الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Ibn Khaldoun-Tiaret Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des 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^{elle} Allouche Aicha M^{elle} Seddik Ikram

Thème

Etude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle d'armoise à l'égard de souches responsables des infections uro-génitales

Soutenu publiquement le 14/07/2021

Jury:GradePrésident: Dr BOUMEZERAG AssiaMCAEncadreur: Dr SELLES Sidi Mohammed AmmarMCAExaminateur: Dr MAGHNI BenchohraMCA

Année universitaire 2020/2021

Remerciement

Tout d'abord nous remercions dieu le tout puissant qui nous a permis d'élaborer ce travail.

Nous avons réalisé notre travail grâce à de nombreuses personnes qui ont contribué de prêt ou de loin et que nous tenons tout particulièrement à remercier.

En premier lieu, nous remercions notre cher promoteur Dr. SELES Sidi Mohammed Ammar, qui nous a accueillis et a dirigé notre travail, pour sa collaboration, sa disponibilité, ses conseils et pour nous avoir donné les moyens et l'assistance nécessaire à réaliser ce travail.

Nous exprimons nos gratitudes à Dr. BOUMEZRAG Assia d'avoir accepté de présider le jury.

Nos remerciements vont également à Dr. MAGHNI Benchohra qu'il nous a fait en acceptant à examiner notre travail.

Nous tenons à remercier vivement et particulièrement chef de notre spécialité Dr. DOUKANI Koula.

Nous tenons a exprimé notre profonde reconnaissance à technicienne du laboratoire de Microbiologie à l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

Nous remercions aussi tous les enseignants du Département des sciences de la nature et de la vie.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent tous ici l'expression de notre gratitude et notre profonde considération.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère décédée irremplaçable, tu as consacré ta vie à nous élever, et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que je réalise aujourd'hui un de ses rêves et que ce travail soit le fruit de tes efforts. Qu'ALLAH accorde la paix à ton âme maman.

A mon père et mon oncle décédé A mes chère sœurs **Houda**, **Asmaà**, **Sara** et ma petite sœur Manar. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur de

prospérité et beaucoup de succès.

A ma deuxième maman Malika et ma chère tante Comme je dédie aussi ce travail à mes fréres Housseyn, Ahmed, Mohamad, Abdelkader, et mes petit frère Djaouad, Moayed, Abdelkader, Abderrahmane et Bahaà dine

A mes chers amís Khaoula, Soumía, Wafaa, Nacíra, Fatíma. Je vous souhaíte une vie pleine de succès.

A ma grand-mère, mon grand-père, mes oncles surtout Laàredí, mes cousins et cousines, mes amís et mes camarades.

A tout la famille SEDDIK et BAHLOUL

Ikram

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, source de mes joies et secret de ma force, vous serez toujours le modèle : mon père dans ta détermination, ta force et ton honnêteté, ma mère dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous. Merci pour vos sacrifices. C'est à vous que je dois cette réussite.

A mon frère Abdelkader que j'aime ; A mes chères sœurs

Nour el houda, Fatíma et Bouchra;

A mes oncles, mes tantes, cousins et cousines ;

A toute la famille Allouche et Sebbar;

A mes amís : **Saída, Benaroussa, Hayet** et **khadídja** sans oubliée mon binôme **Ikram**

Tous mes proches

A toutes personnes qui me connaisse de loin ou de près.

Aícha

Sommaire

Liste des illustrations	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles	
1. Définition des huiles essentielles	5
2. Les composants chimiques des huiles essentielles	5
2.1. Les composés terpéniques	5
2.2 Composés aromatiques et d'origine variable	5
3. Les activités biologiques des huiles essentielles	6
3.1. Activité Antibactérienne	6
3.2. Activité antifongique	6
3.3. Activité virale	7
3.4. Activité antiparasitaire	7
3.5. Activité insecticide	7
3.6. Activité antioxydante	7
3.7. Activité anti-spasmolytique et sédative	7
4. Techniques d'extraction et production des huiles essentielles	7
4.1 Distillation	7
4.2 Expression à froid	9
4.3 Extraction par les solvants et les graisses	9
4.4 Extraction par CO ₂ supercritique	9
Chapitre II : Généralités sur les infections urinaires	
1. Définition de l'infection urinaire	12
2. Physiopathologie	12
3. Epidémiologie	12
4. Les germes responsables des infections urinaires	12
4.1. Les bacilles à gram négatif	12

