi. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours, et aucun mot ne peut exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Je suis fier de te compter comme mon père, mon mentor et mon ami. Merci pour tout ce que tu es et tout ce que tu as fait. Je t'aime infiniment, papa.

À ma chère mère Abla;

Tu as été ma source constante de soutien et d'inspiration. Tes encouragements infatigables et ton amour inconditionnel m'ont guidé à travers les défis et les succès. Merci d'avoir été ma lumière dans les moments sombres et d'avoir célébré avec moi chaque victoire, grande ou petite. Je te dédie ce travail avec tout mon amour et ma gratitude éternelle.

*À ma sœur **Douaa** et mes chers frères, **Bahaa Eddine**, au cœur généreux, et **Nedjem Eddine**, ainsi qu'à leurs partenaires de vie adorés, **Amina et Rayen**, et ma précieuse nièce **Sidra**, notre petite princesse. Vous occupez tous une place spéciale dans mon cœur, je vous porte dans mon cœur avec une*

gratitude infinie. Et que notre lien fraternel se renforce et s'épanouisse davantage au fil du temps.

*À mon âme sœur **Maïssa** A tous les moments agréables passés ensemble, à tous nos éclats de rire,
Nos disputes, nos bêtises.*

*Tout est gravé dans le plus profond de ma mémoire, témoin de
notre*

*Amour et complicité Je te remercie de m'avoir soutenu.
Je te souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite aussi
bien sur le plan professionnel que personnel*

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à mes chères amies
Darine, Nada, Rayen, Walæ, Djohaina, Khawla et Malak.*

*Vos encouragements et votre présence ont rendu cette
expérience encore plus significative. Merci d'avoir enrichi ma
vie de votre amitié.*

*Chers collègues de la promotion MHH, je tiens à exprimer
ma gratitude envers vous tous, et spécialement envers **Nihad
et Ghada**, pour votre collaboration et votre engagement.*

*Et à mon binôme **Abdelmalek**, je tiens à te remercier tout
particulièrement pour tes efforts inlassables dans ce travail.
Ton dévouement et ton professionnalisme ont été essentiels à
notre réussite commune. Merci infiniment.*

Maroua

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère Djemaa et mon père Ahmed pour leurs sacrifices et leur soutien durant toute la période de mes études.

À mon frère Walid et à mes sœurs Raounak et Anfel.

À mes meilleurs amis Djamel Eddine et Yahia.

À mes collègues à la promotion MHH et je mentionne en particulier Nihad, Ghada et Emmanuel.

À tous mes enseignants.

À mon binôme Maroua, je te remercie pour tous tes efforts dans ce travail.

À toute ma famille.

Abdelmalek.

Table des matières

Remerciements	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
1- Introduction	1
2- Revue bibliographique	3
2.1- Maladies infectieuses	3
2.1.1- Exemples des maladies infectieuses.....	3
2.1.1.1- Pneumonie.....	3
2.1.1.2- Charbon (Anthrax)	4
2.1.1.3- Infections urinaires.....	5
2.1.1.4- Candidose.....	5
2.1.2- Agents microbiens.....	6
2.1.2.1- <i>Bacillus spp</i>	6
2.1.2.2- <i>Escherichia coli</i>	7
2.1.2.3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
2.1.2.4- <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.1.2.5- <i>Candida albicans</i>	10
2.1.3- Antibiotiques et résistance bactérienne.....	11
2.1.3.1- Antibiotiques.....	11
2.1.3.2- Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	12
2.1.4- Mécanismes de résistance bactérienne.....	13
2.1.5- Biofilms.....	14
2.1.6- Nouvelles stratégies de lutte contre les bactéries résistantes.....	15
2.1.6.1- Utilisation des peptides antimicrobiens.....	15
2.1.6.2- Phagothérapie.....	15
2.1.6.3- Association avec des inhibiteurs des bêta-lactamases.....	16
2.1.6.4- Plantes médicinales	16
2.2- Plantes médicinales et huiles essentielles	17
2.2.1- Plantes médicinales.....	17

2.2.1.1- Métabolites primaires.....	18
2.2.1.2- Métabolites secondaires.....	18
2.2.2- Huiles essentielles.....	21
2.2.2.1- Propriétés physico-chimiques.....	21
2.2.2.2- Propriétés antibactériennes des huiles essentielles.....	21
2.3- Plantes étudiées	22
2.3.1- <i>Citrus limon</i>	22
2.3.1.1- Classification botanique.....	23
2.3.1.2- Composition chimique	23
2.3.1.3- Utilisation traditionnelle et médicale de <i>C.limon</i>	23
2.3.1.4- Activités biologiques de <i>C.limon</i>	23
2.3.2- <i>Peganum harmala</i>	24
2.3.2.1- Classification botanique de <i>P.harmala</i>	26
2.3.2.2- Composition chimique.....	26
2.3.2.3- Utilisation traditionnelle et médicale de <i>P. harmala</i>	27
2.3.2.4- Activités biologiques de <i>P.harmala</i>	27
3- Matériel et Méthodes	29
3.1- Matériel végétal	29
3.1.1- Préparation des plantes.....	29
3.2- Analyses phytochimiques	30
3.2.1- Screening phytochimique	30
3.2.1.1- Métabolites primaires	30
3.2.1.2- Métabolites secondaires	31
3.3- Préparation des extraits	32
3.3.1- Extraits éthanoliques.....	32
3.3.2- Huile essentielle	33
3.4- Rendement d'extraction	33
3.5- Dosage colorimétrique des composés phénoliques	34
3.5.1- Dosage des polyphénols totaux.....	34
3.5.2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	35
3.5.3- Dosage des tannins condensés.....	35
3.6- Activités biologiques	36
3.6.1- Activité antioxydante.....	36

3.6.1.1- Piégeage du radical libre DPPH.....	36
3.6.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	38
3.6.2- Activité antimicrobienne.....	39
3.6.3- Inhibition de la formation de biofilms.....	41
3.7- Analyse statistique.....	42
4- Résultats et Discussion	43
4.1- Analyses phytochimiques	43
4.1.1- Screening phytochimique	43
4.1.2- Rendement d'extraction	47
4.1.3- Dosage des composés phénoliques.....	48
4.1.3.1- Dosage des polyphénols totaux.....	48
4.1.3.2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	49
4.1.3.3- Dosage des tanins condensés.....	51
4.2- Activités biologiques	53
4.2.1- Activité antioxydante.....	54
4.2.1.1- Piégeage du radical libre DPPH.....	54
4.2.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	56
4.2.2- Activité antimicrobienne	59
4.2.3- Inhibition de la formation de biofilms	68
5- Conclusion et perspectives	71
6- Références bibliographiques	73

Résumé

Abstract

ملخص

Annexes

Liste des abréviations

AA	Acide ascorbique
Abs	Absorbance
ATB	Antibiotique
CE₅₀	Concentration efficace médiane
CI₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
CMI	Concentration minimal inhibitrice
CV	Cristal violet
<i>C. limon</i>	<i>Citrus limon</i>
DMSO	Dimethyl Sulfoxyde
DO	Densité optique
DPPH	2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl
EAG	Equivalent d'acide gallique
EC	Equivalent de catéchine
ED	Eau distillé
EQ	Equivalent de quercétine
EtOH	Ethanol
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
HE	Huile essentielle
M	Molarité
MS	Matière sèche
pH	Potentiel d'hydrogène
<i>P. harmala</i>	<i>Peganum harmala</i>
Rd (%)	Rendement
R²	Coefficient de corrélation
UV	Ultraviolet
ZI	Zone d'inhibition

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Lésions de la forme cutanée de charbon.	5
Figure 02	Maladie de candidose; (A) candidose buccal, (B) candidose cutanée.	6
Figure 03	Observation microscopique de <i>Bacillus spp.</i> en utilisant la coloration de Gram.	7
Figure 04	<i>E. coli</i> observée au microscope.	8
Figure 05	<i>P. aeruginosa</i> sous microscope électronique.	9
Figure 06	<i>S. aureus</i> observée au microscope.	10
Figure 07	<i>C. albicans</i> sous microscope.	11
Figure 08	Différentes mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à gram négatif.	14
Figure 09	Biofilm observé sous microscope électronique à balayage.	14
Figure 10	Structure d'un groupement phénol.	18
Figure 11	Squelette de base des flavonoïdes.	19
Figure 12	Différentes parties de la plante <i>C. limon</i> .	22
Figure 13	<i>Peganum harmala</i> ; (A) Plante entière, (B) Fleure, (C) fruit, (D) graine.	26
Figure 14	Partie aérienne de <i>C. limon</i> (A) et graines de <i>P. harmala</i> (B).	29
Figure 15	Préparation des broyats des deux plantes ; <i>C. limon</i> et <i>P. harmala</i> .	30
Figure 16	Différentes étapes d'extraction par macération (extraits EtOH).	33
Figure 17	Extraction d'HE des écorces de <i>C. limon</i> par hydro-distillation.	33
Figure 18	Protocole de dosage des polyphénols totaux.	34
Figure 19	Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.	35
Figure 20	Protocole de dosage des tanins condensés.	36
Figure 21	Réduction de DPPH par antioxydant.	37
Figure 22	Protocole de piégeage du radical DPPH.	37

Figure 23	Protocole de pouvoir réducteur du fer.	38
Figure 24	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	49
Figure 25	Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits EtOH des écorces de <i>C. limon</i> et les graines de <i>P. harmala</i> .	49
Figure 26	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	50
Figure 27	Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits EtOH des écorces de <i>C. limon</i> et les graines de <i>P. harmala</i> .	50
Figure 28	Courbe d'étalonnage de la catéchine.	51
Figure 29	Teneurs en tanins condensés dans les extraits EtOH des écorces de <i>C. limon</i> et les graines de <i>P. harmala</i> .	51
Figure 30	Pourcentage d'inhibition des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de <i>C. limon</i> .	54
Figure 31	Valeurs des CI ₅₀ de l'AA, des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de <i>C. limon</i> .	55
Figure 32	Pouvoir réducteur du fer des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de <i>C. limon</i> .	57
Figure 33	Valeurs des CE ₅₀ de l'AA, des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces <i>C. limon</i> .	58
Figure 34	Zones d'inhibition des extraits EtOH des plantes, d'HE, d'ATB et du DMSO sur les Gram+ ; <i>S. aureus</i> et <i>Bacillus spp.</i>	61
Figure 35	Zones d'inhibition des extraits EtOH des plantes, d'HE, d'ATB et du DMSO sur les Gram- ; <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i> .	62
Figure 36	Zones d'inhibition des extraits EtOH des plantes, d'HE, d'ATF et du DMSO sur la levure <i>C. albicans</i> .	63
Figure 37	Activité antibiofilm des extraits EtOH des écorces de <i>C. limon</i> et des graines de <i>P. harmala</i> et leurs combinaison sur le biofilm de <i>S. aureus</i> .	68
Figure 38	Activité antibiofilm de l'HE des écorces de <i>C. limon</i> sur le biofilm de <i>S. aureus</i> .	68

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Classification taxonomique de <i>Bacillus spp.</i>	7
Tableau 02	Classification taxonomique d' <i>E. coli</i> .	8
Tableau 03	Classification taxonomique de <i>P. aeruginosa</i> .	9
Tableau 04	Classification taxonomique de <i>S. aureus</i> .	10
Tableau 05	Classification taxonomique de <i>C. albicans</i> .	11
Tableau 06	Principaux modes d'action des grandes familles d'antibiotiques.	12
Tableau 07	Caractéristiques généraux de <i>C. limon</i> .	22
Tableau 08	Classification botanique de <i>C. limon</i> .	23
Tableau 09	Caractéristiques généraux de la plante <i>P. harmala</i> .	25
Tableau 10	Classification botanique de <i>P. harmala</i> .	26
Tableau 11	Classes des souches selon les zones d'inhibition.	40
Tableau 12	Screening phytochimique des écorces de <i>C. limon</i> et des graines de <i>P. harmala</i> .	44
Tableau 13	Rendements d'extraction et caractéristiques des extraits des écorces de <i>C. limon</i> et des graines de <i>P. harmala</i> .	47
Tableau 14	Quantification des composés phénoliques des extraits EtOH des écorces de <i>C. limon</i> et des graines de <i>P. harmala</i> .	52
Tableau 15	Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance microbienne des souches testées par les extraits obtenus, l'ATB, l'ATF et le DMSO.	60
Tableau 16	Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux obtenus sur les souches microbiennes testées.	67

Introduction

1- Introduction

Les infections microbiennes, ou les maladies infectieuses, sont des conditions causées par la présence et la multiplication de micro-organismes pathogènes dans le corps. Ces micro-organismes comprennent des bactéries, des champignons, des virus et des parasites (**Gérin *et al.*, 2003; Mekkiou, 2005; Jawerth, 2020**). En effet, ces infections peuvent affecter divers tissus et organes du corps, entraînant une gamme de symptômes, allant des symptômes légers tels que la fièvre et la fatigue aux affections plus graves pouvant mettre la vie en danger (**Jain *et al.*, 2001; Beby-Defaux *et al.*, 2003; Willhelmi *et al.*, 2003**).

Pour cela, des agents antimicrobiens tels que les antibiotiques, les antifongiques, les antiviraux et les antiparasitaires sont des médicaments utilisés pour prévenir et traiter ces infections pas seulement chez les être humains, mais aussi chez les animaux et les végétaux (**OMS, 2021**).

Tandis que les antibiotiques soient efficaces pour traiter certaines maladies infectieuses, leur utilisation excessive et abusive entraîne rapidement une résistance croissante chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif (**Vila, 2016**). Cette résistance est devenue l'une des préoccupations majeures de la santé publique à l'échelle mondiale (**OMS, 2021**) où, les bactéries résistantes sont capables de survivre et de se multiplier malgré l'exposition à des antibiotiques, rendant ainsi les infections qu'elles causent plus difficiles, voire impossibles, à traiter (**Ahanogbe, 2014; Amairi, 2021**). En outre, les bactéries multirésistantes ont la capacité de former des biofilms ; des communautés bactériennes enrobées dans une matrice protectrice. Ces biofilms offrent un environnement favorable à la survie des bactéries, les rendant moins sensibles aux antibiotiques que les cellules bactériennes isolées (**El khatib, 2011; Belkacem, 2018**).

Par conséquent, la résistance croissante des microbes aux antimicrobiens et surtout aux antibiotiques incite les chercheurs à explorer le monde végétal, en particulier les plantes médicinales et aromatiques, à la recherche de nouvelles molécules naturelles efficaces et dépourvues d'effets indésirables (**Boudjouref, 2011**). Cette quête est amplifiée par la popularité croissante des médicaments à base de plantes dans certaines régions du monde, tandis que dans d'autres, ils demeurent une composante essentielle des systèmes de santé locaux (**Djeddi *et al.*, 2015**). Les plantes médicinales continuent ainsi de représenter une source inépuisable de nouveaux médicaments, fournissant une matière première indispensable

à la découverte de molécules potentiellement thérapeutiques pour l'avenir (**Maurice, 1997; Konate, 2010**).

En Algérie, la médecine traditionnelle revêt une importance significative dans les pratiques de soins de la population. La région du Nord-Est, caractérisée par sa flore exceptionnellement riche et variée, notamment avec de nombreuses plantes endémiques, joue un rôle majeur dans la médecine populaire. Cette diversité floristique et son utilisation répandue confèrent un intérêt scientifique considérable à l'étude de la flore dans les domaines phytochimiques et thérapeutiques (**Zellagui et al., 2011**).

Dans ce contexte, notre travail se concentre sur l'étude des deux plantes, à savoir *Citrus limon* et *Peganum harmala*, appartenant aux familles *Rutaceae* et *Zygophyllaceae* respectivement, en raison de leur potentiel à résoudre divers problèmes, notamment la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Les principaux objectifs du présent travail sont :

- Criblage et propriétés phytochimiques des deux plantes ; *C. limon* et *P. harmala* ;
- Préparation des extraits éthanoliques des deux plantes ainsi que l'huile essentielle de *C. limon* ;
- Quantification des composés phénoliques ; polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés ;
- Evaluation *in vitro* de quelques activités biologiques notamment l'antioxydante, l'antimicrobienne et l'antibiofilm des extraits obtenus.

Revue bibliographique

2- Revue bibliographique

2.1- Maladies infectieuses

Les maladies infectieuses sont des affections résultant de l'invasion et de la multiplication de micro-organismes pathogènes dans le corps humain. Ces agents pathogènes comprennent des bactéries, des virus, des champignons et des parasites (Gérin *et al.*, 2003; Jawerth, 2020). Les maladies infectieuses peuvent se propager par divers moyens, notamment par contact direct avec des personnes infectées, par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés, par des piqûres d'insectes vecteurs, ou par l'exposition à des surfaces contaminées (Gérin *et al.*, 2003).

Un large éventail de maladies infectieuses existe, chacune causée par un agent pathogène spécifique. Par exemple, les infections respiratoires telles que la grippe et le rhume sont provoquées par des virus respiratoires tels que le virus de l'influenza et les rhinovirus (Jain *et al.*, 2001; Beby-Defaux *et al.*, 2003). Les maladies gastro-intestinales, telles que la gastro-entérite virale et les infections bactériennes comme la salmonellose, sont souvent causées par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés (Willhelmi *et al.*, 2003; Forstinus *et al.*, 2015; Florez *et al.*, 2020).

Des infections plus graves peuvent également survenir, comme la tuberculose, causée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*, ou le paludisme, provoqué par le parasite *Plasmodium* transmis par les piqûres de moustiques infectés (Natarajan *et al.*, 2020 ;Varo *et al.*, 2020). Le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) est responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), une maladie qui affaiblit le système immunitaire de l'organisme, le rendant plus vulnérable à d'autres infections opportunistes (Deeks *et al.*, 2015).

2.1.1- Exemples des maladies infectieuses

Les maladies infectieuses présentent des symptômes spécifiques et nécessitant des traitements variés. Ces maladies ont été classées en divers types selon la partie du corps humain affectée.

2.1.1.1- Pneumonie

La pneumonie est l'une des causes importantes de la morbidité et la mortalité infantile au monde. Chez les enfants de moins de 5 ans, plus de 100 millions de cas chaque année, avec 700 000 décès / an, en particulier dans les pays les moins développés économiquement (Keddari, 2020).

La pneumonie est une infection aigue des alvéoles pulmonaires, caractérisé par une température inférieure à 35° ou supérieure à 38°, des frissons avec sueurs, une toux produisant des expectorations, difficultés respiratoires et gêne thoracique (**Evain- de Pontbriand, 2015**). C'est la forme la plus grave des infections aiguës des voies respiratoires (**Sanou, 2018**).

Streptococcus pneumoniae est le germe le plus responsable de cette maladie infectieuse, mais *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia spp.*, *Legionella Pneumophila*, *Haemophilus influenzae*, les entérobactéries et *Staphylococcus aureus* sont aussi capables d'être l'agent causal de cette infection (**Evain - de Pontbriand, 2015; Sanou, 2018**). En Algérie, en 2001 sur 174 pneumonies étudiées, *Streptococcus pneumoniae* a été retrouvé dans 19% des cas et *Staphylococcus aureus* dans 21% (**Keddari, 2020**).

2.1.1.2- Charbon (Anthrax)

Le charbon est une ancienne maladie zoonotique qui infecte principalement les herbivores et transmis à l'homme par contact avec les animaux infectés ou leurs produits contaminés, l'agent causal de l'anthrax est une bactérie appelée *Bacillus anthracis*, qui appartient au genre *Bacillus* (**Doganay et al., 2023**).

Bacillus anthracis est un bacille aérobie, gram-positif, formant des spores, non mobile et en forme de bâtonnet (**Chalteau et al., 2020; Doganay et al., 2023**), facilement cultivées à 37°C sur gélose sanguine ou nutritionnelle. Cette bactérie existe sous deux formes morphologiques, la forme végétative biologiquement active et la forme de spores biologiquement dormant (**Chateau et al., 2020**). La forme végétative responsable de la pathologie associée à la maladie observée dans les tissus des individus infectés (forme infectieux) (**Doganay et al., 2023**). Les spores capables de survivre pendant des années dans leur état de dormance (forme de résistance) (**Mbengue, 2015**).

Le charbon à trois formes cliniques : cutanée, digestive et pulmonaire, la forme la plus fréquente est la forme cutanée (**Tournier et al., 2006**). La période d'incubation est entre 2 et 7 jours (intervalle 1 à 19 jours), la majorité des lésions apparaissent dans les zones exposées du corps telles que les mains, les bras, le visage et le cou; la lésion commence par une papule prurigineuse qui évolue en vésicule avec une nécrose centrale donnant une escarre noirâtre (à l'origine du nom « charbon ») en 24 à 36 heures. Certaines lésions peuvent être sévères et étendues sur une grande distance (**Tournier et al., 2006; Doganay et al., 2023**).



Figure 01: Lésions de la forme cutanée de charbon (Doganay *et al.*, 2023).

2.1.1.3- Infections urinaires

Les infections des voies urinaires sont des problèmes de santé publique graves et parmi les infections bactériennes les plus courantes dans le monde (Wagenlehner *et al.*, 2020; Mach *et al.*, 2020). Ces infections sont fréquentes chez tous les individus, que ce soit des hommes, des femmes, des enfants ou des personnes âgées (Kaur et Kaur, 2021). Malgré que les femmes sont plus susceptibles de ces infections, environ 81% de toutes les infections urinaires sont signalés chez les femmes (Sheerin, 2011).

Les bactéries principales responsables de ces infections sont : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* et *Enterococcus faecalis* (Sheerin, 2011).

Les infections urinaires inférieures sont généralement marquées par des douleurs lors de la miction, des douleurs dans la région pubienne ou une hématurie visible. Les infections urinaires supérieures se manifestent généralement par la fièvre, des douleurs au flanc, des frissons, des vomissements, des nausées, avec ou sans symptômes de cystite. La fièvre est rare dans les infections urinaires inférieures et généralement associée à des formes compliquées d'infections urinaires (Kaur et Kaur, 2021).

2.1.1.4- Candidose

La candidose est une infection fongique courante causée par des espèces de *Candida*, le *C. albicans* étant l'agent pathogène le plus répandu (Martins *et al.*, 2014; Hani *et al.*, 2015; Ségal *et al.*, 2018; Farzeen *et al.*, 2022). Elle se manifeste sous diverses formes telles que la candidose cutanée, buccal, cutanéomuqueuse et invasive, affectant différentes parties du corps (Pandey *et al.*, 2020). Des facteurs tels que l'immunodéficience, l'utilisation d'antibiotiques et le diabète prédisposent les individus à la candidose.

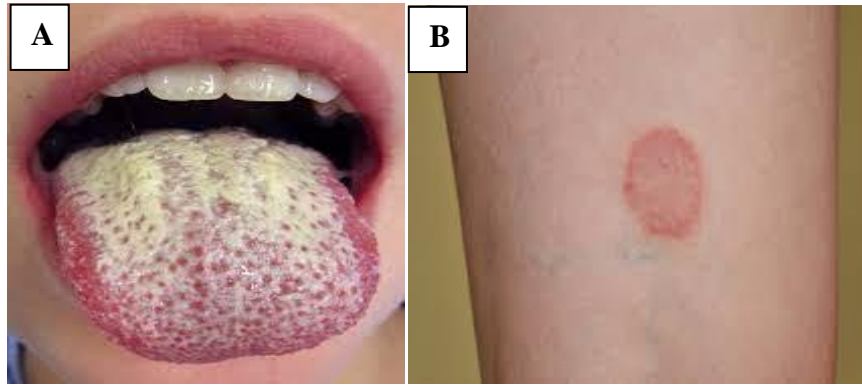


Figure 02: Maladie de candidose; (A) candidose buccal, (B) candidose cutanée
(Pandey *et al.*, 2020).

2.1.2- Agents microbiens

Les bactéries sont des microorganismes omniprésents dans notre environnement, elles peuvent être bénéfiques ou pathogène et jouent un rôle essentiel dans de nombreux aspects de la vie sur terre. Parmi les bactéries les plus répandues sont : *Bacillus spp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Garnier, 2020).

Les levures sont des microorganismes eucaryotes appartenant au règne des champignons, existant sous forme d'organismes unicellulaires capables de s'adapter à divers environnements, y compris à des conditions extrêmes (Tofalo *et al.*, 2020). Parmi les espèces les plus courantes, *Candida albicans*.

2.1.2.1- *Bacillus spp.*

Elle appartient à la famille des *Bacillaceae*, ce sont des bacilles de grande taille à Gram positif, aérobies ou anaérobies facultatifs. Les cellules se présentent sous forme de bâtonnets isolés ou en chaînes, aux extrémités carrées ou arrondies, de taille variable (de $0,5 \times 10 \mu\text{m}$ jusqu'à $2,5 \times 10 \mu\text{m}$) (Oulebsir-Mohandkaci, 2012). Elles sont généralement mobiles grâce à des flagelles péritriches, capables de produire des endospores comme forme de résistance lorsque les conditions deviennent défavorables, elles possèdent une catalase très active et se cultivent facilement sur milieu ordinaire car ce ne sont pas des germes exigeants (Tifrit, 2016).



Figure 03: Observation microscopique de *Bacillus spp.* en utilisant la coloration de Gram (Norlaili *et al.*, 2014).

Le genre *Bacillus* comprend un grand nombre d'espèces très fréquentes dans la nature. La plupart de ces bactéries vivent sur les végétaux et le sol et survivent grâce aux leurs spores, certaines bactéries du genre *Bacillus* contaminent nombreux produits alimentaires et sont souvent protéolytiques, et peuvent être des agents de dégradation des conserves alimentaires (Oulebsir-Mohandkaci, 2012).

Tableau 01: Classification taxonomique de *Bacillus spp* (Oulebsir-Mohandkaci, 2012).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Genre	<i>Bacillus</i>

2.1.2.2- *Escherichia coli*

Elles sont des bacilles à Gram négatif, caractérisées par ses extrémités arrondies, ayant une taille qui varie de 2 à 4 μm de longueur sur 0,6 μm de largeur (Soumaila, 2012). Souvent mobiles, de la famille des *Enterobacteriaceae*, ce sont des résidents communs du tube digestif des humains et des animaux en tant que commensales (Amairi, 2021).

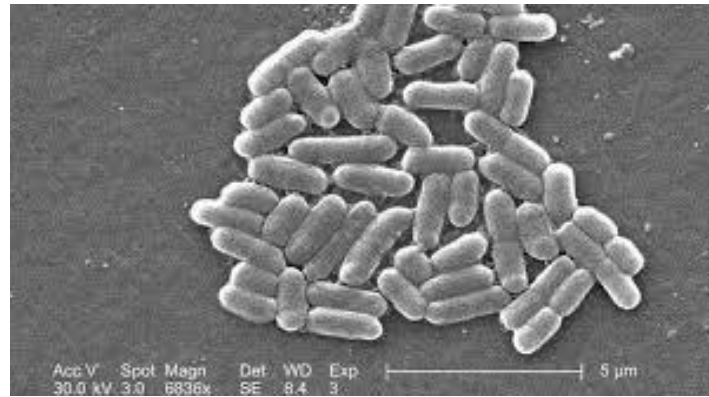


Figure 04: *E. coli* observée au microscope (Caiusca, 2019).

E. coli est l'organisme microscopique le plus étudié, et l'un des agents pathogènes les plus importants chez l'homme. Il est ainsi, la principale cause d'infections du sang et des voies urinaires (IVU) parmi les bactéries à Gram négatif. De plus, *E. coli* est fréquemment retrouvé dans le tractus génital féminin, provoquant une colonisation vaginale et/ou endocervicale ainsi que divers complications chez la femme enceinte, telles que les infections intra-amniotiques et puerpérales, et les infections néonatales, notamment la septicémie néonatale précoce et tardive (Vila, 2016).

Tableau 02: Classification taxonomique d'*E. coli* (Soumaila, 2012).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichiacoli</i>

2.1.2.3- *Pseudomonas aeruginosa*

Est un bacille fin, Gram négatif, non capsulée, non sporulée et mobile, la bactérie n'ont pas des besoins nutritionnels particuliers et peuvent se développer dans des milieux non enrichis en nutriments (Boumaza, 2019). Ayant une longueur entre 1 et 5 μm et une largeur de 0,5 à 1 μm (Chaker, 2012). Elle se déplaçant grâce à un flagelle polaire généralement unique, et elle dépourvu de spores et de capsules (Hafiane et Ravaoarino, 2008).

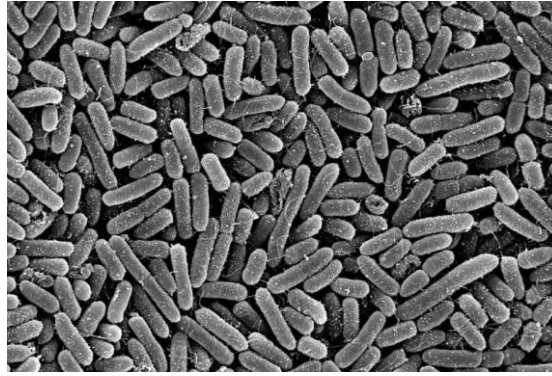


Figure 05: *P. aeruginosa* sous microscope électronique (Grabowski, 2024).

P. aeruginosa est largement répandu et suscite un intérêt particulier dans les domaines microbiologie médicale, alimentaire, aquatique et environnementale et agronomique (Meghdas *et al.*, 2003). Elle est généralement une cause fréquente d'infections nosocomiales, telles que la pneumonie, les infections du site opératoire, les infections urinaires, les Infections des voies respiratoires et la bactériémie. Sa prévalence est estimée entre 7,1 et 7,3 % parmi toutes les infections nosocomiales. La pneumonie constitue le site d'infection le plus courant, avec *P. aeruginosa* étant l'organisme le plus fréquemment identifié dans la pneumonie nosocomiale. Au cours de la dernière décennie, sa prévalence a augmenté notamment chez les patients en unités de soins intensifs, où il est responsable d'un pourcentage encore plus élevé d'infections nosocomiales (Reynolds *et al.*, 2021).

Tableau 03: Classification taxonomique de *P. aeruginosa* (Meghdas *et al.*, 2003).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2.1.2.4- *Staphylococcus aureus*

S. aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* et la cause la plus fréquente d'infections bactériennes dans le monde (Belkacem, 2018). *S. aureus* est immobile, non sporulé, à Gram positif, d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre (Taouatia, 2016).

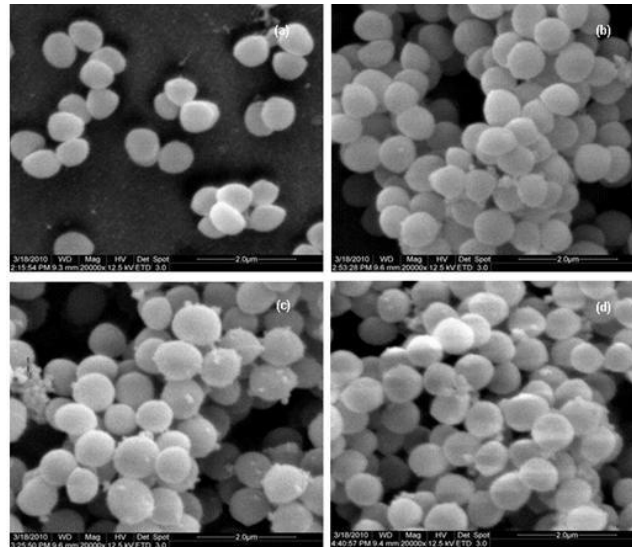


Figure 06: *S. aureus* observée au microscope (Sun et al., 2012).

Toutes les souches de *S. aureus* ont un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, produisent une coagulase, et une catalase mais pas d'oxydase, *S. aureus* sont des germes peu exigeants sur le plan nutritif et tolèrent de grandes variations, se cultivent facilement sur milieux usuels simples en aérobie comme en aérobiose dans des températures de 7 à 48,5 °C avec un optimale de 30 à 37 °C et un pH de 4,5 à 9,3 avec un optimal de 7 à 7,5 (Belkacem, 2018).

