

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

M^{lle} BENGOUMANE Bochra
M^{lle} SAHAL Rania Ghalia

Thème

**EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS
PHENOLIQUES DE L'ARMOISE BLANCHE (*Artemisia herba-alba*)**

Soutenu le 19/09/2021

Jury:

Président: Dr. SELLES Sidi Mohammad Ammar

Encadrant: Dr. BOUMEZRAG Assia

Co-encadrant: Mme.AIT NAMANE Karima

Examineur: Dr. TABAK Souhila

Grade

MCA

MCA

Ingénieur de laboratoire

MCA

Année universitaire : 2020-2021

REMERCIEMENTS

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

اللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك

*Notre profonde gratitude et nos vifs remerciements vont directement vers notre encadrant **Dr. BOUMEZRAG Assia** qui a bien voulu diriger ce mémoire, pour ses orientations et ses précieux conseils*

*Nos remerciements s'adressent également à notre Co-encadrant **Mademoiselle AIT NAMANE Karima** pour tout le temps qu'elle nous a accordé tout au long de ce travail, son assistance et ses conseils judicieux.*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères au **Dr. SELLES Sidi Mohammad Ammar** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider ce jury.*

*Nous tenons à remercier profondément **Dr. TABAK Souhila** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous exprimons nos profonds remerciements à nos enseignants de faculté S.N.V qui ont été toujours là pour nous

*Finalement, nous offrirons gratuitement notre reconnaissance à nos amies **M^{me} ALOUCHE Aïcha** et **M^{me} SEDDIK Ikram** ainsi que tous ceux qui ont d'une manière ou d'une autre, contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.*

Merci

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes chères parents Saad et Fatima Dougane pour leur amour inestimable,
leur*

*confiance, leur soutien, leur sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su
m'inculquer*

Ma sœur Sarah pour sa tendresse, sa complicité et sa présence

Mes neveux Moenisse et Moad

Mes chers frères Mansour et Mohamed

*Mes proches amies: AMIRA .BOCHRA .FATIMA .OUM EL KHIR
.MALIKA*

qui ont partagé les bons et les mauvais moments avec moi

A toutes les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles

*Mon binôme Rania, j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au
suivi de notre*

travail

A toutes les familles BENGOUMANE et DOUGANE

BOCHRA

Dédicace

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers au monde, mes chers parents Arbia et Benaïssa, pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières depuis mon enfance. Puisse Allah vous procure bonne santé, longue vie, faire en sorte que jamais je ne vous déçoive et que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A ma très chère sœur Amina et mes frères Fodil et salah El Din qui m'ont offert un entourage particulier, pour leur présence, leurs encouragements, sans oublier ma petite sœur Ayat El Rahmane,

A mes grands-parents maternels Laid et Khaeira, je vous souhaite bonne santé et longue vie,

A la mémoire de mes grands-parents paternels, qui ont attendu ma réussite, que Dieux le plus puissant vous accueille en son vaste paradis,

A mes très chères tantes Leïla, Hanane et ma princesse Fatima,

A tous mes oncles, leurs épouses et leurs enfants en particulier

Mokhtar, Mourad et Djalal,

A ma très chère voisine Mokhtaria Abdelhadi, qui a su de loin m'aider et m'encourager,

A ma très chère Bochra avec qui j'ai partagé une expérience particulière,

A mes enseignants et professeurs du primaire à l'université,

A toutes mes amies en particulier Lamis, Imane, Ferial, Asma, Sabrine Khalida, Hadjer et Ikbal,

À tous qui me connaissent sans exception,

Rania Ghalia

TABLE DES MATIERES

Liste des Abréviations.....	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des figures.....	iv
Liste des annexes.....	v
Introduction	

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les composés phénoliques

I. 1. Définition	02
I. 2. Classification	02
I. 2. 1. Flavonoïdes	02
I. 2. 2. Acides phénoliques	03
I.2.3. Les tanins	04
I. 2. 3. 1. Tanins hydrolysables.....	04
I. 2. 3. 2. Tanins condensés.....	04
I. 2. 4. Sesquiterpènes lactones.....	05
I. 2. 5. Anthocyanosides.....	05
I. 2. 6. Phénols simples.....	05
I. 2. 7. Coumarines	05
I. 2. 8. Quinones.....	05
I. 2. 9. Stilbènes.....	06
I.3. Biosynthèse des composés phénoliques.....	06
I.3.1. Voie de l'acide shikimique.....	06
I.3.2. Voie de phénylpropanoïde.....	06
I. 4. Activités des composés phénoliques.....	07
I. 4. 1. Prévention des maladies cardiovasculaires.....	07
I. 4. 2. Prévention du cancer.....	07
I. 4. 3. Activité antioxydante.....	07
I. 4. 3. 1. Définition d'un radical libre.....	07

I. 4. 3. 2. Antioxydants.....	08
I. 4. 3. 3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant.....	09
I. 4. 3. 4. Mécanismes d'action des antioxydants.....	10
I. 4. 4. Activité antimicrobienne.....	10

Chapitre II: *Artemisia herba alba*

II.1.Généralités sur l'armoise blanche	11
II.1.1.Définition.....	11
II.1.2.taxonomie.....	11
II. 1. 3. Noms vernaculaires.....	11
II. 1. 4. Description botanique.....	12
II. 1. 5. Répartition géographique	13
II. 1. 6. Composition chimique.....	13
II.1.7. Propriétés biologiques.....	13
II.1.7.1. Propriétés alimentaires	13
II.1.7.2. Propriétés médicales.....	14
II. 1.7.3. Propriétés cosmétiques.....	14
II. 1. 8. Activités biologiques d' <i>Artemisia herba alba</i>	14
II. 1. 8. 1. Activité hypoglycémiante.....	14
II. 1. 8. 2. Activité antispasmodique.....	14
II. 1. 8. 3. Activité antibactérienne.....	15
II. 1. 8. 4. Activité antiparasitaire.....	15
II. 1. 8. 4. 1. Activité vermifuge.....	15
II. 1. 8. 4. 2. Activité nématocide.....	15
II. 1. 8. 4. 3. Activité anti-leishmania.....	
II. 1. 8. 5. Activité anti-venimeuse.....	

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III: Matériel et Méthodes

II. 1. Objectifs du travail.....	16
III. 2. Lieu et durée de l'étude.....	16
III. 3. Matériel.....	16

III. 3. 1. Matériel végétal.....	16
III. 3. 2. Matériel biologique	17
III.3.3. Matériel de laboratoire.....	17
III. 4.Méthodes.....	18
III.4.1. Extraction des composés phénoliques.....	20
III.4.1.1.Calcul du rendement d'extraction.....	20
III.4.1.2. Analyses quantitatives des extraits organiques.....	20
III.4.1.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	20
III.4.1.2.2. Dosage des Flavonoïdes.....	21
III.5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques.....	22
III.5.1.Test du pouvoir réducteur: FRAP	22
III.5.2. Estimation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode au DPPH	23
III. 6. Evaluation in-vitro de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques	24
III.6.1. Repiquage et revivification des souches	25
III.6.2. Tests de confirmation des souches.....	25
III.7. Evaluation de l'activité antibactérienne in-vitro.....	26
III.7. 1. Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)	26
III.7. 2. Activité antibactérienne des extraits phénoliques d' <i>Artemisia herba alba</i>	28

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

IV. 1. Extraction des composés phénoliques.....	29
IV.1.1. Rendement d'extraction.....	29
IV. 2. Analyse quantitative des extraits.....	30
IV. 2.1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	30
IV. 2. 2. Dosage des flavonoïdes.....	31
IV. 3. Evaluation des activités biologiques des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	32
IV. 3. 1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	32
IV.3. 1. 1. Pouvoir réducteur (FRAP).....	32
IV.3. 1. 2. Activité antiradicalaire (DPPH).....	34
IV. 3. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	35
IV. 3. 2.1. Tests de confirmation des souches.....	35

IV. 3. 2.2. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard).....	36
IV.3.2.3. Effet antibactérien des extraits phénoliques <i>d'Artemisia herba alba</i>	37
Conclusion et Perspectives	40
Références bibliographiques	41

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A : Artemisia

ADN : Acide dioxynucléique

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

API : Analytical Profile Index

ATCC: American Type Culture Collection.

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

DO: Densité optique

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

E. coli: *Escherichia coli*

EAG: Equivalent d'acide gallique

EC50 : Concentration efficace médiane

ED : Eau distillé

EEFA : Extrait éthanolique des feuilles d'armoise

EMFA:Extrait méthanolique des feuilles d'armoise

EQ : Equivalent quercétine

ER : Equivalent rutine

FeCl₃ : Trichlorure de fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

K₃Fe(CN) 6 : Ferrocyanure de potassium.

MS : Matière sèche

M : Molarité

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

P.aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*

S.aureus: *Staphylococcus aureus*

TCA: Acide trichloracétique

UF : Unité fourragère

UFC: Unité formant colonie

UV: Ultra violet

v/v : volume/volume

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01	Structure des principaux acides phénoliques	03
Tableau 02	Matériel de laboratoire et produits utilisés	18
Tableau 03	Antibiotiques utilisés pour tester la sensibilité des souches étudiées ...	28
Tableau 04	Activité anti-radicalaire des extraits d'A.herba alba et de la molécule standard.....	35
Tableau 05	Tests de confirmation des différentes souches bactériennes utilisées dans l'étude	36
Tableau 06	Sensibilité des souches bactériennes étudiées aux antibiotiques... ..	37
Tableau 07	Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) induites par les extraits phénoliques des feuilles d'A. herba alba vis-à-vis des souches étudiées	38

LISTE DES FIGURES

Figure 01	Structure de base des flavonoïdes	02
Figure 02	Classification des tanins.....	04
Figure 03	Systèmes de défense contre les radicaux libres.....	09
Figure 04	Arbuste d'Armoise blanche	12
Figure 05	Situation géographique de la région Takhemaret	16
Figure 06	Matériel végétal utilisé dans l'étude	17
Figure 07	Organigramme du protocole expérimental	19
Figure 08	Protocole de détermination de pouvoir réducteur	23
Figure 09	Protocole de piégeage du radical libre DPPH	24
Figure 10	Rendement d'extraction des composés phénoliques des feuilles d' <i>Artemisia herba alba</i> pour les deux solvants	30
Figure 11	Teneur en composés phénoliques totaux des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	31
Figure 12	Teneur en flavonoïdes dans les extraits d' <i>Artemisia herba alba</i>	32
Figure 13	Pouvoir réducteur des extraits d' <i>A. herba alba</i> et de la molécule standard	34

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 01** Composition des milieux de culture utilisés
- Annexe 02** Coloration de Gram
- Annexe 03** Courbes d'étalonnages des dosages quantitatifs des extraits *d'A. herba-alba*
- Annexe 04** Table de lecture de l'antibiogramme
- Annexe 05** Effet des extraits phénoliques *d'Artemisia herba alba* sur les souches de *S.aureus*
- Annexe 06** Effet des extraits phénoliques *d'Artemisia herba alba* sur les souches d'*E.coli*.
- Annexe 07** Effet des extraits phénoliques *d'Artemisia herba alba* sur les souches de *P.aeruginosa*

Introduction

Introduction

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (**kheddoum, 2018**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire de milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires (**Boudjouref, 2011**).

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme agents thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement et la prévention des maladies (**Kaouane et al., 2017**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée et parmi ses plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia* ; largement distribué surtout dans les régions semi arides ; dont de nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle en raison de leur richesse en molécules bioactives douées d'activités thérapeutiques.

L'armoise blanche ou *Artemisia herba alba* est l'une des dix espèces du genre *Artemisia* les plus connues en Algérie. Cette plante est largement utilisée par la population algérienne pour traiter les troubles digestifs, les ulcères, les brûlures, les infections respiratoires ainsi que les infections urinaires et génitales.

Plusieurs espèces d'Armoise ont été étudiées pour leurs effets antioxydants et antimicrobiens avec une attention particulière attribuée aux huiles essentielles. Cependant, peu de recherches se sont intéressées aux effets biologiques des extraits phénoliques de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*).

Dans cette optique, la présente étude vise à étudier les activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) caractéristique de la région de Takhemaret à Tiaret.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

Généralités sur les composés phénoliques

I. 1. Définition

Les composés phénoliques sont un ensemble des substances qui jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczk et Shahidi, 2003; Stalikas, 2007). Parmi ces composés, on distingue : les acides phénoliques ; les flavonoïdes ; les tanins, et les coumarines (King et Young., 1999 ;Tapieroet al., 2002).

I. 2. Classification

I. 2. 1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques naturels (Seyoum et al., 2006), ils contribuent à la pigmentation des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Bruneton, 1999; Ghestem et al., 2001).

Ces composés jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les micro-organismes, ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer.

Ils se répartissent en plusieurs classes telles que : flavones, aurones, flavonones chalcones ; flavonols , isoflavonoïdes , flavononols, flavanols , flavanes ,anthocyanines etanthocyanidines (Péroumal, 2014).

L'examen des parties aériennes d'*Artemesia herba-alba* recueillies auprès des magasins de fines herbes du Liban ont conduit à l'isolement des deux flavonoïdes; hispiduline et cirsilineol . Une nouvelle flavone, 5,4'- dihydroxy-6,7,3 ' 6,7,3'triméthoxyflavone, a été isolé à partir de l'extrait non glycosidique des parties aériennes d' *A .herba alba* (Mansour, 2014).

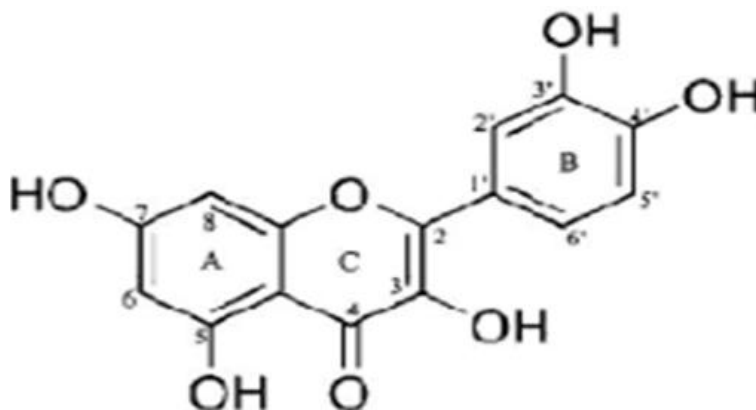


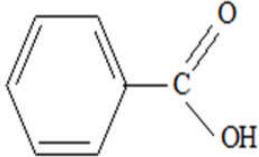
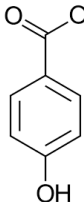
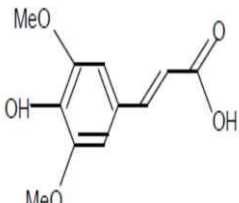
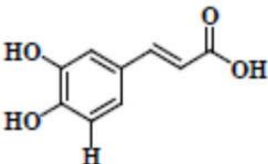
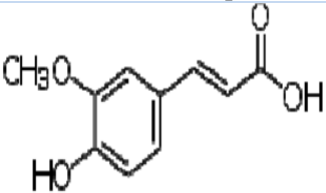
Figure 01. Structure de base des flavonoïdes (Bessaond, 2015)

I. 2. 2. Acides phénoliques

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol. Ils sont représentés par deux sous classes: Hydroxybenzoïques et Hydroxycinnamiques et ils possèdent des propriétés biologiques intéressantes :anti-inflammatoires, antiseptiques et antioxydantes (**Zerrouak et al., 2019**)

Les acides phénoliques les plus importants sont l'acide caféique qui se montre très efficace contre les virus, les bactéries et les champignons, l'acide hydroxycinnamique et l'acide chlorogénique (**Bernal et al., 2010**).