4.1.1. Entérobactéries	12
4.1.1.1. Escherichia coli	12
4.1.1.2. Klebseilla pneumoniae	13
4.1.2. Pseudomonas aeruginosa	13
4.2. Les <i>Cocci</i> à gram positif	13
4.2.1. Les Staphylocoques	14
4.2.2. Les Streptocoques	14
Chapitre III : Artemisia herba-alba	
1. Présentation d' <i>Artemisia herba alba</i>	
2. Description botanique	
3. Taxonomie	
4. Domaine d'utilisation	16
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
1. Lieu d'étude	20
2. Matériel utilisé	20
2.1. Matériel végétal	20
2.2. Les souches bactériennes	20
2.3 Matériel et produits utilisés	21
3. Extraction de l'huile essentielle	22
3.1. Méthodes d'extraction	22
3.2. Traitement d'extrait	22
3.3. Rendement en huile essentielle	23
4. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro	23
4.1. Repiquage et Revivication des souches	23
4.2. Tests de confirmation des souches	23
4.3. Etude de l'activité antibactérienne	25
4.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles	25
5. Activité antioxydante	27
5.1. Pouvoir réducteur	27
5.2. Activité anti-radicalaire à l'égard du DPPH	28

Résultats et discussion

1. Rendement de l'huile essentielle	31
2. Test de sensibilité aux antibiotiques	32
3. Activité antibactérienne de l'huile essentielle	35
4. Activité antioxydante	35
4.1. Pouvoir réducteur	36
4.2. Activité anti-radicalaire (DPPH)	36
Conclusion	39
Références bibliographiques	41
Annexes	51

Liste des illustrations

Liste des figures

Partie bibliographique

Figure 1.1: Schéma d'extraction d'une HE par l'hydrodiffusion	8
Figure 1.2: Schéma du montage d'extraction d'une HE par entrainement à la vapeur	
d'eau	9
Figure 1.3 : Schéma simplifié d'un extracteur au CO ₂ supercritique	10
Partie expérimentale	
Figure 2.1 : Touffée d'Artemisia herba-alba	20
Figure 2.2 : Dispositif d'hydro-distillation.	22
Figure 2.3: Protocole de détermination du pouvoir réducteur	28
Figure 2.4 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire au DPPH	29
Figure 2.5: Rendement en huile essentielle d'Artemisia herba-alba	31
Liste des tableaux	
Partie bibliographique	
Tableau 1.1 : Les caractères biochimiques d'Escherichia coli	13
Tableau 1.2 : Les caractères biochimiques de Klebseilla pneumoniae	13
Tableau 1.3: Classification de la plante Artemisia herba-alba	16
Partie expérimentale	
Tableau 2.1 : Les matériels utilisés pour réaliser le travail	21
Tableau 2.2 : les antibiotiques utilisés pour tester la sensibilité des souches étudiés	26
Tableau 2.3 : Résultats de l'antibiogramme d'E. coli isolat et de la souche de référence .	33
Tableau 2.4 : Résultats de l'antibiogramme de S. aureus isolat et de la souche	
de référence	34
Tableau 2.5 : Halos d'inhibition en (mm) (moyenne ± écart type) provoqués par les h	nuiles
essentielle d'Artemisia herba alba	35
Tableau 2.6: Résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de la mol	écule
standard	36

CO₂: Gaz carbonique

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EC₅₀: Concentration efficace médiane

g: gramme

h: Heure

IC₅₀: Concentration inhibitrice médiane

M: Molle

ml: Millilitre.

min: minute

mm: millimètre

Na₂ SO₄: sulfate de sodium anhydre

nm: Nanomètre

p/p: Poids /Poids

rpm: Tours par minute

μ**g**: Micro gramme

v/p: Volume /Poids

Vit C: Acide ascorbique

L'armoise blanche «*Artemisia herba-alba*» est une plante médicinale et aromatique utilisée depuis longtemps dans la médicine traditionnelle algérienne. L'armoise est connue en Algérie sous le nom de « Chih ». Elle est très abondante sur les Hauts Plateaux.