Tableau 04: Classification taxonomique de *S. aureus* (Belkacem, 2018).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

2.1.2.5- *Candida albicans*

C. albicans est un commensal présent chez environ 70% de la population humaine (Mavor et Hube, 2005). Elle colonise de manière asymptomatique les muqueuses vaginales, buccales et cutanées (Ghannoum et al., 2010; Drell et al., 2013; Merenstein et al., 2013). De plus, elle trouve une niche importante dans l'appareil digestif, étant un élément essentiel du microbiote humain (Kumamoto et al., 2020). Toutefois, malgré son statut de commensal, *C. albicans* est

un pathogène fongique opportuniste majeur, responsable de 6,8% des infections nosocomiales aux États-Unis (Rane *et al.*, 2013).



Figure 07: *C. albicans* sous microscope (Lagane, 2007).

C. albicans est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Coste *et al.*, 2003). Elle se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses (Lagane, 2007).

Tableau 05: Classification taxonomique de *C. albicans* (Buffo et Herman, 1984).

Domaine	<i>Fungi</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordre	<i>Saccharomycetales</i>
Famille	<i>Cryptococoidae</i>
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

2.1.3- Antibiotiques et résistance bactérienne

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter et prévenir les infections bactériennes. La résistance survient lorsque les bactéries évoluent en réponse à l'utilisation de ces médicaments.

2.1.3.1- Antibiotiques

Les antibiotiques sont les principaux moyens pour traiter les infections bactériennes et sont prescrits à une échelle mondiale (Badin *et al.*, 2024). Le terme antibiotique a été proposé pour la première fois par Selman-Waxmann en 1942 et fait référence à une substance chimique ou

biologique (produits par des bactéries ou des champignons), synthétiques ou semi-synthétiques, qui agissent spécifiquement sur des étapes importantes du métabolisme des micro-organismes (**Benmalek, 2009**). Pour combattre leur multiplication en inhibant leur croissance (effet bactériostatique) ou en les détruisant (effet bactéricide) (**Ahanogbe, 2014**). Les antibiotiques jouent un rôle crucial dans la préservation de la santé publique en améliorant le bien-être mondiale (**Vila, 2016**).

Tableau 06: Principaux modes d'action des grandes familles d'antibiotiques (**Yousfi, 2020**).

Mode d'action	Familles d'antibiotiques impliquées
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	β -lactamines, Glycopeptides (Vancomycine), Polypeptides (Bacitracine)
Inhibition de la synthèse ou du fonctionnement de la membrane plasmique	Polymyxines
Inhibition de la synthèse des protéines	Aminosides, Tétracyclines, Macrolides et Lincosamides
Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique (ADN)	Quinolones et certains Ansamycines
Inhibition du métabolisme intermédiaire (acide folique, impliqué dans la synthèse de nucléotides)	Sulfamides, Triméthoprim

2.1.3.2- Résistance bactérienne aux antibiotiques

Malgré l'efficacité des antibiotiques dans la lutte contre les maladies infectieuses, leur utilisation excessive conduit à une augmentation rapide de la résistance chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif (**Vila, 2016**).

Une bactérie est dite résistante à un antibiotique lorsque les taux nécessaires à inhiber sa croissance *in vitro* sont supérieurs aux taux qui peuvent être couramment atteints *in vivo*. On parle alors de résistance bactérienne quand un micro-organisme s'adapte au milieu et réussit à modifier son métabolisme pour continuer à se développer en présence de l'antibiotique qui devrait le détruire (**Ahanogbe, 2014; Amairi, 2021**).

Cette résistance réduit l'efficacité des traitements antibiotiques, rendant la prise en charge des patients coûteux, difficile, voire impossible dans certains cas. De plus, dans certaines situations, la résistance peut s'étendre à tous les médicaments disponibles (phénotypes pan-résistants), ce qui pose un défi majeur pour la thérapie antimicrobienne et nous ramenant presque à l'ère pré-antibiotique (**Vila, 2016**).

Ce phénomène de résistance est provoqué par plusieurs facteurs, notamment une utilisation sous-optimale des antibiotiques pendant le traitement. Leur apparition est également due à une hospitalisation prolongée, à un séjour prolongé, au non-respect des pratiques d'hygiène et au transfert de patients entre hôpitaux (**Bouyahya et al., 2017**).

La résistance naturelle et la résistance acquise sont les deux principaux types de la résistance bactérienne.

a) Résistance naturelle

Certaines bactéries ont une insensibilité générale vis-à-vis d'une molécule spécifique d'antibiotique ou à une classe d'antibiotiques, la résistance naturelle est une résistance stable, d'origine génétique à transmission verticale (**Amairi, 2021**). Les bactéries à Gram négatif sont naturellement résistantes à la pénicilline G (**Ahanogbe, 2014**).

b) Résistance acquise

La résistance acquise est une propriété spécifique n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre normalement sensibles, il arrive que certaines bactéries initialement sensibles à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques deviennent résistantes à celui-ci (**Ahanogbe, 2014; Amairi, 2021**). La résistance acquise peut être due à l'acquisition de gènes de résistance étrangers ou à la modification du génome bactérien par une mutation chromosomique (**Amairi, 2021**). Des souches de Staphylocoques normalement sensibles à la pénicilline, peuvent devenir résistantes à celle-ci par suite de production d'une enzyme : la pénicillinase qui hydrolyse le noyau bêta lactame rendant ainsi la molécule inactive (**Ahanogbe, 2014**).

2.1.4- Mécanismes de résistance bactérienne

Les bactéries développent différentes mécanismes pour résister l'action des agents antibactériens, les plus répandus sont l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible, la diminution de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique et l'efflux actif, des mécanismes comme la protection et la surproduction de la cible sont plus rares (**Yousfi, 2020**). Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance au même temps (**Bevilacqua, 2011**) (**Figure 8**).

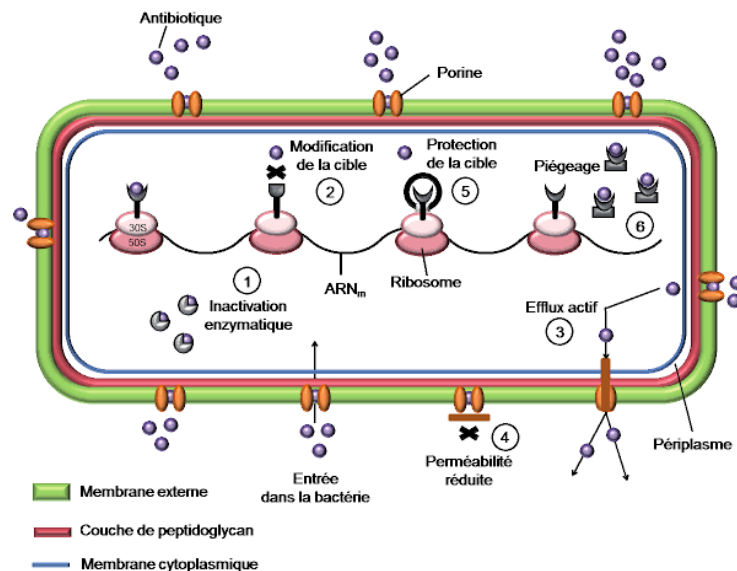


Figure 08: Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à gram négatif (Yousfi, 2020).

2.1.5- Biofilms

Dans les écosystèmes naturels, les micro-organismes vivent généralement au sein de communautés microbiennes appelées biofilms (Belkacem, 2018). Un biofilm est constitué de microorganismes adhérant à une surface ou une interface solide ou liquide, Ces microorganismes sont englobés dans une matrice généralement constituée de polymères extracellulaires ou EPS ("extrapolymeric substances") sécrétés par ces mêmes microorganismes (Figure 09) (El khatib, 2011; Belkacem, 2018).

Les bactéries se développent en biofilms sur une grande variété de surfaces telles que les métaux, les plastiques, les tissus vivants (tissus humains, feuilles et racines des végétaux), les surfaces minérales (pierres, bétons). Les biofilms peuvent être composés d'une seule espèce de bactérie ou de plusieurs espèces de bactéries, champignons, algues et protozoaires (Belkacem, 2018; Lachache, 2021).

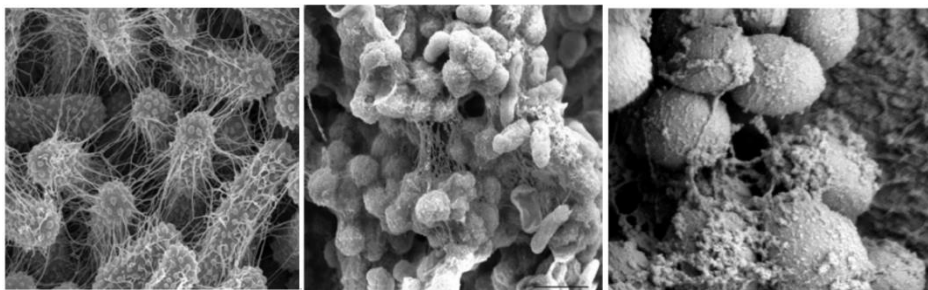


Figure 09: Biofilm observé sous microscope électronique à balayage (Lagrafeuille, 2016).

Les bactéries contenues dans les biofilms subissent des changements structuraux (tels que la disparition des flagelles, la production d'exopolymères, la mise en place d'un système de communication chimique "quorum sensing", une augmentation significative de leur résistance aux agents antimicrobiens (désinfectants ou antibiotiques) et aux stress environnementaux (déshydratation, privation nutritionnelle, rayonnements ultraviolets...), donc les bactéries contenues dans un biofilm présentent des caractéristiques très différentes de leurs homologues planctoniques (bactéries libres en suspension) (**Belkacem, 2018; Sharma et al., 2023**).

2.1.6- Nouvelles stratégies de lutte contre les bactéries résistantes

L'échec des antibiotiques est l'un des problèmes de santé les plus préoccupants au monde. C'est une crise internationale avec plusieurs problèmes, c'est pourquoi de nouvelles stratégies anti-infectieuses contre les bactéries multirésistantes (BMR) et persistantes sont nécessaires (**Pacios et al., 2020**). Plusieurs stratégies ont été réalisées pour lutter contre la résistance et la multi résistance.

2.1.6.1- Utilisation des peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (PAMs) sont synthétisés par un large éventail d'organismes vivants qu'il s'agisse de bactérie, d'être humains ou de plantes, tandis que d'autres sont conçus et synthétisés chimiquement en laboratoire (**Lemaoui et al., 2017; Pacios et al., 2020**). Ils constituent l'une des catégories d'agent anti-infectieux les plus prometteuses découvertes au cours de ces dernières décennies. En raison de leur large spectre d'action, de leurs effets bactéricides, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (**Lemaoui et al., 2017**).

Liu et al. (2019) ont étudié les applications potentielles des peptides cationiques dans la lutte contre les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et ont découvert certains peptides présentant une activité bactéricide modérée contre les ERV.

2.1.6.2- Phagothérapie

La phagothérapie est une approche antibactérienne qui consiste à utiliser des virus bactériens naturels (appelés bactériophages ou phages) qui infectent et lysent les bactéries pour traiter ou prévenir les maladies infectieuses, l'un des avantages de la phagothérapie par rapport aux antibiotiques à large spectre est sa haute spécificité envers les agents pathogènes bactériens cibles, sans effets indésirables sur l'hôte lui-même ou sur la flore commensale de l'hôte minimisant ainsi les effets secondaires (**Pacios et al., 2020**).

L'utilisation réussie de six phages lytiques de *P. aeruginosa* comme traitement pour une infection récurrente de la vessie chez une femme de 67 ans a été décrite (**Khawaldeh et al., 2011**), qui est très probablement causée par une bactérie multi-résistante de *P. aeruginosa*. L'effet thérapeutique était amélioré en commençant le traitement par un antibiotique une fois que les phages commençaient déjà à combattre les infections causées par *P. aeruginosa* (**Torres-Barceló et al., 2014; Chaudhry et al., 2017**).

2.1.6.3- Association avec des inhibiteurs des bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont des enzymes produites par des bactéries résistantes aux antibiotiques de la classe des bêta-lactames et qui neutralisent leur activité. Depuis plusieurs décennies, de nombreux inhibiteurs spécifiques de ces bêta-lactamases ont été développés et utilisés en combinaison avec des antibiotiques pour contrer le phénomène de la résistance, telles que l'acide clavulanique, sulbactam, tazobactam, avibactam et rélébactam (**Lemaoui et al., 2017**).

Une étude a démontré l'efficacité du traitement utilisant la combinaison de Rélébactam, un nouvel inhibiteur de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), en association avec l'imipénème, l'une des deux bêta-lactamines recommandées pour le traitement des infections causées par *Mycobacterium abscessus* (**Le Run, 2019**).

Une autre étude a confirmé que l'acide clavulanique est un excellent inhibiteur de BLSE. Selon une revue récente, amoxicilline-acide clavulanique pourrait potentiellement être efficace contre près de 50 % des souches *E. coli* BLSE-CTX-M (**Clouzeau et al., 2015**).

2.1.6.4- Plantes médicinales

Une plante médicinale fait référence à toute plante qui contient une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Radjah, 2020**).

Selon **Niass et al., (2015)**, des extraits obtenus à partir des plantes traditionnellement utilisées en médecine montrent une activité antibactérienne contre des souches de *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*

Moualek et al., (2022) ont montré clairement que les extraits aqueux de certaines plantes comme *Citrus limon* possèdent un potentiel antibactérien important et peuvent être une alternative thérapeutique des antibiotiques.

2.2- Plantes médicinales et huiles essentielles

Plusieurs médicaments à base de plantes médicinales et huiles essentielles ont été préparés pour traiter certaines maladies infectieuses ; à cause de leurs richesses en métabolites bioactifs.

2.2.1- Plantes médicinales

Selon la 11^{ème} édition en vigueur de la Pharmacopée Française, les plantes médicinales sont définies comme des drogues végétales, conformément à la définition de la Pharmacopée Européenne, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Ouedraogo et al., 2021**). Une plante médicinale se distingue d'une plante « classique » par la présence des principes actifs qui lui confèrent une action thérapeutique, mais également des effets indésirables, appelés toxicité, similaires à ceux des médicaments chimiques (**Limonier, 2018**).

Il est remarquable que plus d'un tiers des médicaments allopathiques utilisés actuellement soient dérivés de plantes médicinales. Par exemple, la morphine est extraite du Pavot à opium, l'acide acétylsalicylique du saule, la quinine de la Cinchona, et la vinblastine de la pervenche de Madagascar (**Limonier, 2018**). Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Radjah, 2020**).

Les plantes médicinales peuvent être utilisées entièrement ou partiellement (une partie de la plante seulement).

- Utilisation de la plante entière ou une partie de la plante sans avoir subi d'extraction physico-chimique préalable. Le terme de totum est alors employé pour désigner l'ensemble ou la partie de la plante utilisé. Le totum contient de nombreuses familles d'actifs agissant en synergie. Le patient peut l'ingérer sous forme de gélules contenant la poudre de plante, de comprimés ou de tisane (extraction des composés hydrosolubles) (**Limonier, 2018**).
- La totalité ou une partie d'une plante est soumise à une extraction physico-chimique, produisant ainsi un extrait liquide aqueux ou hydro-alcoolique, selon le solvant employé. Ce liquide est généralement asséché pour obtenir un extrait sec, concentré en principes actifs de la même famille chimique (**Limonier, 2018**).

Les métabolites sont les composés résultant du métabolisme des végétaux (ou d'animaux). Ils se divisent en deux catégories de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires (**Badiaga, 2012**).

2.2.1.1- Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont essentiels à la survie de la cellule ou de l'organisme, étant indispensables à leurs fonctions vitales (**Badiaga, 2012**). Ces métabolites primaires comprenant les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques, et jouent un rôle crucial dans le développement et la croissance des plantes, ainsi que dans leur adaptation à l'environnement et à leur résistance aux stress tels que la lumière UV, les insectes nuisibles, variation de la température...) (**Radjah, 2020**).

2.2.1.2- Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes. Ils sont généralement caractérisés par des faibles concentrations dans les tissus végétaux, sont bio-synthétisés à partir de métabolites primaires et jouent des rôles importants dans l'interaction des plantes avec leurs environnement, contribuant ainsi à la survie des organismes dans ses écosystèmes (**Mouas, 2018**). Mais ne sont pas essentiels à la survie cellulaire ou organique. Ces molécules, présentes en abondance et possédant une grande variété structurale, sont largement exploitées dans le domaine pharmaceutique et offrent de nombreuses applications pharmaceutiques (**Badiaga, 2012**).

a) Polyphénols

Les polyphénols, également connus sous le nom de composés phénoliques, représentent des molécules spécifiques produits par les plantes dans le cadre de leur métabolisme secondaire (**Achat, 2013**). Ils se trouvent à divers parties des plantes (les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les pollens, les fruits, les graines et les bois) à des proportions variables (**Radjah, 2020**). Le terme « phénol » englobe environ 10000 composés naturels identifiés, tous caractérisés par la présence d'au moins un noyau phénolique à six carbones, accompagné d'au moins un groupe Hydroxyle (OH) libre ou impliqué dans une autre fonction telles que les éthers, les esters ou les hétérosides (**Belkacem, 2018**) (**Figure 10**).

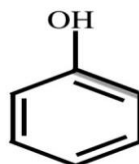


Figure10: Structure d'un groupement phénol (**Belkacem, 2018**).

Les polyphénols participent aux réponses de défense face à différents stress biotiques (pathogènes, blessures, symbiotiques) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, froid). Ils contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux notamment en termes de couleur, astringence, arôme, amertume (**Belkacem, 2018**).

Les phénols sont synthétisés par toutes les plantes et jouent un rôle important dans les défenses contre les microbes et les champignons chez les plantes, ils présentent des propriétés antimicrobiennes. Chez l'homme, les phénols et leurs dérivés présentent des intérêts pharmacologiques, mais à forte dose et/ou utilisés à l'état brut, ils sont hautement toxiques (**Elie, 2022**).

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont parmi les composés phénoliques les plus courants, caractérisés par un squelette de base à quinze atomes de carbone, composé de deux noyaux aromatiques A et B, à six atomes de carbones, liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C formant une structure C6-C3-C6 (**Achat, 2013**) (**Figure 11**). Ils jouent un rôle essentiel dans la pigmentation polyphénolique qui contribuent aux couleurs jaune, blanche, orange et rouge des fleurs et des fruits. À ce jour, plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été identifiés (**Radjah, 2020**).

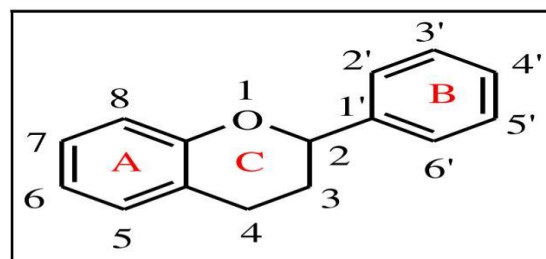


Figure 11: Squelette de base des flavonoïdes (**Radjah, 2020**).

c) Tanins

Les tanins sont des substances végétales appartenant à la famille des polyphénols, majoritairement hydrosolubles et d'origine végétale, qui ont la capacité de précipiter les protéines, les alcaloïdes et les polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse (**Radjah, 2020**). Ces substances polyphénoliques de structures diverses, sont très répandues dans le règne végétal et peuvent être présentes dans différents organes, avec une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés. Les tanins résident dans des vacuoles et peuvent être liés

à des protéines et des alcaloïdes. On distingue: les tanins hydrolysables (gallo tanins et ellagitanins) et les tanins non hydrolysables (condensés) (**Belkacem, 2018**).

d) Alcaloïdes

W. Meisner a introduit le terme « alcaloïde » au début du XIXe siècle pour désigner les substances naturelles qui réagissent comme des bases, similaires aux alcalis (**Badiaga, 2012**).

Un alcaloïde est un composé organique azotée naturel, le plus souvent d'origine végétale, ayant un caractère alcalin et une structure complexe. Son atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique, et les alcaloïdes démontrent souvent une activité pharmacologique significative, représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures (**Kherroubi, 2017**).

Initialement, on pensait que ces composés étaient exclusivement produits par le règne végétal, mais au fil du temps, certains alcaloïdes ont également été découverts chez certaines espèces animales (**Badiaga, 2012**).

On distingue généralement : les alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes et les proto-alcaloïdes (**Fettah, 2019**).

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes qui sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique, les pseudo-alcaloïdes, qui présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés et les proto-alcaloïdes sont des amines simples qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (**Fettah, 2019**).

e) Saponines

Les saponines constituent un ensemble de glycosides amphiphiles comprenant une ou plusieurs chaînes de sucre associé à un squelette de tri terpène non polaire ou une aglycone stéroïde, elles sont supposées être à l'origine des activités pharmacologiques observées dans de nombreuses plantes médicinales (**Chaieb, 2010; Ke Yu et al., 2012**).

f) Terpénoïdes

Les terpénoïdes représentent une catégorie distincte de terpènes qui incluent des molécules d'oxygène formées par des modifications biochimiques (élimination ou ajout de groupes

méthyle). Les terpénoïdes peuvent être divisés en alcools, aldéhydes, esters, éthers, époxydes, cétones et phénols. Parmi les exemples de terpénoïdes, on trouve : le carvacrol, le citronellal, le géraniol, le linalol, l'acétate de linalyle, la pipéritone, le menthol et le thymol. Ces composés bioactifs confèrent plusieurs activités biologiques telles qu'anticancéreuses, antiallergiques, antibactériennes et antioxydantes (**Masyita et al., 2022**).

2.2.2- Huiles essentielles (HE)

Les HE sont des mélanges complexes de composés naturels de structures organiques diverses obtenu à partir d'une matière végétale après séparation de la phase aqueuse par des procédures d'extraction telles que la distillation à la vapeur, l'hydro-distillation, l'hydro-diffusion et par l'extraction par des solvants...etc (**Goudjil, 2016; Bouyahya et al., 2017; Abdul Aziz et al., 2018**).

Ils se présentent comme des concentrés liquides renfermant une multitude de composés volatils, huileux, hydrophobes aromatiques, extraits de divers parties des plantes telles que les bourgeons, les fleurs, les fruits, les feuilles, les écorces, les racines, les graines, les brindilles ou même la plante entière (**Masyita et al., 2022**).

2.2.2.1- Propriétés physico-chimiques

Les HE sont généralement liquides à la température ambiante et souvent caractérisés par leur odeur forte distinctive caractéristique de la plante productrice (**Masyita et al., 2022**). Leur densité est plus souvent inférieure à celle de l'eau, elles sont volatiles, transportés par la vapeur d'eau, et transmettent des odeurs et généralement incolore notamment lorsqu'elles sont fraîches, mais quelques exceptions sont connues comme le jaune pâle (mandarine jaune), le bleu (camomille), l'orange (orange douce) et le vert (bergamote) (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**). Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et la plupart des solvants organiques et peuvent être facilement oxydables avec le temps en raison de l'exposition à l'air, la chaleur ou la lumière, ce qui donne une couleur foncée. Donc ils doivent être conservés dans un endroit frais et sec (**Goudjil, 2016; Masyita et al., 2022**).

2.2.2.2- Propriétés antibactériennes des huiles essentielles

L'HE et leurs principaux constituants sont révélés efficaces dans le contrôle de la propagation de divers agents bactériens. Leurs propriétés antibactériennes sont bien établies depuis longtemps, et de nombreuses publications de renom ont confirmé leur capacité à agir à la fois comme bactériostatique et bactéricide contre des souches bactériennes pathogènes, même à de très faibles concentrations (**Oussalah et al., 2007**). De nombreux composés

présentes dans les HE, notamment les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde), possèdent des propriétés antibactériennes (**Benkherara et al., 2011**). Les effets antibactériens sont influencés par divers facteurs tels que la composition chimique spécifique de l'HE testée, la méthode expérimentale utilisée et la souche bactérienne étudiée. L'action antibactérienne dépend à la fois des composés principaux, des effets synergiques et/ou additifs, ainsi que des composés mineurs présents dans l'huile (**Bouyahya et al., 2017**).

2.3- Plantes étudiées

Deux plantes ont été étudiées ; *Citrus limon* et *Peganum harmala*.

2.3.1- *Citrus limon*

Le citronnier est un arbre qui atteint 2,5 à 3 m de haut appartenant à la famille des Rutacées (**FAO, 2010**). Originaire du sud-est asiatique, et cultivé dans toutes les régions du monde aux climats méditerranéens et subtropicaux (**Belkacem, 2018**).

Les caractéristiques de cette plante sont classées dans le tableau 07.

Tableau 07: Caractéristiques généraux de *C. limon* (**Nerovique et al., 2011; Belkacem, 2018**).

Feuilles	Persistantes avec une forme oblongue lancéolée de couleur vert foncé. Présentent un limbe nettement articulé et un pétiole nettement ailé
Fleurs	Regroupées en petits groupes Axillaires Des pétales blancs violacés
Fruits	Forme ovale, avec un mamelon plus au moins apparent à leurs extrémités. L'écorce fine est colorée en jaune à maturité du fruit, Pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences et recouvre la pulpe.



Figure 12: Différentes parties de la plante *C. limon* (**Belkacem, 2018**).

2.3.1.1- Classification botanique

C. limon est une espèce d'arbre fruitier appartenant à la famille de *Rutacées* (Tableau 8).

Tableau 08: Classification botanique de *C. limon* (Padrini et Lucheroni, 1996).

Règne	<i>Plantae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus limon</i>

2.3.1.2- Composition chimique

Les constituants chimiques principaux de *C. limon* sont les flavonoïdes, les acides organiques (acide citrique, acide malique), le glucose, le saccharose, les vitamines (vitamine C, vitamine A), les minéraux et matières générales (le sodium, le fer, le phosphore, les protéines, les glucides, les lipides ...etc.) et les huiles essentielles (Goetz, 2014).

2.3.1.3- Utilisation traditionnelle et médicale de *C. limon*

C. limon est très commun du fait de leurs usages divers et courants dans la médecine traditionnelle en Afrique subsaharienne, Il est associé avec autres plantes pour traiter des maladies, par exemple en Burkina Faso le jus de 5 citrons (*C.limon*) sont utilisés avec les feuilles d'autres plantes comme *Guiera senegalensis* et *Eucalyptus camaldulensis* pour le traitement de la toux (Vroh, 2020).

2.3.1.4- Activités biologiques de *C. limon*

C. limon est connu par la variation de ces activités biologiques.

a) Activité anti-inflammatoire

Une étude de (Menthey *et al.*, 2001) a démontré que les flavonoïdes présents dans les agrumes possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Ces composés sont capables d'inhiber les kinases et phosphodiesterases essentiels pour l'activation et la transduction des signaux cellulaires. Ils ont également un impact sur l'activation de certain nombre de cellules impliquées dans la réponse immunitaire, y compris les lymphocytes T et B.

b) Activité antidiabétique

Une étude de (Mantur *et al.*, 2023) a révélé que l'extrait de citron peut réduire le taux de sucre dans le sang. L'analyse histopathologique a montré une amélioration significative de la

distribution des cellules β et une diminution de la vacuolisation dans les îlots de Langerhans des souris traitées avec l'extrait de citron. Aucune différence significative n'a été observée entre les différentes doses d'extrait de citron ($p > 0,05$).

Une autre étude de **Naim et al. (2012)** a indiqué que l'extrait hexanique de zeste de citron présente des effets antidiabétiques, comparable à ceux du glimépiride. Ces effets sont significatifs et se manifestent par une réduction significative de taux de sucre dans le sang chez les rats diabétiques induit par l'alloxane. Ainsi, il est raisonnable de conclure que l'extrait de zeste de citron possède des propriétés antidiabétiques significatives.

c) **Activité antioxydante**

Les agrumes sont connus pour leur richesse en substances antioxydantes, et les écorces de citron en particulier renferment une variété de composés bénéfiques, tels que les flavonoïdes, les vitamines, les minéraux, les aliments diététiques fibres, HE, Acides organiques et Caroténoïdes (**Goetz, 2014**). Les propriétés antioxydant remarquable des extraits d'écorces de citron sont ainsi attribuées à la présence de ces éléments constitutifs (**Younus, 2023**).

d) **Activité antibactérienne**

Une étude a démontré que l'extrait de zeste de citron, notamment sous forme éthanolique, possède une activité antibactérienne significative contre *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *S.aureus* et *C.albicans*. Cet extrait était efficace pour inhiber la croissance de ces micro-organismes, avec une inhibition particulièrement prononcée contre *S. aureus* (**Younus, 2023**).

e) **Activité antifongique**

Une étude de (**Ammad et al., 2018**) vise à examiner l'activité antifongique (AA) *in vitro* de l'huile essentielle de *C.limon* contre trois champignons phytopathogènes (*Eutypa spp.*, *Fomitiporiamediterranea* et *Botryosphaeria dothidea*) qui affectent les arbres de vigne. Les résultats ont été révélés que l'HE présente une activité antifongique significative contre ces champignons étudiés attaquant le bois de la vigne, suggérant son potentiel pour le contrôler des maladies fongiques en agriculture.

2.3.2- *Peganum harmala*

P.harmala est une plante herbacée, vivace, glabre (sans poils), avec une apparence buissonnante, de 30 à 90 cm de hauteur, a rhizome épaisse, à odeur forte, désagréable qui rappelle celle de la rue (**Hammiche et al., 2013**). De la famille des zygothyllacées ou *Zygothyllaceae* qui est une petite famille de plantes dicotylédones et angiospermes qui

rassemble plus ou moins 240 espèces, se développe principalement dans les zones arides des régions tropicales et subtropicales (**Sassoui, 2016**).

Les espèces de *Peganum* sont largement répandues en méditerranée, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient, en Inde, dans le sud de l'Iran, en Pakistan et au Nord de la Chine (**Shaheen et al., 2022**).

Le genre *Peganum* tient son nom du grec et est attribué aux espèces de la rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérive de celui de la ville Libanaise Hermel. Cette plante s'appelait en français, rue sauvage, rue verte et pegane. Les arabes l'ont appelé harmel, armel et bizrel harmel. En Algérie, elle est connue par le nom harmel et harmel sahari (**Sassoui, 2016**).

Les caractéristiques de cette plante sont classées dans le tableau 9.

Tableau 09: Caractéristiques généraux de la plante *P. harmala* (**Hammiche et al., 2013; Sassoui, 2016; Nissar et al., 2017**).

Feuilles	Forme palmatisée avec 3 à 5 lobes linéaires. Mesurant entre 3 et 6 cm de longueur et 1,5 à 3mm de largeur.
Fleurs	Poussant en groupes de 1 à 3 au sommet des branches. Portent des pétales de couleur jaune blanchâtre.
Fruits	Forme de capsules globuleuses, avec 3 compartiments D'un diamètre compris entre 0,9 et 1,3 cm. Chaque capsule renferme de 35 à 45 graines anguleuses de couleur noirâtres
Tiges	Dressées, très rameuses, qui disparaient durant l'hiver. Chez les plantes adultes, la tige est rigide, droite, ramifiée et glabre et la racine est oblongue, dure et garnie de fibres.
Graines	Petites ont environ 1 mm Anguleuses et sub-triangulaires. De couleur marron foncé tirant sur le rouge. D'une saveur amère.