Tableau 01. Structure des principaux acides phénoliques

Acide	Structure	Référence
Acides hydroxybenzoïques	 <p>Acide benzoïque</p>	(Bernalet al., 2010)
	 <p>Acide p-hydroxybenzoïque</p>	
Acides hydroxycinnamiques	 <p>Acide sinapique</p>	Pascale et Veronique (2006)
	 <p>Acide caféique</p>	
	 <p>Acide férulique</p>	

I. 2. 3. Tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques complexes (**Paris et Hurabielle, 1981**). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Ree, 2001**). Ces composés ont un rôle anti-infectieux (**Letao et al., 2005**) et se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongique et bactérienne (**Dangles et al., 1992**).

On distingue deux types de tanins ; les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

I. 2. 3. 1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci. On distingue les tanins galliques et les tanins ellagiques (**Paris et Hurabielle, 1981**).

I. 2. 3. 2. Tanins condensés

Ce sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (**Khanbabaea et Ree, 2001**). Ils sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Paris et Hurabielle., 1981**).

Les tanins sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits. Ils font également partie des formulations des agents de conservation du bois (**Rira, 2006**). Ils participent également à l'activité anti-diarrhéique, en protégeant les organes digestifs des attaques nuisibles. Ils contribuent aussi à l'action anti-hémorragique (**Makkar, 2003**).

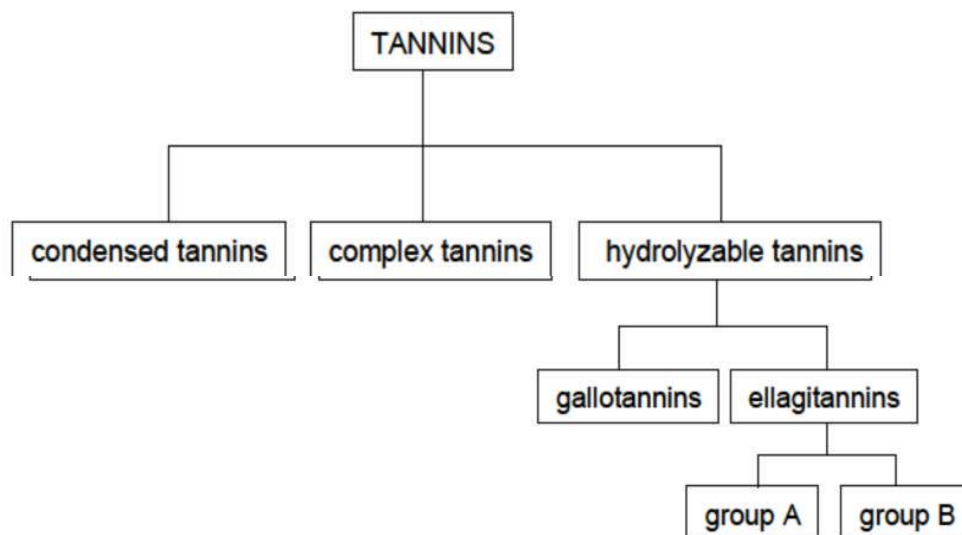


Figure 02. Classification des tanins (Wilfred et Ralph, 2006).

I. 2. 4. Sesquiterpènes lactones

Les sesquiterpènes lactones ont été identifiés dans les parties aériennes d'*Artemisia herba alba* : les eudesmanolides et les germacranolides semblent être les types de lactones les plus abondants, ils sont largement responsables de l'importance médicinale de ces plantes.

Des études réalisées au Maroc et en Algérie ont montré que le genre *Artemisia* est riche en sesquiterpènes (Marco et al., 1994 ; Vernin et al., 1995).

I. 2. 5. Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (Bruneton, 1993). Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelés cationsflavylium. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes et oiseaux) (Brouillard et al., 1997).

I. 2. 6. Phénols simples

Les phénols simples tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois ont montré une toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999).

I. 2. 7. Coumarines

Les coumarines sont les dérivés de C₆-C₃ appartenant au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone (O'Kennedy et Thornes, 1997) et elles sont toutes substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combinées avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

I. 2. 8. Quinones

Ce sont les composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation des dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa- 2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5- diéniq (ortho-quinones) (Bruneton, 1993). Elles sont ubiquistes dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactives (Cowan, 1999).

I. 2. 9. Stilbènes

Ce sont des phytoalexines ; composés produits par les plantes en réponse à des pathogènes (bactéries, virus et champignons). Leur principale source est représentée par le raisin, le vin, le soja et les arachides (**Crozier et al., 2006**).

I.3. Biosynthèse des composés phénoliques

Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues. Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont présents dans les protéines mais sont également à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ces composés sont issus de deux grandes voies métaboliques:

I.3.1. Voie de l'acide shikimique

Elle conduit à la formation du précurseur immédiat des phénols par désamination de la phénylalanine. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques. Les formes actives de ces derniers avec la coenzyme A permettent d'accéder aux principales classes des composés phénoliques. En effet il y'a des transformations vers :

- Des acides de la série benzoïque (acides gallique, protocatéchique...) par β -oxydation. L'acide gallique lui-même, par combinaison avec des sucres simples, conduit aux tannins hydrolysables (tannins galliques et ellagiques).
- Des esters de type chlorogénique par estérification avec un acide alcool (acide quinique, tartrique, shikimique...).
- Des coumarines, par cyclisation interne des molécules suivie de modifications complémentaires (glycosylation, prénylations...).
- Des lignines par réduction, formation des monolignols puis polymérisation oxydative initiée dans la paroi cellulaire par les peroxydases et éventuellement les laccases (**Meziti, 2007 ; Boudjellal, 2009 ; Mouffok, 2011**).

I.3.2. Voie de phénylpropanoïde

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (**Portes, 2008**).

I. 4. Activités des composés phénoliques**I. 4. 1. Prévention des maladies cardiovasculaires**

La consommation des polyphénols se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LowDensityLipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose. En inhibant l'oxydation des LDLs, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribuent à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (**Benyahia, 2014**).

I. 4. 2. Prévention du cancer

L'incorporation des polyphénols dans le régime alimentaire de divers animaux de laboratoire limite le développement des tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Plusieurs recherches ont montré l'effet préventif de certains composés phénoliques contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse. Au stade d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de procarcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADNs mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents suppresseurs de tumeurs (**Benyahia, 2014**).

I. 4. 3. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir des concentrations non cytotoxiques des espèces réactives de l'oxygène au niveau de la cellule. L'organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier, 2003**).

I. 4. 3. 1. Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent

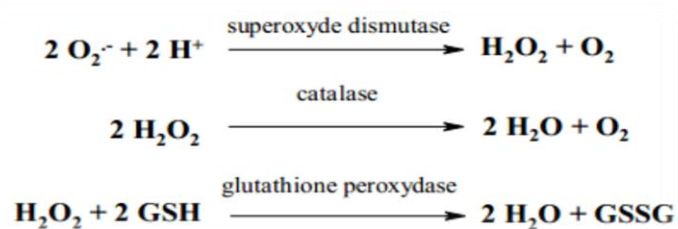
à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde ROO•, radical alkoxyde RO•), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**). L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène". Cette appellation n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde O₂⁻, radical hydroxyl OH•, monoxyde d'azote NO•, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet ¹O₂, peroxyde d'hydrogène H₂O₂, peroxydinitrite ONOO⁻ (**Favier, 2003**).

I. 4. 3. 2. Antioxydants

a. Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes (**Favier, 2006**) :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

b. Antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Fig. 03**) (**Dacosta, 2003**). Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants *in-vivo* ont été proposées.

Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ... etc. (Kohen et Nyska, 2002).

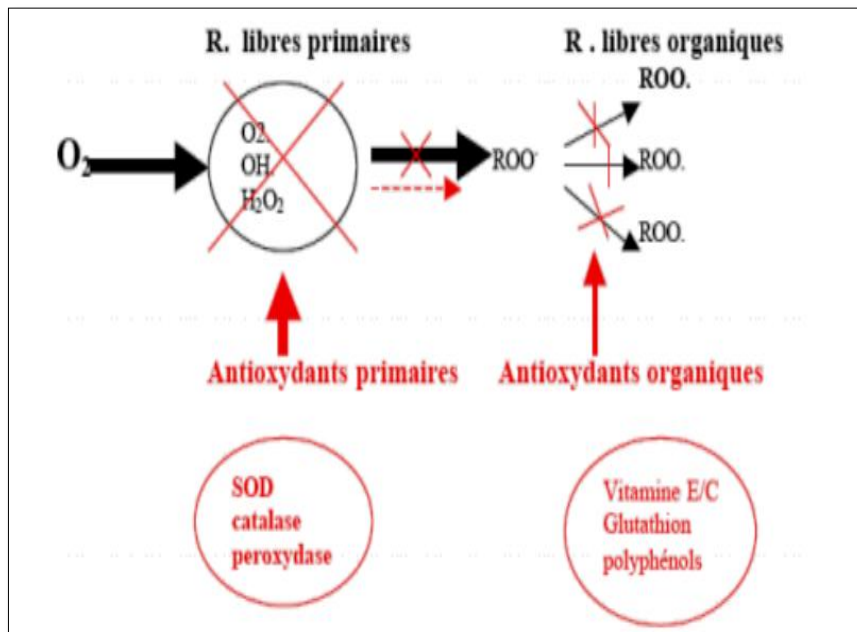


Figure 03. Systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

I. 4. 3. 3. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des fonctions physiologiques très importantes en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier, 2003).

Au niveau des tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès maintenant ainsi les Oxydants /Antioxydants en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal et al., 2002). Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

I. 4. 3. 4. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

I. 4. 4. Activité antimicrobienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis à -vis des microorganismes dont le mécanisme peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions inactivant les andésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**).

L'hydrophobicité des polyphénols tels que les flavonoles est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane cytoplasmique et la rend perméable. L'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc (via la propriété de chélation des métaux) sont des mécanismes adaptés par les proanthocyanidines dans l'inhibition des bactéries (**Daglia, 2011**).

D'autre part, les tanins sont largement connus par leurs propriétés inhibitrices des microorganismes et des enzymes grâce à leur pouvoir à former des complexes stables avec les protéines et en les précipitant (**Nguz, 1997**).

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont reçu plus d'attention en raison de leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols. Cet effet est dû à leur capacité de supprimer certains facteurs de virulence comme l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**Daglia, 2011**).

Chapitre II :

Artemisia herba alba

II. 1. Définition

Artemisia herba alba ou l'armoise blanche a été décrite par l'historien Grec Xénophon en 1779 dans les steppes du Moyen Orient (Francis, 2001). C'est une plante très répandue dans les zones arides à semi-aride, elle présente un goût amer et dégage une odeur très forte, parfois désagréable (Baba Aissa, 2000).

II. 2. Taxonomie

Artemisia herba alba a été classée selon Quezel et Santa(1963) comme suit :

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Embranchement : *Magnoliophyta*
- Sous-embranchement : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Asteridae*
- Ordre : *Asterales*
- Famille : *Asteraceae*
- Sous-famille : *Asteroideae*
- Genre : *Artemisia L.*
- Espèce : *Artemisia herba-alba Asso.*

II. 3. Noms vernaculaires

- En Français: Armoise blanche
- En Arabe: القيسوم, الشيح الخرساني, الشيح
- En Anglais : *Wormwood.*
- Nom scientifique : *Artemisia herba alba* Asso (Quezel et Santa, 1963).

II. 4. Description botanique

Artemisia herba-alba ou l'armoise blanche est une plante herbacée, vivace, de couleur verdâtre-argenté, de 20- 40 cm de hauteur avec des tiges rigides et dressées (Fig.01).

Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté (Quezel et Santa, 1963), divisées en languettes fines, blanches et laineuses.

Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre (Bezzaet al.,2010).

La croissance végétative de la plante caractérisée par des feuilles de grande taille a lieu à l'automne puis dès la fin de l'hiver et au printemps, les feuilles sont plus petites et la période de floraison a lieu au début de Juillet à octobre (Pottier, 1981 ; Akrou, 2004).



Figure 04. Arbuste d'Armoise blanche (Mohamed et al., 2010).

II. 5. Répartition géographique

Artemisia herba-alba est un arbuste nain vivace verdâtre-argenté poussant dans les climats arides et semi-arides. Il se rencontre dans la région méditerranéenne en Afrique du Nord, en Espagne, dans les déserts de la péninsule du Sinaï, au Moyen-Orient, dans l'Himalaya du Nord-Ouest et en Inde (Mounir et al., 2015).

II. 6. Composition chimique

La plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de β -carotène varie entre 1,3 et 7 mg/kg selon les saisons.

La valeur énergétique de l'armoise blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS).

Les plantes de la famille des *Asteraceae*, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (Mansour, 2014).

II. 7. Propriétés biologiques

Le genre *Artemisia* a été très utilisé dans la médecine traditionnelle ainsi que dans la médecine moderne comme antiseptique, antispasmodique, et antifongique et antitumoral dans différents pays du monde (Benjilali et al., 1984)

II. 7.1. Propriétés alimentaires

En alimentation, l'Artemisia herba alba est considéré comme l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café. Néanmoins, son usage dans l'industrie alimentaire reste très limité à cause de la toxicité de la bêta thujone dont le taux ne doit pas dépasser 5mg/kg (**Bendjilali et al., 1984**).

II. 7.2. Propriétés médicales

- Vermifuge chez les ovins contre l'oxyure et les ascaris (**Nabli, 1989**).
- Elle est employée par la population de Naguef pour soulager les maux gastro-intestinaux (**Friedman et al., 1986**).
- Traitement du diabète, des maladies digestives et de l'ictère (**Bouraoui, 2003 ; Marrif et al., 1995**).
- Traitement des maux les plus divers: dyspepsie, ulcère, troubles hépatiques, aphtes, mycoses et contre les piqûres d'insectes et de scorpions et toutes les formes d'empoisonnements (**Bendjilal, 1980**).
- Anti-diarrhéique, contre les crampes abdominales (**Feuerstein et al., 1986**).
- Traitement des troubles neurologiques et de l'épilepsie (**Hatier, 1989 ; Salah et al., 2005**).
- Traitement des infections urinaires (**Bencheqrounet al., 2012**) et de l'hypertension artérielle (**Mohamed et al., 2010**),
- La cicatrisation des plaies externes (**Seddik, 2010**), traitement de la bronchite, l'abcès et vermifugation (**Gharabi et al., 2008**).

II. 7.3. Propriétés cosmétiques

- Utilisée en parfumerie et en cosmétologie à cause de son pouvoir antiseptique et aromatique ; elle sert à augmenter la durée de conservation des produits cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (**Benjilali, 1984 ; Dahmani, 2004**).