Les objectifs de ce travail étaient de réaliser l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, l'étude de son rendement et la détermination de son activité antibactérienne et anti-oxydante.

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation. L'activité antibactérienne a été estimée par la méthode de l'aromatogramme à l'égard de trois souches (*E. coli* ATCC25922, *E. coli* isolat clinique d'origine vaginale et *S. aureus* isolat clinique d'origine urinaire). L'activité antioxydante de cette huile essentielle a été évaluée par le test du pouvoir réducteur et par le test d'activité anti-radicalaire à l'égard du DPPH.

Les résultats de l'étude ont révélé que le rendement moyen en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* récoltée dans la région de Takhmaret a été de 0.512 ±0.016% (p/p). L'EC₅₀ du pouvoir réducteur de cette huile essentielle a été de 3.868 mg/ml contre 24.2 μg/ml et 53.3 μg/ml pour la molécule standard (la quercétine et la vit C), respectivement. Tandis que le test d'activité anti-radicalaire à l'égard du DPPH a permis d'obtenir un IC₅₀ de l'ordre de 7.73 mg/ml comparativement aux molécules standard (l'acide gallique, la quercétine et la vit C) qui ont montré des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre de 12.9 μg/ml, 8.5 μg/ml et 8.4 μg/ml, respectivement. Cependant, cette étude a monté une résistance des souches testées vis-à-vis de cette huile essentielle.

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a présenté une faible activité antibactérienne et antioxydante.

Mots clés : Huile essentielle, *Artemisia herba-alba*, Activité Antibactérienne, Activité Antioxydante, *E. coli*, *S. aureus*, EC₅₀, IC₅₀.

القوب الأبيض Artemisia herba alba هو نبتة طبية عطرية استعملت منذ القدم في الطب التقليدي الجزائري. يعرف القوب في الجزائر باسم الشيح، ويتواجد بوفرة في الهضاب العليا.

الأهداف من هذا العمل هي استخلاص الزيت الأساسي للقوب الأبيض، دراسة مر دوديته وتحديد نشاطه المضاد للبكتيريا والاكسدة.

تم استخلاص الزيت الأساسي بواسطة التقطير المائي. تم تحديد نشاط المضاد للبكتيريا عن طريق تقنية الاروماتوغرام ضد ثلاث سلالات

(الاشريكية القولونية ATCC25922، الاشريكية القولونية عزل سريري مهبلي والكورة العنقودية الذهبية عزل سريري بولي، تم تقييم له النشاط المضاد للأكسدة للزيت الاساسي عن طريق اختبار القوة المختزلة واختبار مضاد للجذور الحرة لل DPPH.

أوضحت نتائج الدراسة ان متوسط مردود الزيت الأساسي للقوب الأبيض المحصود من منطقة تخمارت هو 0.016 ± 0.512 (وزن/وزن).

التركيز الفعال EC50 للقوة المختزلة لهذا الزيت هو 3.868 مغ /مل مقابل 24.2 ميكغ / مل و 53.3 ميكغ/مل للجزء القياسي (الكيرسيتين والفيتامين ج) على التوالي. في حين ان النشاط المضاد للجذور الحرة لل DPPH يسمح بإعطاء التركيز المثبط المقدر ب 7.73 ملغ /مل مقارنة مع الجزيئات القياسية (حمض الجاليك، الكيرسيتين والفيتامين ج) ذات قيم التركيز المثبط المقدرة ب 12.9 ميكغ /مل و8.5 ميكغ /مل و8.4 ميكغ/مل على التوالي. مع ذلك، هذه الدراسة تبين ان السلالات المختبرة ذات مقاومة ضد هذا الزيت.