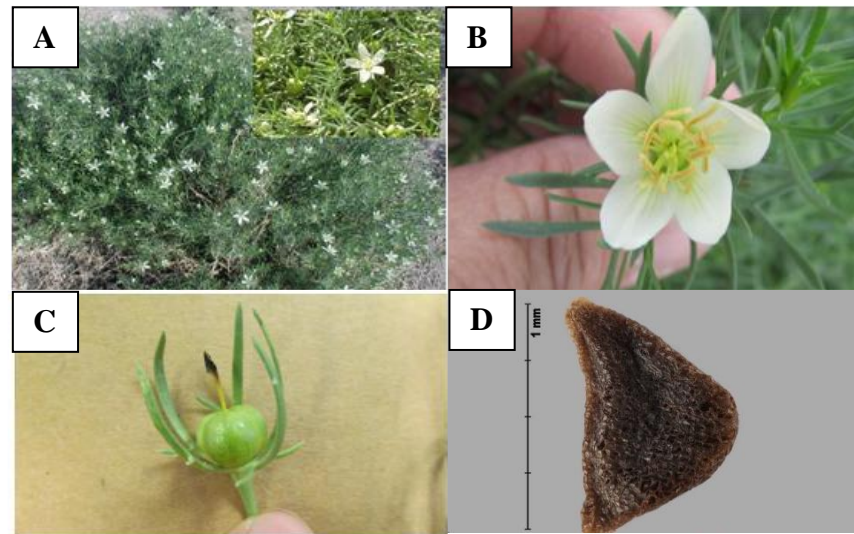


Figure13: *Pegalum harmala* ; (A) Plante entière, (B) Fleure, (C) fruit, (D) graine (**Guergour, 2018**).

2.3.2.1- Classification botanique de *P. harmala*

P. harmala appartient à la famille des *Zygophyllaceae*. La classification botanique de *P. harmala* est indiquée dans le tableau 10.

Tableau10: Classification botanique de *P. harmala* (**Ozenda, 1991**).

Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Zygophyllaceae</i>
Genre	<i>Pegalum</i>
Espèce	<i>Pegalum harmala</i>

2.3.2.2- Composition chimique

Des tests chimiques ont été effectués à l'aide d'un extrait hydro-éthanolique de *P. harmala* afin de détecter la présence de divers phytoconstituants tels que des terpènes, des flavonoïdes, des saponines, des stéroïdes, des glycosides cardiaques, des protéines, des glucides, des alcaloïdes, des tanins et des composés phénoliques (**Shaheen et al., 2022**).

Plusieurs alcaloïdes ont été identifiés, principalement dans les graines et les racines de *P. harmala* notamment des dérivés d'harmine, d'harmaline, d'harman et de quinazoline, vasicine et vasicinone (Nissar *et al.*, 2017).

2.3.2.3 -Utilisation traditionnelle et médicale de *P. harmala*

Depuis longtemps, *P. harmala* est renommé dans la médecine traditionnelle pour son utilisation en tant que remède pour traiter une variété de problèmes (Nissar *et al.*, 2017).

Son fruit est largement utilisé dans les pratiques de médecine traditionnelle pour traiter diverses affections dans les régions où la plante pousse naturellement. En effet, le fruit est utilisé comme antiseptique et analgésique dans la médecine traditionnelle. De plus, il possède un large éventail de propriétés pharmacologiques telles que narcotique, altérante, antihelminthique, anti périodique, émétique et antispasmodique. Historiquement, *P. harmala* a été utilisé pour traiter divers conditions médicales telles que la jaunisse, les troubles menstruels, le lumbago, les coliques, l'asthme et comme stimulant. Les graines de cette plante ont également des propriétés hallucinogènes et hypothermiques (Shaheen *et al.*, 2022).

Cette plante a été utilisée dans le traitement de divers dysfonctionnements du système nerveux tels que la maladie de Parkinson en psychiatrie (Nissar *et al.*, 2017).

2.3.2.4- Activités biologiques de *P. harmala*

Différentes activités biologiques de *P. harmala* ont été démontrées.

a) Activités anti-inflammatoires et analgésiques

Les recherches de (Majid, 2018) ont démontré que l'huile extraite des graines de *P. harmala* a présenté une activité anti-inflammatoire notable, associée à un léger effet analgésique local. Ces propriétés sont principalement attribuées à sa richesse en acide Linoléique, γ -tocophérol, et polyphénols et à son importante capacité antioxydante.

b) Activité antidiabétique

Les résultats des recherches de (Singh *et al.*, 2008) n'ont clairement démontré que l'extrait éthanolique de graines de *P. harmala* provoque une diminution significative ($P < 0,001$) de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques, à des doses variées (150 et 250 mg/kg). De plus, les données ont révèlent également que cet extrait est aussi efficace comme la metformine, un médicament hypoglycémiant oral bien connu, pour réduire la glycémie après

une stimulation au saccharose chez des rats normaux et diabétiques induits par la streptozotocine (Singh *et al.*, 2008).

c) Effet cardio-vasculaire

L'une des utilisations les plus répandues de *P. harmala* en médecine est son traitement de l'hypertension et des maladies cardiaques à l'échelle mondiale. Ce bénéfice est largement attribué à la présence de ses principaux alcaloïdes actifs : harmine, harmaline, harman et harmalol (Milad *et al.*, 2013).

d) Activité antioxydante

L'extrait méthanolique des feuilles de *P. harmala* a montré une activité antioxydante considérablement élevée, probablement attribuable en grande partie à la présence de composés phénoliques, notamment, les flavonoïdes et les tanins (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

e) Activités antibactériennes et antifongiques

L'une des caractéristiques importantes des alcaloïdes de *P. harmala* réside dans leur potentiel bactéricide, qui est similaire à celui des antibiotiques usuels, mais sans les nombreux effets secondaires indésirables. Une étude de (Nenaah *et al.*, 2010) a montré la sensibilité de certaines souches bactériennes à ces alcaloïdes. Par exemple, l'harmine s'est révélée efficace contre des espèces telles que *Proteus vulgaris* et *Bacillus subtilis*.

Dans une étude, il a été constaté que l'extrait méthanolique avait une activité antibactérienne supérieure celle des extraits de chloroforme et de pétrole contre tous les micro-organismes testés, à savoir *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Proteus vulgaris* (Majid, 2018). Dans une évaluation *in vitro*, l'activité antifongique de *P. harmala* a été examinée sur six espèces de *Candida* et trois espèces *Aspergillus*. Il a été observé que l'extrait alcoolique de graines de *P. harmala* était particulièrement efficace comme inhibiteur de croissance, Surtout sur *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).

Il est conclu que *P. harmala* et ses alcaloïdes pourraient être une option prometteuse dans la lutte contre les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (Arshad *et al.*, 2008).

Matériel et méthodes

3-Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biologie végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (FSNV), université Frères Mentouri, Constantine 1 (UFMC1).

Ce travail est basé principalement sur une étude qualitative (screening phytochimique) afin de caractériser les différents métabolites primaires et secondaires constituent les deux plantes ; écorces de *Citrus limon* (*C. limon*) et graines de *Peganum harmala* (*P. harmala*). Suivi par l'extraction des métabolites bioactifs par deux méthodes différentes ; macération par éthanol (EtOH) et hydro-distillation par clévenger pour l'huile essentielle (HE) des écorces de (*C. limon*). Continu par une étude quantitative (dosage colorimétrique) afin de doser les composés phénoliques. Enfin, les activités biologiques ; le pouvoir antioxydant avec les activités antimicrobiennes (sur plusieurs germes pathogènes) et antibiofilm des extraits EtOH et de l'HE à différentes concentrations ont été évaluées.

3.1- Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* (**Figure 14**). Le *C. limon* a été récolté le 26 Février 2024 de la région de Zouaghi Slimane, wilaya de Constantine. Les graines de *P. harmala* ont été achetées chez un herboriste de la wilaya de Constantine. L'identification de deux plantes a été authentifiée par l'enseignante NOUIOUA Wafa (Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques, Faculté des Sciences de la Vie et des Sciences Naturelles, Université de Sétif 1).



Figure 14: Partie aérienne de *C. limon* (A) et graines de *P. harmala* (B).

3.1.1- Préparation des plantes

Les écorces de *C. limon* ont été enlevées, découpées puis séchées à l'abri de la lumière dans un endroit aéré, non humide et à température ambiante pendant sept jours. Ensuite, les écorces de *C. limon* et les graines de *P. harmala* sèches ont été pulvérisées au broyeur électrique pour obtenir une poudre fine (**Figure 15**).

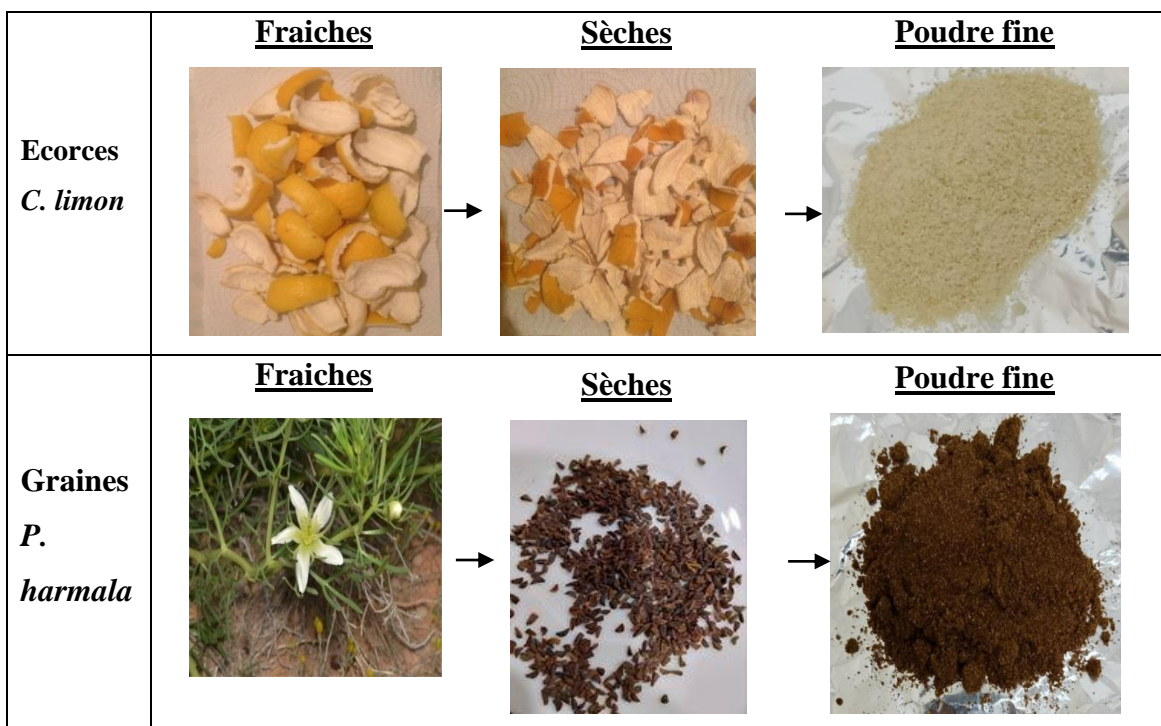


Figure 15: Préparation des broyats des deux plantes ; *C. limon* et *P. harmala*.

3.2- Analyses phytochimiques

Le criblage phytochimique, l'extraction des métabolites bioactifs ; composés phénoliques et huile essentielle ; et le dosage colorimétrique des composés phénoliques ; polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés ; des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* ont été effectués.

3.2.1- Screening phytochimique

Pour une identification préliminaire des substances chimiques ; métabolites primaires et secondaires ; présentes dans les plantes étudiées, plusieurs tests de caractérisation basés sur des réactions de précipitation ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques ont été établis (**El-Haoud et al., 2018**).

3.2.1.1- Métabolites primaires

a- Détection des sucres (test de Fehling)

La détection des sucres a été effectuée selon le protocole décrit par **El-Haoud et al. (2018)**. 1 ml de la solution de Fehling (A et B) a été ajouté à 1 ml de l'extrait éthanolique (EtOH) de chaque plante. Après une ébullition à 100°C dans un bain marie pendant 10 minutes, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres.

b- Détection des protéines et des acides aminés (Test de ninhydrine)

Les protéines et les acides aminés ont été détectés suivant le protocole de **Bashir *et al.* (2016)**. 2 ml de la solution de ninhydrine à 0,2% ont été ajoutés à 2 ml de l'extrait EtOH de chaque plante. Puis, le mélange a été mis dans un bain marie à 45°C pendant 15 minutes. L'apparition d'une couleur violette indique la présence des acides aminés et des protéines.

3.2.1.2- Métabolites secondaires**a- Détection des polyphénols et des tanins**

La présence des polyphénols et des tanins est mise en évidence en ajoutant quelques gouttes de la solution de chlorure ferrique (FeCl₃) à 1 ml de l'extrait EtOH de chaque plante. L'apparition d'une couleur verte foncée ou bleue noirâtre montre l'existence des polyphénols et des tanins (**Pandey *et al.*, 2011**).

b- Détection des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été détectés suivant le protocole de **Pandey *et al.* (2011)**. 1 ml de la solution de NaOH à 10% a été ajouté à 1 ml de l'extrait EtOH de chaque plante. Puis quelques gouttes de HCl ont été additionnées. La formation d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes.

c- Détection des alcaloïdes (Test de Wagner)

La détection des alcaloïdes a été effectuée suivant le protocole de **Kale (2020)**. Quelques gouttes de réactif de Wagner ont été ajoutées à 1 ml de l'extrait EtOH de chaque plante. L'apparition d'une précipitation brune rougeâtre révèle la présence des alcaloïdes.

d- Détection des saponines

Pour la détection des saponines, les extraits aqueux ont été préparés par décoction. 30 g de la poudre de chaque plante ont été mis dans un bécher, puis 300 ml de l'ED ont été ajoutées. Les mélanges ont été ensuite portés à ébullition dans un bain-marie à 100°C pendant 15 à 20 minutes. Après un refroidissement à température ambiante, une filtration par papier filtre (Wattman N°1) a été effectuée (**El-Haoud *et al.*, 2018**). Ensuite, dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 ; 1, 2, 3,.... et 10 ml de l'extrait aqueux pour chaque plante ont été introduits respectivement. Le volume de chacun a été ajusté à 10 ml avec l'eau distillée. Chaque tube a été agité pendant 15 secondes. Après 15 min la hauteur de la mousse produite a été mesurée dans chaque tube.

Les saponines sont caractérisées par un indice de mousse. Après agitation, la hauteur de mousse a été mesurée. L'indice de mousse (I) est calculé par la formule suivante :

I = 1000/N

N : le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm.

Un indice de mousse supérieur à 100 indique la présence des saponines (**El-Haoud et al., 2018**).

e- Détection des stéroïdes (Test de Salkowski)

Les stéroïdes ont été détectés comme suit ; 2 ml de chloroforme, 2 ml d'acide sulfurique H₂SO₄ concentré et 2 ml d'acide acétique ont été ajoutés à 2 ml de l'extrait EtOH de chaque plante. L'apparition d'un anneau rougeâtre indique la présence des stéroïdes (**Mehmood et al., 2021**).

f- Détection des terpénoïdes

2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré ont été additionnés à 5 ml de l'extrait EtOH de chaque plante. La couleur brune rougeâtre formée montre la présence des terpénoïdes (**Bashir et al., 2016**).

g- Détection des glycosides cardiaques (Test de Keller-Killani)

2 ml d'acide acétique contenant 1 à 2 gouttes de FeCl₃ et 1 ml d'acide sulfurique ont été ajoutés à 2ml d'extrait EtOH de chaque plante. La coloration brune indique la présence des glycosides cardiaques (**Bashir et al., 2016**).

h- Huiles essentielles

La détection des huiles essentielles de chaque plante a été réalisée par l'hydro distillation. L'apparition des gouttes d'huile à la surface de l'hydrolat indique la présence d'huile essentielle.

3.3- Préparation des extraits

L'extrait éthanolique (EtOH) de chaque plante ; écorces de *C. limon* et graines de *P. harmala*, ainsi que l'huile essentielle (HE) des écorces de *C. limon* ont été préparés.

3.3.1- Extraits éthanoliques

Les extraits EtOH ont été préparés par macération (**Figure 16**) où la méthode décrite par **Saada (2023)** a été effectuée. 30 g de la poudre de chaque plante ont été mis dans un Erlenmeyer, puis 300 ml d'EtOH ont été ajoutés. Les mélanges ont été agités vigoureusement par l'agitateur magnétique pendant 2 heures. Après 24 heures, les macéras obtenus ont été centrifugés pendant 10 min à 4000 t/min à température ambiante. Ensuite, les mélanges obtenus ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre (Wattman N° 1). Cette opération a été répétée trois fois. Les filtrats obtenus ont enfin été concentrés à 45°C jusqu'à l'obtention des extraits secs.

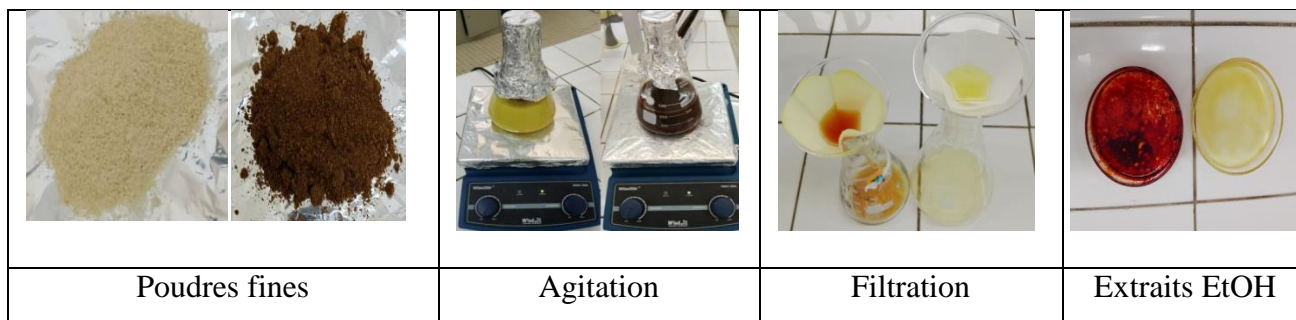


Figure 16: Différentes étapes d'extraction par macération (extraits EtOH).

3.3.2 - Huile essentielle

L'HE des écorces de *C. limon* a été extraite par hydro-distillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger pendant 2 heures (**Figure 17**). Dans un ballon de 2L, 200 g des écorces fraîches découpées en morceaux ont été mis en contact direct avec 1L d'eau distillée (ED). Le mélange a ensuite été porté à l'ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'HE traversent les tubes à un réfrigérant et se condensent, à cause de différence de densité, l'HE a été séparée de l'eau et collectée par décantation (**Abdul Aziz et al., 2018**).

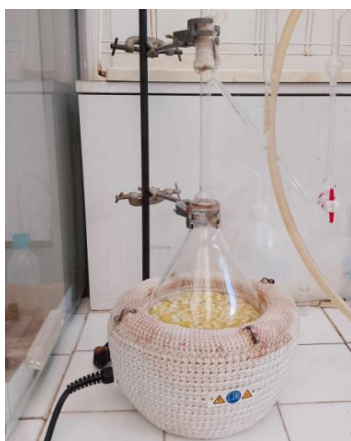


Figure 17: Extraction d'HE des écorces de *C. limon* par hydro-distillation.

3.4- Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction (Rd%) est le rapport entre la masse des extraits obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter. Le Rd% de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante (**Akabassi et al., 2021**).

$$\text{Rd (\%)} = m / M \times 100$$

Rd% : Rendement exprimé en %.

m: Masse en gramme de l'extrait sec / Volume en μL de l'huile essentielle.

M : Masse sèche initiale en gramme de matériel végétal.

3.5- Dosage colorimétrique des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés dans les extraits EtOH de deux plantes a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre.

3.5.1- Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits EtOH de deux plantes a été estimée selon la méthode colorimétrique de **Boucif *et al.* (2023)** en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Figure 18**).

a) Principe

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstique (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de NaCO_3 . Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celles obtenues par un étalon d'acide gallique de concentrations connues (**Dif *et al.*, 2015**).

b) Mode opératoire

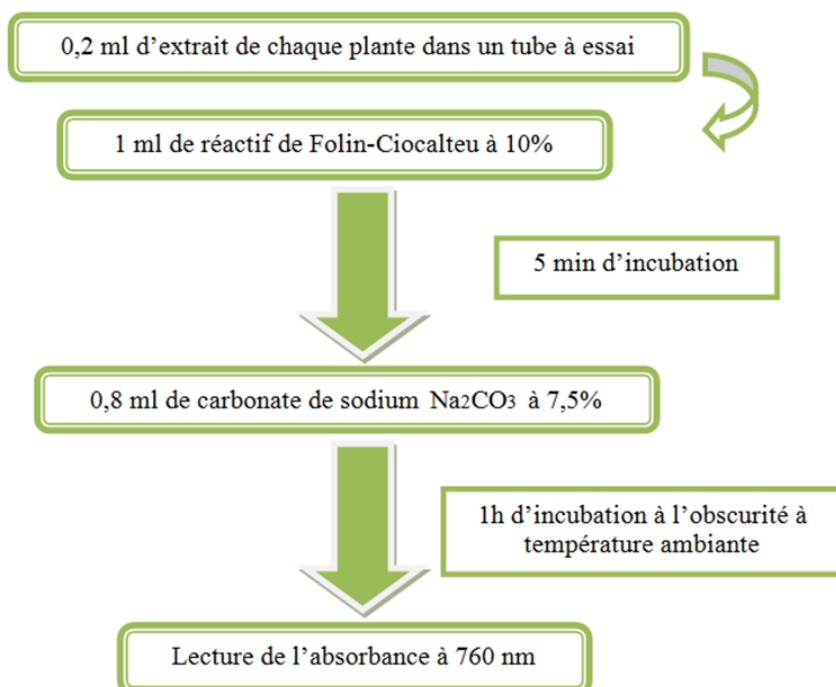


Figure 18: Protocole de dosage des polyphénols totaux (**Boucif *et al.*, 2023**).

La même opération (**Figure 18**) a été effectuée pour l'acide gallique à différentes concentrations (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 $\mu\text{g/ml}$) où la courbe d'étalonnage a été tracée. Le blanc a été également préparé suivant le même protocole en remplaçant la solution d'extrait avec l'éthanol.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

3.5.2- Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits EtOH a été estimée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par **Ghedadba et al. (2014)** (**Figure 19**).

a) Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le réactif (AlCl_3), elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 430 nm. La comparaison de l'absorbance observée à celles obtenues par un étalon de quercétine de concentrations connues permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes (**Dif et al., 2015**).

b) Mode opératoire

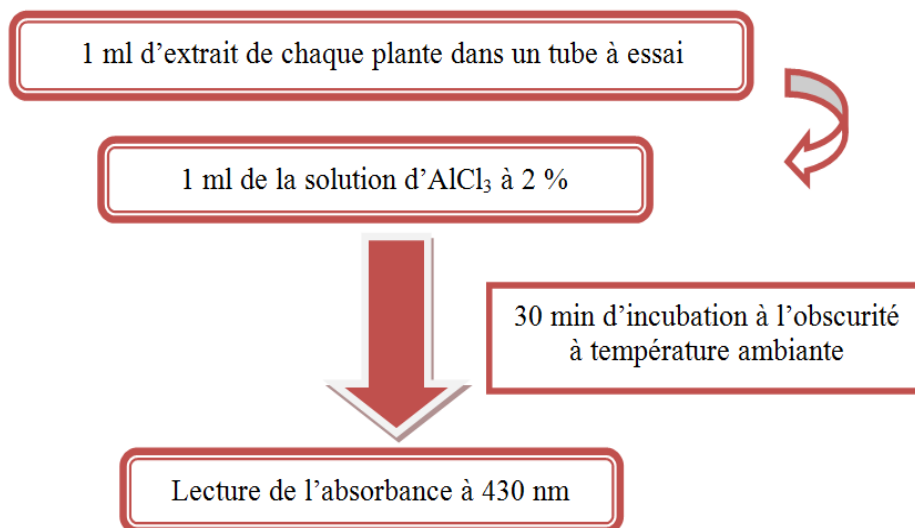


Figure 19: Protocole de dosage des flavonoïdes totaux (**Ghedadba et al., 2014**).

La courbe d'étalonnage du standard a été tracée en utilisant la quercétine à différentes concentrations (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,10 mg/ml). Le blanc a été également préparé en mélangeant 1 ml d'EtOH avec 1 ml d' AlCl_3 . La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

3.5.3- Dosage des tanins condensés

La quantité des tanins condensés est déterminée par la méthode de vanilline en milieu acide décrite par **Boucif et al. (2023)** (**Figure 20**).

a) Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine. Le dosage des tanins condensés est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celles obtenues par un étalon de catéchine de concentrations connues (Tili *et al.*, 2020).

a) Mode opératoire

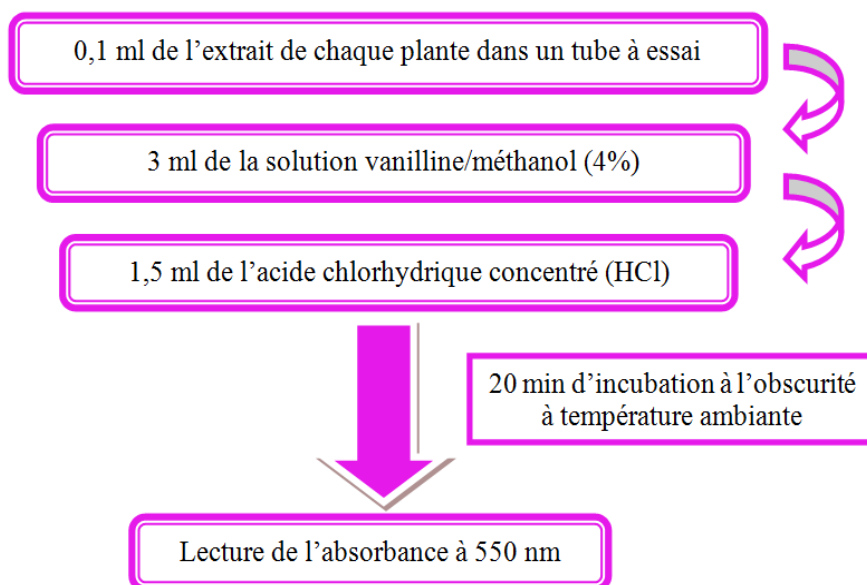


Figure 20: Protocole de dosage des tanins condensés (Boucif *et al.*, 2023).

La courbe d'étalonnage du standard a été obtenue à partir de l'absorbance de la catéchine à différentes concentrations (0,06 ; 0,12 ; 0,18 ; 0,24 ; 0,3 $\mu\text{g/ml}$). Le blanc a été préparé suivant le même protocole (Figure 20) en remplaçant la solution d'extrait avec l'éthanol. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

3.6- Activités biologiques

Quelques activités biologiques des extraits obtenus ont été évaluées ; antioxydante, antimicrobienne et antibiofilm.

3.6.1- Activité antioxydante

Deux méthodes différentes ; DPPH et FRAP, ont été choisies pour évaluer la capacité antioxydante des extraits obtenus ; extraits EtOH de deux plantes et HE de *C. limon*.

3.6.1.1- Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire a été déterminée par la méthode de DPPH décrite par Boucif *et al.*, (2023) avec quelques modifications (Figure 22).

a) Principe

La méthode de mesure du pouvoir antioxydant par le DPPH (2,2-Diphényl-picrylhydrazyle) repose sur la capacité d'une substance à réduire le radical DPPH. Cette réduction entraîne un changement de couleur de la solution, passant du violet au jaune en présence d'un composé anti radicalaire. La réaction est ensuite évaluée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotomètre à 517 nm. Ce changement de la couleur, du violet au jaune, est proportionnel au pouvoir antioxydant de la substance testée (Hama *et al.*, 2019).

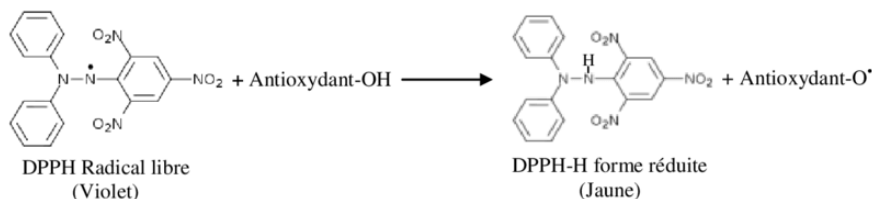


Figure 21: Réduction de DPPH par antioxydant (Hama *et al.*, 2019).

a) Mode opératoire

Cette méthode consiste à la préparation de différentes dilutions (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 et 0,1 mg/ml) des extraits EtOH de deux plantes, de l'HE des écorces de *C. limon* et de l'acide ascorbique (standard). Les extraits ont été testés contre un blanc qui contient l'éthanol et la solution méthanolique de DPPH incubés dans les mêmes conditions (Figure 22).

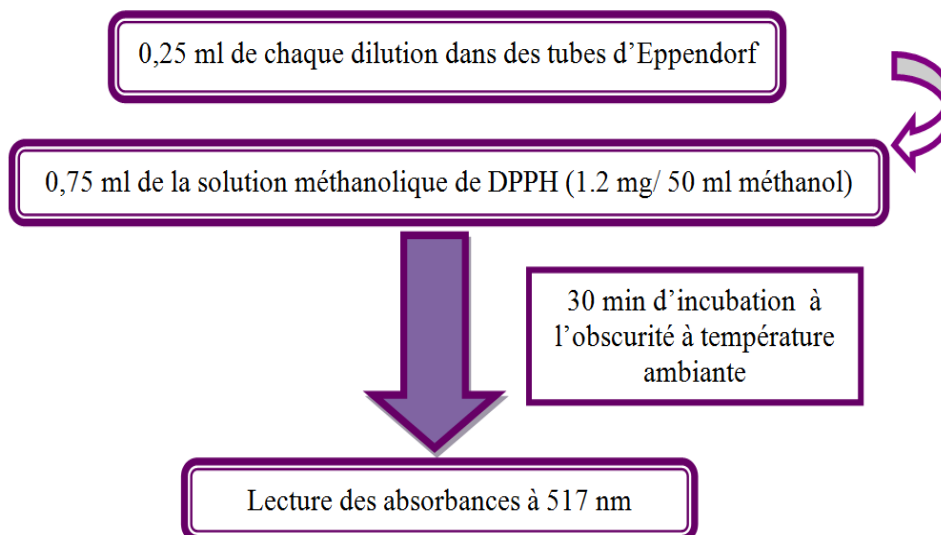


Figure 22: Protocole de piégeage du radical DPPH (Boucif *et al.*, 2023).

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \frac{(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}})}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \times 100 \quad (\text{Boucif } et \text{ al.}, 2023).$$

Abs_{contrôle} : Absorbance du contrôle positif (Solution DPPH sans extrait).

Abs_{échantillon} : Absorbance de l'échantillon.

Les résultats sont exprimés par la concentration inhibitrice de 50% (IC₅₀) qui est la concentration nécessaire de l'échantillon testé pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC₅₀ ont été calculées graphiquement à partir des équations de régression linéaire tracées. La plus faible IC₅₀ indique la plus forte activité antioxydante (Khalafallah *et al.*, 2010 ; Fidrianny et Ruslan, 2016 ; Yuniarti *et al.*, 2020).

3.6.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'ion ferrique des échantillons a été déterminé selon la méthode décrite par Cherfia *et al.* (2020) (Figure 23).

a) Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est corrélé à son activité antioxydante. Cette méthode a été développée pour évaluer la capacité des extraits à convertir le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en Fer ferreux (Fe²⁺) [Fe³⁺ + e⁻ → Fe²⁺]. Le fer ferrique, initialement jaune, subit une réduction et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. La transition de la coloration jaune à bleu ou vert est directement liée à l'activité antioxydante (Hama *et al.*, 2019).

a) Mode opératoire

Différentes dilutions (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg/ml) des extraits EtOH de deux plantes, de l'HE des écorces de *C. limon* et de l'acide ascorbique (AA) ont été préparées.