II. 8. Activités biologiques d'Artemisia herba alba

II. 8. 1. Activité hypoglycémiant

Plusieurs études montrent que l'armoise blanche a un effet hypoglycémiant, parmi lesquelles, l'étude réalisée par **Kebaili et Sayoudi** en **2017** qui ont testés l'effet de l'extrait aqueux d'Artemisia herba alba sur le contrôle de l'obésité et les paramètres biochimiques chez des rats wistar mâles. Ces auteurs ont observé que l'extrait aqueux

d'*Artemisia herba alba* a entraîné une diminution du taux de la glycémie (1,08g/L) en comparaison avec le groupe témoin (1,23g/L).

II. 8. 2. Activité antispasmodique

Les huiles essentielles de quatre populations d'*Artemisia herba-alba* collectées en Israël (Sde-Boker, Mizpe Ramon, désert de Judée et Elat) ont été étudiées pour leur activité antispasmodique.

Les huiles d'*Artemisia herba alba* ont été testées sur le jéjunum isolé de lapin. Les résultats indiquent que les différentes huiles ont montré une relaxation similaire. Les concentrations, qui induisaient une relaxation de 50 %, étaient similaires pour les huiles de Boker, Mizpe Ramon et Judean Desert tandis que celle de l'huile Elat était dix fois inférieure (Mohamed et al., 2010)

II. 8. 3. Activité antibactérienne

Les extraits de la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* présentent une activité antibactérienne très pauvre. En effet, les composés phénoliques, en particulier les acides phénoliques (acide gallique, acide caféique et acide tannique) ont montré une activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* uniquement (Seddik et al., 2010).

II. 8. 4. Activité antiparasitaire

II. 8. 4. 1. Activité vermifuge

L'activité vermifuge de la poudre d'*Artemisia herba-alba* a été étudiée dans des hémonchoses expérimentales chez six chèvres nubiennes infectées par des doses uniques de 800 à 1 000 larves d'*Haemonchus* infectantes (Mohamed et al., 2010).

Les signes cliniques de l'hémochose caprine comprenaient l'inappétence, des fèces molles et étaient corrélées avec les résultats pathologiques. Aucun de ces signes n'a été observé chez quatre chèvres après le traitement avec 2, 10 ou 30 g de poudre d'*Artemisia*. Cette thérapie réussie a été soutenue par l'absence d'œufs dans les fèces, de vers adultes dans la caillette à l'autopsie et de lésions importantes dans les tissus ainsi que le retour des concentrations sériques d'ammoniaque, de sodium, de potassium, de protéines totales et de créatinine et de l'activité de l'aspartate aminotransférase (GOT) à la normale (Mohamed et al., 2010).

II. 8. 4. 2. Activité nématocide

L'extrait méthanolique de feuilles d'*Artemisia herba-alba* a montré une activité nématocides très puissante contre deux espèces de nématodes causant respectivement 22, 51 et 54 % de mortalité après 24, 48 et 72 h d'exposition (Mohamed et al., 2010).

II. 8. 4. 3. Activité anti-leishmania *in vitro*

L'extrait aqueux et l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* ont été testés pour leur activité antileishmania contre *Leishmania major*. La plus forte activité leishmanicide a été observée avec l'huile essentielle à 2 µg/ml. L'extrait aqueux a montré une activité antileishmanicide à concentration de 4 µg/ml (Mohamed et al., 2010).

II. 8. 5. Activité anti-venimeuse

L'extrait d'*Artemisia herba-alba* a donné un taux d'inhibition de 100 % des activités hémolytiques des venins de serpent et de scorpion chez l'homme en Jordanie (Mohamed et al., 2010).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre III :

Matériel et Méthodes

III. 1. Objectifs du travail

Les principaux objectifs de la présente étude se résument dans les volets suivants :

- Extraction et quantification des composés phénoliques des feuilles d'*Artemisia herba alba*
- Evaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes; FRAP et DPPH.
- Evaluation des activités antibactérienne des extraits phénoliques par des tests de sensibilité *in-vitro* vis-à-vis des souches bactériennes résistantes isolées chez des patients souffrant d'infections génitales ou urinaires.

III. 2. Lieu et durée de l'étude

Ce travail a été effectué au niveau des laboratoires de microbiologie et de pharmacologie de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret pendant une période s'étalant du mois d'Avril au mois de Mai 2021.

III. 3. Matériel

III. 3. 1. Matériel végétal

La plante « *Artemisia herba alba* » a été récoltée dans la région de Takhemaret (35° 06' 26" nord, 0° 41' 00" est); Wilaya de Tiaret durant le mois de Février 2021.



Figure 05. Situation géographique de la région Takhemaret

L'identification botanique de l'espèce a été réalisée par un spécialiste en botanique au niveau du département des sciences de la nature et de la vie (Faculté SNV, Université de Tiaret).

Les feuilles ont été nettoyées, lavées à l'eau de robinet puis séchées à l'air libre; à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après séchage, les feuilles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique et conservées dans des bocaux en verre jusqu'au moment de l'extraction.



Figure 06. Matériel végétal utilisé dans l'étude (Cliché, Bengoumane et Sahal , 2021).

III. 3. 2. Matériel biologique

Au total, six (06) souches bactériennes ont été utilisées dans ce travail dont trois (03) isolats cliniques et trois (03) souches de références. Les isolats cliniques ont été fournis gracieusement par le laboratoire de microbiologie de l'ISV de Tiaret, il s'agit d'une souche de *Staphylococcus aureus* isolée à partir d'un prélèvement urinaire et deux souches d'origine vaginale (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les souches de collection internationale sont *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* ATCC 9027 fournies aimablement par le laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine vétérinaire de Université Jordanienne des Sciences et Technologie.

III.3.3. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire et les produits nécessaires à la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau ci-dessous:

Tableau 02: Matériel de laboratoire et produits utilisés

Appareillage, verrerie et autres	Produits	Milieux de culture
-Agitateur magnétique(VELP scientifica)	- Peroxyde d'hydrogène	- Gélose nutritive
-Autoclave(DSX-280B)	- NaCl	- Gélose Mueller-Hinton
-Bain marie(GFL)	- Eau physiologique	-Gélose Hecktöen
-Balance de précision (SauterRE2021)	- Disques d'oxydase	-Gélose chapman
-Etuve (Memmert)	- Ethanol pur	
-Four Pasteur (Heraeus)	- Méthanol pur	
-Microscope photomique (Optika)	- Violet de gentiane	
-spectrophotomètre (Pharmacia Bieotech)	- Lugol	
-Vortex (Dragon Lab)	- Fuschine	
-Béchers	- VP1 et VP2	
-Boites de Pétrie, lames, tubes à essai	- Zym A et Zym B	
-Pipettes pasteur et micropipettes	-Nit 1 et Nit 2	
-Cuves spectrophotométriques	- Réactif de Folin	
-Ecouvillons.	- AlCl ₃	
	-Quercétine	
	- Na ₂ CO ₃	
	- TCA	
	- Tampon phosphate (200mM, pH 6.6)	
	- Acide gallique	

N.B : la composition des milieux de culture est donnée dans l'**Annexe 01**.

III. 4. Méthodes

La démarche expérimentale globale est illustrée dans l'organigramme ci-dessous (**Fig. 07**) :

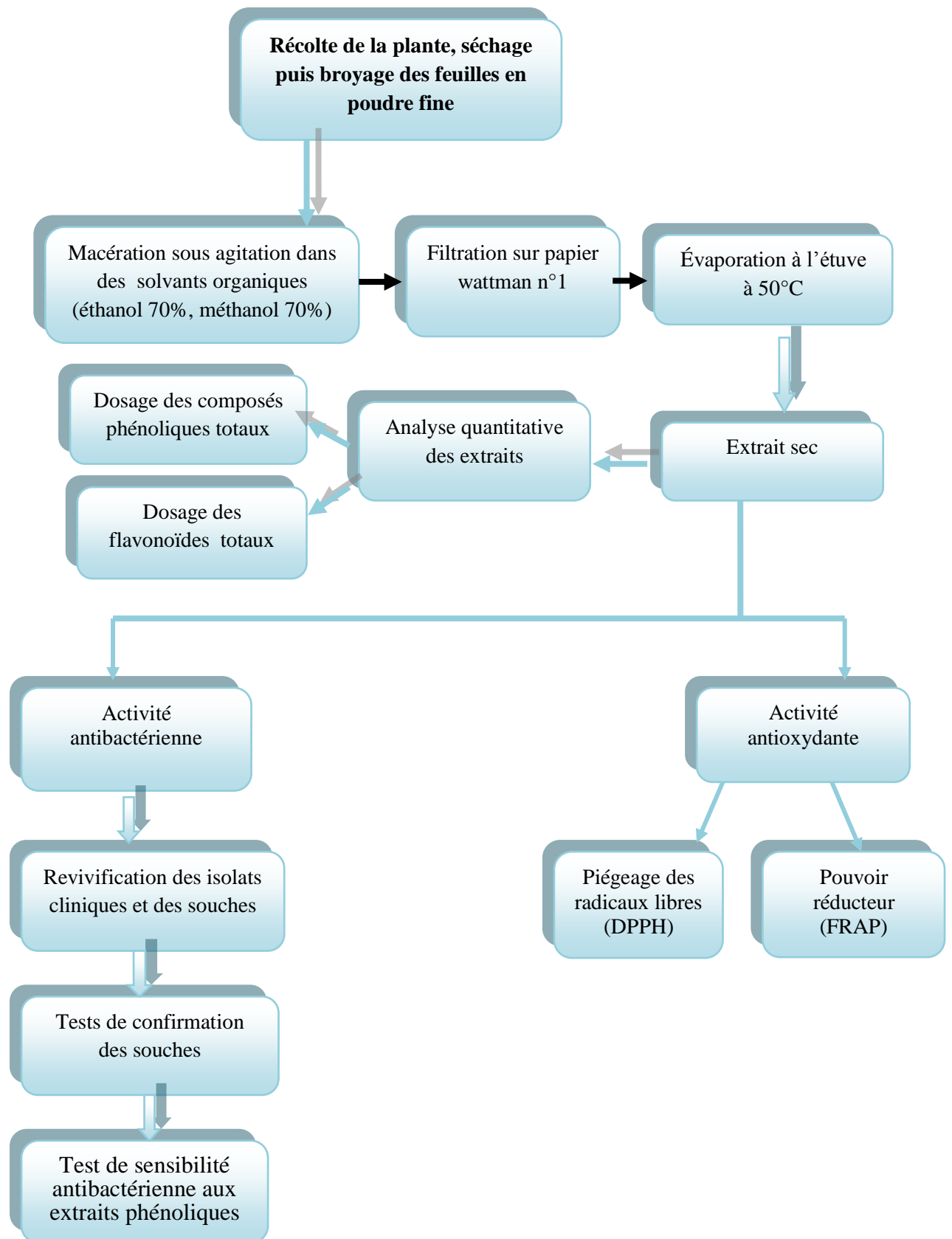


Figure 07. Organigramme du protocole expérimental

III.4.1. Extraction des composés phénoliques

➤ Principe

Le principe consiste à ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/liquide, dissoudre le composé actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. L'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Ben Ammar, 2008**).

➤ Technique

20 grammes de la poudre végétale ont été additionnées à 200 ml de solvant (méthanol 70%, éthanol 70%). Après une agitation continue pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité, une filtration a été faite sur papier Wattman n°1. Les filtrats ainsi obtenus ont été évaporés à sec à l'étuve pour à 50° C puis les extraits secs ainsi obtenus ont été conservés dans des flacons opaque et à température ambiante (**Hamia et al., 2014**).

III.4.1.1. Calcul du rendement d'extraction

D'après **Mahmoudi et al., (2013)**, le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon l'équation suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

Où :

- ✓ **R** : rendement en composés phénoliques exprimé en % ;
- ✓ **M_{ext}** : masse de l'extrait après évaporation en g ;
- ✓ **M_{éch}** : masse de la matière sèche végétale en g.

III.4.1.2. Analyses quantitatives des extraits organiques

III.4.1.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux dans les extraits *d'Artemisia herba alba* a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode de Folin- Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**).

➤ Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu, de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstène ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdène ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe d'oxyde de tungstène et de molybdène de couleur bleue dont l'intensité de cette dernière est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Singleton et al., 1999**).

➤ **Technique**

Le dosage des composés phénoliques totaux est effectué en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et est réalisé selon la méthode de **Chan et al. (2008)** avec quelques modifications apportées. Les extraits sont dilués au 1/10 dans l'eau distillée puis filtrés. On réalise une gamme étalon en milieu aqueux (6 points de concentrations de 0 à 0,1 mg.ml⁻¹) avec un standard (l'acide gallique). Pour réaliser le dosage, 200 µl de l'échantillon dilué sont ajoutés à 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 5 minutes, on ajoute 1500 µl de Na₂CO₃ (7,5%). Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillon, sont agités puis incubés pendant 30 min à l'ombre.

La lecture de l'absorbance à 765 nm se fait grâce à un spectrophotomètre (Shimadzu UV-Vis 1202, Japan).

La teneur en phénols totaux est donnée en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait; elle a été déduite de la courbe d'étalonnage provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour la solution standard.

Le calcul de cette teneur est effectué selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P]$$

Où

- **T** : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG /g MS)
- **C** : Concentration de l'échantillon déduite à partir de la courbe d'étalonnage
- **D** : Facteur de dilution.
- **V** : Volume utilisé pour l'extraction (ml).
- **P** : Poids de l'échantillon (broyat) (g).

III.4.1.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode colorimétrique du trichlorure d'Aluminium AlCl₃ légèrement modifiée a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits éthanolique et méthanolique d'*A. herba alba* (**Bahorun, 1997**).

➤ **Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la formation de complexes de couleur jaune entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. La couleur jaune présente une absorption maximale à 415 nm.

➤ **Technique**

0,5 ml de chaque solution des deux extraits éthanolique et méthanolique est ajouté à 0,5 ml d'une solution méthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2%, le mélange est

immédiatement et vigoureusement agité puis incubé à l'ombre et à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance du mélange réactionnel est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 415 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux des deux extraits est établie à partir d'une courbe d'étalonnage (**Annexe 02**) préparée avec un flavonoïde standard, la quercétine.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EQ/g MS).

III.5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques

III.5.1. Test du pouvoir réducteur: FRAP

➤ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice est déterminée selon la méthode de **Yen et Duh (1993)**, basée sur la réaction chimique de réduction du Fer (III) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fer (II) (**Ferreira et al., 2007; Ak et Gulçin, 2008**).

➤ Mode opératoire

L'extrait est été solubilisé dans l'éthanol et le méthanol (1/500 v/v), puis 0,5 ml de chaque solution (éthanol, méthanol ou eau distillée pour l'échantillon de contrôle) sont mélangés avec 0,5 ml d'une solution à 1 % de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) et 0,5 ml d'un tampon phosphate (0,02 M, pH 6,6). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min.