يتميز زيت القوب الأبيض بنشاط ضعيف مضاد للبكتيريا والاكسدة.

الكلمات المفتاحية: الزيت الأساسي Artemisia herba alba، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة، الكلمات المفتاحية، المكورة العنقودية الذهبية التركيز الفعال، التركيز المثبط.

White mugwort "*Artemisia herba-alba*" is a medicinal and aromatic plant that has long been used in traditional Algerian medicine. Mugwort is known in Algeria as "Chih". It is very abundant on the Highlands.

The objectives of this work were to perform the extraction of the essential oil of *Artemisia herba-alba*, the study of its yield and the determination of its antibacterial and antioxidant activities.

The essential oil was extracted by hydrodistillation. Antibacterial activity was estimated by the aromatogram method for three strains (*E. coli* ATCC25922, *E. coli* clinical isolate of vaginal origin and *S. aureus* clinical isolate of urinary origin). The antioxidant activity of this essential oil was evaluated by the reducing power assay and DPPH radical-scavenging assay.

The results of this study revealed that the average yield of essential oil of *Artemisia herba-alba* harvested in the Takhmaret region was $0.512 \pm 0.016\%$ (w / w). The EC₅₀ for the reducing power assay of this essential oil was 3.868 mg/ml versus 24.2 µg/ml and 53.3 µg/ml for the standard molecule (quercetin and vit C), respectively. While the IC₅₀ of DPPH radical-scavenging assay was 7.73 mg/ml compared to standard molecules (gallic acid, quercetin and vit C) which showed IC₅₀ values of the order of 12.9 µg / ml, 8.5 µg / ml and 8.4 µg / ml, respectively.

However, this study mounted resistance in the strains tested to this essential oil. Artemisia herba-alba essential oil exhibited poor antibacterial and antioxidant activity.

Keywords: Essential oil, Artemisia herba-alba, Antibacterial activity, Antioxidant activity, *E. coli*, *S. aureus*, EC₅₀, IC₅₀.

Introduction

Le règne végétal constitue une ressource précieuse de substances à activités biologiques bénéfiques pour le traitement des êtres humains (Baba Aissa, 1990).

L'Algérie possède une biodiversité végétale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Dobignard et Chatelain, 2010-2013**). Dans le Sud Algérien on trouve des populations autochtones. Cependant, dans les hauts plateaux on peut découvrir des variétés de plantes surprenantes par leur faculté d'adaptation et leur aspect. Comme exemple, les zygophyllacées et les composés du genre armoise blanche et armoise rouge (**Baba Aissa, 1990**).

La phytothérapie signifie « guérir ou prévenir vis-à-vis des maladies par les plantes médicinales, elle repose sur la médecine traditionnelle à usage humain ou vétérinaire (Bouzabata, 2016). Elle est très présente en Algérie comme dans plusieurs pays en voie de développement malgré les progrès de la pharmacologie (Tabuti et al., 2003).

De nos jours, les maladies infectieuses sont très fréquentes (Charles, 2019) et elles sont à l'origine d'un lourd bilan de mortalité, sur 17 millions de décès dans le monde à cause des maladies infectieuses, 43% sont enregistrés dans les pays en voie de développement contre 1% dans les pays industrialisés. Avec une étiologie complexe, un certain nombre des maladies infectieuses est d'origine bactérienne (Coulibaly, 2007). Parmi ces infections, celles du tractus urinaire est l'une la plus fréquemment rencontrée aux urgences médicales (Taouragt et al., 2004).

L'utilisation des antibiotiques est l'un des moyen les plus répandus pour traiter les pathologies infectieuses d'origine microbienne afin de réduire leur gravité. Toutefois, l'usage abusif des antibiotiques contribue à l'émergence et la diffusion des bactéries résistantes. Ces dernières sont de plus en plus difficiles à traiter (Carle, 2009).

L'armoise blanche «*Artemisisia herba-alba* Asso», qui est communément appelé « Chih », est une plante initialement connue comme aromatisante. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle, pour traiter certaines maladies. Les études enthnopharmacologiques ont montré que l'armoise blanche a des activités biologies à l'égard du diabète, l'hypertension et la leishmaniose (**Bezza et al., 2010**). De même, elle possède une activité antimicrobienne antifongique et antioxydante (**Bezza et al., 2010**; **Moufid et al, 2012**).