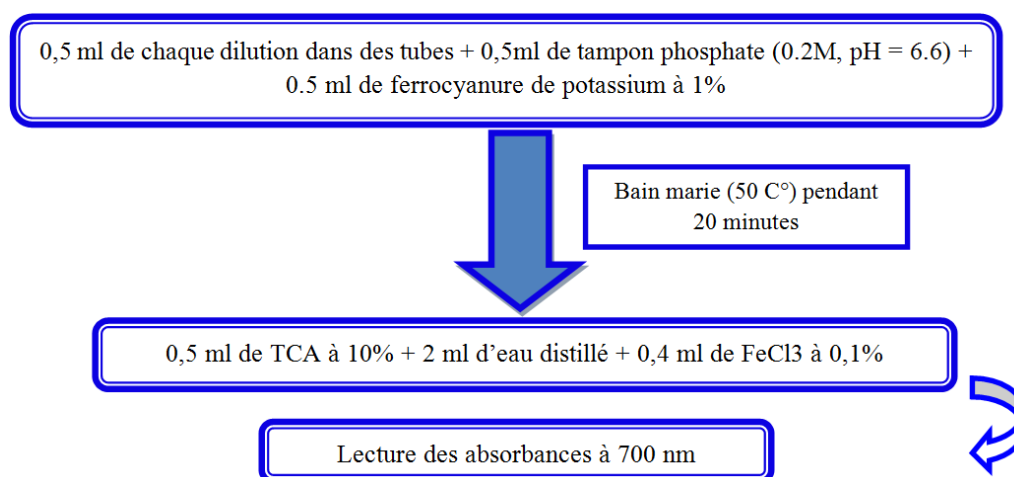


Figure 23: Protocole de pouvoir réducteur du fer (Cherfia *et al.*, 2020).

Le blanc a été préparé suivant le même protocole (Figure 23) en remplaçant l'extrait par l'éthanol. Le pouvoir réducteur des extraits obtenus (EtOH et HE) et de l'AA est estimé par les valeurs de l'EC₅₀ qui sont calculées à partir des équations de régression des courbes d'absorbance. L'absorbance est directement proportionnelle au pouvoir réducteur, la plus grande absorbance d'un mélange correspond à un bon pouvoir réducteur (Cherfia *et al.*, 2020 ; Ayad *et al.*, 2022).

3.6.2- Activité antimicrobienne

Pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des extraits obtenus à partir de deux plantes étudiées ; extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*, HE des écorces de *C. limon*, et même la combinaison de deux extraits EtOH ; la méthode de diffusion sur milieu solide en puits a été effectuée afin de tester la sensibilité des souches examinées et également déterminer les CMI et les CMB.

a) Souches microbiennes testées

Cinq souches microbiennes dont quatre bactéries ; deux à Gram positif '*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*S. aureus*), *Bacillus spp.* et deux à Gram négatif '*Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 8626 (*P. aeruginosa*), *Escherichia coli* NCTC 10538 (*E. coli*)' avec une levure ; *Candida albicans* ATCC 10231 (*C. albicans*) ont été utilisées dans la présente étude pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus de deux plantes. Ces souches ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des SNV, UFM Constantine 1.

b) Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés dans ce test sont le Mueller-Hinton (MH), la gélose nutritive (GN), le bouillon nutritif (BN) et l'eau physiologique.

c) Test antimicrobien

L'activité antimicrobienne des extraits obtenus a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide (méthode des puits) selon le protocole décrit par **Toty et al. (2013)**. Le principe de ce test repose sur la diffusion des agents antibactériens de différentes concentrations en milieu solide en déterminant les diamètres des zones d'inhibition en mm.

• Préparation des concentrations des extraits

Différentes concentrations de chaque extrait EtOH, de la combinaison de deux extraits EtOH et de l'HE de *C. limon* (12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 mg/mL) ont été préparées en utilisant le DMSO stérile. L'antibiotique (Amoxiciline 1,5mg/ml), l'antifongique (Fluconazol 1,5 mg/ml) et le DMSO à raison de 50µL par puits ont été également préparés (**Traoré et al., 2012**).

• Réactivation des souches microbiennes

Dans des conditions stériles et à partir des boîtes de conservation, les bactéries et la levure à tester ont étéensemencées par la méthode des stries sur des boîtes de Pétri contenant les milieux sélectifs appropriés aux souches microbiennes utilisées (**Annexe 1**). Ensuite, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 28°C pendant 24-48h pour la levure, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées.

- **Préparation de l'inoculum microbien**

Après 24 heures d'incubation des souches bactériennes testés et 48h pour la levure, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques de chaque souche ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine (pipette pasteur). Puis, elles ont été mises dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile à 0,9% et les tubes ont été homogénéisés avec le vortex. La densité de l'inoculum a été ajustée à 0,5McFarland ($1,5 \times 10^8$ cellules/mL) (Gayathiri *et al.*, 2018 ; Boussena, 2019).

- **Test de sensibilité**

Tout d'abord, le milieu de culture gélosé Mueller–Hinton (MH) a été coulé aseptiquement. Après solidification et à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension microbienne standardisée, toute la surface des boîtes contenant le milieu MH a étéensemencée uniformément. Après séchage de la surface (environ 5 min), des puits de 6 mm de diamètre ont été effectués dans la gélose à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. 50 µL de chaque concentration des extraits ont été ensuite versés délicatement dans chaque puits à l'aide d'une micropipette.

Parallèlement, des puits pour l'antibiotique (Amoxicilline 30 µg/ puits a été déposé comme témoin positif), l'antifongique (Fluconazol 30 µg/ puits a été déposé comme témoin positif) et le DMSO (20 µl/puits comme témoin négatif) ont été creusés. Les boîtes de Pétri ont été ensuite placées à basse température pendant 20 min afin de permettre la pré-diffusion des extraits dans la gélose. Ultérieurement, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 28°C pendant 48h pour la levure (Toty *et al.*, 2013).

- **Lecture**

La mesure des diamètres des zones d'inhibition formées autour de chaque puits a été ensuite effectuée (en mm). Après, les souches ont été classées (Tableau 11).

Tableau 11 : Classes des souches selon les zones d'inhibition (Boutabia *et al.*, 2016).

Classe	Non sensible (Résistante)	Sensible	Très sensible	Extrêmement sensible
Diamètre	< 8 mm	9-14 mm	15-19 mm	> 20 mm

- **Détermination de la CMI et de la CMB**

La CMI de l'extrait de la plante sur la souche étudiée est définie comme sa plus faible concentration inhibant l'activité microbienne après 18 à 24 h de contact à 37°C, c'est à dire aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu a été observée. Alors que la CMB de l'extrait de

la plante sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration laissant 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 à 24 h de culture à 37°C (**Boussaid, 2007**).

3.6.3- Inhibition de la formation de biofilms

Les trois extraits obtenus ; extraits EtOH et HE des écorces ; ainsi la combinaison de deux extraits EtOH ont été testés pour leur activité antibiofilm en utilisant la méthode de Cristal Violet décrite par **Noumi et al. (2022)** avec quelques modifications.

a) Principe

L'intérêt de cette méthode est de tester l'effet possible des extraits des plantes étudiées à inhiber la formation de biofilm, par l'estimation de la densité cellulaire fixée sur les parois intérieures des tubes en polystyrène en utilisant la méthode standard de coloration au Cristal Violet (CV). Les bactéries qui forment le biofilm sont quantifiées par la fixation de cristal violet, ce colorant est ensuite ré solubilisé par une solution alcoolique et la quantité de colorant est déterminée par spectrophotométrie (**Klein et al., 2010**).

d) Mode opératoire

- **Préparation des souches bactériennes initiales**

Selon les résultats précédents, la bactérie *S. aureus* a été choisie pour réaliser ce test. Elle a été ensemencée sur la gélose nutritive puis les boîtes ont été incubées à 37° C pendant 24 heures. Quelques colonies ont été suspendues dans le bouillon nutritif (**Annexe 1**) exempt de l'extrait (Témoin) ou additionné de différentes concentrations (12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 mg/mL) de chaque extrait (Test), extraits EtOH, HE de *C. limon* et combinaison de deux extraits EtOH.

Les densités optiques à 600 nm (DO) des suspensions résultantes ont été ajustées à la valeur de 0,20 à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU UV-1280).

- **Test de formation de biofilms en tubes**

Les suspensions bactériennes préparées ont été réparties dans des tubes en polystyrène de 5 ml à raison de 2 ml de suspension par tube. Les tubes ont ensuite été incubés à 37°C pendant 24h.

- **Lecture**

Après 24h d'incubation, les tubes ont été retirés et l'absorbance de la culture bactérienne résultante a été mesurée à 600 nm pour chacun des tubes. Ces derniers ont alors été débarrassés de la culture bactérienne après rinçages successifs à l'eau distillée (ED). La biomasse fixée sur les parois du tube (formation de biofilm) a été révélée après coloration à l'aide d'une solution aqueuse de CV à 1 %. Après un temps de contact de 1 heure du temps, l'excès de colorant a été éliminé suivi d'un lavage abondant des parois du tube à l'ED (jusqu'à l'obtention des gouttes

transparentes). Le CV fixé sur les parois du tube a été solubilisé à l'aide d'une solution constituée d'un mélange éthanol : acétone (75 : 25) pendant 1 heure. Puis, l'absorbance de la solution obtenue a été mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU UV-1280). Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage de réduction du biofilm (%). Il est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage de réduction (\%)} = \frac{\text{DO témoin} - \text{DO test}}{\text{Do témoin}} \times 100$$

3.7- Analyse statistique

Les données expérimentales du rendement d'extraction, du dosage des composés phénoliques, des activités biologiques ; activité antioxydante, antimicrobienne et antibiofilm obtenues ont été exprimées par la moyenne de 2-3 répétitions \pm écart type. Les équations des courbes ainsi que les coefficients de corrélation ont été déterminés en utilisant l'**Excel 2007**.

Résultats et discussion

4- Résultats et discussion

Les résultats de la caractérisation phytochimique, du rendement d'extraction, du dosage des composés phénoliques, et des activités biologiques ; antioxydante, antimicrobienne et antibiofilm des écorces de *Citrus* et des graines de *Peganum* ont été obtenus.

L'identification botanique de deux plantes étudiées a révélé que leurs espèces végétales étaient *Citrus limon* (*C. limon*) et *Peganum harmala* (*P. harmala*), respectivement.

4.1- Analyses phytochimiques

Le criblage phytochimique, le rendement d'extraction et le dosage colorimétrique des composés phénoliques ; polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés ; des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* ont été déterminés.

4.1.1- Screening phytochimique

La détection des métabolites primaires et secondaires dans les écorces de *C. limon* et les graines de *P. harmala* a été effectuée en utilisant des tests spécifiques pour chaque groupe chimique. L'apparition d'une précipitation ou un changement de couleur confirme la présence des métabolites testés. Les résultats de ces tests sont représentés dans le **tableau 12**.

Tableau 12 : Screening phytochimique des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*.

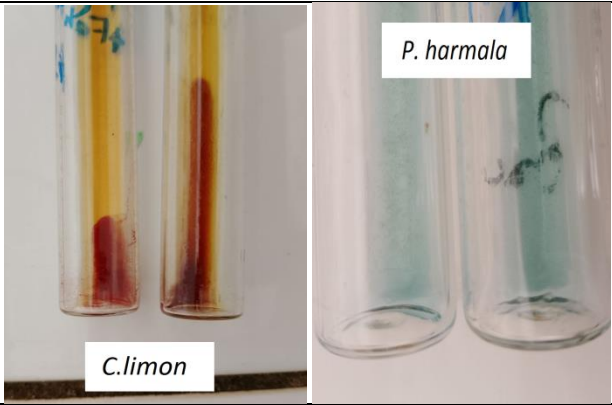
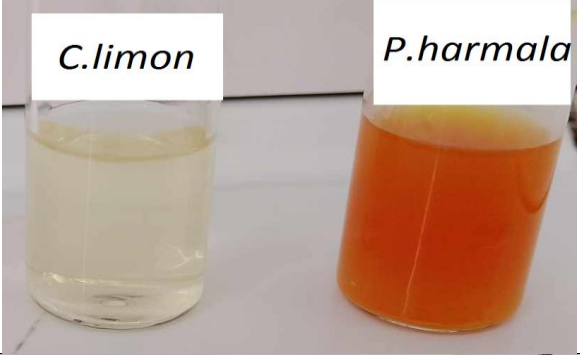
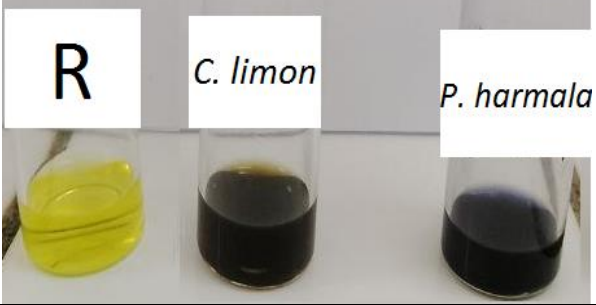
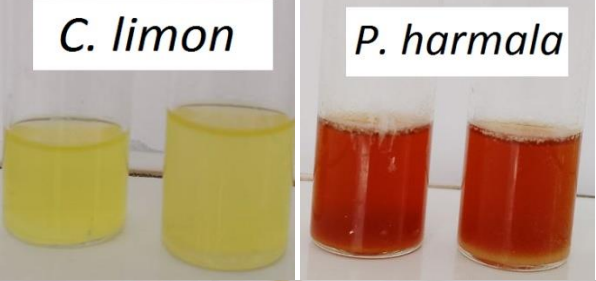
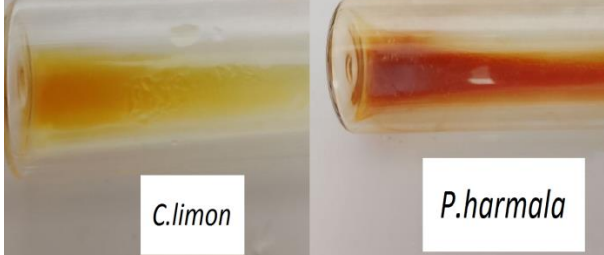
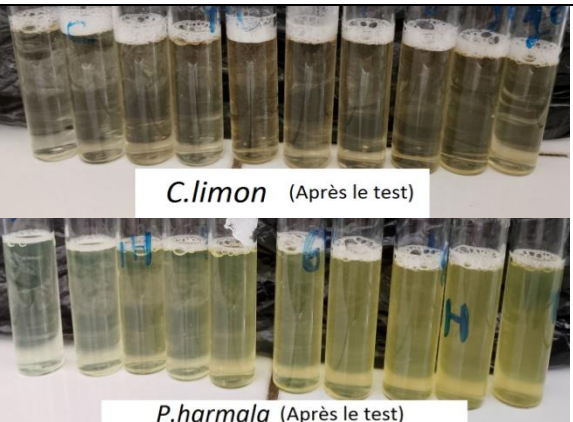
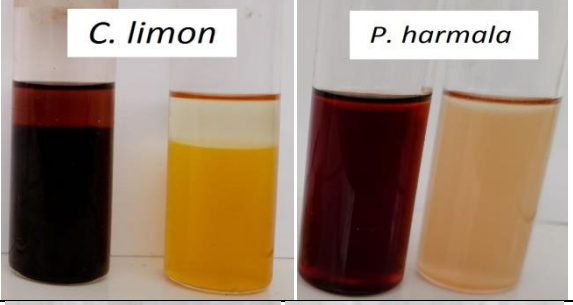
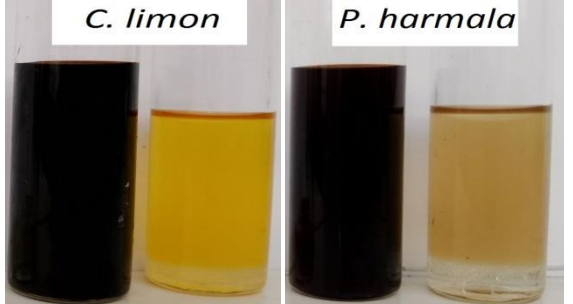
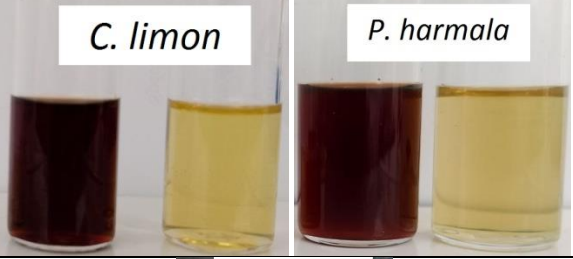

Composant chimique	Test de détection	Observation	Résultats		
			<i>C. limon</i>	<i>P. harmala</i>	Photos
Sucres	Test de Fehling	Précipitation rouge brique	+++	+	
Acides aminés et protéines	Test de Ninhydrine	Couleur violette	-	-	
Polyphénols et tanins	Test de chlorure ferrique (FeCl ₃)	Couleur bleu noirâtre	+++	+++	
Flavonoïdes	Test d'hydroxyde de sodium	Couleur jaune	+++	-	
Alcaloïdes	Test de Wagner	Précipitation brune rougeâtre	+	+++	

Tableau 12 : Screening phytochimique des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* (cont.).

Composant chimique	Test de détection	Observation	Résultats		
			<i>C. limon</i>	<i>P. harmala</i>	Photos
Saponines	Indice de mousse	Indice de mousse ≥ 100 pour le tube dont la hauteur est égale à 1 cm	+	+	
Stéroïdes	Test de Salkowski	Anneau rougeâtre	+++	+++	
Terpénoïdes	Test de chloroforme et H ₂ SO ₄	Couleur brune rougeâtre	+++	+++	
Glycosides cardiaque	Test de Keller-Kilani	Couleur brune	+++	+++	
Huile essentielle	Hydro-distillation	Gouttes d'huile	+	-	

Quantité importante : (+++), modeste quantité : (++), faible quantité : (+), absence (-).

Les résultats de criblage phytochimique présentés dans le **tableau 12** montrent la présence de différents composants chimiques ; avec un degré varié ; dans les écorces de *C. limon* et les graines de *P. harmala* ; métabolites primaires comme les sucres, les acides aminés et les protéines, et métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les saponines.

En effet, ces résultats sont similaires entre les graines et les écorces concernant la présence des saponines, des stéroïdes, des terpénoïdes et des glycosides cardiaques, car ces composants sont présents en grandes quantités dans les deux, sauf les saponines qui existent en quantités relativement faibles. En outre, les sucres, les polyphénols et les tanins sont plus abondamment présents dans les écorces de *C. limon* que les graines de *P. harmala*. En revanche, les graines de *P. harmala* sont les plus riches en alcaloïdes avec une absence totale des flavonoïdes et des huiles essentielles (HE) qui sont détectés dans les écorces.

Ce profil phytochimique des écorces de *C. limon* est similaire à celui de **Rathour et al. (2020)**, qui ont travaillé sur la même partie de la plante, notamment sur la présence des sucres, des polyphénols, des flavonoïdes et des alcaloïdes avec l'absence des tanins et des saponines. Nos résultats sont également comparables avec ceux d'**Okigbo et al. (2020)** qui ont utilisé le méthanol au lieu d'éthanol pour confirmer la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines dans les écorces de *C. limon*. Par ailleurs, nos résultats de screening sont semblables à ceux obtenus par **Gurusiddappa et al. (2014)** concernant la présence des flavonoïdes, des stéroïdes et des tanins en tenant l'absence des acides aminés.

Un autre travail plus récent conduit par **Abdu et al. (2021)** sur les écorces de *C. limon* de la région de Marrakech- Maroc, a révélé des résultats identiques avec ceux de la présente étude ; la présence des polyphénols, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponines, des stéroïdes et des glycosides cardiaques.

Pour les graines de *P. harmala*, les résultats du criblage phytochimique sont très proches de ceux de **Bouabedelli et al. (2016)** et de **Abdulridha et al. (2019)** qui ont travaillé sur l'extrait méthanolique et éthanolique respectivement, surtout à propos de la présence massive des alcaloïdes, la présence des tanins, des saponines, des stéroïdes et des terpénoïdes avec l'absence totale des flavonoïdes. En outre, **Guergour (2018)** a remarqué une forte présence des alcaloïdes et des tanins ainsi qu'une absence totale des saponines dans les graines de *P. harmala* récoltées de la région de Touama, Bordj Bou Arreridj durant les mois de Juillet-

Août. Cependant, dans la présente étude, une présence faible des tanins et des saponines a été consacrée.

En fait, les variations dans l'ensemble des résultats précédents du criblage phytochimique des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* pourraient être attribuée aux plusieurs facteurs tels que la période et la région de récolte, la méthode et le solvant d'extraction et notamment les conditions climatiques (Bouchenak *et al.*, 2020).

4.1.2- Rendement d'extraction

Après l'extraction et l'élimination de toute trace de solvant, chaque extrait ; EtOH et HE ; des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* a été caractérisé par son rendement (Rd%) et sa couleur (Tableau 13).

Tableau 13 : Rendements d'extraction et caractéristiques des extraits des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*.

Plante	Rd %		Couleur	
	Extrait EtOH	HE	Extrait EtOH	HE
Ecorces de <i>C. limon</i>	17,48 ± 0,73	0,32 ± 0,03	Jaune	Transparent
Graines de <i>P. harmala</i>	15,84 ± 0,22	/	Rouge pourpre	/

En fait, le rendement d'extraction a révélé une différence significative entre les extraits EtOH bruts des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* (Rd%; 17,48 ± 0,73 et 15,84 ± 0,22% respectivement) et même de l'HE (Rd% = 0,32 ± 0,03 %) (Tableau 13) selon la plante, la partie végétale, le solvant et la méthode d'extraction utilisés.

Par ailleurs, l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* est caractérisé par une couleur jaune, alors que la couleur de l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* est rouge pourpre. En revanche, l'HE des écorces de *C. limon* est incolore et présente une odeur caractéristique de citron.

En effet, les deux extraits EtOH ont montrés des valeurs élevées du Rd% par rapport à celle de l'HE des écorces ; notant que l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* avait le meilleur Rd% égal à 17,48 ± 0,73% proche de celui de l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* (15,84 ± 0,22%). Soulevant, le Rd% d'HE des écorces de citron est vraiment très faible de l'ordre de 0,32 ± 0,03%, cependant les graines de *P. harmala* n'ont donné aucune quantité d'huile essentielle.

A titre de comparaison, le rendement d'extrait EtOH des écorces de *C. limon* dans cette étude est supérieur ($17,48 \pm 0,73\%$) à celui obtenu par **Abdu et al. (2021)** ($Rd\%=9,47 \pm 0,81\%$). Par contre, l'HE a enregistré une valeur un peu inférieure ($Rd\%=0,32 \pm 0,03\%$) à celle du même travail ($Rd\%=0,71 \pm 0,1\%$).

Pour les graines de *P. harmala*, une étude réalisée par **Dehiri et al. (2022)** sur le même extrait (EtOH) a montré un rendement de $12,8 \pm 0,40\%$. Cette valeur est inférieure à celle de notre rendement ($15,84 \pm 0,22\%$). En revanche, le travail de **Saeedeh et al. (2022)** sur l'extrait MeOH des graines de *P. harmala*, a révélé un rendement très élevé de l'ordre de $29,7\%$, qui est supérieur à celui de notre travail. Ceci peut s'expliquer par le fait que la polarité du solvant d'extraction avait une influence sur le rendement (**Do et al., 2014; Wakeel et al., 2019**).

Selon les travaux d'**Ameen et al. (2021)** et d'**El Aboubi et al. (2022)** sur l'HE des écorces de *C. limon* en utilisant la même méthode d'extraction ; hydro-distillation, les rendements étaient $0,61$ et $1,2 \pm 0,16\%$ successivement. Ces valeurs sont plus importantes que ce qu'on a obtenu ($Rd\%=0,32 \pm 0,03\%$).

Dans cette partie, il est suggéré que les variations des rendements d'extraction dans les travaux précédents peuvent être liées aux différences de polarités entre les solvants, de la méthode d'extraction, de la région et de la saison de récolte de ces plantes (**Dhanani et al., 2017**).

4.1.3- Dosage des composés phénoliques

La quantification des composés phénoliques; polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés a été effectuée.

4.1.3.1- Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la quantité des polyphénols totaux des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* a été accomplie selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Boucif et al. (2023)** en utilisant l'acide gallique (AG) comme standard. La courbe d'étalonnage a été ajustée, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,971$ et une équation de régression $y = 6,330x + 0,645$ (**Figure 24**).

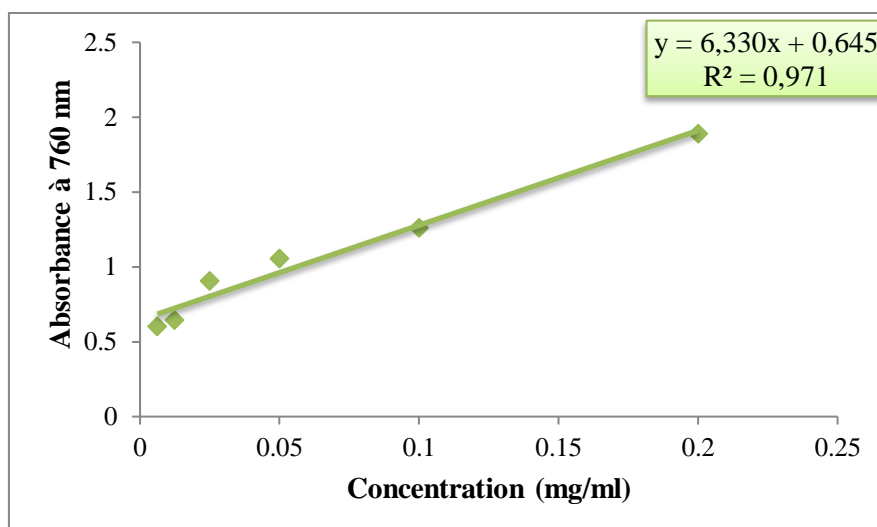


Figure 24: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats présentés dans l'histogramme ci-dessous (**Figure 25**) indiquent une variation considérable des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits EtOH de deux plantes.

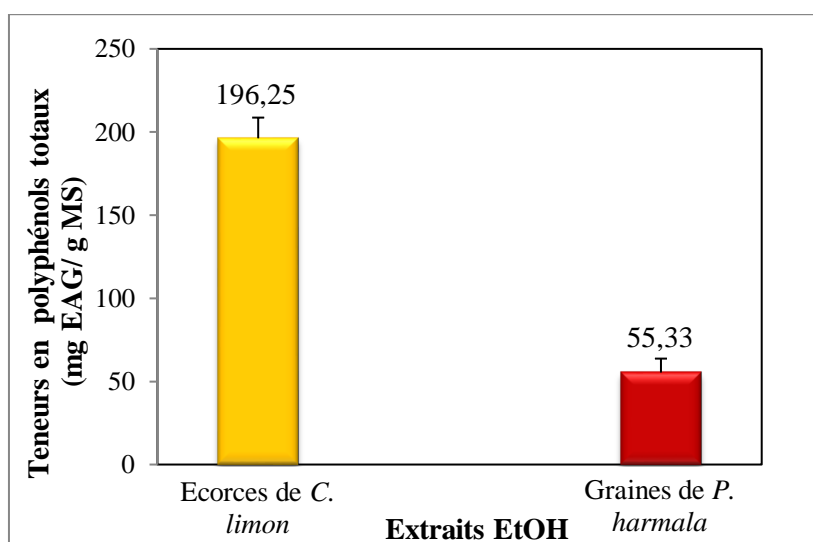


Figure 25 : Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*.

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits EtOH diffèrent de manière significative entre les écorces de *C. limon* et les graines de *P. harmala* ; les écorces possédaient la teneur la plus élevée ($196,25 \pm 12,41$ mg EAG/g MS) par rapport à celle des graines ($55,33 \pm 8,38$ mg EAG/g MS).

4.1.3.2- Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux dans les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* a été réalisée suivant la méthode de trichlorure

d'aluminium décrite par Ghedadba *et al.* (2014), en utilisant la quercétine comme standard. La courbe d'étalonnage a été ajustée avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,941$ et une équation de régression $y = 1,99x + 0,036$ (Figure 26).

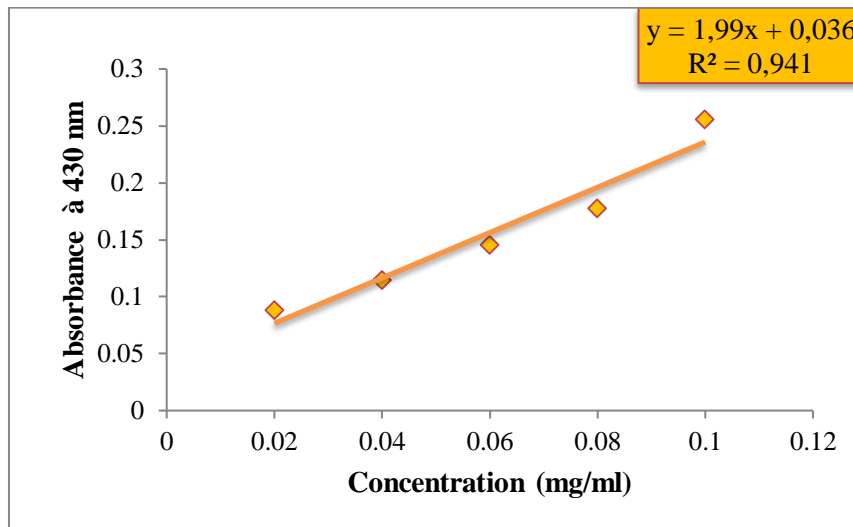


Figure 26: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les teneurs en flavonoïdes totaux ont été calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la quercétine. Les résultats obtenus sont illustrés dans l'histogramme ci-dessous (Figure 27).

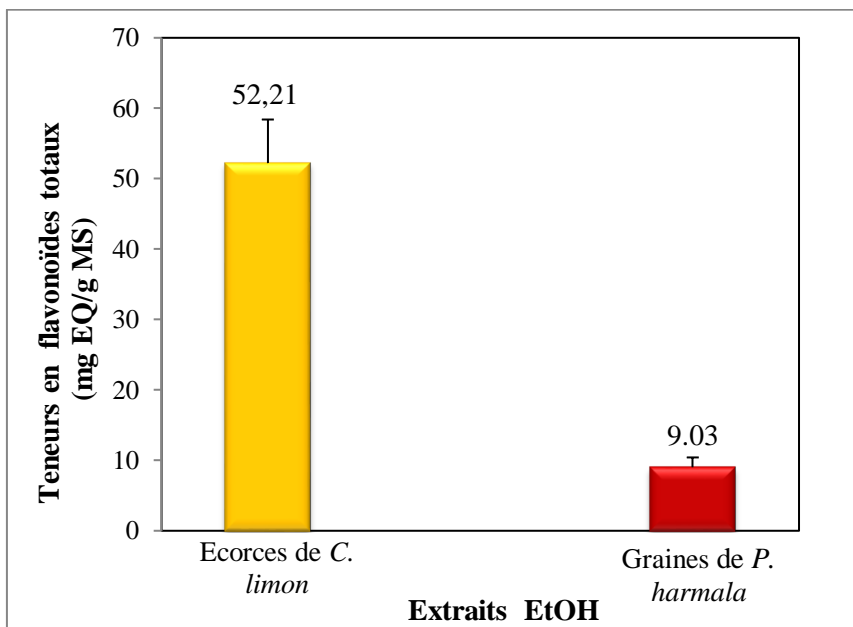


Figure 27 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*.

La teneur en flavonoïdes totaux dans les écorces de *C. limon* ($52, 21 \pm 6,18$ mg EQ/g MS) est considérablement plus élevée que celle dans les graines de *P. harmala* ($9,03 \pm 1,38$ mg EQ/g MS).

4.1.3.3- Dosage des tanins condensés

La méthode décrite par **Boucif et al. (2023)** a permis de quantifier les tannins condensés dans les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* en utilisant la catéchine comme standard. La courbe d'étalonnage a été ajustée avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,949$ et une formule de régression $y = 121,6x + 0,045$ (Figure 28).