Après refroidissement, 0,5 ml d'une solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% sont ajoutés. La solution est centrifugée à 3000 rpm pendant 10 min puis 1 ml du surnageant est mélangé à 1ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure de fer (2%) est ajouté. L'absorbance est mesurée à 700 nm (**Yen et Duh, 1993**).

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé. La valeur EC_{50} est la concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0,5 pour la capacité réductrice et est obtenue à partir des courbes à régression linéaire (**Chang et al., 2007**).

La figure suivante reprend les principales étapes du protocole expérimental du pouvoir réducteur.

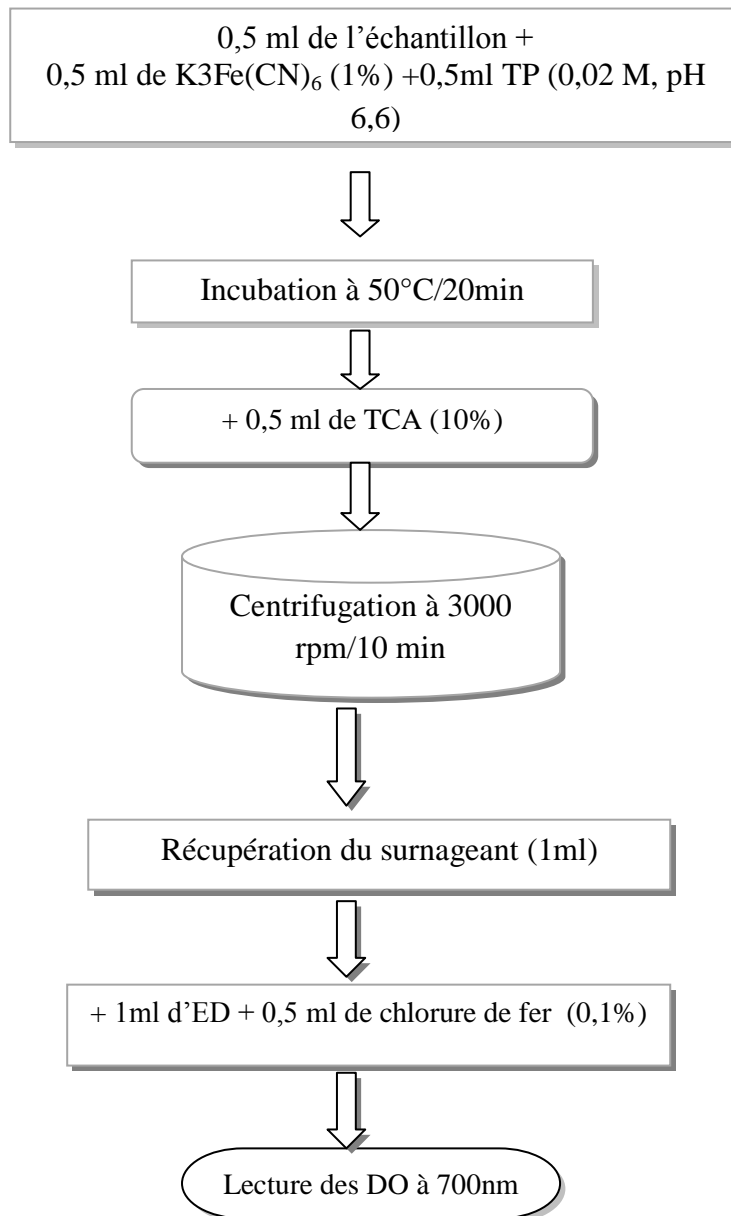


Figure 08. Protocole de détermination de pouvoir réducteur (Yen et Duh; 1993)

III.5.2. Estimation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode au DPPH

➤ Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl hydrazine (jaune) (Brand-William et al., 1995).

➤ **Mode opératoire**

2 ml de l'extrait éthanolique ou méthanolique à différentes concentrations diluées dans l'éthanol sont ajoutées à un 0,4 ml de la solution DPPH préparée à 0,5mM dans l'éthanol. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à 517 nm; le mélange de 1 ml de la solution de DPPH et de 1 ml d'éthanol ou méthanol est pris comme témoin (Sanchez-Moreno et al., 1998).

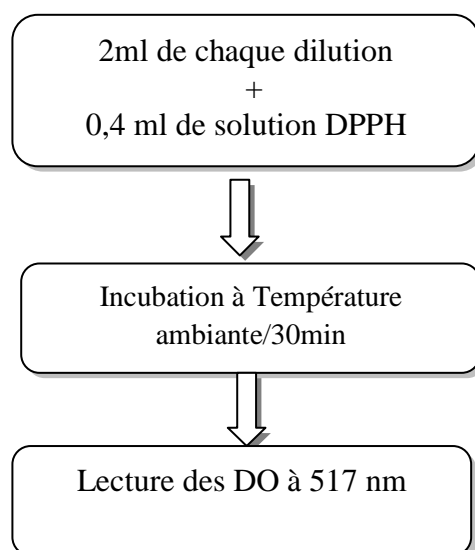


Figure 09. Protocole de piégeage du radical libre DPPH (Sanchez-Moreno et al., 1998)

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

$$I\% = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

- **Abs contrôle** : Absorbance du contrôle négatif à 517 nm.
- **Abs échantillon** : Absorbance de l'échantillon à 517 nm.

La valeur IC50, est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH. Elle est déterminée graphiquement par les régressions linéaires des droites tracées pour chaque échantillon (Samarth et al., 2008).

III. 6. Evaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques

III.6. 1. Repiquage et revivification des souches

Les isolats cliniques et les souches de référence conservées dans le glycérol à -20°C ont été repiquées sur des milieux sélectifs adéquats (milieu de Chapman pour *S.aureus*, la gélose Hecktoen pour *E.coli* et la gélose nutritive pour *P.aeruginosa*). Les boîtes de pétriensemencées sont incubées à 37°C pendant 24heures.

III.6. 2. Tests de confirmation des souches

➤ Etude des caractères morphologiques

Afin de déterminer la forme des bactéries et la nature de leur paroi (Gram positif ou Gram négatif), un frottis bactérien a été préparé à partir de chaque souche puis coloré par la coloration de Gram (**Annexe 03**) et examiné enfin sous microscope au grossissement (100X)

➤ Etude des caractères biochimiques

Deux tests biochimiques (test de la catalase et test de l'oxydase) ont été réalisés :

1. Test de la catalase

➤ Principe

D'après (**Marchal et al., 1982**), la catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



➤ Technique

Une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine est émulsionnée dans une goutte d'eau oxygénée à 3% préalablement déposée sur une lame propre.

➤ Lecture

Une réaction positive se traduit par la formation immédiate de bulles de gaz, par contre l'absence de bulles indique un résultat négatif (**Marchal et al., 1982**).

2. Test de l'oxydase

➤ Principe

Ce test permet de déterminer si la bactérie possède le système enzymatique cytochrome C oxydase lui permettant d'utiliser l'oxygène libre comme accepteur final d'électrons dans sa chaîne respiratoire. La présence de cette enzyme oxyde certains composés chimiques comme l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine (**Marchal et al., 1982**).

➤ Technique

Un disque d'oxydase imprègne de l'oxalate de N-Diméthyl paraphénylène Diamine est

déposé sur une lame propre puis imbibé avec une goutte d'eau. Une colonie bactérienne prélevée à l'aide de la pipette pasteur est ensuite déposée sur la surface du disque.

III.7. Evaluation de l'activité antibactérienne *in-vitro*

III.7. 1. Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

Après identification bactérienne, toutes les souches ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques selon la méthode préconisée par le comité de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale.

Nous avons réalisé un antibiogramme standard (méthode de diffusion) selon la technique préconisée par le **CLSI (2006)**.

a. Préparation et standardisation des suspensions bactériennes

Une suspension bactérienne de chaque souche à tester est préparée à partir d'une culture jeune de 18 heures: des colonies isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et placées dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.

La suspension ainsi obtenue est ajustée à l'échelle 0.5 McFarland par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible.

b. Ensemencement des boîtes

Les suspensions bactériennes obtenues sont étalées à l'aide d'écouvillons à la surface de la gélose Mueller-Hinton coulée sur une épaisseur de 4 mm dans des boîtes de pétri de 90 mm.

c. Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de chaque souche étudiée. Les antibiotiques utilisés pour chaque souche sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 03. Antibiotiques utilisés pour tester la sensibilité des souches étudiées

Famille	<i>S.aureus</i> (urinaire) et <i>S.aureus</i> ATCC 6538	<i>E.coli</i> (vaginale) et <i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> (vaginale) et <i>P.aeruginosa</i> ATCC 9027
β-lactamines	Céfoxitime (FOX ³⁰)	Ampicilline (AM ¹⁰)	Céftazidime (CA ³⁰)
	Penicilline (P ¹⁰)	Amoxicilline (AX ¹⁰)	Oxacilline (OX ¹)
	Oxacilline (OX ⁵)	Amoxicilline+acide clavulanique (AUG ³⁰)	Amoxicilline+acide clavulanique (AMC ³⁰)
		Céftriaxone (CTX ³⁰)	
Aminosides	Amikacine (AK ³⁰)	Amikacine (AK ³⁰)	Amikacine (AK ³⁰)
	Gentamicine (CN ¹⁰)	Gentamicine (CN ¹⁰)	Gentamicine (CN ¹⁰)
	Kanamycine (AK ³⁰)		
Polypeptides	NT	NT	Colistine (CT ¹⁰)
			Colistine sulfate (CS ¹⁰)
Glycopeptides	Vancomycine (VA ³⁰)	NT	NT
Sulfamides	Sulfaméthoxazole- Triméthoprim (SXT ²⁵)	Sulfaméthoxazole- Triméthoprim (SXT ²⁵)	NT
Tétracyclines	Tétracycline (TE ³⁰)	NT	NT
Macrolides	Erythromicine (E ¹⁵)	NT	NT
Quinolones	NT	Acide nalidixique (NA ³⁰)	NT

NT: Non testé

Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés puis interprétés en se référant à une table de lecture de l'antibiogramme.

III.7. 2. Activité antibactérienne des extraits phénoliques d'*Artemisia herba alba*

Les résultats de l'antibiogramme ont permis de sélectionner trois souches multi-résistantes; *Escherichia coli* et *P.aeruginosa* d'origine génitale, *Staphylococcus aureus* d'origine urinaire. Ces souches ont fait ensuite l'objet d'un test de sensibilité aux l'extrait d'*Artemisia herba alba* en utilisant la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

➤ Technique

Un inoculum bactérien préparé à partir d'une culture jeune puis standardisé au standard McFarland 0.5 est ensemencé par écouvillonnage à la surface de la gélose Müeller-Hinton. Des disques en papier filtre de 6mm de diamètre ont été stérilisés puis imprégnés de 20µl de chaque extrait et déposés ensuite à la surface des géloses préalablement ensemencées.

Pour chaque extrait, le screening antibactérien a été effectué avec quatre concentrations préparées dans l'eau physiologique stérile: 1000mg/ml, 500mg/ml, 250mg/ml

et 125mg/ml. Les boîtes ont été ensuite fermées et laissées pendant 15 minutes pour une pré-diffusion à température ambiante avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h (**Adesokan et al., 2007**).

➤ **Lecture**

La lecture des résultats se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.

Chapitre IV :

Résultats et discussion

IV. 1. Extraction des composés phénoliques

IV.1.1. Rendement d'extraction

Les rendements obtenus après l'extraction des composés phénoliques totaux des feuilles d'*Artemisia herba alba* en utilisant deux solvants organiques sont représentés dans la **figure 10**. Ils sont exprimés en pourcentage massique.

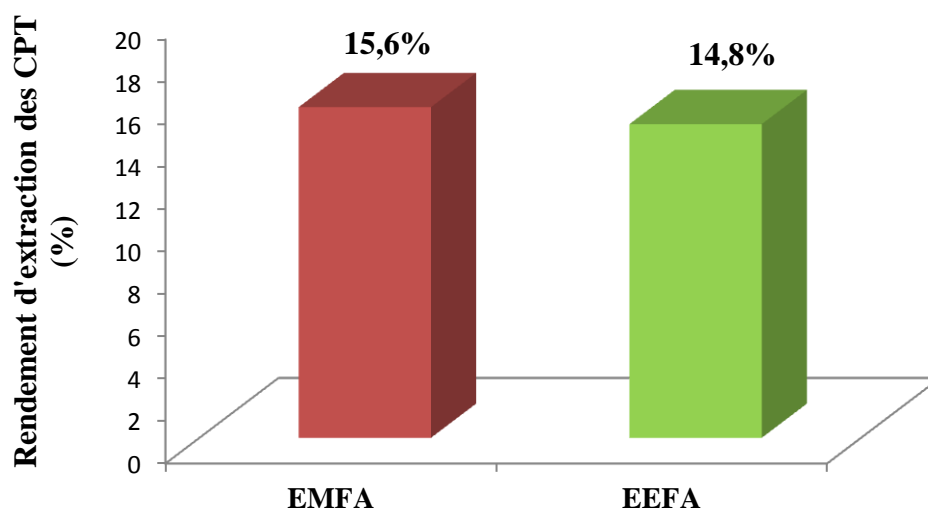


Figure 10. Rendement d'extraction des composés phénoliques des feuilles d'*Artemisia herba alba* pour les deux solvants

Le calcul des rendements en extraits secs par rapport au poids total du broyat montre que l'extrait méthanolique présente le rendement le plus élevé (15,6%), suivi par l'extrait éthanolique (14,8%).

Le rendement obtenu pour l'extrait méthanolique est supérieur à celui obtenu par **Lehout et Laib (2015)** qui ont enregistré un rendement de 13,3% pour *A. herba alba* récoltée à Mila. De même, un rendement inférieur (8,8%) a été enregistré pour l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* récoltée à Oued souf (**Aissaoui et Belaid, 2020**).

Ainsi, le rendement que nous avons enregistré pour l'extrait éthanolique est nettement supérieur (14,8%) à ceux obtenus par **Bezza et al. (2010)** et **Nia (2018)** qui ont rapporté des rendements de 6,72% et 3,04%, respectivement.

D'après **Quy Diem Do et al. (2014)**, les variations des rendements au sein d'une plante et les divergences observées entre les différentes études peuvent être particulièrement attribuées à plusieurs facteurs tels que les propriétés génétiques de la plante ainsi que l'origine géographique, aux conditions d'extractions tels que: le solvant, le pH, la température et la composition de l'échantillon et à la durée de stockage et de la récolte

Une autre raison pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction, c'est le temps d'extraction qui est généralement très long dans le cas de la macération car la progression de l'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols (Rhazi et al., 2015).