Dans ce contexte, cette étude a tracée les objectifs suivants:

- Réaliser l'extraction de l'huile essentielle d'armoise blanche.
- Evaluer le rendement de cette plante en huile essentielle
- Estimer l'effet antibactérien de l'huile essentielle de l'armoise blanche vis-àvis des bactéries causant les infections urogénitales chez l'être humain.
 - Déterminer l'effet antioxydant de cette l'huile.

Partie Bibliographique

Chapitre I:
Généralités Sur
Les Huiles
Essentielles

1. Définition de l'huile essentielle

Une huile essentielle est définie selon la commission de la pharmacopée européenne, qui est très proche de celle de la norme ISO 9235, comme un: « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est la plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Bouarfa, 2019).

Les huiles essentielles sont des substances très complexes, naturelles, et volatiles, extraites à partir des plantes aromatiques, et caractérisées par une forte odeur (Bakkali et al., 2007).

2. Compositions chimiques des huiles essentielles

La composition chimique d'une huile essentielle est souvent très complexe et elle est variable en fonction de plusieurs facteurs différents, parmi lesquels : les changements climatiques et géographiques des plantes utilisées (Soro et al., 2015; Françoise et Annelise, 2013). Les principaux constituants des huiles essentielles sont :

2.1. Composés terpéniques

• Terpènes

Ce sont une classe d'hydrocarbures, ils sont produits par les agrumes, les pins, les sapins et plusieurs plantes, ils sont utilisées comme des expectorants, super-tonifiants balsamiques, et elles ont la capacité d'assainir de l'air ambiant, et de soigner les voies respiratoires (Danièle, 2014). Selon des unités pentacarbonées ramifiées (C 5), les terpènes sont divisés en plusieurs classes: Hémiterpéniques (C5), monoterpéniques (C10), sesquiterpéniques (C15) et diterpéniques (C20) (Huet, 1991; Piochon, 2008; Vercauteren, 2011; Brada et al., 2005).

2.2 Composés aromatiques et d'origine variable

Aldéhydes

On distingue deux sortes d'aldéhydes :

- Aldéhydes aromatiques

Ces composés sont d'excellents anti-infectieux, immunostimulants et toniques. On a par exemple aldéhyde cinnamique de cannelle (écorces) (Danièle, 2014; Vercauteren, 2011; Huet, 1991).

- Aldéhydes terpéniques

Font partie des anti-inflammatoires, anti-infectieux et insectifuges. On les trouve dans la verveine citronnée et dans l'eucalyptus citronné (Danièle, 2014; Huet, 1991).

Alcools

Ils ont une capacité antibactérienne, antivirales et antifongique. Ils sont produits par le thym à linalol, à thujanol et le bois de rose (Huet, 1991; Amarti et al., 2008; Bezza et al., 2010; Danièle, 2014; Soro et al., 2015).

Phénols

Ils possèdent une activité antibactériene, antifongique, antivirale, antiparasitaire et immunostimulante. Ils sont présents dans le giroflier et le thym à thymol (Huet, 1991; Danièle, 2014).

Cétones

Présentent d'importantes propriétés mycolytiques, gynécologiques et respiratoires. Egalement, ils sont réputés pour ses vertus antivirales et désclérosantes. Ils sont présents dans la menthe poivrée et le romarin à verbénone (Huet, 1991; Danièle, 2014).

• Esters

Ce sont d'excellents antistress, antalgiques, anti-inflammatoires, antispasmodiques nerveux, hypotenseurs et somnifères. On les trouve dans la lavande officinale et la camomille romaine (Huet, 1991; Danièle, 2014).

• Phénols méthyl-éther (éthers)

Ils possèdent des effets antispasmodiques musculaires et nerveux, antiallergiques, et antalgiques. On les trouve dans l'estragon et le basilic exotique (Huet, 1991; Danièle, 2014).