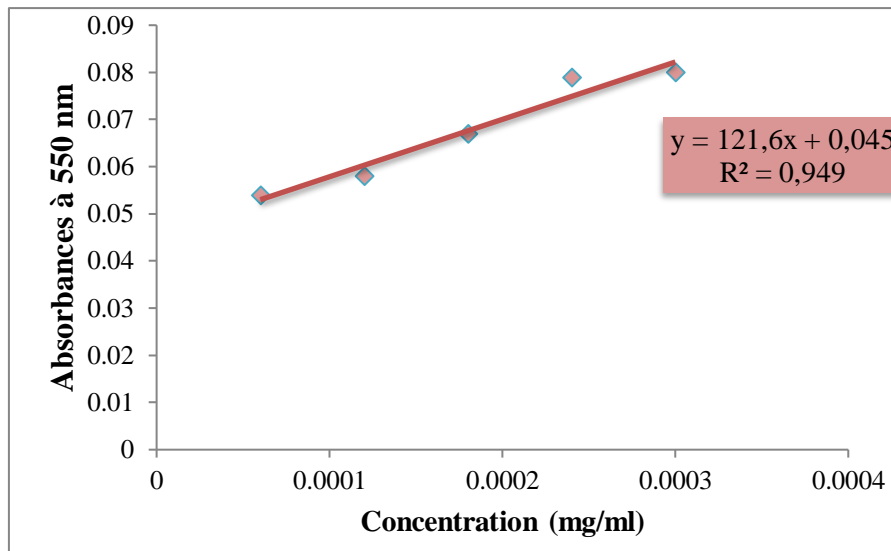


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les résultats illustrés dans l'histogramme ci-dessous (**Figure 29**) révèlent une légère différence dans la teneur en tanins condensés entre les extraits EtOH de deux plantes.

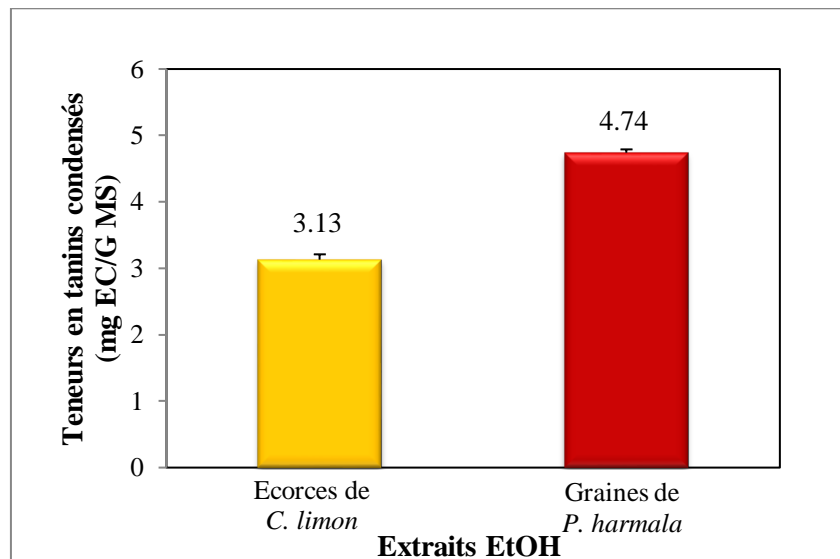


Figure 29 : Teneurs en tanins condensés dans les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*.

La quantité des tanins condensés dans les graines de *P. harmala* ($4,74 \pm 0,05$ mg EC/g MS) est légèrement supérieure à celle dans les écorces de *C. limon* ($3,13 \pm 0,08$ mg EC/g MS).

L'ensemble des résultats de dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés des extraits EtOH de deux plantes sont présentés dans le **tableau 14**.

Tableau 14 : Quantification des composés phénoliques des extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*.

Extrait EtOH	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS)	Tanins condensés (mg EC/g MS)
Ecorces de <i>C. limon</i>	196,25 ± 12,41	52, 21 ± 6,18	3,13 ± 0,08
Graines de <i>P. harmala</i>	55,33 ± 8,38	9,03 ± 1,38	4,74 ± 0,05

L'estimation quantitative des composés phénoliques dans les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* a indiqué que les teneurs en polyphénols totaux sont énormément supérieures à celles en flavonoïdes totaux et en tanins condensés (**Tableau 14**). Notant que les écorces sont plus riches en polyphénols (196,25 ± 12,41 mg EAG/g MS) et en flavonoïdes (52, 21 ± 6,18 mg EQ/g MS) que les graines qui ont enregistré les teneurs les plus basses (55,33 ± 8,38 mg EAG/g MS et 55,33 ± 8,38 et 9,03 ± 1,38 mg EQ/g MS, consécutivement). Cependant, des quantités moins intéressantes des tanins condensés de l'ordre de 3,13 ± 0,08 et de 4,74 ± 0,05 mg EC/g MS ont été observées dans les écorces et les graines, successivement.

Ces résultats sont différents à ceux obtenus par un travail effectué par **Uçak et Khalily, (2022)** sur l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* qui a indiqué une teneur en polyphénols totaux (238,1 ± 0,00 mg EAG/g MS) significativement supérieure à celle obtenue dans la présente étude (196,25 ± 12,41 mg EAG/g MS). En revanche, la recherche menée par **Chauhan et Saxena (2019)** sur l'extrait MeOH des écorces de *C. limon* a abouti à une teneur en polyphénols (111,2 ± 1,18 mg EAG/g MS) abondamment inférieure à celle obtenue dans notre étude.

Pareillement, le travail de **Chatzimitakos et al. (2023)** a indiqué des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans l'extrait hydro-EtOH des écorces de *C. limon* largement inférieures à celles enregistrées dans ce travail ; de l'ordre de 51,24 mg EAG/g MS et de 7,1 mg équivalent de rutine/g MS (mg ER/g MS) respectivement. Par ailleurs, une autre étude réalisée par **Verma et al. (2021)** sur l'extrait hydro-EtOH des écorces de *C. limon* a révélé une teneur en flavonoïdes de 56,28 ± 1,38 mg EQ/g MS, qui est une valeur très proche de celle estimée dans notre travail.

En outre, nos résultats sont incomparables à ceux obtenus par une étude de **Makni et al. (2018)** sur l'extrait hydro-EtOH des zestes de *C. limon* où la teneur en tanins condensés est très éminente ($138,33 \pm 35,36$ mg EC/ g MS) à celle trouvée dans l'extrait EtOH des écorces dans le présent travail ($3,13 \pm 0,08$ mg EC/ g MS).

Concernant les graines de *P. harmala*, une étude de **Mazandarani et al. (2012)** sur l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* a révélé des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux supérieures à nos résultats et surtout par rapport aux flavonoïdes ; estimées à $61,55 \pm 0,84$ mg EAG/g MS et à $42,21 \pm 0,66$ mg EQ/g MS, successivement.

En revanche, le travail effectué par **Saeedeh et al. (2021)** sur l'extrait MeOH de *P. harmala* a indiqué une teneur en polyphénols totaux ($30,46$ mg EAG/g MS) inférieure à celle obtenue dans notre étude. Par contre, une quantité des flavonoïdes totaux égale à $16,63$ mg EQ/g MS a été enregistrée ; qui est un peu plus élevée que celle trouvée dans notre travail. En outre, un travail réalisé par **Iqbal et al. (2019)** sur le même extrait ; MeOH des graines de *P. harmal*, a indiqué une teneur en polyphénols totaux égale à $30,9$ mg EAG/g MS. Ce résultat est aussi inférieur à celui trouvé dans le présent travail. Similairement, nos résultats sont significativement supérieurs à ceux obtenus par **Anwar et al. (2024)** qui ont travaillé sur l'extrait hydro-MeOH des graines de *P. harmala*. Leurs teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux étaient de l'ordre de $7,7 \pm 1,4$ mg EAG/g MS et $1,0 \pm 0,1$ mg EQ/g MS ; successivement.

La teneur en tanins condensés dans l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* dans ce travail est également plus élevée que celle trouvée par **Khlifi et al. (2013)** qui ont travaillé sur l'extrait MeOH des graines de *P. harmala* avec une valeur de $2,03 \pm 0,06$ mg EC/ g MS.

Il est suggéré que les variations dans le contenu des composés phénoliques peuvent être attribuées à plusieurs facteurs ; le solvant d'extraction, la méthode d'extraction et de quantification, la plante et la partie de la plante utilisées, les facteurs climatiques et environnementaux tels que la région et la période de récolte, le climat, et le stade de développement végétatif de la plante (le degré de maturité) (**Bouchenak et al., 2020**).

4.2- Activités biologiques

Dans la présente étude, la capacité antioxydante, l'activité antimicrobienne et le pouvoir antibiofilm des extraits obtenus ont été évalués.

4.2.1- Activité antioxydante

Afin de confirmer le potentiel antioxydant des extraits obtenus ; extraits EtOH des écorces et des graines et HE des écorces de *C. limon*, deux tests adéquats couramment utilisés ont été réalisés en l'occurrence le DPPH et le FRAP.

4.2.1.1- Piégeage du radicale libre DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Les résultats ont été confirmés par le virage de couleur violette à une couleur jaune. Les pourcentages d'inhibition (PI%) du DPPH par l'acide ascorbique, les extraits EtOH de deux plantes et l'HE de *C. limon* sont montrés dans la **figure 30**.

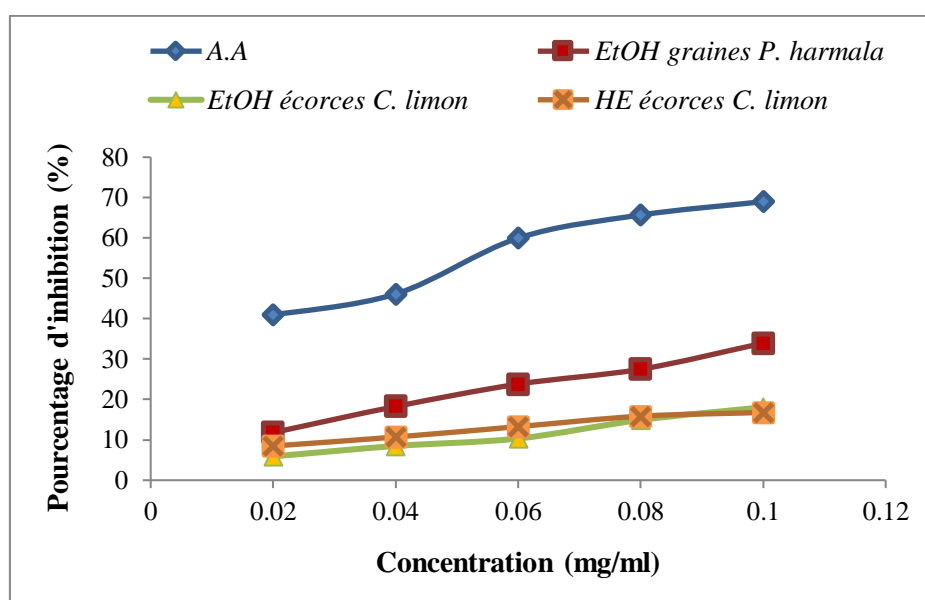


Figure 30 : Pourcentage d'inhibition des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de *C. limon*.

D'après la **figure 30**, tous les extraits végétaux ainsi que l'antioxydant de référence ; acide ascorbique (AA), ont montré une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition (PI%) avec la concentration.

A la concentration maximale de 0,1 mg/ml, les PI % étaient de 69 % pour l'AA, 33,94 % pour l'extrait EtOH des graines de *P. harmala*, 18,08 % et 16,78% pour l'extrait EtOH et l'HE des écorces de *C. limon* ; respectivement. Les valeurs des extraits végétaux sont donc inférieures à celle de l'AA utilisé comme standard.

L'extrait EtOH des graines de *P. harmala* avait le PI% le plus élevé parmi les extraits végétaux suivi par l'extrait EtOH et l'HE des écorces de *C. limon* ; successivement.

Dans le test DPPH, les valeurs de la concentration inhibitrice à 50% (CI₅₀) (**Figure 38**) ont été déterminées graphiquement à partir de l'équation de régression linéaire des courbes des PI% d'AA et des différents extraits testés de deux plantes. L'CI₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité anti-radicalaire (PI%) d'un composé ; plus l'CI₅₀ est faible, plus l'activité anti-radicalaire d'un composé est importante.

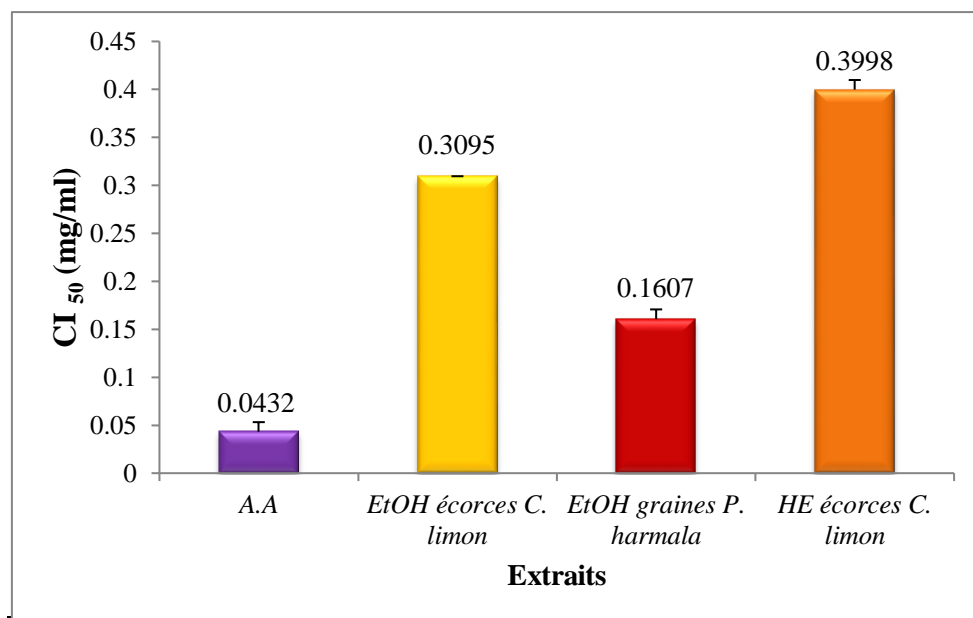


Figure 31 : Valeurs des CI₅₀ de l'AA, des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de *C. limon*.

Selon les résultats illustrés dans la figure ci-dessus (**Figure 31**), les CI₅₀ des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de *C. limon* varient entre $0,16 \pm 0,01$ et $0,39 \pm 0,01$ mg/ml. Ces valeurs sont supérieures à celle de l'acide ascorbique ($0,043 \pm 0,01$ mg/ml) qui est le plus puissant. En effet, l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* a révélé la valeur de la CI₅₀ la plus basse ($0,16 \pm 0,01$ mg/ml) entre les extraits végétaux, donc il possède l'activité antioxydante la plus forte, suivi par l'extrait EtOH ($0,3 \pm 0,00$ mg/ml) et l'HE ($0,39 \pm 0,01$ mg/ml) des écorces de *C. limon* ; respectivement.

Nos résultats peuvent être comparés à ceux rapportés par **Younus (2023)** sur le même extrait EtOH des écorces de *C. limon* qui a trouvé une valeur de la CI₅₀ ($0,037$ mg/ml) très inférieure à celle obtenue dans le présent travail. Cette valeur a aussi démontré une activité antioxydante forte que celle de l'AA. De plus, les résultats de **Saleem et al. (2023)** sur les extraits EtOH et MeOH des écorces de *C. limon* ont révélé des CI₅₀ significativement inférieures à ceux estimés dans notre travail, égales à $0,059$ et $0,097$ mg/ml, successivement.

Par ailleurs, les résultats du présent travail corroborent, en outre, ceux d'**Otang et Afolayan (2016)**, où ils ont démontré que l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* présentait une excellente capacité de piégeage du radical DPPH ($CI_{50}=0,31$ mg/ml) approximativement proche à notre valeur ($CI_{50}=0,30$ mg/ml). L'activité anti-radicalaire de cet extrait est légèrement inférieure par rapport à notre extrait.

Pour les graines de *P. harmala*, le résultat d'**Allaq et al. (2021)** sur l'extrait EtOH est, également, proche de notre résultat, où un pouvoir anti-radicalaire du DPPH plus élevé a été enregistré avec une CI_{50} égale à $0,18 \pm 0,00$ mg/ml. En outre, les résultats d'une autre recherche par **Dehiri et al. (2022)** sur des extraits EtOH et aqueux des graines de *P. harmala* ont révélé des CI_{50} comparables à nos résultats, elles étaient égales à $0,06 \pm 0,00$ et $0,17 \pm 0,00$ mg/ml; consécutivement.

En outre, une étude très récente de **Marzoug et al. (2023)** sur l'extrait hydro-MeOH des graines de *P. harmala* a révélé une CI_{50} de $0,13 \pm 0,00$ mg/ml qu'est très proche à celle enregistrée dans le présent travail.

Concernant l'HE des écorces de *C. limon*, sa valeur de la CI_{50} est supérieure à celle obtenue par **El Aboubi et al. (2022)** qui ont estimés une CI_{50} de $0,064 \pm 0,03$ mg/ml. Par conséquent, l'huile essentielle qu'on a obtenue a une activité anti-radicalaire plus faible. Par ailleurs, une étude effectuée par **Ameen et al. (2021)** sur l'HE des écorces de *C. limon* a estimée une CI_{50} de $0,027 \pm 0,00$ mg/ml ; une très basse valeur indiquant une très forte activité antioxydante.

Cette variation entre les résultats des études citées peut être expliquée par plusieurs facteurs en l'occurrence la nature et la richesse différentielle des acides phénoliques et des flavonoïdes ; qui ont une haute activité de piégeage des radicaux libres due à la liaison de leurs groupes hydroxyles OH au cycle aromatique (Cycle C) qui stabilise les radicaux libres par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène (**Saidi, 2019 ; Aissani, 2022**). En outre, la phase de maturation de plante, la méthode et le solvant d'extraction ont une influence significative sur l'effet antioxydant, il est possible que ces facteurs aient un impact sur les composés phénoliques (**Saidi, 2019; Agouazi, 2021**).

4.2.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* a été évalué en utilisant la technique de FRAP selon la méthode décrite par **Cherfia et al. (2020)**.

Les résultats de l'activité réductrice du fer des extraits des plantes étudiées et de l'acide ascorbique sont représentés dans la **figure 32**.

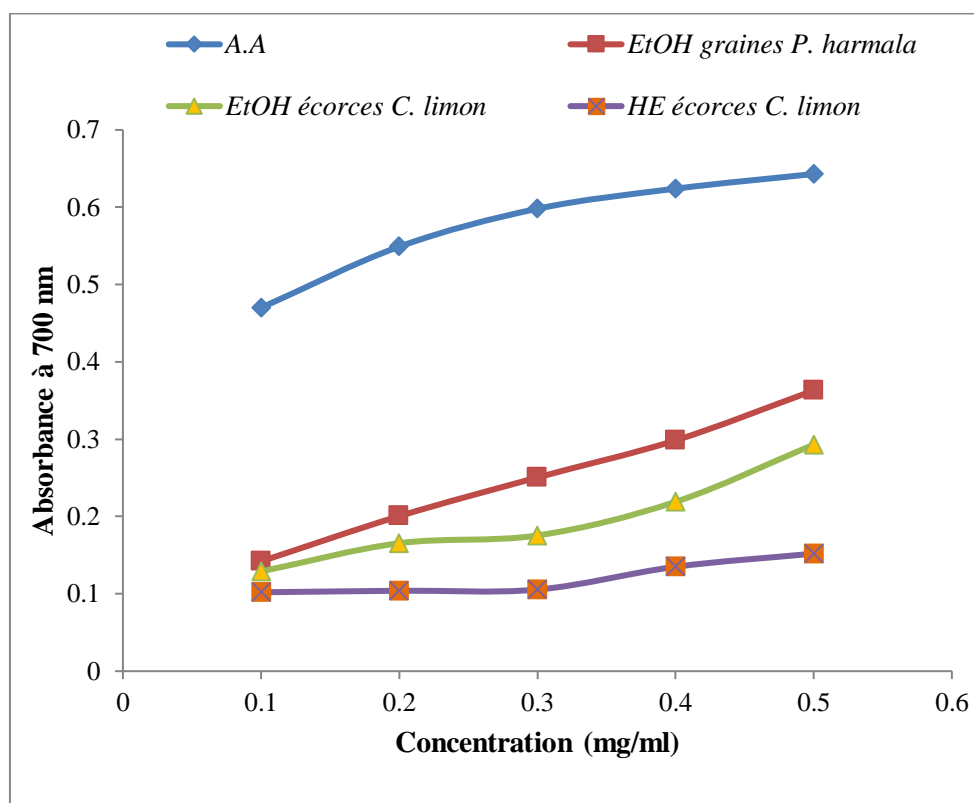


Figure 32: Pouvoir réducteur du fer des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces de *C. limon*.

D'après les résultats illustrés dans la **figure 32**, les absorbances des extraits EtOH de *C. limon* et de *P. harmala* et de l'acide ascorbique (AA) varient entre 0,102 et 0,643 et augmentent proportionnellement à l'augmentation de la concentration des extraits. Cela indique que le pouvoir réducteur de ces derniers est dose-dépendante ; c'est-à-dire que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits.

L'équation de régression linéaire de la courbe du standard (AA) ainsi les différentes courbes des extraits peuvent être utilisées pour déterminer les CE_{50} . La valeur la plus basse de ces dernières indique le pouvoir réducteur le plus élevé. Les CE_{50} des extraits de deux plantes ainsi que de l'AA sont portés dans la **figure 33**.

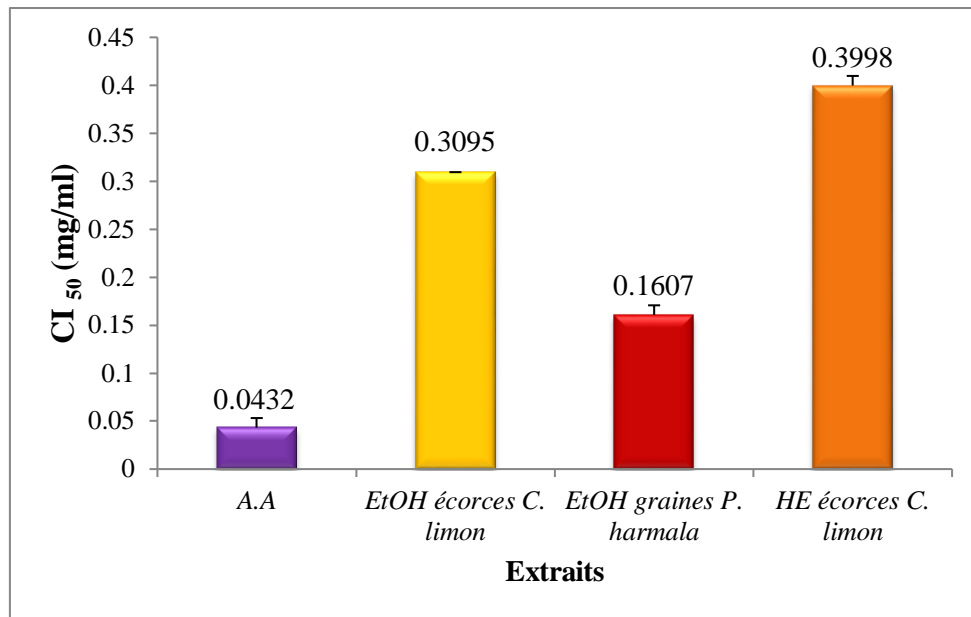


Figure 33: Valeurs des CE₅₀ de l'AA, des extraits EtOH de deux plantes et de l'HE des écorces *C. limon*.

Les résultats illustrés dans la **figure 33** montrent que les valeurs de la CE₅₀ des extraits EtOH de deux plantes et de l'AA varient significativement allant de $0,11 \pm 0,04$ jusqu'à $3,20 \pm 0,02$ mg/ml. La capacité de tous les extraits végétaux, à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'AA. Ce dernier, l'AA révélait la CE₅₀ la plus basse égale à $0,11 \pm 0,04$ mg/ml, suivi par l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* ($0,76 \pm 0,05$ mg/ml), puis l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* ($1,09 \pm 0,01$ mg/ml) et enfin l'HE des écorces de *C. limon* ($3,20 \pm 0,02$ mg/ml), respectivement.

Ces résultats sont différents à ceux de **Sheila et al. (2017)** sur l'extrait MeOH des écorces de *C. limon* qui ont révélé un fort pouvoir réducteur du fer avec une CE₅₀ significativement inférieure à celle qu'on a trouvé ; égale à $0,16$ mg/ml. En outre, **El Aboubi et al. (2022)** qui ont travaillé sur l'HE des écorces de *C. limon* ont rapporté une valeur de la CE₅₀ (CE₅₀= $0,14 \pm 0,03$ mg/ml) largement aussi inférieure à celle de notre recherche. Indiquant également une très forte capacité réductrice du fer.

Cependant, le récent travail de **Dehiri et al. (2022)** sur les extraits EtOH et aqueux des graines de *P. harmala* a révélé des CE₅₀ estimées à $0,82 \pm 0,00$ et $0,84 \pm 0,00$ mg/ml consécutivement. En effet, le pouvoir réducteur du fer de ces extraits est très proche de celui de l'extrait EtOH de la même plante dans le présent travail, qui semblait constamment être plus efficace ; exerçant un pouvoir réducteur remarquable proche de celui de témoin positif (AA) avec une CE₅₀ égale à $0,76 \pm 0,05$ mg/ml.

La différence entre ces résultats peut être expliquée par la différence de certains facteurs en l'occurrence ; la région, la période de récolte et les conditions d'extraction qui affectent tout le contenu des extraits en métabolites bioactifs ; notamment les composés phénoliques, et par conséquent affectent l'activité anti-oxydante causée par ces métabolites (**Saidi, 2019**). En effet, de nombreuses études ont montré une corrélation positive entre la teneur en différents composés phénoliques des plantes et leurs capacités anti-oxydantes (**Fernandes et al., 2023**).

4.2.2- Activité antimicrobienne

L'activité antioxydante précédente a été suivie par l'étude du potentiel antimicrobien des extraits obtenus qui a été largement recherché chez quelques microorganismes pathogènes.

L'évaluation de cette activité a été réalisée en observant la formation de la zone d'inhibition (ZI) autour des puits contenant les extraits étudiés, à savoir l'extrait EtOH de deux plantes et l'HE de *C. limon*, à diverses concentrations. Les diamètres des ZI varient en fonction des types de bactéries ainsi que des extraits testés. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 15**).

Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance microbienne des souches testées par les extraits obtenus, l'ATB, l'ATF et le DMSO.

Extrait	[C] mg/ml	Bactéries				Levure
		Gram +		Gram -		<i>C. albicans</i>
		<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	
EtOH <i>C. limon</i>	[12,5]	-	-	8 ± 0,00	-	-
	[25]	-	6 ± 0,42	8 ± 0,00	7 ± 0,00	-
	[50]	-	7 ± 0,37	9,5 ± 0,70	12 ± 0,00	-
	[100]	7 ± 0,07	10,5 ± 0,70	12,5 ± 0,70	14,5 ± 0,70	-
	[200]	12 ± 0,00	13 ± 0,45	14,5 ± 0,70	26 ± 0,83	-
EtOH <i>P. harmala</i>	[12,5]	15 ± 0,00	13 ± 0,00	7 ± 0,00	14,5 ± 0,48	14 ± 0,00
	[25]	19 ± 0,28	18,5 ± 0,83	8 ± 0,00	18 ± 0,00*	20 ± 0,00*
	[50]	21,5 ± 0,70	22,5 ± 0,70	11 ± 1,41	20 ± 0,00*	26 ± 0,00*
	[100]	26 ± 0,00	29,5 ± 0,37	13 ± 1,41	22 ± 0,37*	30 ± 0,00*
	[200]	26,5 ± 0,70	34 ± 0,23	16 ± 0,00	22,5 ± 0,70*	39 ± 0,00*
HE <i>C. limon</i>	[12,5]	-	-	-	-	6 ± 0,00
	[25]	9 ± 0,00	-	-	-	6 ± 0,00
	[50]	10 ± 0,00	8 ± 0,00	-	-	27 ± 0,67
	[100]	12 ± 0,28	13 ± 0,00	-	-	20 ± 0,00
	[200]	13,5 ± 0,50	23 ± 0,00	-	15 ± 0,00	26 ± 0,53
Combinaison (EtOH <i>C. limon</i> + EtOH <i>P. harmala</i>)	[12,5]	9,5 ± 0,70	8 ± 0,00	-	-	9 ± 0,00
	[25]	14 ± 0,00	14 ± 0,00	-	-	12,5 ± 0,84*
	[50]	17 ± 0,21	13,5 ± 0,70	7,5 ± 0,70	10 ± 0,00	20 ± 0,00*
	[100]	19,5 ± 0,70*	18 ± 0,00	11 ± 0,87	13,5 ± 0,70	25,5 ± 0,70*
	[200]	24,5 ± 0,67*	28 ± 0,00	13,5 ± 0,70	20,5 ± 0,70	26 ± 0,70*
ATB (AMX)	30µg/puits	51 ± 0,00	50 ± 0,00	15 ± 0,00	11 ± 0,00	NT
AF (FLZ)	30µg/puits	NT	NT	NT	NT	9 ± 0,00
DMSO	20µl	-	-	-	-	-

(-) pas d'inhibition; (NT) Non testé; (AMX) Amoxicilline; (FLZ) Fluconazole; (*) Effet bactéricide.

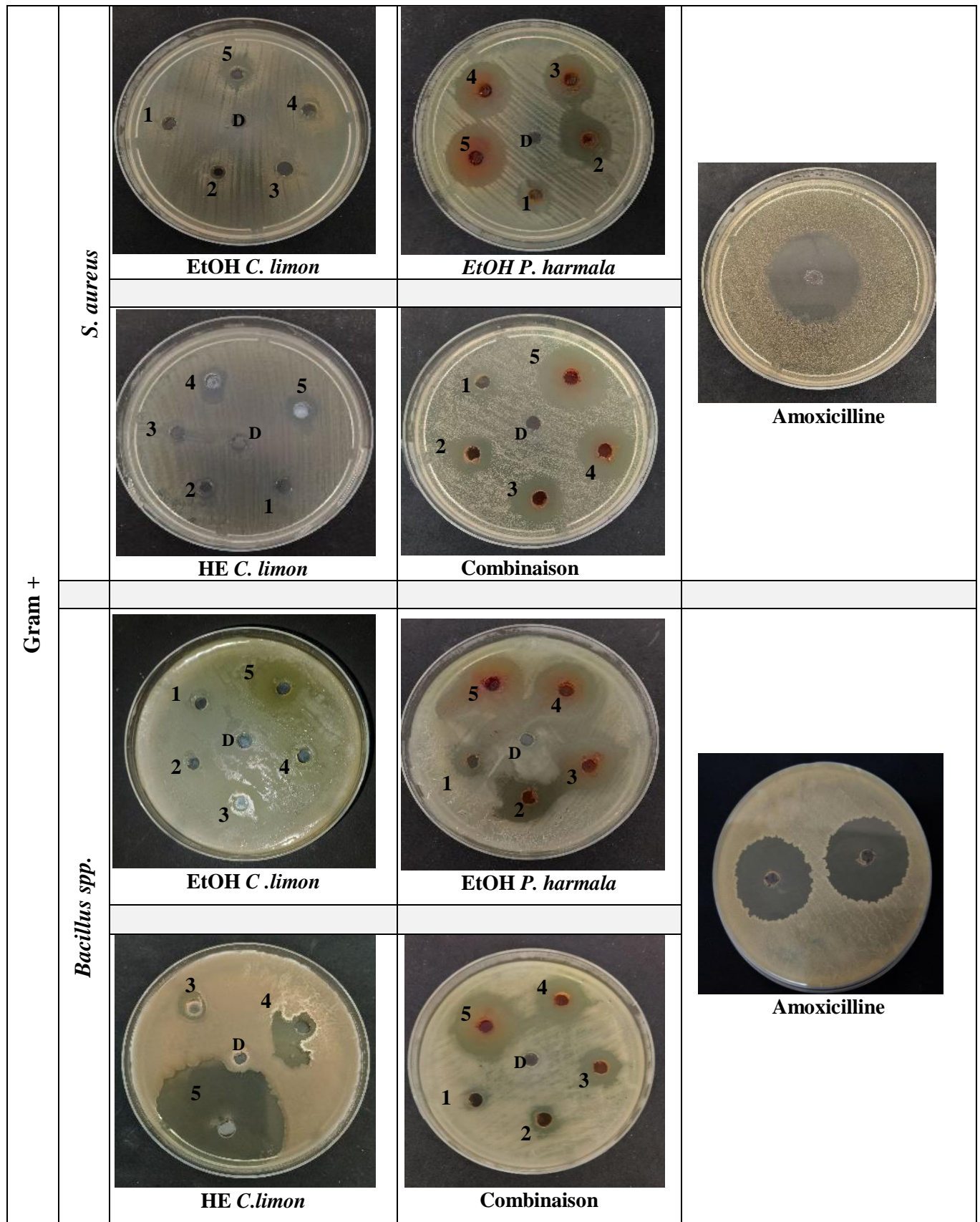


Figure 34 : Zones d'inhibition des extraits EtOH des plantes, d'HE, d'ATB et du DMSO sur les Gram+ ; *S. aureus* et *Bacillus spp.* 1:[C] =12,5 mg/ml ; 2: [C] =25 mg/ml ; 3: [C] =50 mg/ml ; 4: [C] =100 mg/ml ; 5: [C] =200 mg/ml.