IV. 2. Analyse quantitative des extraits

IV. 2. 1. Dosage des composés phénoliques totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits éthanolique et méthanolique des feuilles d'*Artemisia herba alba* sont illustrés dans la figure ci-dessous :

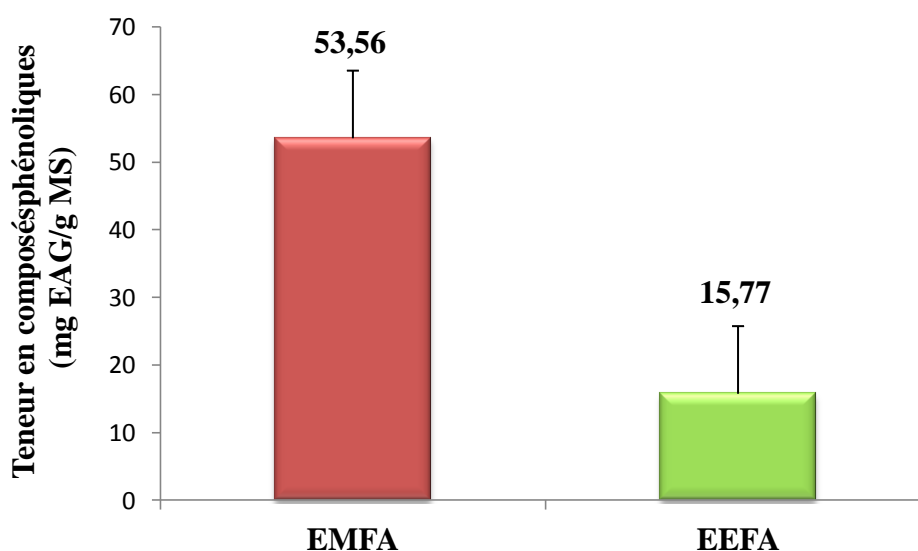


Figure 11. Teneur en composés phénoliques totaux des extraits d'*Artemisia herba alba*

Les résultats de la figure 10 montrent que la teneur en composés phénoliques totaux est plus élevée dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia herba alba* (53,56 mg EAG/g MS) par rapport à l'extrait éthanolique qui a enregistré une teneur plus faible (15,77 mg EAG/g MS).

La teneur en composés phénoliques que nous avons obtenus dans l'extrait méthanolique est nettement supérieure à celle rapportée par **Tawaha et al. (2007)** qui ont obtenu une teneur de 34,60 mg EAG/g de MS dans l'extrait méthanolique d'*A. herba alba*.

Contrairement à nos résultats, **Boudjouref et al. (2018)** ont obtenu des teneurs en polyphénols totaux comprises entre 82.61 à 88.61 mg EAC/g dans l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris*.

La teneur en composés phénoliques dans l'extrait éthanolique d'*A. herba alba* obtenue dans notre étude (15,77 est très inférieure à celle obtenue par **Muthanna et al. (2021)** qui ont enregistré une valeur de 88 mg EAG/g MS.

Par ailleurs, une teneur en polyphénols totaux supérieure à celle que nous avons enregistrée (20.38 mg EAG/g MS) a été obtenue dans l'extrait éthanolique 70 % de la partie aérienne d'*A. campestris* (Djeridane et al., 2006). Ces mêmes auteurs ont rapporté en 2007 une teneur en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique (80 %) d'*A. campestris* cinq fois de plus supérieure à la précédente (103.4 mg EAG/g MS).

Selon Akrouf et al. (2011), la teneur en composés phénoliques totaux dans l'extrait éthanolique d'*A. campestris* peut dépasser 450 mg EAG/g d'extrait lorsque l'extraction est réalisée avec une solution alcoolique à 50 %.

La quantité des polyphénols totaux peut varier selon un certain nombre de facteurs : les conditions expérimentales, environnementales, climatiques ainsi que les conditions de stockage, la période de collecte, la maturité et les facteurs génétiques (Falleh et al., 2008).

Ainsi la teneur en composés phénoliques peut être influencée par la nature du solvant utilisée. En effet, l'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénoliques. Certains auteurs rapportent que les acides phénoliques polaires comme l'acide benzoïque et l'acide cinnamique ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs, donc les mélanges alcool-eau sont recommandés (Lapornik et al., 2005; Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005). De même, la solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant utilisé et le degré de leurs polymérisation (Naczek et Shahidi, 2004).

IV. 2. 2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits d'*Artemisia herba alba* sont représentées dans la figure 11.

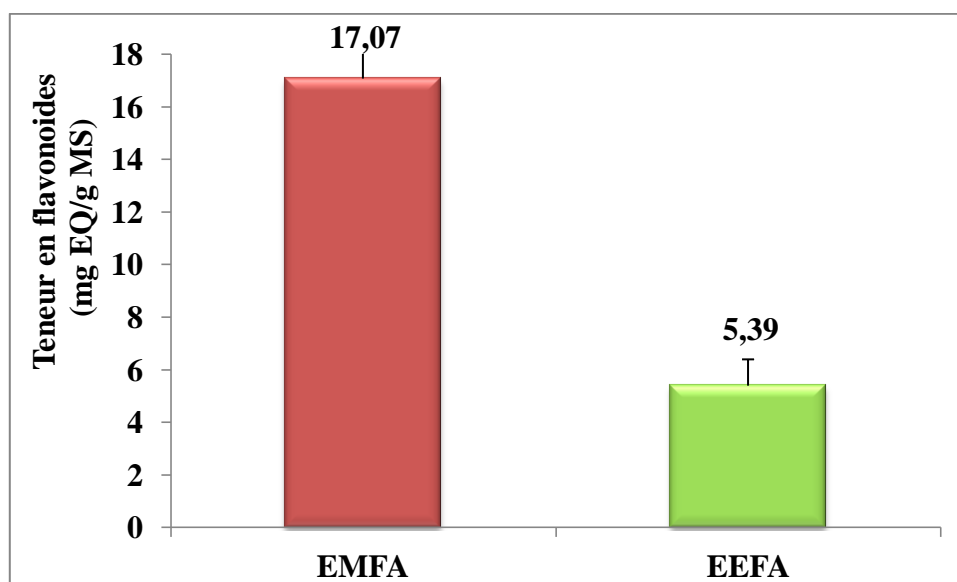


Figure 12. Teneur en flavonoïdes dans les extraits d'*Artemisia herba alba*.

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits des feuilles d'*A. herba alba* montre une teneur plus forte dans l'extrait méthanolique en comparaison avec l'extrait éthanolique (17,07 mg EQ/gMS vs 5,39 mg EQ/gMS, respectivement).

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **khennouf et al. (2010)** qui ont rapporté une valeur de 17,80mg EQ/g MS dans l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*.

Des teneurs en flavonoïdes inférieures (12,91 à 13,72 mg EQ/g) à celle que nous avons obtenue (2,85 mg EQ/gMS) ont été enregistrées dans l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* (**Boudjouref et al., 2018**).

Contrairement à nos résultats, une teneur en flavonoïdes très faible (0,32 mg EQ/100g) a été enregistrée dans l'extrait éthanolique d'*Artemisia arboresens* (**Djeridane et al., 2006**). Parallèlement, des teneurs en flavonoïdes proches à la valeur que nous avons enregistrée ont été rapportés dans les extraits d'*A. campestris* en utilisant l'éthanol à 70% et 80% (v/v). Ces valeurs sont estimées à 7.46 et 5 mg EQ/g MS, respectivement (**Djeridane et al., 2006 ; 2007**).

Ces différences dans les teneurs en flavonoïdes peuvent être expliquées par les conditions expérimentales, environnementales, climatiques, la période de récolte ainsi que le degré de maturation de la plante (**Miliauskas et al., 2004**).

IV. 3. Evaluation des activités biologiques des extraits d'*Artemisia herba alba*

IV. 3. 1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits d'*A. herba alba* a été évaluée par la mesure du pouvoir réducteur et la capacité de piégeage du radical libre DPPH.

IV.3. 1. 1. Pouvoir réducteur (FRAP)

Les résultats de l'activité réductrice des extraits éthanolique et méthanolique d'*A. herba alba* et de la molécule standard ; quercétine sont représentés dans la figure 12

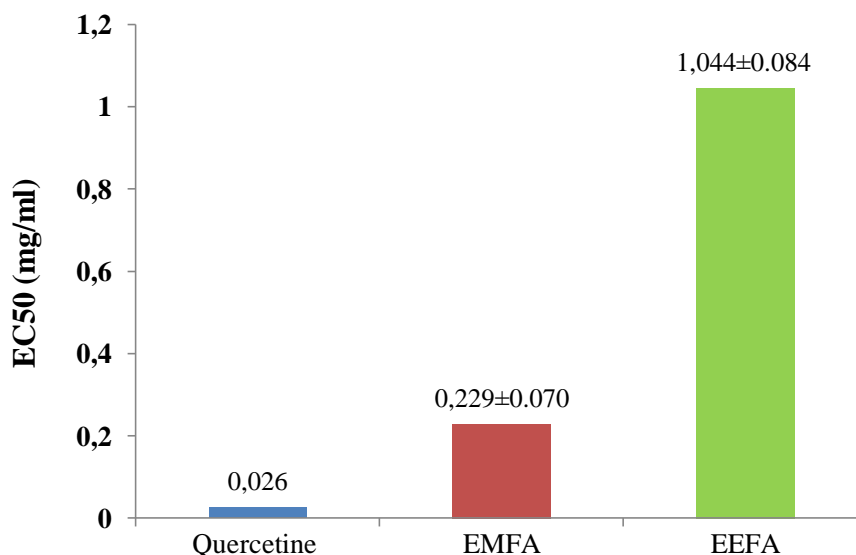


Figure 13. Pouvoir réducteur des extraits d'*A. herba alba* et de la molécule standard

Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle basée sur la capacité d'un composé à céder un électron (Balasundram et al., 2005 ; Tepe et al., 2005; Kumaran et Karunakaran, 2007; Liu et al., 2013).

Les résultats de cette étude montrent que les extraits d'*Artemisia herba alba* possèdent une activité anti-oxydante faible en comparaison avec la molécule standard. En effet, les valeurs des EC₅₀ obtenues pour les deux extraits sont largement supérieures à l'EC₅₀ du témoin (quercétine) indiquant ainsi une faible capacité réductrice. Ces valeurs sont de l'ordre de 1.044 ± 0.084 mg/ml pour l'extrait éthanolique, 0.229 ± 0.070 mg/ml pour l'extrait méthanolique et 0.026 mg/ml pour la quercétine.

Cependant, le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* reste supérieur à celui de l'extrait éthanolique (0.229 ± 0.070 mg/ml vs 1.044 ± 0.084 mg/ml, respectivement), ce qui concorde avec les résultats de Msaada et al. (2015) et Boudjouref et al. (2018) qui ont constaté que la capacité réductrice des extraits méthanoliques des feuilles d'*A. campestris* et *A. absinthium* est plus élevée que celle des autres extraits.

Contrairement à nos résultats, Muthanna et al. (2021) ont rapporté que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* possède un pouvoir réducteur plus puissant que la quercétine avec des EC₅₀ de 8.3 µg/ml et 9.8 µg/ml, respectivement.

IV.3. 1. 2. Activité antiradicalaire (DPPH)

Pour évaluer l'efficacité d'un antioxydant capable à fixer les radicaux libres et à arrêter la propagation de la réaction en chaîne, nous avons utilisé la méthode du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH), un radical stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm dont le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (**Molyneux, 2004**).

Les valeurs des IC₅₀ de nos extraits et des standards utilisés (acide gallique et quercétine) sont regroupées dans le tableau 04.

Tableau 04 : Activité anti-radicalaire des extraits d'*A.herba alba* et de la molécule standard

	Acide gallique	Quercétine	Extrait éthanolique <i>d'A. herba alba</i>	Extrait méthanolique <i>d'A. herba alba</i>
IC ₅₀ (mg/ml)	0.015	0 .009	0.213 ± 0.019	0.077 ± 0.0001

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que les extraits d'*A.herba alba* possèdent une faible activité antioxydante avec des IC₅₀ de 0.077± 0.0001 mg/ml pour l'extrait méthanolique et de 0.213 ± 0.019 mg/ml pour l'extrait éthanolique. Cette activité est nettement inférieure à celle des molécules standards; acide gallique et quercétine qui ont donné des valeurs IC₅₀ de 0.015 mg/ml et 0 .009 mg/ml, respectivement.

En se basant sur le principe qu'une faible IC₅₀ reflète une meilleure capacité scavenger des radicaux libres (**Lim et Tee, 2007**), nous pouvons dire que la quercétine possède l'activité antiradicalaire la plus puissante tandis que l'extrait éthanolique d'*A.herba alba* possède l'activité radicalaire la plus faible.

Nos résultats corroborent en partie ceux de **Muthanna et al. (2021)** qui ont obtenu une valeur IC₅₀ pour l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* Supérieure à celle que nous avons obtenue pour le même solvant et la même plante (0.015 mg/ml).

Les extraits de feuilles du genre *Artemisia* ont fait l'objet de nombreux travaux et les résultats sont variables. En effet, les valeurs IC₅₀ obtenues sont 0.57mg/ml pour *A.absinthium* (**Craciunescu et al., 2012**), 0.82 mg/ml pour *A. salina* (**Paudel et al., 2014**) 0.039 mg/ml pour *A. campestris* (**Bakchiche et Gherib, 2014; Djidel et khennouf, 2014**), et 0.006 mg/ml pour *A.annua* (**Tuekaew et al., 2014**).

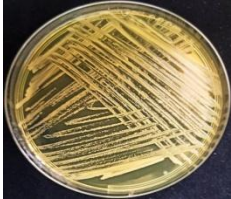
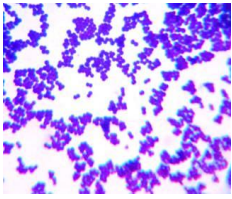



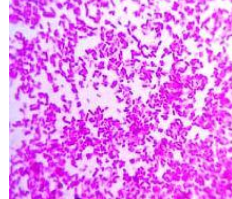

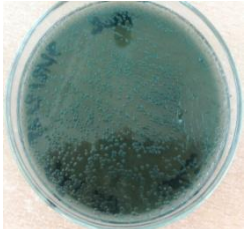
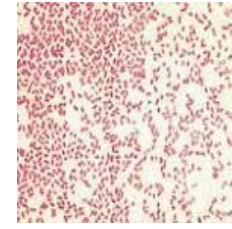


Ces divergences entre les différentes études peuvent être attribuées à l'impact des facteurs environnementaux ainsi qu'à la composition chimique de l'extrait. Ainsi **Popovici et al. (2009)** ont montré que la structure chimique et la polarité d'un antioxydant sont déterminantes pour sa capacité à piéger les radicaux libres.

IV. 3. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne

IV. 3. 2. 1. Tests de confirmation des souches

Les résultats des tests de confirmation des souches bactériennes étudiées sont présentés dans le tableau 05

Tableau 05 : Tests de confirmation des différentes souches bactériennes utilisées dans l'étude

Souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Catalase	Oxydase
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonies arrondies, brillantes, à bords réguliers, bombées, jaunes doré sur le milieu de charman	Coques à gram positif, groupés en amas sous forme de grappe de raisin	Positive	Négative
				
<i>Escherichia coli</i>	Colonies arrondies, brillantes, à bords réguliers, bombées, jaunes orangé sans centre noir sur le milieu	Coccobacilles à gram négative	Positive	Négative
				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies translucides pigmentées en vert à bords irréguliers sur gélose nutritive	Ce sont des bacilles à Gram négatif, droits, à coloration bipolaire	Positive	Positive
				

IV. 3. 2. 2. Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme standard)

Les résultats relatifs à l'étude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques sont résumés dans le tableau 06.

Tableau 06 : Sensibilité des souches bactériennes étudiées aux antibiotiques.