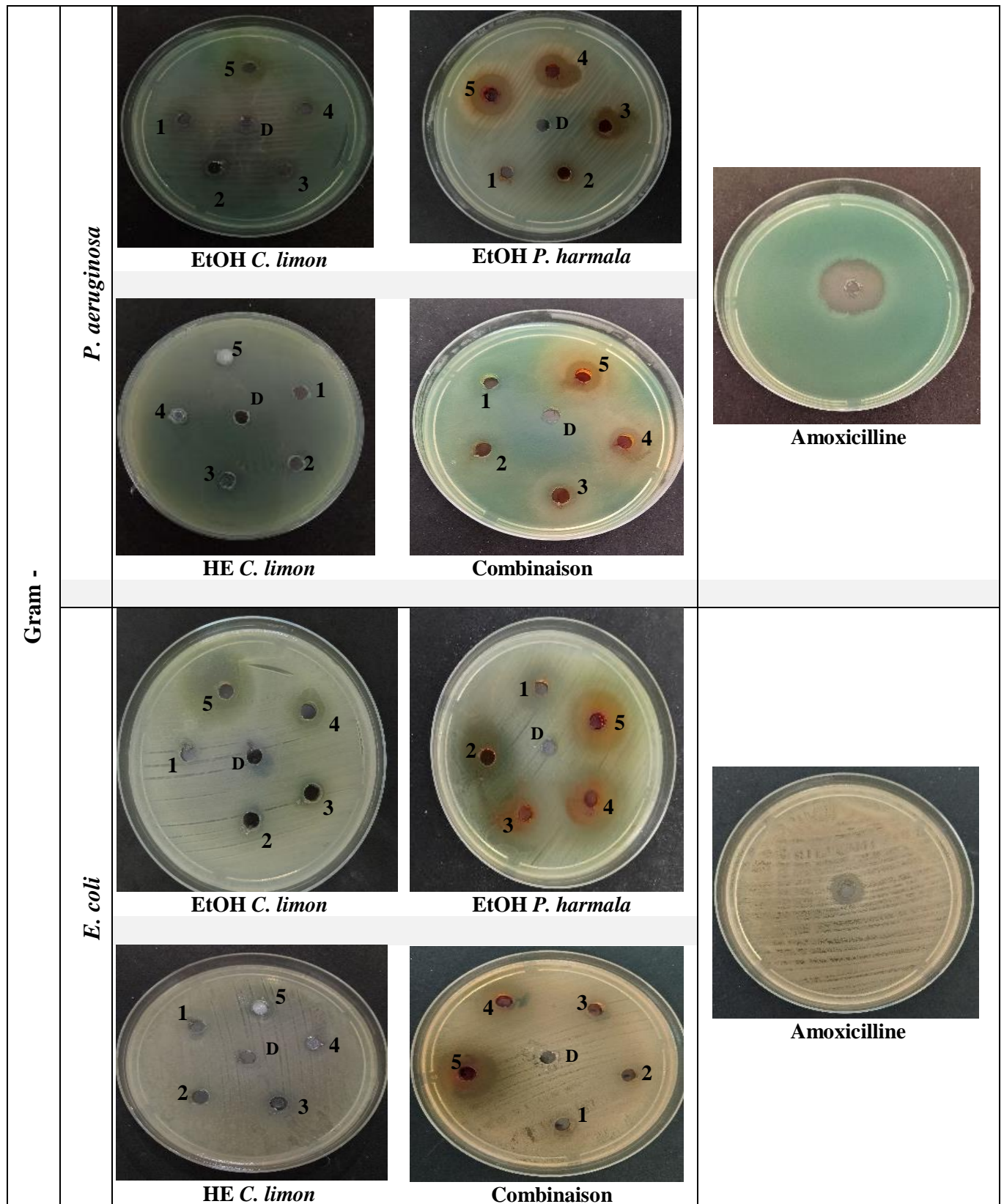


Figure 35: Zones d'inhibition des extraits EtOH des plantes, d'HE, d'ATB et du DMSO sur les Gram- ; *P. aeruginosa* et *E. coli*. 1: [C] =12,5mg/ml; 2: [C] =25mg/ml; 3: [C] =50mg/ml; 4: [C]=100mg/ml; 5: [C] =200mg/ml ; D: DMSO.

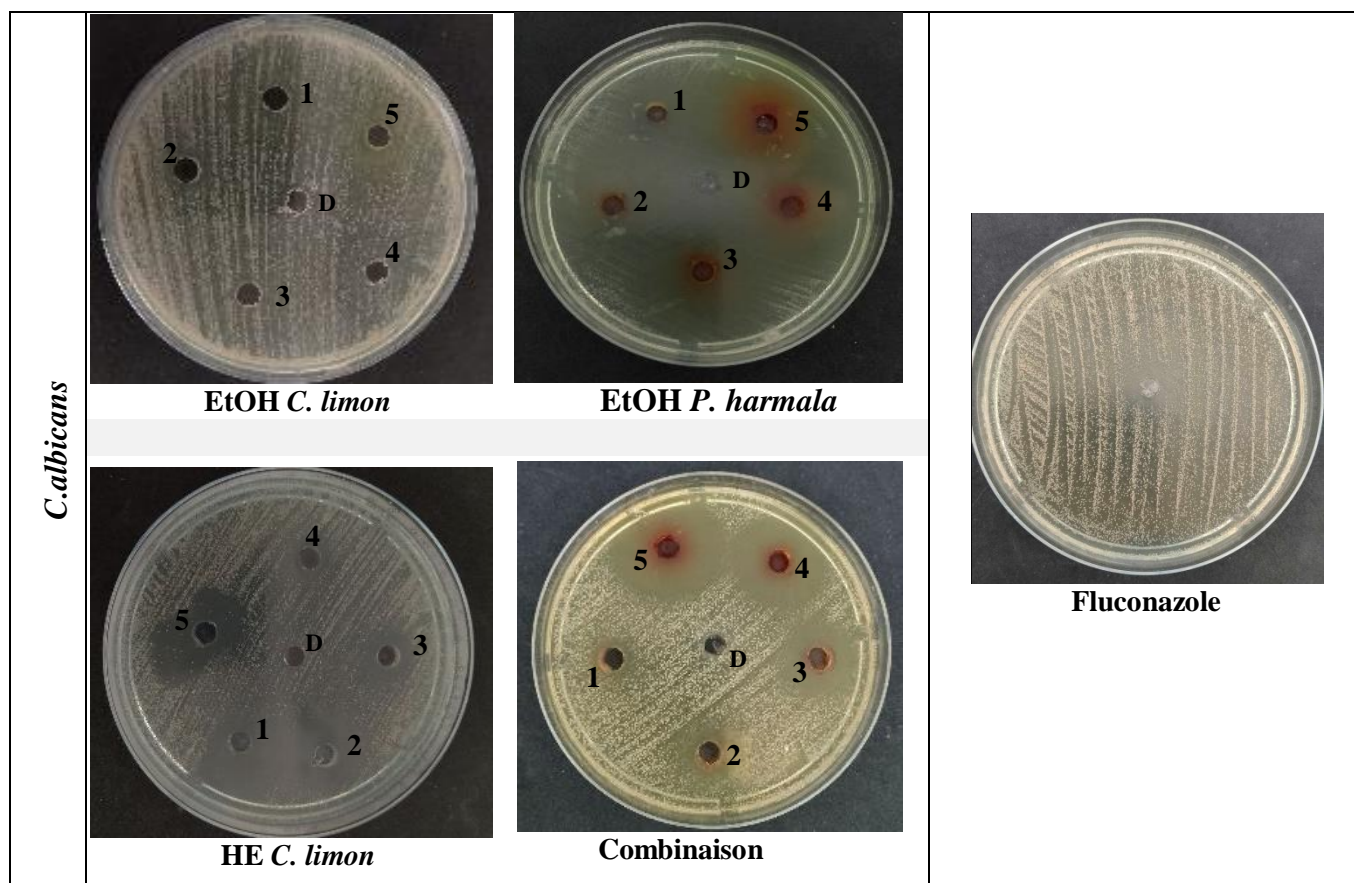


Figure 36 : Zones d'inhibition des extraits EtOH des plantes, d'HE, d'ATF et du DMSO sur la levure *C. albicans*. 1:[C] =12,5 mg/ml ; 2: [C] =25 mg/ml ; 3: [C] =50 mg/ml ; 4: [C] =100 mg/ml ; 5: [C] =200 mg/ml; D: DMSO.

Les résultats des zones d'inhibition (ZIs) (**Tableau 15, Figures 34, 35 et 36**) démontrent l'efficacité des extraits EtOH de deux plantes, de l'HE de *C. limon* et même de la combinaison des deux extraits EtOH à l'inhibition de la croissance microbienne des cinq souches testées, à savoir les bactéries *S. aureus*, *Bacillus spp*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, et la levure *C. albicans* avec des ZIs variables.

De ce fait, une corrélation forte et directe entre l'augmentation de la concentration des extraits et l'augmentation des diamètres des ZIs a été observée.

Il est également intéressant de noter que généralement les bactéries à Gram positif ont montré une sensibilité accrue aux extraits testés par rapport aux bactéries à Gram négatif. En particulier, la bactérie *Bacillus spp*. a été extrêmement sensible à l'extrait EtOH de *P. harmala* avec une ZI de $34 \pm 0,23$ mm à la concentration de 200 mg/ml en comparaison à d'autres extraits, suivi par la combinaison des deux extrait EtOH (ZI= $28 \pm 0,00$) et l'HE de *C. limon* (ZI= $23 \pm 0,00$) à la même concentration. Le même extrait ; EtOH de *P. harmala*, et la combinaison des deux extraits EtOH ont également été actifs contre la bactérie *S. aureus*

avec des ZIs aussi intéressantes, estimées à $26,5 \pm 0,70$ et à $24,5 \pm 0,67$ mm, respectivement. Notant que la combinaison des deux extraits EtOH possédait un effet bactéricide contre *S. aureus* avec une concentration minimale bactéricide (CMB) égale à 1,25 mg / puits. Alors que, les bactéries Gram- ; *P. aeruginosa* et *E. coli* ont été généralement moins sensibles à l'effet ; où aucune activité a été développée par l'HE de citron contre *P. aeruginosa* qui a démontré une résistance à toutes ses concentrations. Par ailleurs, cette dernière bactérie ; *P. aeruginosa* a révélé une sensibilité modérée aux extraits EtOH de *C. limon* et de *P. harmala*.

De plus, une sensibilité importante de la levure *C. albicans* à l'extrait EtOH de *P. harmala*, à l'HE de *C. limon* et à la combinaison des deux extraits EtOH a été observée, avec des zones d'inhibition de $39 \pm 0,00$ mm, de $26 \pm 0,53$ mm et de $26 \pm 0,70$ mm respectivement ; à la concentration de 200 mg/ml. Il a été aussi constaté que l'extrait EtOH de *P. harmala* et la combinaison des deux extraits EtOH, étaient fongicide contre *C. albicans* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) inférieure ou égale à 0,625 mg / puits et une concentration minimale fongicide (CMF) de 1,25 mg / puits. En revanche, aucun effet n'a été observé par l'extrait EtOH de *C. limon* contre cette levure ; où *C. albicans* a présenté une résistance à toutes ses concentrations.

Sur un autre volet, les comparaisons entre les diamètres des ZIs générées par l'extrait EtOH de *P. harmala* et celui de *C. limon* révèlent des différences significatives. Globalement, les ZIs obtenues par l'extrait EtOH de *P. harmala* ($26,5 \pm 0,70$ mm ; $34 \pm 0,23$ mm ; $16 \pm 0,00$ mm) étaient plus élevées que celles observées par l'extrait EtOH de *C. limon* ($12 \pm 0,00$ mm ; $13 \pm 0,45$ mm ; $14,5 \pm 70$ mm) contre les mêmes bactéries, à savoir *S. aureus*, *Bacillus spp* et *P. aeruginosa* respectivement. Cependant, une exception a été notée pour *E. coli*, où la ZI développée par l'extrait EtOH de *C. limon* ($26 \pm 0,83$ mm) a surpassé celle de *P. harmala* ($22,5 \pm 0,70$ mm) à la concentration de 200 mg/ml.

Il est important de noter que toutes les souches bactériennes étudiées ont montré une sensibilité à l'agent antibactérien testé (Amoxicilline) avec des ZIs allant de $11 \pm 0,00$ à $51 \pm 0,00$ mm. En revanche, le DMSO n'a été présenté aucune activité antibactérienne contre les quatre bactéries testées, avec une absence totale des ZIs. De plus, *C. albicans* a révélé une sensibilité légère à l'antifongique Fluconazole ($9 \pm 0,00$ mm) avec aucune sensibilité au DMSO.

A titre de comparaison, plusieurs recherches récentes (**Mansour et al., 2021; Jebali et al., 2022**) ont mis en évidence une sensibilité accrue des bactéries à Gram positif aux huiles

essentielles et aux extraits végétaux par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cette disparité de sensibilité est attribuable aux différences structurales de leurs couches externes ; les composés phytochimiques agissent en perturbant l'intégrité membranaire des microorganismes, ce qui explique en partie leur efficacité antimicrobienne différenciée (**Simões et al., 2009**).

Dans notre étude, une sensibilité des bactéries *S. aureus*, *Bacillus spp*, *P. aeruginosa* et *E. coli* à l'extrait EtOH de *C. limon* a été observée. Ces résultats confirment partiellement les conclusions des études menées par **Ali et al. (2017)** ; **Henderson et al. (2018)** ; **Al-Hadrawi et al. (2021)**, qui ont également rapporté une efficacité de l'extrait EtOH de *C. limon* contre *S. aureus* et *E. coli*. Cependant, il a été constaté dans le présent travail qu'aucune efficacité n'a été développée de cet extrait contre *C. albicans* ; contrairement à leurs observations où une zone d'inhibition de 17,5 mm a été rapportée par l'extrait de *C. limon*.

Nos résultats sont aussi en accord avec ceux d'une étude d'**Otang et Afolayan, (2016)**, qui a indiqué que l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* a révélé un effet intéressant contre *S. aureus* (Gram +), *P. aeruginosa* et *E. coli* (Gram -) à la concentration de 50 mg/ml. Les diamètres des ZIs obtenus sont de l'ordre de $15 \pm 0,1$ mm ; de $15 \pm 1,1$ mm et de $15 \pm 1,0$ mm, successivement.

En outre, ces résultats sont étroitement compatibles à ceux trouvés par **Moghdam et al. (2010)** qu'ils ont révélé que l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* était très actif contre des souches de *S. aureus* à la même concentration de 50 mg/ml, avec des ZIs allant de 17 mm à 23 mm. Cette forte activité antibactérienne est attribuée à la présence des alcaloïdes tels que l'harmine, l'harmaline et l'harmalol dans les graines de *P. harmala* (**Moghdam et al., 2010**; **Wang et al., 2022**).

En revanche, nos résultats sont largement différents de ceux trouvés dans l'étude de **Bouabedelli et al. (2016)**, où l'extrait MeOH de *P. harmala* a révélé un effet moindre contre *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* avec des ZIs négligeables de $5 \pm 0,00$ mm, $5 \pm 0,00$ mm, et de $10 \pm 1,00$ mm respectivement. Ces valeurs sont significativement plus basses que celles enregistrées dans notre travail (ZIs= $22,5 \pm 0,70$, $16 \pm 0,00$ et $26,5 \pm 0,70$ mm ; consécutivement). Cela pourrait indiquer une efficacité antibactérienne accrue de l'extrait EtOH de *P. harmala* dans notre étude, due à divers facteurs tels que le solvant d'extraction, la concentration de l'extrait, les différences dans les méthodes expérimentales ou les conditions de croissance bactérienne (**Simões et al., 2009**). Pour l'HE des écorces de *C. limon*, nos

résultats sont en accord avec ceux du travail de **Abid et Yahya (2023)** qui ont démontré que *S. aureus*, *Bacillus spp* et *C. albicans* étaient très sensibles au HE, cependant cette dernière (HE) est moins efficace contre *P. aeruginosa*. Contrairement à nos résultats, l'HE dans la même étude (**Abid et Yahya, 2023**) a donné un effet intéressant sur *E. coli* à toutes ses concentrations (12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 mg/ml) avec des diamètres des ZIs intéressantes ; allant de $18 \pm 0,00$ mm à $24 \pm 1,0$ mm.

Il semble que l'extrait EtOH de *P. harmala* soit plus efficace contre les souches microbiennes testées que la combinaison des extraits EtOH de *P. harmala* et *C. limon*, cela affirmé que l'efficacité peut être réduite lorsqu'ils sont combinés.

D'après l'ensemble des résultats, il est constaté que la présence des composés phénoliques, des saponines et des alcaloïdes dans les plantes étudiées peut justifier l'effet antimicrobien notable des extraits obtenus, car ces substances possèdent des propriétés antimicrobiennes connues (**Nacoulma, 1996 ; Dhandapani et al., 2002**). En particulier, la teneur élevée des alcaloïdes chez l'extrait des graines de *P. harmala* lui offre une activité antimicrobienne très importante (**Behidj-Benyounes et al., 2015**).

Pareillement, il est remarqué que les bactéries Gram- sont généralement plus résistantes aux composés phénoliques. Ceci est probablement associé à la présence d'une membrane externe lipophile contenant des niveaux élevés de phospholipides qui rend la paroi cellulaire imperméable à plusieurs macromolécules et restreint la diffusion des composés hydrophobes à travers son enveloppe lipo-polysaccharidique. Cette résistance des bactéries Gram- aux composés phénoliques est également liée et à la présence des enzymes spécifiques dans la membrane qui peuvent endommager les molécules introduites de l'extérieur (**Konaté et al. 2012**).

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits obtenus sur les microorganismes testés a été également déterminée (**Tableau 16**).

Tableau 16 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux obtenus sur les souches microbiennes testées.

Extrait	CMI				
	Concentration (mg/ml)				
	Gram+		Gram -		<i>C. albicans</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Bacillis spp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>		
EtOH <i>C. limon</i>	100	25	12,5	25	-
EtOH <i>P. harmala</i>	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
HE <i>C. limon</i>	25	50	-	100	12,5
Combinaison	12,5	12,5	50	50	12,5

L'extrait EtOH de *P. harmala* a démontré une forte activité antimicrobienne contre toutes les souches testées avec des CMI égales à 12,5 mg/ml (**Tableau 16**), ce qui suggère un fort potentiel pour son utilisation dans le traitement des infections bactériennes. En revanche, l'extrait EtOH et l'HE de *C. limon* ont montré des effets modérés, avec une absence d'activité contre certaines souches spécifiques. Par exemple, l'HE n'a montré aucun effet sur *P. aeruginosa*, tandis que l'extrait EtOH de *C. limon* n'a eu aucun effet sur *C. albicans*.

Les valeurs de la CMI sont variées (**Tableau 16**) de 12,5 à 100 mg/ml pour les extraits EtOH et l'HE. La CMI la plus faible (12,5 mg/ml) a été observée chez l'extrait EtOH de *P. harmala* sur toutes les souches bactériennes testées. De plus, l'extrait EtOH de *C. limon* a également présenté la CMI la plus basse contre *P. aeruginosa*. En revanche, les CMI les plus élevées, atteignant 100 mg/ml, ont été enregistrées par l'extrait EtOH et l'HE de *C. limon* sur *S. aureus* et *E. coli*, respectivement.

En outre, l'extrait EtOH et l'HE de *C. limon* ont exercé une activité bactériostatique sur les cinq souches testées, par contre l'extrait EtOH de *P. harmala* possédait une activité bactéricide sur *E. coli* et *C. albicans* avec une concentration minimale bactéricide (CMB) égale à 25mg/ ml (1, 25 mg/puits).

Après les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits obtenus de deux plantes ; écorces de *C. limon* et graines de *P. harmala*, sur les souches test, la souche bactérienne *S. aureus* a été sélectionnée pour évaluer l'effet anti-biofilm des extraits obtenus.

4.2.3- Inhibition de la formation de biofilms

Les pourcentages de la réduction des biofilms de *S. aureus* par les extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala*, la combinaison des deux extraits EtOH et l'HE des écorces de *C. limon* sont illustrés dans les histogrammes des **figures 37 et 38**.

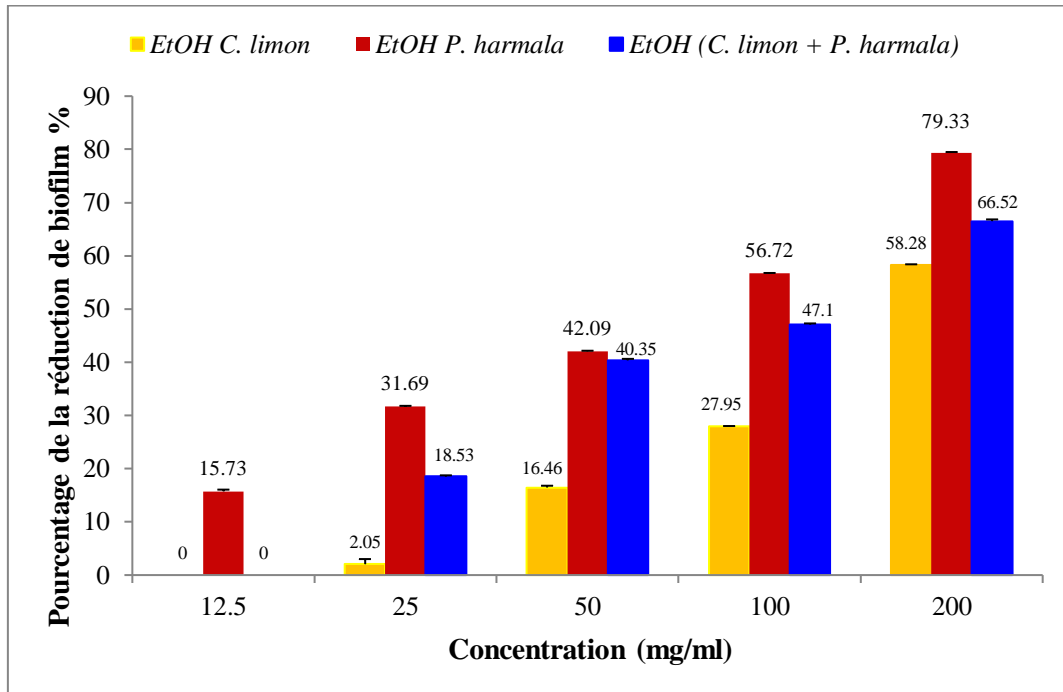


Figure 37: Activité antibiofilm des extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* et leur combinaison sur le biofilm de *S. aureus*.

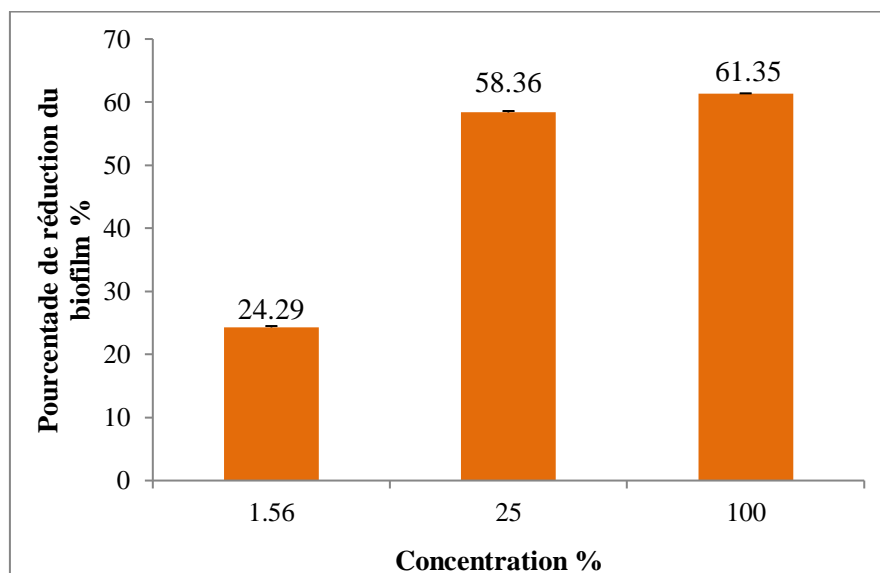


Figure 38: Activité antibiofilm de l'HE des écorces de *C. limon* sur le biofilm de *S. aureus*.

Dans cette étude, l'efficacité des extraits obtenus sur la réduction de la formation du biofilm de *S. aureus* a été testée par la méthode de cristal violet. D'après les résultats présentés dans les **figures 37 et 38**, l'extrait EtOH des écorces de *C. limon*, l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* et l'HE des écorces de *C. limon* ont révélé des effets antibiofilms positifs avec des taux de réduction variés de $58,28 \pm 0,12\%$, de $79,33 \pm 0,17\%$ et de $61,35 \pm 0,04\%$ respectivement, à la concentration maximale (200 mg/ml et 100% pour l'HE). La combinaison entre les deux extraits EtOH de deux plantes à la concentration de 200 mg/ml a donné un pourcentage d'inhibition du biofilm inférieur par rapport à l'extrait EtOH des graines de *P. harmala*. L'antibiotique (AMX) a présenté un taux de réduction de la formation du biofilm égal à $54,91 \pm 1,23\%$; proche de celui de l'extrait EtOH de *C. limon* ($58,28 \pm 0,12\%$) mais largement inférieur à celui de l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* qui a enregistré le pourcentage le plus élevé ($79,33 \pm 0,17\%$).

Nos résultats sont comparables avec ceux de **Fratianni et al. (2019)** sur l'extrait EtOH des écorces de 3 espèces du genre *Citrus* (*C. medica*, *C. bergamia* et *C. medica* de Salò) qui a montré un effet antibiofilm potentiel contre la formation de biofilm de *S. aureus*, *E. coli*, et *P. aeruginosa*. En outre, **Castillo et al. (2014)** ont montré que l'extrait EtOH des écorces et des graines de *C. limon* a présenté un effet antibiofilm intéressant contre *Campylobacter jejuni* avec un taux de réduction de 60% à 75%. Une autre étude d'**Ökmen et al. (2021)** sur l'extrait EtOH et l'extrait MeOH des fleurs de *C. limon* a donné des taux de réduction du biofilm de 17,1% et 39% respectivement, contre *S. aureus* à la concentration de 13 mg/ml.

Pour les graines de *P. harmala*, nos résultats sont aussi en accord avec ceux d'un travail de **Mohsenipour et Hassanshahian (2016)** sur l'extrait EtOH et l'extrait MeOH des graines de *P. harmala* qui a révélé des taux importants de réduction de la formation de biofilm variant de 38,75% à 90,28% sur plusieurs souches bactériennes telles que *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *Bacillus cereus* à partir de la concentration de 5 mg/ml jusqu'à 20 mg/ml.

Par ailleurs, l'étude d'**Al-Mousawi et al. (2021)** sur l'HE des écorces de *C. limon* a présenté un effet antibiofilm considérable contre la bactérie *Staphylococcus warneri* avec un taux de réduction de 66,35%. De plus, selon l'étude de **Jamil et al. (2022)**, l'HE des écorces de *C. limon* a montré des taux de réduction de la formation de biofilm de 56,22% à 79,90% contre la souche de *S. aureus*, et de 35,87% contre *Staphylococcus haemolyticus* ; respectivement.

Il a été conclu que les phytoconstituants des plantes comme les glycosides, les alcaloïdes et leurs dérivés, et l'acide tannique sont responsables de l'inhibition du biofilm. Ces composants

peuvent agir en brisant les plus gros polysaccharides présents dans l'EPS en plus petites sous-unités monomériques ; perturbent les fimbriae et autres adhérences utilisées pour l'adhérence cellulaire et la formation de biofilm, et inhibent les systèmes de détection de quorum dans diverses bactéries Gram- (**Famuyide *et al.*, 2019; Miller *et al.*, 2022**).

Conclusion et perspectives

5- Conclusion et perspectives

L'émergence de la multi-résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème complexe qui menace les efforts médicaux et thérapeutiques dans le monde entier, en conséquence, des tentatives par des chercheurs ont commencé pour trouver des solutions et des stratégies alternatives de lutte contre ces bactéries. Parmi les stratégies les plus intéressantes; les plantes médicinales. Pour cela, dans ce travail différents aspects de deux plantes ; les écorces de *Citrus limon* et les graines de *Peganum harmala*, ont été étudiés en l'occurrence; propriétés phytochimiques, activités antioxydantes, antibactériennes et antibiofilm.

En effet, le criblage phytochimique a permis de détecter les principaux métabolites primaires et secondaires dans ces plantes tels que les sucres, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. La quantification de ces métabolites a révélé des teneurs considérables en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Par ailleurs, les trois extraits des deux plantes ; deux extraits EtOH et HE de *C. limon*, ont montré des propriétés antioxydantes intéressantes par les deux méthodes DPPH et FRAP ; où l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* était le plus puissant avec des valeurs plus proches de celles du standard ; acide ascorbique.

En outre, les trois extraits ont révélé une activité antimicrobienne remarquable sur les souches testées en utilisant la méthode de diffusion sur gélose; où l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* a constamment donné l'effet antimicrobien le plus efficace sur les bactéries à Gram + (*S. aureus*, *Bacillus spp.*), Gram – (*E. coli*, *P. aeruginosa*) et la levure *C. albicans*, alors que la sensibilité de ces souches à l'extrait EtOH et l'HE des écorces de *C. limon* variait d'une souche à l'autre. De plus, la combinaison des extraits EtOH des deux plantes a donné une activité antimicrobienne moindre que celle de l'extrait EtOH des graines *P. harmala* tout seul ; concluant que cette combinaison a négativement affecté le potentiel antimicrobien. Les extraits obtenus ont également présenté une activité antibiofilm considérable avec des taux de réduction de la formation du biofilm de *S. aureus* relativement élevés aux concentrations maximales. L'extrait EtOH des graines de *P. harmala* a régulièrement montré l'effet antibiofilm le plus intéressant.

En tenant compte de ces résultats, on peut conclure que les écorces de *C. limon* et surtout les graines de *P. harmala* sont des puissants candidats pour être des alternatives efficaces aux antibiotiques à long terme pour lutter contre les souches multirésistantes. Cependant, ces résultats restent insuffisants et méritent d'être plus approfondies pour estimer s'il est possible d'utiliser ces plantes *in vivo*.