Classe	ATB	<i>S.aureus</i>		<i>E.coli</i>		<i>P.aeruginosa</i>	
		Isolat	ATCC6538	Isolat	ATCC25922	Isolat	ATCC9027
Bétalactamines	P ¹⁰	R	S	-	-	-	-
	FOX ³⁰	S	S	-	-	-	-
	OX ⁵	R	S	-	-	-	-
	AM ¹⁰	-	-	R	R	-	-
	AX ¹⁰	-	-	R	R	-	-
	AUG ³⁰	-	-	R	R	-	-
	CTX ³⁰	-	-	S	S	-	-
	AMC ³⁰	-	-	-	-	R	R
	CA ³⁰	-	-	-	-	R	R
OX ¹	-	-	-	-	R	R	
Aminosides	CN ¹⁰	S	S	R	S	S	S
	AK ³⁰	R	R	S	S	S	S
	K ³⁰	S	S	-	-	-	-
Glycopeptides	VA ³⁰	S	S	S	S	-	-
Polypeptides	CT ¹⁰	-	-	S	S	S	S
	CS ¹⁰	-	-	-	-	S	S
Macrolides	E ¹⁵	R	S	-	-	-	-
Quinolones	NA ³⁰	-	-	R	R	-	-
Tétracyclines	TE ³⁰	R	S	R	R	-	-
Sulfamides	SXT ²⁵	R	R	R	R	-	-

S: sensible, R: résistante, -: non testé.

P:Penicilline, OX :Oxacilline, FOX :Cefoxitine, CN:Gentamicine, AK:Amikacine, K:Kanamycine, VA:Vancomycine, E :Erythromycine, T:Tétracycline, CT : Colistine, CS :Colistine sulfate, SXT : Sulfaméthoxazole-Triméthoprime, NA: Acide nalidixique, CA: Céfotazidime, AUG, AMC : Amoxicilline-acide clavulanique, CTX: Céftriaxone, AM: Ampicilline, AX: Amoxicilline.

Les résultats du tableau 06 montrent une multirésistance des isolats cliniques de *S.aureus* et d'*E.coli* à des antibiotiques appartenant à cinq classes différentes. En effet, la souche de *S.aureus* était résistante aux bétalactamines, aminosides, macrolides, tétracyclines et sulfamides tandis que la souche d' *E.coli* était résistante aux bétalactamines, aminosides,

quinolones, tétracyclines et sulfamides Par contre, la souche de *P.aeruginosa* isolée à partir d' un prélèvement vaginal était résistante à trois antibiotiques appartenant à la même classe (bétalactamines).

Concernant les souches de référence, *S.aureus* était résistante à l' amikacine appartenant à la classe des aminosides et au sulfamthoxazole-triméthoprim appartenant à classe des sulfamides tandis que *P.aeruginosa* était résistante à trois antibiotiques (Amoxicilline- acide clavulanique, Céftazidime, oxacilline) appartenant à la famille des β-lactamines. Cependant la souche d' *Escherichia coli* a montré une multirésistance à des antibiotiques appartenant à quatre classes différentes (β-lactamines, quinolones, tétracyclines et sulfamides).

IV. 3. 2.3. Effet antibactérien des extraits phénolique d'Artemisia herba alba

Les données relatives à la sensibilité des souches bactériennes isolées à partir de prélèvements génito-urinaires aux extraits phénoliques d'A.herba alba sont résumées dans le ci-dessous :

Tableau 07 : Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) induites par les extraits phénoliques des feuilles d'A. herba alba vis-à-vis des souches étudiées

	Souche bactérienne	Extrait éthanolique (mg/ml)				Extrait méthanolique (mg/ml)			
		1000	500	125	62,5	1000	500	125	62,5
Diamètre des zones d'inhibition (mm)	<i>S.aureus</i>	9	8	6	6	8	6	6	6
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	11	7	6	6	9	6	6	6
	<i>E. coli</i>	7	6	6	6	8	7	6	6
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	7	6	6	6	6	6	6	6
	<i>P. aeruginosa</i>	7	6	6	6	9	7	6	6
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 9027	8	6	6	6	8	6	6	6

Remarque : φ=6mm correspond au diamètre du disque donc absence de zone d'inhibition

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques des feuilles d'Artemisia herba alba par la méthode des disques sur milieu gélosé a montré un effet inhibiteur très faible voire nul contre toutes les souches étudiées. Cependant, cet effet diffère d'une souche à une autre pour le même extrait et à la même concentration et d'un extrait à l'autre pour la même souche.

Les résultats du tableau 07 montrent un effet inhibiteur dose-dépendant pour certaines souches c'est-à-dire plus la concentration de l'extrait diminue, plus le diamètre de la zone d'inhibition diminue.

L'extrait éthanolique a montré une activité antibactérienne faible mais plus puissante que l'extrait méthanolique contre les souches de *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de 9 mm à 1000 mg/ml et 8mm à 500 mg/ml pour la souche de *S.aureus* d'origine urinaire et des diamètres de 11 mm et 7mm observés uniquement aux plus fortes concentrations (1000 et 500mg/ml, respectivement) pour la souche de *S.aureus* ATCC 6538 . Par contre, les deux souches de *S.aureus* étaient faiblement sensibles à l'extrait méthanolique avec des zones d'inhibition de 8mm pour la souche clinique et de 9 mm pour la souche de référence à uniquement à la plus forte concentration de l'extrait (1000mg/ml). Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux **Boudjelal, (2013)** qui a rapporté que l'extrait méthanolique (85%) d'*Artemisia herba alba* a exhibé une forte activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 18 ± 0.7 mm.

Par ailleurs, les souches à gram négative (*E.coli* et *P.aeruginosa*) étaient plus résistantes aux extraits éthanolique et méthanolique de feuilles d'*A.herba alba*.

Les deux souches d'*E.coli* ont montré une très faible sensibilité à l'extrait éthanolique uniquement à la plus forte concentration (1000mg/ml) avec des diamètres d'inhibition de 7mm. Quant à l'extrait méthanolique, il n'a exhibé aucun effet inhibiteur contre la souche d'*E.coli* ATCC 25922 mais il a démontré une très faible activité inhibitrice contre la souche clinique avec des diamètres d'inhibition de 8mm à 1000 mg/ml et de 7mm à 500 mg/ml.

Nos résultats concordent avec ceux de **Allouche et Seddik (2021)** qui ont rapporté un effet inhibiteur très faible voir nul de l'huile essentielle des feuilles d'*Artemisia herba alba* récoltée de la même région (Thakhmert, Tiaret) contre les mêmes souches que nous avons utilisées dans cette étude avec des diamètres d'inhibition de 7.33 ± 0.57 mm pour *S.aureus* d'origine urinaire, 9 ± 0 mm pour la souche d'*E.coli* d'origine vaginale et 8 ± 0 mm pour *E.coli* ATCC 25922. Ces auteurs ont considéré les souches de *S.aureus* et d'*E.coli* ATCC 25922C résistantes à l'HE d' *A.herba alba* et la souche d'*E.coli* d'origine vaginale sensible à la limite la plus faible en se référant à l'échelle de **Ponce et al.(2003)**.

Contrairement à nos résultats, l'extrait méthanolique (85%) a exhibé un fort pouvoir inhibiteur contre *E.coli* ATCC 25922 avec un diamètre de 13 ± 0.6 mm (**Boudjelal, 2013**).

La souche clinique de *P.aeruginosa* était très faiblement sensible à l'extrait éthanolique avec un diamètre d'inhibition de 7mm à la plus forte concentration (1000mg/ml).

Cependant, elle était un peu plus sensible à l'extrait méthanolique avec des diamètres de 9mm et 7mm à 1000mg/ml et 500mg/ml, respectivement.

Les deux extraits éthanolique et méthanolique ont démontré un faible effet inhibiteur contre la souche de collection internationale (*P.aeruginosa* ATCC9027) avec des diamètres d'inhibition de 8mm à 1000mg/ml uniquement et aucun effet n'a été observé avec les autres concentrations du même extrait.

Les données concernant l'activité antibactérienne des extraits *d'Artemisia herba alba* sont rares. En effet, la plupart des études se sont focalisées sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cette plante, ce qui a rendu difficile la discussion des résultats obtenus.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Dans le but d'élaborer de nouveaux agents naturels antibactériens et antioxydants, les extraits phénoliques des feuilles d'*Artemisia herba alba* récoltée de la région de Thakhemart (Tiaret) ont été testés pour leur pouvoir antioxydant et leur effet antibactérien contre des bactéries résistantes voire multi-résistantes impliquées dans les infections uro-génitales.

Les résultats obtenus ont montré que le rendement en extraits secs varie en fonction du solvant utilisé. En effet, le meilleur rendement a été enregistré pour l'extrait méthanolique (15.6 %) suivi par l'extrait éthanolique avec un rendement de 14.75%.

La quantification des composés phénoliques a révélé une teneur plus élevée dans l'extrait méthanolique d'*A.herba alba* par rapport à l'extrait éthanolique (53,56 mg EAG/g MS vs 15,77 mg EAG/g MS, respectivement). Par contre, la teneur en flavonoïdes est presque deux fois plus élevée dans l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait méthanolique (5,39 mg EQ/gMS vs 2,85 mg EQ/gMS, respectivement).

Les deux extraits possèdent un faible pouvoir réducteur en comparaison avec la quercétine avec des EC50 de 1.044 ± 0.084 mg/ml pour l'extrait éthanolique, 0.229 ± 0.070 mg/ml pour l'extrait méthanolique et 0.026 mg/ml pour la quercétine. De même, les valeurs IC50 obtenues par la méthode DPPH ont montré une faible activité antioxydante des deux extraits comparativement aux antioxydants standards; l'acide gallique et la quercétine.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique et méthanolique d'*A.herba alba* par la méthode de diffusion a montré un pouvoir antibactérien très faible voire nul vis-à-vis de la plupart des souches bactériennes testées.

À la lumière de ces résultats, on peut conclure que les extraits phénoliques de l'espèce *Artemisia herba alba* utilisée dans cette étude possèdent des activités antioxydante et antibactérienne faibles. Néanmoins, leur pouvoir antioxydant reste plus important que leur pouvoir antibactérien.

Cette étude peut être considérée comme un point de départ pour d'autres travaux de recherches sur les bienfaits d'*Artemisia herba alba* et dans la continuité de ce travail, il serait intéressant d'envisager les perspectives suivantes :

- ✚ Optimiser la méthode d'extraction des composés phénoliques en utilisant d'autres techniques et d'autres solvants.
- ✚ Tester les activités antioxydante et antibactérienne de la partie racinaire de la plante.
- ✚ Etudier d'autres propriétés biologiques de cette plante, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et antiparasitaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abdelly C. (2008)**. Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendu Biologies*. 331(5): 372-379.
2. **AFSSAPS. (2010)**. Practice recommendations for diagnostic and antibiotic therapy of adult , pub Med, 38 suppl 3S20352.
3. **Aissaoui I, Belaid K. (2020)**. Contribution à l'étude phytochimique de Quatre Plantes médicinales(*A. herba Alba Asso*, *A. compestris L*, *Juniperus phoenicea* et *Rosmarinus officinalis*) de la région d'oued Souf, Mémoire de Master Biodiversité et Environnement ;pp117.
4. **Ak T., Gulçin I. (2008)**. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico- Biological Interactions*. 174: 27–37
5. **Akrout A. (2004)**. Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens . Zaragoza :CIHEAM, Cahiers Options Méditerranéennes, 62, 289-292p.
6. **Amina K , Fairouz C, (2017)** . Contribution à l'étude des activités antibactérien et antioxydante de l'huile essentielle de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*), Mémoire de Master en biologie ; p1.
7. **Baba Aissa F.(2000)**. Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba.
8. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C et Pinkas M.(1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim-Forsch drug Research*. 46: 1086-1108.
9. **Bakchiche B. et Gherib A. (2014)**. Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia. *International Journal of innovation and Applied Studies*. 9 (1): 167-172.
10. **Balasundram, N., T.Y. Ai, R. Sambanthamurthi, K. Sundram, and S. Samman, (2005)**Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 14(4): p. 319.
11. **Bencheqroun H.K., Ghanmi.M., Satrani B., Aafi A et Chaouch A. (2012)**. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. *Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco*,

- Artemisia mesatlantica*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 81: 4 – 21
12. **Bendjilali. B, Richard. H., (1980)**. Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc. *Artemisia herba alba*, Rivista Italiana E.P.P.O.S, LXII, (2)-69-74.
 13. **Bendjilali. B, Richard. H; Liddle. P., (1984)**. chémotypes d'armoise blanche du Maroc, congrès international de la société italienne de phyto-chimie, 131-151.
 14. **Benmansour N., Hacene H. (2001)**. Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* provenant de différentes régions d'Algérie. Thèse de Magister de Biologie Moléculaire Cellulaire U.S.T.H.B.
 15. **Benyahia , R . (2014)**. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques de la farine de la pulpe de la caroube par interaction périodique pathogène. thèse de master II en Biologie Moléculaire Appliqué et Immunologie. pp 23-24.
 16. **Bernal J., Mendiola E., Ibanez A., (2010)**. Advanced analysis of nutaceuticals
 17. **Bessaoud S (2015)**. Evaluation de quelques paramètres de la balance oxydants/antioxydants chez des rats diabétiques recevant de la quercétine
 18. **Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F., Kaloustian J. (2010)**. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie.*, 8: 277–281.
 19. **Boudjelal A.(2013)**. Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba, Algérie. 61p.
 20. **Boudjellal, K. (2009)**. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia L.* Thèse de magister en Biochimie Appliquée. Université el Hadj lakhdar, Batna 84p.
 21. **Boudjouref M , Belhattab R, Bouteghrine S.(2018)**. Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria, *World Journal of Environmental Biosciences*, Vol 7, Issue 2: 61-66.
 22. **Boudjouref M.(2011)**. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas. Sétif, Algérie. 99p.

23. **Bouldjadj. (2009).** Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de L'extrait aqueux lyophilisé *d'artemisia herba alba asso* Chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par Streptozotocine. P 31.
24. **Bouraoui N., Lafi B. (2003).** Plantes médicinales dans les traitements traditionnels (fréquence d'utilisation, formes de préparation et pathologies traitées).Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine, Ecole supérieure des sciences et techniques de la santé. Tunis.
25. **Brouillard, R., Figvire, P., El habiri, M., Dangles, O. (1997).** Molecular interaction of phenolic compounds in relation to the color of fruit and vegetables. In : les polyphénols en agroalimentaire. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006., Tec et Doc Lavoisier-France.
26. **Bruneton, J. (1993).**Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 1^{ère} Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, France. 278-279.
27. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
28. **Chang H. C., Huang G. J., Agrawal D. C., Kuo C. L., Wu C. R., Tsay H. S. (2007).** Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as "Gusuibu".*Botanical Studies*. 48: 397–406.
29. **Cowan, M .M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*.12 (4): 564- 582.
30. **Cowan, M .M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Revivis*.12 (4): 564- 582.
31. **Craciunescu O., Constantin D., Gaspar A., Toma L., Utoiu E. and Moldovan L., (2012).** Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana L.* and *Artemisia Absinthium L.* Ethanolic extracts, *Chemistry Central Journal*. 6(1): 97.
32. **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Ed *Blackwell Publishing* en Algérien 79-82p.
33. **Dacosta Y. 2003,** Les phytonutriments bioactifs .Ed. *Yves Dacosta*, France , 317p .
34. **Daglia M. (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 23: 1-8.
35. **Dahmani-Hamzaoui N. (2004).** Extraction et analyse d'huiles essentielles d'Armoise blanche Algérienne. Magister, U.S.T.H.B.