Pour cela, nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Tester l'efficacité des extraits de ces plantes sur d'autres microorganismes pathogènes;
- Poursuivre les études sur les activités biologiques des espèces du genre *Citrus* et *Peganum* dans le but d'améliorer des antibiotiques à partir des extraits de ces plantes ;
- Evaluer d'autres activités biologiques (anti-inflammatoire, anticancéreuse, antidiabétique...) de ces extraits ;
- Déterminer le mode d'action et tester la toxicité de ces extraits *in vivo* pour mettre en place des traitements naturels des maladies infectieuses mieux tolérés.

Références bibliographiques

6- Références bibliographiques

A

Abdu, K.M., Erahoui, R., Zahidi, A., Khedid, K., Ibn-Ahmed, S. 2021. Evaluation of Antifungal Activity of Lemon (*Citrus limon*) in Marrakech and Kenitra cities, Morocco. Egyptian Journal of Chemistry. 64 (8): 4183 – 4190.

Abdul Aziz, Z.A.A., Ahmad, A., Setapar, S.H.M., Karakucuk, A., Azim, M.M., Lokhat, D., Rafatullah, Mohd., Ganash, M., Kamal, M.A., Ashraf, G.M. 2018. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical and Therapeutic Potential - A Review. Current Drug Metabolism. 19, 1100–1110.

Abdulridha, M.M., Abdulhussein, H.S., Alyaseen, F.F., Hassan, B.A. 2019. Phytochemical and antibacterial activity of the *Peganum harmala* seeds and its alkaloids. Plant Archives. 19(1): 1439-1444.

Achat, S. 2013. Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. (Thèse de doctorat), Université de Béjaïa.

Agouazi, Ounissa. 2021. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de la vigne rouge (Thèse de doctorat). Sciences agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Ahanogbe, K.A.L. 2014. Résistance bactérienne en cas d'infections de plaies diabétiques : diagnostic et surveillance au laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako (Thèse de doctorat), pharmacie. Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako.

Aissani, Fatine. 2022. Caractérisation phytochimique, valorisation biologique et toxicologique des différents extraits d'une espèce Algérienne *Sonchus oleraceus* L. (Thèse de doctorat). Biochimie appliquée. Université 8 Mai 1945 Guelma.

Akabassi, G.C., Padonou, E.A., Yao, E.J.K., Nakpalo, S., Palanga, K.K., Assogbadjo, B.E.J., Zandjanakou-Tachin, M., Assogbadjo, A.E., Zirihi, N.G. 2021. Extract yield, dilution methods and antifungal potential of fruits of *Picralima nitida* (Stapf.) T.A. Durand & H. Durand. Journal of the Saudi society of agricultural sciences. 21: 425-431.

Al-Hadrawi, H., Al-obaidi, L. 2021. Study the susceptibility of alcoholic extracts of some Citrus fruits peels as antioxidants and antimicrobials. Turkish Journal of Physiotherapy and Rehabilitation; 32(3). 12815-12822.

ALI, J., DAS, B., Saikia, T. 2017. Antimicrobial activity of lemon peels (*Citrus limon*) extract. International Journal of Current Pharmaceutical Research. 9(4): 79-82.

Allaq, A.A., Sidik, N.J., Abdul-Aziz, A., Ahmed, I.A. 2021. Antioxidant, antibacterial and screening of ethanolic crude extracts of Libyan *Peganum harmala* seeds. Journal of pharmaceutical research international. 33 (13): 74-82.

Al-Mousawi, A.H., Chessab, R.M., Alquraichi, M.K. 2021. Inhibition of biofilm formation by Methicillin-resistant *Staphylococcus warneri* using *Citrus limon* oil. Caspian Journal of environmental Sciences. 20 (1): 197-201

Amairi, T. 2021. Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie (Thèse de doctorat), Microbiologie, Université Mohamed Khider de Biskra.

Ameen, O.M., Usman, L.A., Bamikale, M.B. 2021. Chemical composition and antioxidant potential of essential oils from peels of four Citrus species. Ilorin journal of science. 8 (2): 79-90.

Ammad, A., Moumen, M., Gasem, A., Othmane, S., Hisashi, K-N., Zebib, Z., Merah, O. 2018. The potency of lemon (*Citrus limon* L.) essential oil to control some fungal diseases of grapevine wood [Les huiles

essentiels de citron (*Citrus limon L.*) pour lutter contre certaines maladies fongiques du bois de la vigne]. Comptes Rendus Biologies. 341 :97-101.

Anwar, K., Ali, S., Bin Nasser, A., Amin, A., Malik, Z., Inam-u-llah., Jahangir, M. 2024. Exploration of fifty local Pakistani medicinal plants for Acetylcholinesterase (ACHE) inhibitory activity. Journal of population therapeutics and clinical pharmacology. 31 (3): 2157-2171.

Arshad, N., Zitterl-Eglseer, K., Hasnain, S., Hess, M. 2008. Effect of *Peganumharmala* or its beta-carbolinealkaloids on certain antibiotic-resistant strains of bacteria and Protozoa from poultry. PhytotherRes . 22 (11) 1533-1538.

Asgarpanah, J., Ramezanloo, F. 2012. Chemistry, pharmacology and Medicinal properties of *Peganumharmala L.* African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 6(22), pp. 1573-1580.

Ayad, N., Benaraba, R., Hemida, H., Abdellah, F. 2022. Biological activities of phenolic extracts from *Artemisia herba-alba* grown in western Algeria. European journal of biological research 12 (1): 46-61.

B

Badiaga, M. 2012. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia Smith*, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. (Thèse de doctorat), Université de Bamako.

Badin, L., Franc, C., Gilbert, P., Magdeleine, J., Martin, L., Vernaz, R., Arrighi, N., Sanchez, G. 2024. L'immunité entraînée une stratégie émergente contre l'antibiorésistance, in médecine science. (3) :40. <https://doi.org/10.1051/medsci/2024019>.

Bashir, U., Ali, A., Hafeez, R. 2016. Phytochemical Screening and Estimation of Antimicrobial Activity of Citrus Peel. Pakistan Journal of Phytopathology. 28, 185-196.

Beby-Defaux, A., Giraudeau, Bouguermouh, S, Agius, G. 2003. La grippe humaine: aspects virologiques, épidémiologie et diagnostic virologique. Médecine et maladies infectieuses. 33 : 134-142.

Behidj-Benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., Demmouche, K. 2015. Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala L.* récoltées dans la région de M'Sila. Sciences and Technologies : 21-30.

Belkacem, I. 2018. Stratégies de lutte contre les biofilms bactériens responsables d'intoxications alimentaires : polyphénols naturels (Thèse de doctorat), Microbiologie appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

Benkherara, S., Bordjiba, O., Djahra, A. 2011. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Saugue officinale : *Salvia officinalis L.* sur quelques entérobactéries pathogènes. Revue des Sciences et de la Technologie. 23. 72-80.

Benmalek, Y. 2009. Etude de la résistance aux agents antimicrobiens (métaux lourds et antibiotiques) et évaluation du pouvoir dépolluant chez un nouveau taxon de la famille des *Flavobacteriaceae* (Thèse de doctorat), Microbiologie. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene.

Bevilacqua, S. 2011. Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. (Essai d'intervention contrôlé) (Thèse de doctorat), Sciences de la Vie et de la Santé, Université Henri Poincaré.

Bouabedelli, F., Missoun, F., Benhamimed, E-A., Djebli, N. 2016. Phytochemical and antimicrobial study of the seeds and leaves of *Peganum harmala L.* against urinary tract infection pathogens. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 6(10).822-826. Doi: 10.1016/S2222 1808(16)61139-8.

Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Toubal, S., El Haddad, D., Ouassaid, S., Blizak, D., Arab, K. 2020. Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus communis L.* et *Rhamnus alaternus L.* Revue AgroBiologia. 10 (1): 1749-1761.

Boucif, O., Benhammou-Belyagoubi, N., Rached-Kanouni, M., Rahab, R. 2023. Valorisation Phytochimique de *Cupressus sempervirens L.* de la Forêt de Terni (Monts de Tlemcen). Revue des BioRessources. 13, 11-19.

Boudjouref, M. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* (Thèse de doctorat). Université Ferhat Abbas-Sétif. p99.

Boumaza, S. 2019. Evaluation de l'effet des extraits flavonoïques et des huiles essentielles d'*Euphorbia guyoniana* sur les bactéries pathogènes d'origine tellurique (Thèse de doctorat), Ecologie des Systèmes Vectoriels. Université M'hamed Bougara- Boumerdes.

Boussaid, S. 2007. Aptitude de dégradation du bifenthrine par des souches bactériennes isolées localement (Thèse de doctorat). Génie de l'environnement. Ecole nationale polytechnique d'Alger.

Boussena, S. 2019. Manuel des travaux pratiques de bactériologie. Institut des sciences vétérinaires. Département de productions animales. 61 : p.22.

Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., Chefrou, A. 2016. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie), Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85 : 174-189.

Buffo et Herman. 1984. *Candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching. Eukaryot cell 2006, 5:359- 367.

C

Caiusca, A. 2019. Bacteria that inhabits the intestines of some animals. Education Brazil. <https://www.educamaisbrasil.com.br/enem/biologia/escherichia-coli> (en ligne).

Castillo, S., Heredia, N., Arechiga-Carvajal, E., Garcia, S. 2014. Citrus Extracts as Inhibitors of Quorum Sensing, Biofilm Formation and Motility of *Campylobacter jejuni*. Food Biotechnology, 28:106–122 DOI: 10.1080/08905436.2014.895947.

Chaieb, I. 2010. Saponins as insecticides. Tunisian journal of plant protection. 5: 39-50.

Chaker, H. 2012. Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. (Thèse de doctorat), Science agricole: Grenoble : Université de Grenoble.

Chaltea, A., E. Van der Verren, S., Remaut, H., Fioravanti, A. 2020. The *Bacillus anthracis* cell envelope: Composition, physiological role, and clinical relevance. Microorganisms 8(1864) doi: 10.3390/microorganisms8121864.

Chatzimitakos, T., Athanasiadis, V., Kotsou, K., Bozinou, E., Lalas, S.I. 2023. Response Surface Optimization for the Enhancement of the Extraction of Bioactive Compounds from *Citrus limon* Peel. Antioxidants. 12: 1-21.

Chaudhry, W.N., Concepcion-Acevedo, J., Park, T., Andleeb, S., Bull, J.J., Levin, B.R. 2017. Synergy and Order Effects of Antibiotics and Phages in Killing *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms, PLoS ONE, 12.

Chauhan, N., Saxena, J. 2019. Quantitative Estimation of Total Phenolic Content and Total Flavonoid Content of Yellow And Green *Citrus Limon* Peel Extracts. IOSR Journal of Pharmacy. 9 (2): 37-42.

Cherfia, R., Zaiterb, A., Akkal, S., Chaimbault, P., Abdelwahab, A.B., Kirsch G., Kacem Chaouche, N. 2020. New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinose (L.)*

Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis. Bioorganic chemistry. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103535>.

Clouzeau, B., Boyer, A., M'Zali, F., Kann, M., Gruson, D. 2015. Nouvelles stratégies thérapeutiques contre les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu. *Réanimation*. 24 :270-277.

Couic-Marinier et Lobstein. 2013. Les huiles essentielles gagnent du terrain à la pharmacie communautaire. *Actualités pharmaceutiques*. (52):525. 18-21.

D

Florez, D.I., Nino-Serna, F.L., Beltran-Arroyave, P.C. 2020. Acute infectious diarrhea and gastroenteritis in children. *Current infectious disease reports*, 22.

Deeks, S.G., Overbaugh, J., Philips, A., Buchbinder, S. 2015. HIV infection. Macmillan.

Dehiri, M., Diafat, A., Fatmi, W., Ben Mansour, R., Bouaziz, F., Bahloul, A. 2022. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities of *Peganum harmala L.* extracts. *Biotechnologia Acta*. 15 (1) doi:10.15407/biotech15.01.061.

Dhanani, T., Singh, S., Gajbhiye, N.A., Kumar, S. 2017. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian journal of chemistry*, 10: 1193-1199.

Dhandapani, N., Dhandapani S., Subramanian, V.R., Rajagopal, S., Namasivayam, N. 2002. Antimicrobial activities of *Iranian sumac* and *avishan shirazi* against some food borne bacteria. *Food Control*. 18: 646-649.

Dif, M.M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., Bouterfas, K. 2015. Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas L.* *Phytothérapie*. DOI 10.1007/s10298-015-0976-5.

Djeddi S., Djahoudi A.G., Benchalia N. et Himour H. 2015. Antibacterial activity of *Calycotum villosa* (Poiret). *Link extracts*. 3(1) : 13-18.

Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E, Ismadji, S. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22: 296-302.

Doganay, M., Dinc, G., Kutmanova, A., Baillie, L. 2023. Human Anthrax: Update of the Diagnosis and Treatment. *Diagnostics*, 13, 1056.

Drell, T., Lillsaar, T., Tummeleht, L., Simm, J., Aaspõllu, A., Väin, E., Saarma, I., Salumets, A., G.Donders, G., and Metsis, M. 2013. Characterization of the vaginal micro- and mycobiome in asymptomatic reproductive-age estonian women, *PLoS ONE*, vol. 8(1).

E

El Aboubi, M., Ben Hdech, D., Bikri, S., Benayad, A., El Magri, A., Aboussaleh, Y., Aouane, E-M. 2023. Chemical composition of essential oils of *Citrus limon* peel from three Moroccan regions and their antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and dermatoprotective properties. *Journal of herbmed pharmacology*. 12 (1): 118-127.

EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berran, A., Tazougart, H., Bengueddour, R. 2018. Screening Phytochimique d'une Plante Médicinale: *Mentha spicata L.* *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 7(4), 226-230.

Elie, F. 2022. Les phénols et les polyphénols. *Free. S.A.S.* 1-38.

EL Khatib, R. 2011. Contrôle hydrodynamique de la formation des biofilms en milieu Eaux usées (Thèse de doctorat), Géosciences, L'Institut National Polytechnique de Lorraine.

Evain - de Pontbriand, M. 2015. Critères de demande d'évaluation hospitalière des médecins généralistes lors d'une suspicion de Pneumopathie Aiguë Communautaire (PAC). Evaluation de l'utilisation des critères du score CRB65 en médecine générale comme outil d'aide à l'orientation des patients suspects d'être atteints de PAC (Thèse de doctorat), Médecine générale, Université Paris Diderot - Paris 7.

F

Famuyide, I.M., Aro, A.O., Fasina, F.O., Eloff, J.N., 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 complement altern medecine*, 19(141): 1–13.

Faner, R., Sibila O., Agustí A., Bernasconi E., Chalmers J D., Huffnagle G B., Manichanh C., Molyneaux P L., Paredes R., Brocal V P., Ponomarenko J., Sethi S., Dorca J., Monsó E. 2017. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *European Respiratory Journal*, 49(4), 1602086.

Farzeen, I., Muzammil, S., Rafique, A., Noreen, R., Waseem, M., Andleeb, R., Ijaz, M., Ashraf, A. 2022. Candidose cutanée. In *Candida et Candidoses*. TulinAskun. 1-18.

Fernandes, V.C., Queiroz, C.R., Almeida, E.S., Melo, C.M. 2023. Phenolic content and antioxidant activity of medical plants. *Research, Society and Development*. 12(3).

Fettah, A. 2019. Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium L.* sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra (Thèse de doctorat), Chimie Organique et Phytochimie. Université Mohamed Khider Biskra.

Fidrianny, I., Ruslan, A.K. 2016. Antioxidant activities of Arabica green coffee from three regions using ABTS and DPPH assays. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*. 9 (2).

Forstinus, N. O., Dickson, I., Chinyere A.Q. 2015. Epidemiology of Salmonella and Salmonellosis. *International letters of natural sciences*. 47:54-73.

Fратиanni, F., Cozzolino, A., De Feo, V., Coppola, R., Ombra, M.N., Nazzaro, F. 2019. Polyphenols, Antioxidant, Antibacterial, and Biofilm Inhibitory Activities of Peel and Pulp of *Citrus medica L.*, *Citrus bergamia*, and *Citrusmedica* cv. Salò Cultivated in Southern Italy. *Molecules*. 24. doi:10.3390/molecules24244577.

G

Garnier, M. 2020. Bactéries multirésistantes : impact sur le Pronostic en réanimation. *Anesth Reanim*. 6 : 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.anrea.2020.01.008>.

Gayathiri, E., Bharathi, B., Priya, K. 2018. Study of the enumeration of twelve clinical important bacterial populations at 0.5 McFarland standards. *International journal of creative research thoughts*. 6(2): 880-893.

Gérin, M., Pierre Gosselin, Cordier, S., Viau, C., Quénel, P., Dewailly, E. 2003. Environnement et santé publique : fondements et pratique. Édisem / Tex& Doc.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M.C., Oueld-Mokhtar, S.M., Fercha, N., Bousselsela, H. 2014. Evaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare L.* *Algerian journal of natural products*. 2 (2): 64-74.

Ghannoum, M. A., Jurevic R. J., Mukherjee, P. K. Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., Gillevet, P. M. 2010. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals, *PLOS Pathogens*, 6.

Goudjil, Mohamed Bilal. 2016. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques (Thèse de doctorat), Génie des procédés et environnement. Ouargla: Université Kasdi Merbah – Ouargla.

Grabowski, J. 2024. New starting point discovered in the fight against *P. aeruginosa*. Phys. Org (en ligne).

Guergour, H. 2018. Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala* (Thèse de doctorat), Biochimie, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Gurusiddappa, L.M., Varghese, C., Gowda, B., Kalikeri, S. 2014. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Solvent Extraction of *Citrus Limon* Peels. World Journal of Environmental Biosciences. 12 (2): 1-6.

H

Haffiane, A et Ravaoarinoro, M. 2008. Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. Elsevier Masson, Médecine et maladies infectieuses. ; 38 : 238- 47.

Hama, H., Idrissa, M., Khali, I. 2019. Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. European Scientific Journal. 15,(12) ,1857 – 7881.

Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M. 2013. « Harmel. » Plante toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. 137-149.

Hani, U., Shivakumar, H., Vaghela, R., Osmani, R., Shrivastava, A. 2015. Candidose : une infection fongique – Défis actuels et progrès en matière de prévention et de traitement. Infectious disorders. 15(1).42-52.

Hassina G. 2018. Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et Pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala*. (Thèse de doctorat), Université Ferhat Abbas, Sétif 1, p.155.

Henderson, A., Fachrial, E., Ehrich Listerc, N. 2018. Antimicrobial Activity of Lemon (*Citrus limon*) Peel Extract Against *Escherichia coli*. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences. 39(1). 268-273.

I

Iqbal, Z., Javed, M., Rafique, G., Saleem, T. 2019. A comparative study of total phenolic contents and antioxidant potential of seeds of *Peganum harmala*. International Journal of Biosciences. 14 (3): 121-127.

J

Jain, N., Lodha, R., Kebra, S.K. 2001. Upper respiratory tract infections. Indian Journal of Pediatrics. 68: 1135-1138.

Jamil, A.H., Abdulhussein, A., Alsharifi, M. 2022. The anti-biofilm activity of lemon oil against methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus haemolyticus*. AIP Conference Proceedings 2386 <https://doi.org/10.1063/5.0067569>

Jawerth, N. 2020. La contribution de la science nucléaire face aux maladies infectieuses. Bulletin de l'agence internationale de l'énergie atomique, Juin 2020.

Jebali, J., Ghazghazi, H., Aouadhi, C., El Bini-Dhouib I., Ben Salem R., Srairi-Abid, N., Marrakchi, N., Rigane, G. 2022. Tunisian Native *Mentha pulegium* L. Extracts: Phytochemical Composition and Biological Activities. Molécules. 27- 314.

K

Kale, S. 2020. Screening of phytochemical components of leaf extracts. International journal of current microbiology and applied sciences. 9 (9).

Kaur, R., Kaur, R. 2021. Symptômes, facteurs de risqué, diagnostic et traitement des infections es voies urinaires. Postgraduate medical journal. (97): 803-812. Doi: 10.1136/postgradmedj-2020-139090.

Keddari, Malika. 2020. Fréquence et facteurs de risque de portage rhinopharynge de *Streptococcus pneumoniae* chez l'enfant de moins de 5 ans dans la daira de Sidi M'hamed Alger (Thèse de doctorat), Pédiatrie, Université d'Alger1-Benyoucef Benkhedda.

Ke Yu, Chen, F., Chuan, L. 2012. Absorption, disposition et Pharmacocinétique des saponines des herbes médicinales chinoises : que savons-nous et que devons-nous savoir davantage. Métabolisme actuel des médicaments, 13(5), 577-598.

Khalafallah, M.M., Abdellatif, E., Dafalla, H.M., Nassrallah, A.A., Aboul-Enein, K.M., Lightfoot, D.A., El-Deeb, F.E., El-Shemy, H.A. 2010. Active principle from *Moringaoleifera* Lam leaves effective against two leukemias and a hepatocarcinoma. African journalof biotechnology. 9 (49): 8467-8471.

Khawaldeh, A., Morales, S., Dillon, B., Alavidze, Z., Ginn, A.N., Thomas, L., Chapman, S.J.; Dublanchet, A., Smithyman, A., Iredell, J.R. 2011. Bacteriophage therapy for refractory *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infection, J. Med. Microbial, 60, 1697–1700.

Kherroubi, M. 2017. Screening phytochimique et activité de deux plantes à l'égard de *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermuller, 1775) dans la cédraie de Chréa (Blida) et importance des parasites embryonnaires (Thèse de doctorat), Biologie et Ecologie en Zoologie Agro-Sylvo Pastoral. École nationale supérieure agronomique El-Harrach-Alger.

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

Klein, G.L., Dufour, A., Compère, C. 2010. De nouvelles voies d'inhibition des biofilms. Matériaux et techniques. 1.

Konate N.-M. 2010. Diversité interspécifique d'effcience d'utilisation de l'eau des Acacias sahéliens et australiens. (Thèse de doctorat), Université Henri Poincaré, Nancy-1, France, 122.

Konaté, K., Hilou, A., Mavoungou, J. F., Lepengué, A. N., Souza, A., Barro, N., Nacoulma, O.G. 2012. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L. (Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 11 (1): 1-6.

Kumamoto, C. A., Gresnigt, M. S., and Hube, B. 2020. The gut, the bad and the harmless: *Candida albicans* as a commensal and opportunistic pathogen in the intestine. Current Opinion in microbiology, vol. 56(8) : 7–15.

L

Lachache, A. 2021. Interaction bactéries - matériaux des systèmes de distribution d'eau potable dans la région d'Ouargla : Rôle des propriétés physico-chimiques de surface sur le pouvoir d'adhésion (Thèse de doctorat), Biochimie-Microbiologie Appliquée, Université Kasdi Merbah– Ouargla.

Lagane, C. 2007. Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la reponse anti-infectieusesdes macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de *Candida albicans*.implication de ppar- γ . Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

Lagrafeuille, R. 2016. Activité anti-biofilm de *Lactobacillus* vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae*. (Thèse de doctorat). Médecine humaine et pathologie. Université d'Auvergne. Clermont-Ferrand.

Lemaoui, C.-E., Layaida, H., Badi, A., Foudi, N. 2017. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Anti Infectieux*, 166, 8.

Le Run, E. 2019. Nouvelles combinaisons de β -lactamines et inhibiteurs de β -lactamase : vers un nouveau traitement des infections à *Mycobacterium abscessus* chez les patients atteints de mucoviscidose. Sorbonne Université. France.

Liu, Y., Jia, Y., Yang, K., Li, R., Xiao, X., Wang, Z. 2019. Antagonizing Vancomycin Resistance in *Enterococcus* by Surface Localized Antimicrobial Display-Derived Peptides. *ACS Infect. Dis.*

M

Mach, F., Marchandin, H. and Bichon, F. 2020. Traitement et prévention des infections urinaires', *Actualités Pharmaceutiques*, 59(598), pp. 48–52.

Majid, A. 2018. A review study of the chemical constituents and therapeutic effects of *Peganum harmala* L. *Global Journal of Pure and Applied Chemistry Research*.vol (6). 12-19.

Makni, M., Jemai, R., Kriaa, W., Chtourou, Y., Fetoui, H. 2018. *Citrus limon* from Tunisia: Phytochemical and Physicochemical Properties and Biological Activities. *BioMed Research International*.1-10.

Manthey, J.A., Guthrie, N., Grohmann, K. 2001. Biological properties of Citrus Flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, 8: 135-153.

Mansour I. 2021. Chemical Composition; Antioxidant and Antibacterial Activity of *Lavandula officinalis* Flowers Essential Oil.

Mantur,p., Meliyuita, E., Levina,E., Pakan, P.D. 2023. The effect of lemon extract (*Citrus limon*) on the blood sugar levels and pancreatic beta cell regeneration in alloxan-induced hyperglycemic mice. *Acta Biochimica Indonesiana*. 6 (1), 97.

Martins, N., Ferreira, I., Barros, L., Silva, S., Henriques, M. 2014. Candidose : facteurs prédisposant, prévention, diagnostic et traitement alternatif. *Mycopathology*. 177(5): 223-240.

Marzoug, A.N., Khaldi, F., Ayari, A., Gali, L., Gheid, A. 2023. Antioxidant and anticholinesterase effects of methanol extract, and consecutive fractions of *Peganum harmala* L. *Egyptian journal of chemistry*. 66 (6): 431-440.

Masyita, A., Mustika, S., Astuti, A., Budiman, Y., Rumata, N., Talha, B., Firzan, N., Jesus, S-G. 2022. Terpènes et terpénoïdes comme principaux composés bioactifs des huiles essentielles, leurs rôles dans la santé humaine et leur application potentielle en tant que conservateurs alimentaires. *Food Chemistry*, 13, 1575-2590.

Maurice, N. 1997. De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e Siècle. Édition, Lavoisier. Paris. 12p.

Mavor, S., Thewes., Hube, B. 2005. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: Epidemiology, infection process and virulence attributes. *Current drug targets*, 6(8). 863–874.

Mazandarani, M., Sepehr, K.S., Baradaran, B., Khuri, V. 2012. Autecology, Phytochemical and Antioxidant Activity of *Peganum harmala* L. Seed Extract in North of Iran (Tash Mountains). *Journal of Medicinal Plants and By-products*. 2: 151-156.

Mbengue, Mbaye. 2015. Microbiologie et structuration génétique de souches Sénégalaise et Gambienne de *Bacillus anthracis* (Thèse de doctorat), Génétique des populations, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

- Meghdas I., Monzer H., Dabboussi F., Baida N., Daniel I. 2003.** Taxonomie du genre *Pseudomonas aeruginosa* : Retrospective et actualité, Lebanese Science Journal. 5(1): 115 -27.
- Mehmood, A., Naveed, K., Jadoon, N., Ayub, Q., Hussain, M., Hassaan, M. 2021.** Phytochemical screening and antibacterial efficacy of black cumin (*Nigelia sativa* L.) seeds. FUUAST journal of biology. 11 (1): 23-28.
- Mekkiou, R. 2005.** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista*.
- Merenstein, D., Hu, H., Wang, C., Hamilton, P., Blackmon, M., Chen, H., Calderone, R., Li, D. 2013.** Colonization by *Candida* species of the oral and vaginal mucosa in HIV-infected and noninfected women, AIDS Research and Human Retroviruses, 29, p.30.
- Milad, M., Peyman, M., Shahin, A., Asghari, M., Shayegh, J. 2013.** Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids, Pharmacogn Rev : 37(14) ; Jul-Dec.
- Miller, T., Waturangi, D.E., Yogiara. 2022.** Antibiofilm properties of bioactive compounds from Actinomycetes against foodborne and fish pathogens. Scientific reports, 12. doi:10.1038/s41598-022-23455-8.
- Moghdam, M.S., Maleki, S., Darabpour, E., Motamedi, H., Nejad, S.M. 2010.** Antibacterial activity of eight Iranian plant extracts against methicillin and cefixime resistant *Staphylococcus aureus* strains. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine : 262-265.
- Mohsenipour, Z., Hassanshahian, M. 2016.** Antibacterial activity of *Peganum harmala* alcoholic extracts against six pathogenic bacteria in planktonic and biofilm forms. Biological Journal of Microorganism. 4 (16) : 109-120.
- Mouas, Yamina. 2018.** Effet comparatif des paramètres physiologiques, biochimiques et thérapeutiques de romarin *Rosmarinus officinalis* L (Thèse de doctorat), Amélioration des productions végétales. Université Saad Dahleb de Blida.
- Moualek, A., Bariz, K., Sebban H., Msela, A., Houali, K. 2022.** Activité antibactérienne de quelques extraits aqueux de plantes médicinales, Current Algerian research topics in microbiology : SARAHMED éditions : 93-97.

N

- Nacoulma, O.G. 1996.** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles: cas du Plateau central (Thèse de Doctorat). Université d'Ouagadougou, Burkina Faso.
- Naim, M., Farhad, M.A., Sania, S., Sheikh Nazrul, I., Begum, R., Rashid, M.A., Amran, M.S. 2012.** A Comparative Study of Antidiabetic Activity of Hexane-Extract of Lemon Peel (*Citrus limon*) and Glimperide in Alloxan-Induced Diabetic Rats. Bangladesh Pharmaceutical Journal 15(2): 131-134.
- Natarajan, A., Beena, P.M., Devnikar, A.V., Mali, S. 2020.** A systemic review on tuberculosis. Indian journal of tuberculosis. 67: 295-311.
- Nenaah, G. 2010.** Activités antibactériennes et antifongiques des alcaloïdes (bêta)-carboline de Graines de *Peganum harmala* (L) et leurs effets combinés. Fitoterapia. (81)779-82.
- Nerovique., Ben Slama, H., Azagoh, N., et Favet, R. 2011.** Extraction et Purification de composés végétaux d'intérêt fonctionnel : Elaboration d'une crème de nuit à base d'huile essentielle de citron. Ed, Montpellier Sup-Agro. Universités Montpellier. p 44.
- Niass, O., Sarr, S.O., Diop, A., Diop, A., Diop, Y.M. 2015.** Etude *in vitro* de l'activité antibactérienne de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelles locale au Saloum (Sénégal), ScienceLib Editions Mersenne, 7.

Nissar, A., Raina, A., Wagay, N., Tantray, Y. 2017. Distribution, Status, Pharmacological, and Traditional Importance of *Peganumharmala* L. international journal of advance. Research in science and engineering. (6). 1887-1894.

Noumi, E., Alshammari, G.S., Zmantar, T., Bazaid, A.S., Alabbosh, K.F., Elasbali, A.M., AbuAl-Soud, W., Ghazi Alrashidi, S., Snoussi, M. 2022. Antibiofilm Potential and Exoenzyme Inhibition by *Elattaria cardamomum* Essential Oil in *Candidasp.* Strains. Life. 12 (1756). <https://doi.org/10.3390/life12111756>.

O

Ökmen, G., Arslan, K., Tekin, R. 2021. Antimicrobial Activity of *Citrus limon* L. Against Foodborne Pathogens and Its Anti-Oxidant and Antibiofilm Properties. International Journal of Ayurvedic Medicine, 12 (2): 301-308.

Okigbo, R.N., Ezebo, R.O., Okoli, S.I. 2020. Phytochemical analysis of *Xylopi aethiopica* (Dun), *Citrus limon* (L.) and *Allium sativum* (L.) extracts and their effect on selected human pathogens. Advancement in Medicinal Plant Research. 8(2): 35-42.

Organisation mondiale de la santé (OMS). 2021. Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens.

Otang, W.M., Afolayan, A.J. 2016. Antimicrobial and antioxidant efficacy of *Citrus limon* L. peel extracts used for skin diseases by Xhosa tribe of Amathole district, Eastern Cape, South Africa. South African journal of Botany. 102: 46-49.

Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T.K., Nitiema, M., C.Sombie, B., Diawara, H.Z., B.G. Yameogo, J., Djande, A., Belemnaba, L., B.Kini, F., Ouedraogo, S., Semde, R. 2021. Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. International journal of biological and chemical sciences. 15(2), 750-772.

Oulebsir-Mohandakci, H. 2012. Evaluation de l'impact biologique de quelques souches locales de *Bacillus spp.* et *Pseudomonas spp.* Fluorescents vis-à-vis du criquet migrateur *Locusta migratoria cinerascens* (Orthoptera : Acrididae) (Thèse de doctorat), Protection des végétaux- Zoophytiatrie. Ecole nationale supérieure agronomique El Harrache-Alger.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E.coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 18 (5), 414-420.

Ozenda, P. 1991. Flore et végétation du Sahara 3ème édition, augmentée. Ed CNRS, Paris.

P

Goetz, P. 2014. *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Rutacées) Citronnier. Springer-Verlag France, 12:116-121.

Pacios, O., Blasco, L., Bleriot, I., Fernandez-Garcia, L., Bardanca, M.G., Ambrosa, A., Lopez, M., Bou, G., Tomas, M. 2020. Strategies to combat multidrug resistant and persistent infectious diseases, Antibiotics, 9 (65).

Padrini, F., Lucheroni, M.T, 1996. L gran libro de los aceites esenciales. Encuadernación: Tapa blanda. p 208.

Pandey, A., Kaushik, A., Tiwari, S.K. 2011. Evaluation of Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of *Citrus limon*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences. 13(17).

Pandey, N., Kumar gupta, M., Paul, P., Ragini, T. 2020. Nécessité d'identifier avec précision les espèces de *Candida* avec détermination de la concentration minimale inhibitrice dans chaque cas d'infection sanguines. Journal des infections et de la santé publique. 1-6.

R

Radjah, A. 2020. Valorisation et identification phytochimique des principes actifs de quelques plantes médicinales de la région de Biskra (Thèse de doctorat), Université Mohamed Khider – Biskra.

Rathour, S., Rawat, P., Tyagi, S., Ghosh, K., Gupta, A. 2020. Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activity of *Raphanus sativus* and *Citrus Limon* Peel. International Journal of Botany Studies. 5 (3): 452-456.

Reynolds, D., Kollef, M. 2021. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. Drugs, (81), 2117–2131. DOI : <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6>.

S

Rane, H.S., Bernardo, S.M., Raines, S.M., Binder, J.L., Parra, K.J., Lee S.A. 2013. *Candida albicans* VMA3 Is Necessary for V-ATPase Assembly and function and Contributes to Secretion and Filamentation. Eukaryotic Cell. 12(10).1369. DOI :10.1128/EC.00118-13.

Saada, I. 2023. Valorisation des ressources biologiques en lutte contre les déprédateurs et les maladies de céréales : cas des extraits de plantes autochtones (Thèse de doctorat). Protection des végétaux. Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira.

Saeedeh, F., Oryan, S., Ahmadi, R., Eidi, A. 2022. Evaluation of chemical components, anti-oxidant properties, and lethal toxicity of alkaloids extracted from espend (*Peganum harmala*). Journal of applied biological sciences. 16 (2): 257-265.

Saidi, I. 2019. Caractérisation et valorization d'une plante de la famille des Fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives (Thèse de doctorat). Sciences biologiques. Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbès.

Saleem, M., Durani, A.I., Asari, A., Ahmed, M., Ahmad, M., Yousaf, N., Muddassar, M. 2023. Investigation of antioxidant and antibacterial effects of citrus fruits peels extracts using different extracting agents: Phytochemical analysis with in silico studies. Heliyon. 9. L. Egyptian journal of chemistry. 66 (6): 431-440.

Sanou, A. M. 2018. Epidémiologie et caractérisation moléculaire des virus et bactéries détectés dans les infections respiratoires aigües chez les enfants de moins de cinq ans au Burkina Faso. Thèse de doctorat. Université NAZI BONI de Bobo Dioulasso. 129 p.

Sassoui, D. 2016. Etude ethnobotanique, phytochimique, histologique et activité antidépressive de *Portulaca oleracea* L. et *Peganum harmala* L (Thèse de doctorat), Biologie Végétale et Environnement : Université Badji Mokhtar Annaba.

Ségal, E., Frenkel, M. 2018. Modèles expérimentaux in vivo de candidose. Journal des champignons. 4(1). p. 21.

Shaheen, G., Ashfaq, A., Shamim, T., Hafiz, M., Aktar, A., Rehman, S., Sumree, L. 2022. Antioxidant, Antimicrobial, Phytochemical and FTIR Analysis of *Peganumharmala* (Fruit) EthanolicExtractFromCholistan Desert, Pakistan. An International Journal, doi :10.1177/15593258221126832.

Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S.D., Schwartz, S.A., Bruggemann, L., Aalinkeel, R. 2023. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. Microorganisms. 11 (1614).

Sheahan, M.C., Chase. 1996. A phylogenetic analysis of *Zygophyllaceae* R.Br. based on Morphological, anatomical and rbcL DNA sequence data. Bot. J. Linn. Soc. 112 : 279-300.

Sheerin, N.S. 2011. Urinary tract infection. Elsevier medicine. 39 (7): 384-389.

Sheila, J., Monica, S.J., Priyadarshini, S., Sivaraj, C., Arumugam, P. 2017. Antioxidant and antimicrobial efficacy of lemon (*Citrus limonum* L.) peel. International journal of pharmaceutical sciences review and research. 46 (1): 115-118.

Simões, M., Bennett, R.N., Rosa, E.A.S. 2009. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. Natural Products Reports. 26: 764-757.

Singh, A.B., Chaturvedi, J.P., Narender, T., Srivastava, A.K. 2008. Preliminary studies on the hypoglycemic effect of *Peganum harmala* seed ethanolic extract on normal and Streptozocine induced diabetic rats. Indian J. Clin. Biochem. 23. 391-393.

Soumaila, G.A. 2012. Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. P 79

Sun, j., Zhang, S., Chen, X, Chen, J., Han, B. 2012. Growth properties of *Staphylococcus aureus* in biofilm formed on polystyrene plate. African journal of microbiology research. 6 : 3284-3291.

T

The Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. 2010. Annual statistique: Citrus, www.fao.org.

Tifrit, A. 2016. Isolement et caractérisation des bactéries à intérêts biotechnologiques à partir de niches écologiques Algériennes (Thèse de doctorat), Biologie Moléculaire et Génomique, Université Hassiba Benbouali de Chlef.

Tlili, M.L., Hammoudi, R., Dehak, K., Hadj-Mohammed, M. 2020. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de feuilles de *Pergularia tomentosa* issue d'El Oued (Algérie). Revue des BioRessources. 10 (2) : 2-12.

Tofalo, R., Fusco, V., Böhnlein, Ch., Kabisch, J., Logrieco, A., Habermann, D., Cho, G., Benomar, N., Abriouel, A., Schmidt-Heydt, M., Névé, H., Bockelmann, W. 2020. La vie et les durées des levures dans les fermentations alimentaires traditionnelles. Conseil National de Recherches. 60 (18). 3103-3132.

Torres-Barcelo, C., Arias-Sanchez, F.I., Vasse, M., Ramsayer, J., Kaltz, O., Hochberg, M.E. 2014. A window of opportunity to control the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa* combining antibiotics and phages. PLoS ONE, 9.

Toty, A.A., Guessennd, N., Bahi, C., Kra, A.M., Otokore, D.A., Dosso, M. 2013. Evaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 82 : 12-21.

Touatia, R. 2016. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. (Thèse de Doctorat). Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie. p 105.

Tournier, J.N., Quesnel-Hellmann, A., Cleret, A., Mathieu, J., Goossens, L.P., Mock, M., Vidal, R.D. 2006. La maladie du charbon revue: les toxines de *Bacillus anthracis* comme nouveaux acteurs de l'évasion immunitaire de l'agent pathogène. Bulletin de l'académie nationale de médecine. 190, (1) : 155-167.

U

Uçak, I., Khalily, R. 2022. Effects of different solvent extractions on the total phenolic content and antioxidant activity of lemon and orange peels. *Eurasian Journal of Food Science and Technology*. 6 (1): 23-28.

V

Varo, R., Chaccour, C., Bassat, Q. 2020. Update on malaria. *Medicina clinica*. 155 (9): 195-402

Verma, S., Gupta, A., Singh, S. 2021. Observation of Phytochemicals, Total Phenolic, Total Flavonoid and DPPH content assay Lemon (*Citrus*) Peel for Importance in Medicinal Uses. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 25(4), 4812-4821.

Vila, j. 2016. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiology reviews*. 40: 437-463.

Vroh, Bi Tra Aimé. 2020. Diversité des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle contre les principaux symptômes de la COVID- 19 en Afrique subsaharienne: revue de littérature. *Ethnobotany Research & Applications* 20 (26).

W

Wagenlehner, F. Bjerklund Johansen, T., Cai, T., Koyes, B., Keanz, J., Pilatz, A., Tandogdu, Z. 2020. Epidemiology, definition and treatment of complicated urinary tract infections. *Nature reviews urology*. 17,586–600.

Wakeel, A., Jan, S.A., Ullah, I., Shinwari, Z.K., Xu, M. 2019. Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of *Isatis tinctoria*. *PeerJ*. Doi:10.7717/peerj.7857.

Wang, N., An, J., Zhang, Z., Liu, Y., Fang, J., Yang, Z. 2022. Antimicrobial activity and characterization of bioactive compounds in *Peganum harmala* L. based on HPLC and HS-SPME-GC-MS. *Frontiers in Microbiology*. 13.

Willhelmi, I., Roman, E., Sanchez- Fauquier. 2003. Viruses causing gastroenteritis. *The European society of clinical microbiology and infectious diseases*. 9: 247-262.

Y

Younus, N. 2023. Iraqi Lemon Peel Extract (*Citrus limon*) as Antibacterial and Antioxidant Agent. *E3S Web of Conferences*.

Yousfi, S. 2020. Enquête sur les enterocoques (*E.faecium* et *E. faecalis*) et l'étude de leur Résistance aux antibiotiques dans la région de Tizi Ouzou (Thèse de doctorat), *Epidémiologie Appliquée à la santé animale*, Université Saad Dahlab de Blida.

Yuniarti, R., Nadia, S., Alamanda, A., Zubir, M., Syahputra, R.A., Nizam, M. 2020. Characterization, phytochemical screenings and antioxidant activity test of Kratom leaf ethanol extract (*Mitragyna speciosa* Korth) using DPPH method. *Journal of physics* doi:10.1088/1742-6596/1462/1/012026.

Z

Zellagui, A., Gherraf, N., Kaabache, M. et Rhouati, S. 2011. Phytochemical and biological survey from two endemic Species: *Genista microcephala* coss. et dur. And *filago Pomelli* Batt. et Trab. *Plant Sciences Feed*; 1(11).

Résumé

Résumé

Les objectifs de la présente étude étaient le criblage phytochimique, le dosage colorimétrique des composés phénoliques et l'évaluation de quelques activités biologiques en l'occurrence anti-oxydante, antimicrobienne et antibiofilm des extraits éthanoliques (EtOH) de deux plantes; les écorces de *Citrus limon* (*C. limon*) et les graines de *Peganum harmala* (*P. harmala*), et de l'huile essentielle (HE) des écorces de *C. limon*. En effet, Le criblage phytochimique par plusieurs tests qualitatifs basés sur les réactions de précipitation et/ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques, a révélé la présence de différents groupes phytochimique dans les deux plantes ; en particulier les métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes. En outre, les deux extraits EtOH des écorces de *C. limon* et des graines de *P. harmala* ont enregistré des valeurs considérables du rendement de l'ordre de $17,48 \pm 0,73\%$ et $15,84 \pm 0,22\%$ respectivement, cependant l'HE des écorces de *C. limon*, son rendement était négligeable ; $0,32 \pm 0,03\%$ seulement. Ultérieurement, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés ont été estimées par les méthodes de Folin-Ciocalteu, d' AlCl_3 et de vanilline respectivement. Les résultats obtenus ont révélé que les valeurs des polyphénols totaux ont été significativement plus importantes de celles des flavonoïdes et des tanins; où l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* possédait les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes ($196,25 \pm 12,41$ mg EAG/ g MS et $52,21 \pm 6,18$ mg EQ/ g MS, successivement). D'autre part, les quantités des tanins condensés ont été relativement plus élevées dans l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* ($4,74 \pm 0,05$ mg EC/ g MS). Le même extrait précédent ; EtOH des graines de *P. harmala*, a développé l'activité antioxydante la plus forte en utilisant les deux techniques; DPPH et FRAP, enregistrant la CI_{50} et la CE_{50} les plus faibles ($0,16 \pm 0,01$ mg/ml et $0,76 \pm 0,05$ mg/ml, respectivement). Par ailleurs, l'activité antimicrobienne *in vitro* des extraits obtenus et leur combinaison (extraits EtOH), évaluée par la méthode de diffusion sur gélose a démontré des diamètres d'inhibition intéressants contre les souches microbiennes testées; *S. aureus*, *Bacillus spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*. Les résultats obtenus ont révélé que les bactéries à Gram + étaient plus sensibles que les bactéries à Gram - . De plus, les valeurs d'inhibition les plus élevées ont été également enregistrées par l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* avec des ZIs de $34 \pm 0,23$ et $39 \pm 0,00$ mm à la concentration de 200 mg/ml sur *Bacillus spp.* et *C. albicans* consécutivement, suivi par l'extrait EtOH des écorces de *C. limon* ; qui a développé une activité antimicrobienne variable sur les souches testées, et l'HE des écorces de *C. limon* qui a montré un effet antimicrobien intéressant sur *C. albicans* avec une ZI égale à $26 \pm 0,53$ mm à la même concentration de 200 mg/ml. Pareillement, la combinaison des extraits EtOH des deux plantes était moins efficace que l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* qui affirme que cette combinaison a négativement affecté l'effet antimicrobien. Enfin, l'évaluation de l'activité antibiofilm par la méthode de Cristal violet a révélé que l'extrait EtOH des graines de *P. harmala* a donné un taux de réduction de la formation du biofilm de *S. aureus* plus élevé ($79,33 \pm 0,17\%$) que les autres extraits étudiés. L'ensemble de ces résultats nous a permis de mettre en évidence l'intérêt des plantes médicinales, en particulier les espèces *C. limon* et *P. harmala*, dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses. Ces résultats peuvent être aussi considérés comme point de départ pour l'usage de ces plantes et leurs extraits dans les efforts thérapeutiques; notamment l'extrait EtOH des graines de *P. harmala*, comme des solutions alternatives aux antibiotiques pour la lutte contre la résistance bactérienne et surtout le développement des bactéries multi-résistantes ; menaçant la santé humaine.

Mots clés : *Citrus limon*, *Peganum harmala*, huile essentielle, criblage phytochimique, composés phénoliques, capacité antioxydante, activités antimicrobienne et antibiofilm.

Abstract

Abstract

The aims of the present study were the phytochemical screening, the colorimetric quantification of phenolic compounds and the determination of the biological activities; antioxidant, antimicrobial and antibiofilm of the ethanolic extracts (EtOH) of two plants; the peels of *Citrus limon* (*C. limon*) and the seeds of *Peganum harmala* (*P. harmala*), as well as the essential oil of *C. limon* peels. Thus, the phytochemical screening by several qualitative tests based on precipitation and/or staining reactions using specific reagents revealed the presence of different phytochemical groups in the two plants; in particular secondary metabolites such as polyphenols, flavonoids, tannins and alkaloids. In addition, the yields of the two EtOH extracts of *C. limon* peels and *P. harmala* seeds recorded considerable values equal to $17.48 \pm 0.73\%$ and $15.84 \pm 0.22\%$ respectively, however for the essential oil of *C. limon* peels, the yield was negligible; $0.32 \pm 0.03\%$ only. Moreover, the contents of total polyphenols, total flavonoids and condensed tannins were evaluated by Folin-Ciocalteu, AlCl_3 and vanilline methods successively. Whereby, the obtained results revealed that the values of total polyphenols were significantly greater than those of flavonoids and tannins; where the EtOH extract of *C. limon* peels possessed the highest contents of polyphenols and flavonoids (196.25 ± 12.41 mg EAG/ g MS and 52.21 ± 6.18 mg EQ/ g MS successively). On the other hand, the quantity of condensed tannins was relatively higher in the EtOH extract of *P. harmala* seeds (4.74 ± 0.05 mg EC/ g MS). The same previous extract; EtOH of *P. harmala* seeds, developed the most powerful antioxidant activity using both techniques; DPPH and FRAP, recording the lowest IC_{50} and EC_{50} (0.16 ± 0.01 mg/ml and 0.76 ± 0.05 mg/ml respectively). Furthermore, The *in vitro* antimicrobial activity of the obtained extracts and their combination (EtOH extracts) evaluated by the diffusion method on agar medium demonstrated interesting inhibition diameters against the tested microbial strains; *S. aureus*, *Bacillus spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, and *C. albicans*. The obtained results revealed that Gram + bacteria was more sensitive than Gram – ones. Besides, The highest inhibition values were recorded by the EtOH extract of *P. harmala* seeds (IZs of 34 ± 0.23 and 39 ± 0.00 mm) at the concentration of 200 mg/ml on *Bacillus spp.* and *C. albicans*, followed by the EtOH extract of *C. limon* peels that developed a variable antimicrobial activity on the tested strains, then the EO of *C. limon* peels that showed an interesting antifungal effect on *C. albicans* with an IZ equal to 26 ± 0.53 mm at the same concentration of 200 mg/ml. Similarly, the combination of the EtOH extracts of the two plants was less efficient than the EtOH extract of *P. harmala* seeds alone, which affirmed that this combination affected negatively the antimicrobial effect. Finally, the evaluation of the antibiofilm activity by the Crystal violet method showed that the EtOH extract of *P. harmala* seeds gave a higher rate of reduction in biofilm formation than the other studied extracts ($79.33 \pm 0.17\%$). All of these results allowed us to highlight the interest of medicinal plants, in particular the species of *C. limon* and *P. harmala* in the prevention and the treatment of infectious diseases. These results can also be considered as a starting point for the use of these plants and their extracts in the therapeutic efforts; particularly the EtOH extract of *P. harmala* seeds as alternative solutions to antibiotics to fight against bacterial resistance and especially the development of multiresistant bacteria; menacing human health.

Key words: *Citrus limon*, *Peganum harmala*, Essential oil, phytochemical screening, phenolic compounds, antioxidant capacity, antimicrobial and antibiofilm activities.

ملخص

ملخص

الهدف من هذه الدراسة كان الفحص الكيميائي النباتي، الفحص اللوني للمركبات الفينولية وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية المضادة للأكسدة، المضادة للميكروبات و المضادة للأغشية الحيوية (الببوفيلم) لمستخلصات إيثانولية لنباتين ; قشور الليمون الحامض (*Citrus limon*) و بذور الحرمل الشائع (*Peganum harmala*) و الزيوت الأساسية لقشور الليمون الحامض , كشف الفحص الكيميائي النباتي بعدة اختبارات نوعية تعتمد على تفاعلات الترسيب و/ أو التلوين باستخدام كواشف معينة عن وجود مجموعات نباتية كيميائية مختلفة في النباتين و بالأخص المركبات الثانوية مثل البوليفينول و الفلافونيد و العفص و القلويات , بالإضافة لذلك سجلت حصيصة المستخلصين الإيثانوليين لقشور الليمون الحامض و بذور الحرمل الشائع قيما معتبرة بترتيب $17,48 \pm 0,73$ و $15,84 \pm 0,22$ بالمائة على التوالي , مع ذلك بالنسبة للزيوت الأساسية لقشور الليمون الحامض, كانت حصيصة ضئيلة ; $0,32 \pm 0,03$ بالمائة فقط , بعد ذلك تم حساب محتويات البوليفينولات الكلية , الفلافونيدات الكلية و العفص المكثف عبر طرق $AlCl_3$, Folin- Ciocalteu و الفانيلين على التوالي , النتائج المتحصل عليها أظهرت أن قيم البوليفينولات الكلية أعلى بشكل ملحوظ من تلك الخاصة بالفلافونيدات و العفص حيث أن المستخلص الإيثانولي لقشور الليمون الحامض كان لديه المحتوى الأعلى من البوليفينولات و الفلافونيدات ($52,21 \pm 196,25 \pm 12,41$ mg EAG/ g MS) و لبذور الحرمل الشائع ($6,18$ mg EQ/ g MS) على التوالي, من جهة أخرى كميات العفص المكثف كانت أعلى نسبيا في المستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الشائع ($4,74 \pm 0,05$ mg EC/ g MS). هذا المستخلص السابق ذكره طور النشاط المضاد للأكسدة الأكثر قوة باستخدام تقنيتي DPPH و FRAP مسجلا أدنى CE_{50} و CI_{50} ($0,16 \pm 0,01$ و $0,76 \pm 0,05$ مغ/مل) على التوالي. علاوة على ذلك, النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر للمستخلصات المتحصل عليها و المزيج بينها (المستخلصات الإيثانولية) الذي تم تقييمه بواسطة طريقة الانتشار على الجيلوز أظهر أقطار تثبيط نمو مثيرة للاهتمام ضد السلالات الميكروبية المختبرة *S.aureus*, *Bacillus spp*, *E. coli*, *P.aeruginosa*, *C. albicans* التي أظهرت أن البكتيريا موجبة الغرام كانت أكثر حساسية من البكتيريا سالبة الغرام, بالإضافة لذلك, قيم تثبيط النمو الأعلى سجلت للمستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الشائع $34 \pm 0,23$ و $39 \pm 0,00$ مم بتركيز 200 مغ/مل على *C. albicans* و *Bacillus spp*تواليا. يليه المستخلص الإيثانولي لقشور الليمون الحامض الذي طور نشاط مضاد للميكروبات متفاوت على السلالات المختبرة و الزيوت الأساسية لقشور الليمون الحامض التي أظهرت نشاط مضاد للميكروبات مثير للاهتمام على *C. albicans* ب ZI يساوي 26 $\pm 0,53$ مم بتركيز 200 مغ/مل. مزج المستخلصين الإيثانوليين للنباتين أعطى فعالية أقل من المستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الشائع مما يؤكد أن هذا المزج أثر سلبا على النشاط المضاد للميكروبات. أخيرا , تقييم النشاط المضاد للأغشية الحيوية بواسطة تقنية *Cristal violet* أظهر أن المستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الشائع أعطى نسبة انخفاض في تشكيل الغشاء الحيوي ل *S. aureus* أعلى من المستخلصات الأخرى التي تم دراستها ($79,33 \pm 0,17\%$), هذه النتائج سمحت لنا بتسليط الضوء على أهمية النباتات الطبية و بالأخص نوعي *C. limon* و *P. harmala* في الوقاية و علاج الأمراض المعدية, يمكن اعتبار هذه النتائج أيضا كنقطة انطلاق لاستعمال هذه النباتات و مستخلصاتها في الجهود العلاجية ; وبشكل خاص المستخلص الإيثانولي للحرمل الشائع, كحلول بديلة للمضادات الحيوية من أجل محاربة المقاومة البكتيرية و بالأخص تشكل البكتيريا متعددة المقاومة التي تهدد صحة الإنسان.

كلمات مفتاحية: *Citrus limon*, *Peganum harmala* , الزيوت الأساسية, الفحص الكيميائي النباتي, المركبات الفينولية, النشاط المضاد للأكسدة, النشاط المضاد للميكروبات و الأغشية الخلوية.

Annexes

Annexe 1 : Milieux de cultures et préparation des solutions chimiques**Gélose nutritive (GN) pH=7.2**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Gélose	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min.

Mueller Hinton (MH) pH=7.4

Infusion de viande	300 g
Hydrolysate de caseïne	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 ml

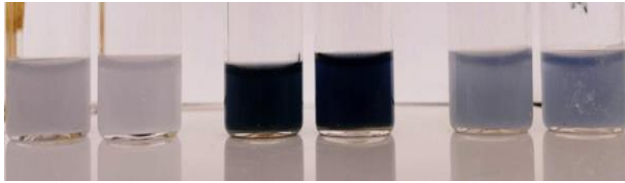
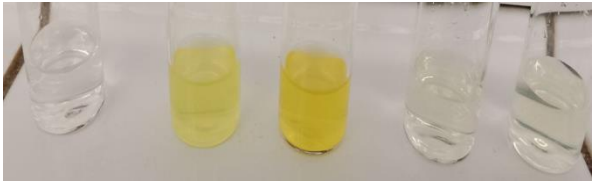


Stériliser par autoclavage à 121° C pendant 15 min.



Bouillon nutritif

Peptone de viande.....	4.3 g/l
Peptone de caséine.....	4.3 g/l
Chlorure de sodium.....	6.4 g/l


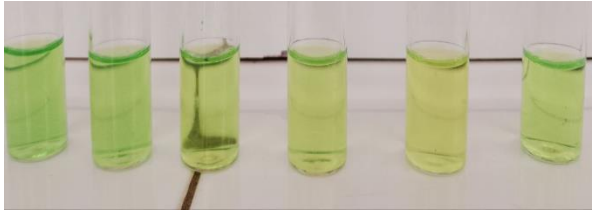



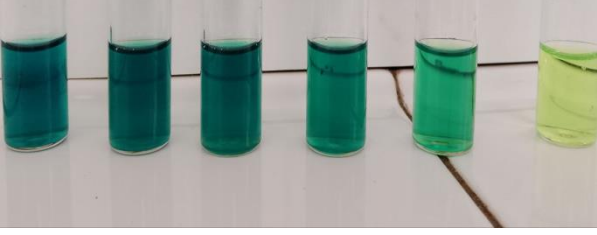
pH final : 7.5 ± 0.2 (à 37°C)

Annexe 2 : Photos des résultats du dosage et de l'activité antioxydante

	Dosage des polyphénols totaux	Dosage des flavonoïdes totaux
<i>C. limon</i>		
<i>P. harmala</i>		

Dosage des tanins condensés	
	
<i>C. limon</i>	<i>P. harmala</i>

	DPPH	FRAP
<i>EtOH</i> <i>C. limon</i>		

<p><i>EtOH</i> <i>P. harmala</i></p>		
<p><i>HE</i> <i>C. limon</i></p>		
<p><i>Acide</i> <i>ascorbique</i></p>		

Annexe 3 : Photos de l'inhibition de formation de biofilmAspect des tubes après culture de *Staphylococcus aureus*

Aspect des tubes après la coloration au cristal violet



Aspect des tubes après l'addition de la solution éthanol-acétone

Année universitaire : 2023-2024	Présenté par : TADJINE Maroua BELGHIT Abdelmalek
Approches thérapeutiques anti-infectieuses non-antibiotiques ; activités antioxydante, antimicrobienne et antibiofilm des écorces de <i>Citrus limon</i> et des graines de <i>Peganum harmala</i>.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie et hygiène hospitalière (MHH)	
<p>Résumé</p> <p>Les objectifs de la présente étude étaient le criblage phytochimique, le dosage colorimétrique des composés phénoliques et l'évaluation de quelques activités biologiques en l'occurrence antioxydante, antimicrobienne et antibiofilm des extraits éthanoliques (EtOH) de deux plantes; les écorces de <i>Citrus limon</i> (<i>C. limon</i>) et les graines de <i>Peganum harmala</i> (<i>P. harmala</i>), et de l'huile essentielle (HE) des écorces de <i>C. limon</i>. En effet, Le criblage phytochimique par plusieurs tests qualitatifs basés sur les réactions de précipitation et/ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques, a révélé la présence de différents groupes phytochimiques dans les deux plantes ; en particulier les métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes. En outre, les deux extraits EtOH des écorces de <i>C. limon</i> et des graines de <i>P. harmala</i> ont enregistré des valeurs considérables du rendement de l'ordre de $17,48 \pm 0,73\%$ et $15,84 \pm 0,22\%$ respectivement, cependant l'HE des écorces de <i>C. limon</i>, son rendement était négligeable ; $0,32 \pm 0,03\%$ seulement. Ultérieurement, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés ont été estimées par les méthodes de Folin-Ciocalteu, d'AlCl_3 et de vanilline respectivement. Les résultats obtenus ont révélé que les valeurs des polyphénols totaux ont été significativement plus importantes de celles des flavonoïdes et des tanins; où l'extrait EtOH des écorces de <i>C. limon</i> possédait les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes ($196,25 \pm 12,41$ mg EAG/ g MS et $52,21 \pm 6,18$ mg EQ/ g MS, successivement). D'autre part, les quantités des tanins condensés ont été relativement plus élevées dans l'extrait EtOH des graines de <i>P. harmala</i> ($4,74 \pm 0,05$ mg EC/ g MS). Le même extrait précédent ; EtOH des graines de <i>P. harmala</i>, a développé l'activité antioxydante la plus forte en utilisant les deux techniques; DPPH et FRAP, enregistrant la CI_{50} et la CE_{50} les plus faibles ($0,16 \pm 0,01$ mg/ml et $0,76 \pm 0,05$ mg/ml, respectivement). Par ailleurs, l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i> des extraits obtenus et leur combinaison (extraits EtOH), évaluée par la méthode de diffusion sur gélose a démontré des diamètres d'inhibition intéressants contre les souches microbiennes testées; <i>S. aureus</i>, <i>Bacillus spp.</i>, <i>E. coli</i>, <i>P. aeruginosa</i> et <i>C. albicans</i>. Les résultats obtenus ont révélé que les bactéries à Gram + étaient plus sensibles que les bactéries à Gram-. De plus, les valeurs d'inhibition les plus élevées ont été également enregistrées par l'extrait EtOH des graines de <i>P. harmala</i> avec des ZIs de $34 \pm 0,23$ et $39 \pm 0,00$ mm à la concentration de 200 mg/ml sur <i>Bacillus spp.</i> et <i>C. albicans</i> consécutivement, suivi par l'extrait EtOH des écorces de <i>C. limon</i> ; qui a développé une activité antimicrobienne variable sur les souches testées, et l'HE des écorces de <i>C. limon</i> qui a montré un effet antimicrobien intéressant sur <i>C. albicans</i> avec une ZI égale à $26 \pm 0,53$ mm à la même concentration de 200 mg/ml. Pareillement, la combinaison des extraits EtOH des deux plantes était moins efficace que l'extrait EtOH des graines de <i>P. harmala</i> qui affirme que cette combinaison a négativement affecté l'effet antimicrobien. Enfin, l'évaluation de l'activité antibiofilm par la méthode de Cristal violet a révélé que l'extrait EtOH des graines de <i>P. harmala</i> a donné un taux de réduction de la formation du biofilm de <i>S. aureus</i> plus élevé ($79,33 \pm 0,17\%$) que les autres extraits étudiés. L'ensemble de ces résultats nous a permis de mettre en évidence l'intérêt des plantes médicinales, en particulier les espèces <i>C. limon</i> et <i>P. harmala</i>, dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses. Ces résultats peuvent être aussi considérés comme point de départ pour l'usage de ces plantes et leurs extraits dans les efforts thérapeutiques; notamment l'extrait EtOH des graines de <i>P. harmala</i>, comme des solutions alternatives aux antibiotiques pour la lutte contre la résistance bactérienne et surtout le développement des bactéries multi-résistantes ; menaçant la santé humaine.</p>	
<p>Mots clés : <i>Citrus limon</i>, <i>Peganum harmala</i>, huile essentielle, criblage phytochimique, composés phénoliques, capacité antioxydante, activités antimicrobienne et antibiofilm.</p>	
<p>Laboratoires de recherche : laboratoire de biologie végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (FSNV), Université Frères Mentouri, Constantine 1.</p>	
<p>Président du jury : Dr. KHELILI Kaoutar (MCA – Université Frère Mentouri, Constantine1). Encadrant : Dr. CHERFIA Radia (MCB – Université Frère Mentouri, Constantine1). Examineur : Dr. BAALI Nacera (MCA – Université Frère Mentouri, Constantine1).</p>	