36. Dangles O, Stoeckel C, Wigand MC, Brouillard R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 33: 5227-30
37. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N., (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry.* 97(4): 654–660.
38. Djeridane A., Yousfi M., Najemi B., Vidal N., Lesgards J.F. et Stocker P., (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Techenology.* 224(6): 801-809.
39. Djidel S. et khennouf S., (2014). Radical Scavenging, Reducing Power, Lipid Peroxidation Inhibition and Chelating Properties of Extracts from *Artemisia campestris L.* Aerial Parts. *Annual Research and Review in Biology.* 4(10): 1691-170
40. Favier A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique:* 108-117.
41. Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr;* 64: 390-396.
42. Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr;* 64: 390-396.
43. Fellah S., Romdhane M. et Abderraba M. (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis L.* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie.* 16 (2) :193-202.
44. Ferreira I. C. F. R., Baptista P., Vilas-Boas M., Barros L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry,* 100: 1511–1516.
45. Feuerstein L. Muller D. Hobert.. K. Danin A.. Sega! R. (1986). The constituents of essential oils from *Artemisia herba alba* population of Israel and Sinai *Phytochemistry* 25, 2343-2347.
46. Flam T. (2016). Epidémiologie des infections urinaires [Internet]. [cité 18 Mars 2021]. Disponible sur: (http://www.uropage.com/ART_infec2.php).
47. Francis J. (2001). Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed *Robert Laffoni*

48. Friedman J., Vaniç i Dafni 4., Palewiteh. D., (1986). pretiminiry classification of thehealing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of a ethnopharmacological field sriey among Bedouins- in the Negev desert, Israel. *J Ethno. Jun.*; 16(2-3):275-8.7.
49. Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd *TEC&DOC. Paris.* pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008)
50. Ghrabi Z., Sand RL(2008).*Artemisia herba-alba Asso.* A Guide to Medicinal Plants in North Africa. ,49- 49.
51. Harbone, J.B. (1993). Introduction to Ecological Biochemistry 4^{ème} Ed. Academic Press, New York. 81-131p.
52. Khanbabae K and Ree T.R. (2001). Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry.* 18: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
53. Kheddoum, N . (2018) . Etude du pouvoir antibacterien d'*Artemisia herba alba* « CHIH » , Mémoire de Master en biologie ; universite Abdelhamid ibn Badis Mostaganem ,p1.
54. Khennouf S, Iratni N, Baghiani A, Harzallah D, Talbi M, Ainane T, Boriky D, Bennani L, Blaghen M and Arrar L. (2010). Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases, laboratory of Applied Biochemistry, laboratory of Applied Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, University Ferhat Abbas, Setif, 19000,Algeria.
55. King A., and Young G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals.J of the American dietetic association.99:213-218. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
56. Kohen, R., Nyska ,A., (2002). Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol. Path.* 30: 620-650.
57. Kumaran A. et Karunakaran R. J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie –Food Science and Technology.* 40(2): 344-352.
58. Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G.(2005). Comparaison of extracts prepared fromplant by- products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.*71(2): 214-222.

59. **Lehout R , Laib M (2015)**. Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso, Mémoire de Master Biochimie moléculaire et santé; pp 41.
60. **Leitao DP, Polizello AC, Ito IY, Spadaro AC.(2005)**. Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cramberry juice. *J. Med. Food*, 8 (1): 36-40.
61. **Liu J., Jia L., Kan J. et Jin Ch. (2013)**. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and Chemical Toxicology*. 51:310-316.
62. **Liyana-Pathirana C. M. et Shahidi F. (2005)**. Antioxydant proprieties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum L.*) and their milling fractions. *Journal of Agriculture and Food chemistry*. 53 (7): 2433-2440.
63. **Mahmoudi S., Khali M et Mahmoudi N. (2013)**. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus l.*). *Nature & technologie*. b- sciences agronomiques et biologiques ,N° 09 : 35-40.
64. **Makkar H. (2003)**. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin rich feeds. *Ruminant research*, 49:241-256.
65. **Mansour ;S ,(2014)**, (évaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales :*Artemisia absinthium L ,Artemisia herba alba asso* et *hypericum scarboides*_Etude *in vitro*)université de Mohamed Boudiaf d'Oran ,p33.
66. **Mansour.S.(2015)**. Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium L , Artemisia herba alba Asso* et *Hypericum scarboides* - Etude *in vivo*-.these de doctorat en biologie .p 33.
67. **Marco J.A. (1989)**. Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 28: 3121-3126.
68. **Marco J-A., Sanz-Cervera J-F., Ocete G. (1994)**. New germacranolides and Eudesmanolides from north African *Artemisia herba-alba*. *J. Nat. Prod.*, 57 (7): 939-946.
69. **Marrif H. I., Ali B. I, Hassan K. M. (1995)**. Some pharmacological studies on *Artemisia herba alba (Asso.)* in rabbits and mce. *kwnal OEf Ethnopharmacology* 49, 51 55.
70. **Meziti, A. (2007)**. Activité antioxydante des extraits des grains de *Nigella sativa* l'étude *in vitro* et *in vivo* .Mémoire de magister biologie université de Batna .p9-29-30

71. Mohamed A-H-H., El-Sayed M-A., Hegazy M-E., Helaly S-E., Esmail A-M., Mohamed N-S. (2010). Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec.Nat. Prod.* 4 (1) : 1-25.
72. Mohammed, M.J.;Anand, U.; Altemimi, A.B.;Tripathi, V.; Guo, Y.; Pratap-Singh, A. (2021). Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and Antibacterial Activity of WhiteWormwood (*Artemisia herba-alba*). <https://doi.org/10.3390/plants10010164>
73. Molyneux P., (2004). The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Song klanakarin. Journal of Science and Technology.* 26(2):211-219.
74. Montoro P, Barara A, Pizza C, De Tommasi N. (2005).structure antioxydante activetyV relationships of flavonoids isolated from diffrent plant spaices food chemistry.;349-355
75. Mouffok, S. (2011).des Métabolismes de centaurea pubescens ssp . Omphals tricha (*Asteraceae*) Mémoire de Magister en biochimie université de Batna 134p.
76. Mounir T , Hassan A , Abdeslam J , and Abdelmajid Z. (2015).Comparative Phytochemical Analysis of Essential Oils from Different Biological Parts of *Artemisia herba Alba* and Their Cytotoxic Effect on Cancer Cells. 10(7): e0131799.
77. Nabli. Ma. (1989). Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Tome1. Ed MAB (faculté des sciences de Tunis) : 186-188 p.
78. Naczk M and Shahidi F. (2003). Phenolics in food and nutraceuticals. *Boca Raton, FL: CRC Press.*
79. Naczk M., et Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A.* 1054(1-2): 95-111.
80. National committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (1999). performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Test ,9th International Supplement .M100-S9, Clinical Laoratory Standards Institute, Wayne, PA.
81. Nguz, K. (1997). Etude nutritionnelle et biochimique sur les tanins condensés du sorgho (*Sorghum bicolor* (L.)Moench). Thèse de doctorat en biochimie: Université de Gand (Belgique) .230p.
82. Nia B., (2018). Effets des extraits phénoliques sur le potentiel biotique du puceron vert dupêcher (*Myzus persicae* Sulzer, 1776) (Homoptera: Aphididae). Université Mohamed Khider.Biskra, Algérie. 94p.

83. Novelli, G. P. (1997). Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol* .48: 517-527.
84. O’Kennedy, R., Thornes, R.D. (1997). Coumarins: biology, applications and mode of action .Ed John Wiley et Sons Inc. New York. 87-90.
85. Paris M et Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
86. Pascale S., Veronique C. (2006) Les polyphénols en agroalimentaire. (Edition *TEC & DOC*) Lavoisier: 2.
87. Paudel B., Bhattarai H.D., Kim I.C., Lee H., Sofronov R., Ivanova L., Poryadina L. and Yim J.H., (2014). Estimation of antioxidant, antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of plants collected from Oymyakon region of the Republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Biological Research*. 47(10): 10-47.
88. Péroumal A. (2014). Caractérisation des fruits et de la pulpe de six accessions de *Mammea americana*: Aptitude à la transformation des fruits et caractérisation des composés phénoliques de la pulpe, Université des Antilles-et de la Guyane, 83 p.
89. Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B.(2009). Evaluation de l’activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radicale libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4): 25-39.
90. Portes .E (2008). Synthèse et étude de tétrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydant, application à la préservation de matériaux d’origine naturelle. Thèse de doctorat en biologie université bordeaux en Maroc .p44-46
91. Pottier G. (1981). *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes—dicotylédonesgamopétles. 1012 p.
92. Quezel P. et Santa S. (1963). Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome. II Ed. CNRS. Paris.
93. Rira M.(2006). Effet des polyphénols et des tanins sur l’activité métabolique du microbioteruminal d’ovins. Mémoire de Magister en biochimie et microbiologie appliqué. Univ. Mentouri de Constantine: p14.
94. Salah S.M. and Jager A.K. (2005). Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurobiological activities. *J Ethnopharmacol*, 97: 145–149.
95. Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A. et Saura-Calixto F.(1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science Technology International*. 76(2):270-276.

- 96. Seddik K., Nadjat I., Abderrahmane B., Daoud H and Lekhmici A. (2010).** Antioxydant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. leaves and some phenolic Compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(13) : 1273-280.
- 97. Seyoum A., Asres K., El-fiky F K.(2006).** Structure–radical scavenging activity Relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058–2070.
- 98. Singleton P. (1999).** Bactériologie.4^{ème} ed :Dunod, Paris. P271.
- 99. Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med.*33: 575-586
- 100. Stalikas C D (2007) .** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295.
- 101. Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002).** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother.* 56: 200-207. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 55: 58-774.
- 102. Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. et El-Elimat T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*.104(4): 1372-1378.
- 103. Tepe, B., M. Sokmen, H.A. Akpulat, D. Daferera, M. Polissiou, and A. Sokmen,(2005).** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus subsp. sipyleus var.sipyleus* and *Thymus sipyleus subsp. sipyleus var. rosulans*. *Journal of FoodEngineering.*, 66(4): p. 447-454.
- 104. Tuekaew J., Siriwatanametanon N., Wongkrajang Y., Temsiririrkkul R. et Jantan I. (2014).** Evaluation of the Antioxidant Activities of Ya-hom Intajak, a Thai Herbal Formulation, and its Component Plants, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* .13 (9): 1477-1485.
- 105. Vernin G., Merad L-O. (1994).** Mass spectra and Kovats indexes of some new cischrysanthenyl esters found in the essential oil of *Artemisia herba-alba* from Algeria. *Essen. Oil Res.*, 6 : 437-338.
- 106. Vernin G., Parkanyi C. (2001).** GC/MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso. From Algeria, Nonpolar and polar extracts. *Riv. Ital. EPPOS.*, 32 : 3-16.
- 107. Wilfred .V et Ralph .N. (2006).** Phenolic compound biochemistry Ed *Springer* .USA. 24p.

Références bibliographiques

108. Yen G. C., Duh P. D. (1993). Antioxidative properties of methanolic extract from peanut hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70: 383–386.

Annexes

Annexes

Annexe 01. Composition des milieux de culture utilisés

Gélose nutritive (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone de gélatine	05
Extrait de viande.....	03
Extrait de levure.....	03
Chlorure de sodium	05
Agar	18

pH= 7.3

Gélose Hektoen (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Protéose-peptone.....	12,0
Extrait de levure :	3,0
Lactose :	12,0
Saccharose :	12,0
Salicine :	2,0
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5
Sels biliaires :	9,0
Fuchsine acide.....	0,1
Bleu de bromothymol :	0,065
Chlorure de sodium :	5,0
Thiosulfate de sodium :	5,0
Agar	14,0

pH = 7,6

Annexes

Annexe 01. Composition des milieux de culture utilisés

Gélose Chapman (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone.....	10
Extrait de viande01
Mannitol.....	10
Chlorure de sodium.....	75
Rouge de phénol.....	0.025
Agar.....	15

pH= 7.3

Gélose Müller -Hinton (Parodonsia, Conda S. A, Espagne)

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Infusion de viande de bœuf.....	2,00
Hydrolysate de caséine.....	17,5
Amidon.....	1.50
Agar	17.0

pH 7.4 ± 0.2.

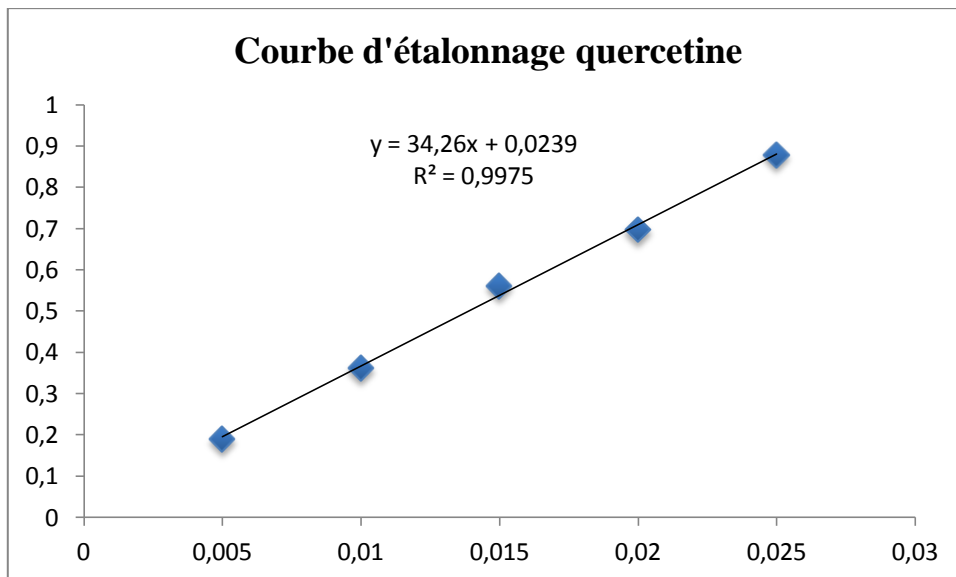
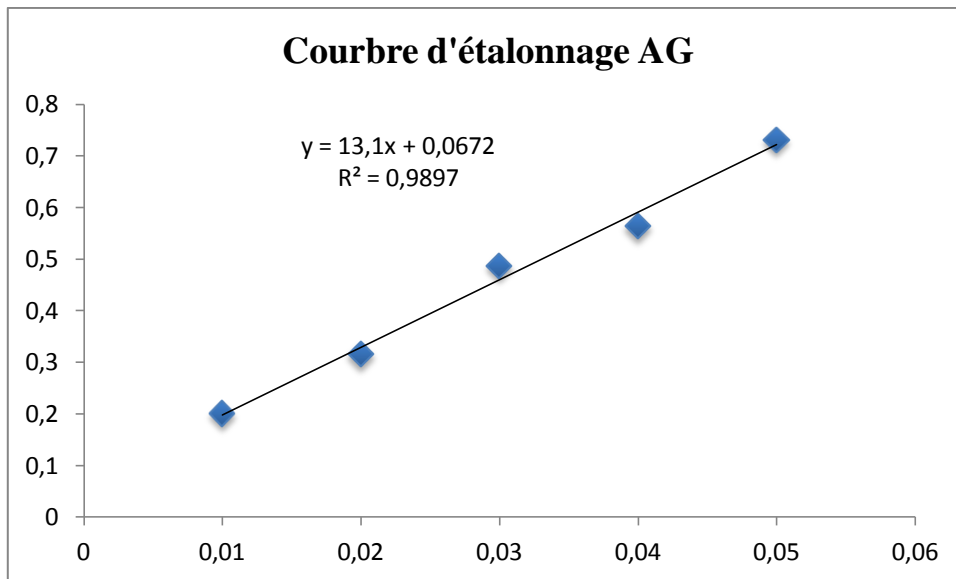
Annexes

Annexe 02. Coloration de Gram. (Singleton et Sainsbury, 1994)

1. Préparer un frottis bactérien en transférant un petit fragment d'une colonie dans une goutte d'eau déposée préalablement sur une lame de verre propre.
2. Disperser la colonie dans l'eau afin d'obtenir une suspension laiteuse.
3. Étaler la suspension sur une surface d'un à deux centimètres carrés.
4. La suspension est ensuite séchée de façon à obtenir le frottis. Ce dernier est fixé en le passant rapidement une ou deux fois dans la flamme du bec bunsen.
5. Recouvrir le frottis d'une solution de violet de gentiane pendant une minute.
6. Verser le lugol et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée.
7. Décolorer avec l'alcool à 95% en plaçant la lame dans une position oblique puis rincer à l'eau.
8. Recouvrir le frottis avec une solution de fuchsine pendant une minute puis rincer et sécher le frottis.
9. Observation microscopique à immersion (X100) : les bactéries à Gram- apparaissent roses et les bactéries à Gram+ se colorent en violet.

Annexes

Annexe 03. Courbes d'étalonnages des dosages quantitatifs des extraits *d'A. herba-alba*



Annexes

Annexe 04. Table de lecture de l'antibiogramme (CASFM, 2018).

Antibiotique	Symbole	Concentration (µg)	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Acide nalidixique	NA	30	≤13	14-18	≥19
Amikacine	AK	30	≤14	15-16	≥17
Amoxicilline	AX	25	<14	15-21	≥22
Amoxicilline - acide clavulanique	AMC	20	≤13	14-17	≥18
Ampicilline	AM	10	≤11	12-13	≥14
Céfoxitime	FOX	30	≤14	15-17	≥18
Céftriaxone	CTX	30	≤14	15-22	≥23
Colistine	CT	10	≤8	9-10	≥11
Erythromicine	E	15	≤13	14-17	≥18
Gentamicine	CN	10	≤12	13-14	≥15
Kanamycine	K	30	≤13	14-17	≥18
Ofloxacine	OFX	5	≤14	15-21	≥22
Oxacilline	OX	5	≤10	11-12	≥13
Sulfaméthoxazole- Triméthoprim	SXT	25	≤10	11-15	≥16

Annexes

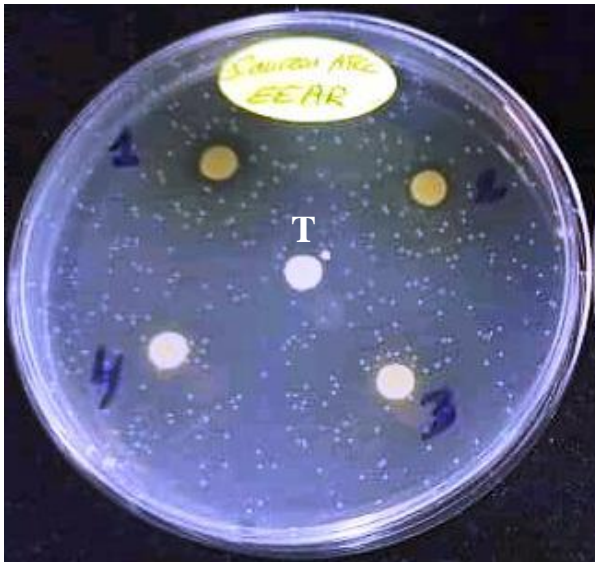
Annexe 05. Effet des extraits phénoliques *d'Artemisia herba alba* sur les souches de *S.aureus*



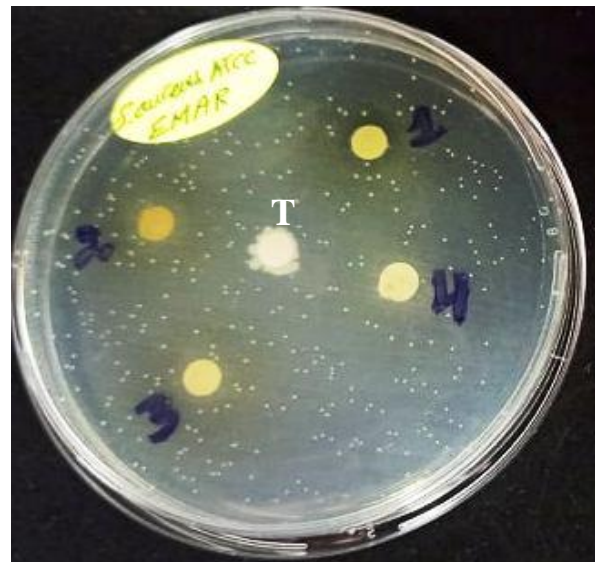
Effet de l'extrait éthanolique sur *S.aureus*



Effet de l'extrait méthanolique sur *S.aureus*



Effet de l'extrait éthanolique sur *S.aureus*
ATCC6538



Effet de l'extrait méthanolique sur *S.aureus*
ATCC6538

1 : 1000mg/ml

2 : 500mg/ml

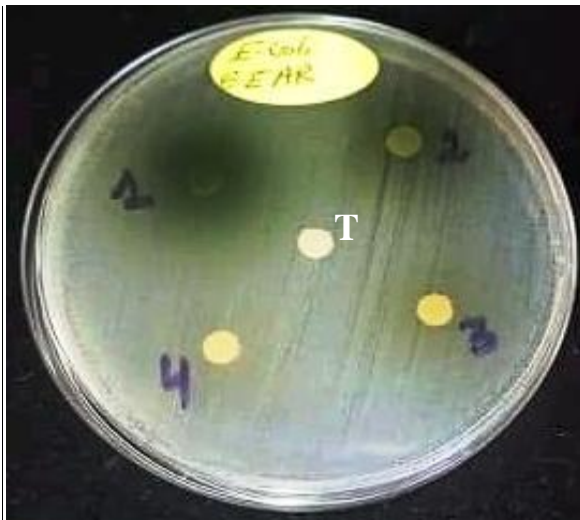
3 : 250mg/ml

4 : 125mg/ml

T: Témoin négatif (Eau physiologique stérile)

Annexes

Annexe 06. Effet des extraits phénoliques d'*Artemisia herba alba* sur les souches d' *E.coli*



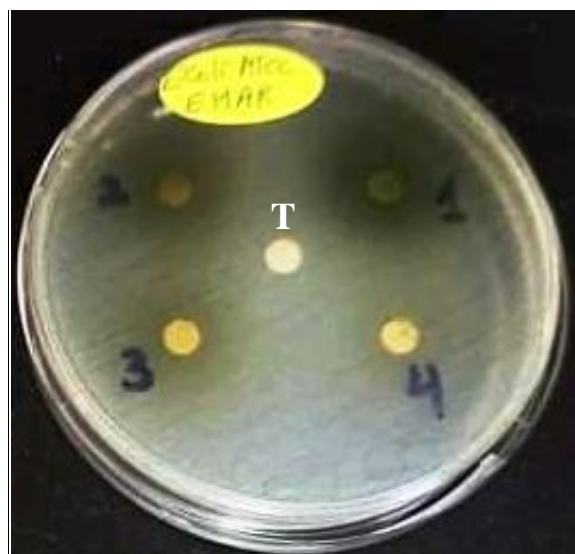
Effet de l'extrait éthanolique sur *E.coli*



Effet de l'extrait méthanolique sur *E.coli*



Effet de l'extrait éthanolique sur *E.coli*
ATCC25922



Effet de l'extrait méthanolique sur *E.coli*
ATCC25922

1 : 1000mg/ml

2 : 500mg/ml

3 : 250mg/ml

4 : 125mg/ml

T: Témoin négatif (Eau physiologique stérile)

Annexes

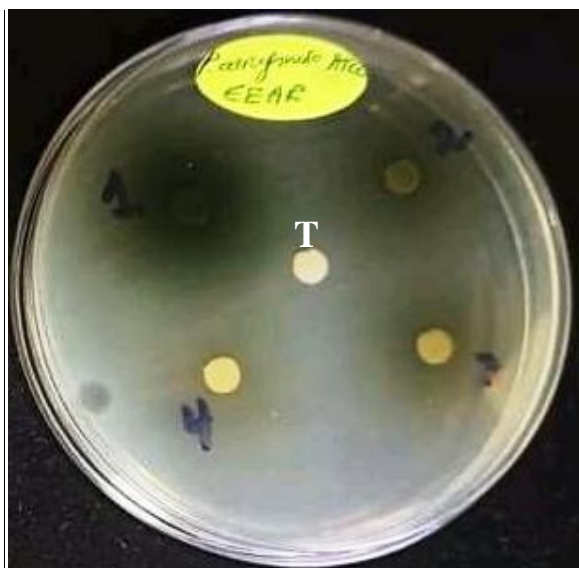
Annexe 07. Effet des extraits phénoliques d'*Artemisia herba alba* sur les souches de *P.aeruginosa*



Effet de l'extrait éthanolique sur *P.aeruginosa*

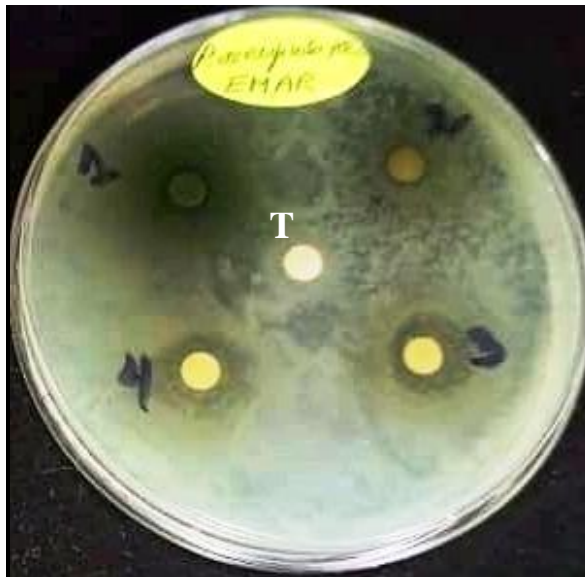


Effet de l'extrait méthanolique sur *P.aeruginosa*



Effet de l'extrait éthanolique sur *P.aeruginosa*

ATCC 9027



Effet de l'extrait méthanolique sur *P.aeruginosa*

ATCC 9027

1 : 1000mg/ml

2 : 500mg/ml

3 : 250mg/ml

4 : 125mg/ml

T: Témoin négatif (Eau physiologique stérile)

Résumé

Résumé :

La présente étude vise à étudier l'effet antibactérien des composés phénolique extraits à partir des feuilles d'*Artemisia herba alba* macérées dans les solvants organiques méthanol 70% et l'éthanol 70% vis-à-vis de trois bactéries multi-résistantes isolées dans des infections urogénitales (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) Les rendements en composés phénoliques obtenues par macération sont de 15.6% et 14.75% respectivement . Les résultats de l'étude ont révélé que les extraits n'ont exhibé aucun effet inhibiteur sur toutes les souches testées.

Quant aux résultats du dosage montrent que la teneur totale en polyphénols est de 15.77- 53.56mg EAG/g MS, pour les extraits éthanoliques et méthanoliques respectivement.. La teneur en flavonoïdes est de 5.39 - 2.85 mg EQ/g Ms, pour les extraits éthanoliques et méthanoliques respectivement.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes: pouvoir réducteur et la méthode de réduction de radical libre DPPH, Les résultats de l'étude ont révélé que pouvoir réducteur du fer présente un faible pouvoir à celui du standard avec des EC_{50} de : 1.044 ± 0.084 mg/ml et 0.229 ± 0.070 mg/ml pour les extraits éthanoliques et méthanoliques respectivement et l'activité antiradicalaire du DPPH a une faible activité par rapport au standard avec des IC_{50} des extraits éthanolique et méthanolique de : 0.213 ± 0.019 mg/ml et 0.077 ± 0.0001 mg/ml respectivement.

Mots clés : *Artemisia herba alba* , composés phénoliques, extraits organiques, ,activité antibactérienne, bactéries multi-résistantes , activité antioxydante.

ملخص :

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم القدرة المضادة للبكتيريا لمركبات عطرية تم استخلاصها من أوراق نبتة الشيح الخرساني *Artemisia herba alba* حيث تم نفعها في المذيبات العضوية:ميثانول 70 % والإيثانول 70% ضد ثلاث من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة من التهابات الجهاز البولي والتناسلي (*Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*) بلغ مردود استخلاص المركبات الفينولية المتحصل عليها عن طريق النقع 15.6% و 14.75% على الترتيب ، أوضحت نتائج الدراسة أن المستخلصات ليس لها أي تأثير مثبط على السلالات المختبرة .

في حين نتائج التركيز أظهرت أن المحتوى الفينولي الكلي بلغ 15.77 – 53.56 مغ /غ مكافئ له من حمض الجاليك لكل من المستخلصات الإيثانولية و الميثانولية على الترتيب و تم تقدير تركيز الفلافونويدات بـ 2.8–5.39 مغ /غ مكافئ له من الكارستين لكل من المستخلصات الإيثانولية و الميثانولية على الترتيب.

قدر النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقتين مختلفتين: القوة المخزنة و تقنية الجذر الحر . أظهرت نتائج الدراسة أن القوة المخزنة للحديد ضعيفة مقارنة بالجزء القياسي حيث بلغ التركيز الفعال 50 لقوة الإختزال 1.044 ± 0.084 مغ/مل و 0.229 ± 0.070 مغ/مل لكل من المستخلصات الإيثانولية و الميثانولية على الترتيب. و أظهر نشاط الجذر الحر نشاطا ضعيفا مقارنة بنشاط الجزء القياسي حيث بلغ التركيز التثبيطي 50 للنشاط للمستخلصات الإيثانولية و الميثانولية قيمة 0.213 ± 0.019 مغ □ مل و 0.077 ± 0.0001 مغ/مل على الترتيب .

كلمات مفتاحية: الشيح الخرساني *Artemisia herba alba* ،مركبات فينولية ، النشاط المضاد للبكتيريا ، البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية ،النشاط المضاد للأكسدة