• Ether-oxyde

Comme eucalyptol d'eucalyptus (Huet, 1991).

3. Les activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent des activités biologiques d'intérêt médical et pharmaceutique.

3.1. Activité antibactérienne

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles ont une activité antibactérienne, qui correspond à l'inhibition de croissance bactérienne, cette activité est évaluée *in-vitro* par la méthode de diffusion des disques vis-à-vis des bactéries. L'effet antibactérien peut être bactéricide ou bactériostatique. (Deans et Ritchie, 1987; Mourey et Canillac, 2002; Mighri et al., 2009; Oussou et al., 2009; Carson et Hammer, 2011; Toure, 2014; Soro et al., 2015; Bertella, 2019).

3.2. Activité antifongique

Les huiles essentielles ont un effet très important contre les champignons, on les utilise pour traiter les pathologies fongiques humaines, animales et végétales. Parmi les composés des huiles essentielle actifs sur les champignons : les aldéhydes aromatiques et les

monoterpènes (Hammer et al., 1996; Preuss et al., 2005; Piochon, 2008; Bezza et al., 2010).

3.3. Activité antivirale

Les huiles essentielles ont montré une excellente activité antivirale. De nombreux constituants ont révélé cette activité comme les phénols terpéniques et aromatiques, les alcools monoterpéniques, les aldéhydes monoterpéniques et aromatiques (Carson et Hammer, 2011).

3.4. Activité antiparasitaire

Les alcools monoterpéniques, les phénols et certains oxydes des huiles essentielles présentent une action contre les parasites protozoaires et métazoaires, comme les leishmanies et les vers (Bezza et al., 2010; Fabre, 2017).

3.5. Activité insecticide

Les principaux composants des huiles essentielles comme les monoterpènes et les ether-oxydes (eucalypthol, limonène) exercent une toxicité sur les insectes nuisibles aux grains (Lee et al., 2001; Burt, 2004; Seri-kouassi et al., 2004).

3.6. Activité antioxydante

Les phénols et les polyphénols des huiles essentielles ont une capacité antioxydante. Cette propriété a été développée comme substitut dans la conservation alimentaire. De même, elle est utilisée pour traiter les maladies engendrés par les réactions d'oxydation (Richard, 1992; Mighri et al., 2009; Shaaban et al., 2012).

3.7. Activité anti-spasmolytique et sédative

Certaines huiles essentielles sont capables de supprimer les spasmes gastrointestinaux et augmenter les sécrétions stomacales. Elles améliorent les symptômes associés d'ordre psychosomatique (Bezza et al., 2010; Vercauteren, 2011).

4. Techniques d'extraction et production des huiles essentielles

Les huiles volatiles peuvent s'extraire de la plante par plusieurs procédés

4.1. Distillation

• Hydrodistillation

C'est une méthode très simple, qui consiste à mettre une masse végétale dans un ballon rempli d'eau, et le tous est placé sur un chauffe ballon, et surmonté d'un tuyau qui est réfrigéré, l'ensemble est chauffé à l'ébullition. La vapeur d'eau traverse l'échantillon et elle passe dans le tuyau. La vapeur hétérogène subit un choc thermique qui conduit à sa condensation. L'huile essentielle est séparée de hydrolat par décantation, selon la différence de densité (deux couches), elle est observée en haut, parce qu'elle est plus légère que l'eau, et elle surnage au-dessus de l'hydrolat. Ensuite, l'huile essentielle est séchée par sulfate de

sodium anhydre (Amarti et al., 2008; Bourkhiss et al., 2009; Haouari et Ferchichi, 2009; Mighri et al., 2009; Boukhatem et al., 2010; Vercauteren, 2011; Danièle, 2014; Soro et al., 2015).

• Hydrodiffusion (figure 1.1)

C'est une technique récente, la vapeur d'eau traverse le matériel végétal du haut vers le bas à pression réduite. Cette méthode conserve la qualité des composés volatils, et elle est plus rapide que les autres techniques (Franchomme et Pénoel, 1990 ; Richard, 1992).

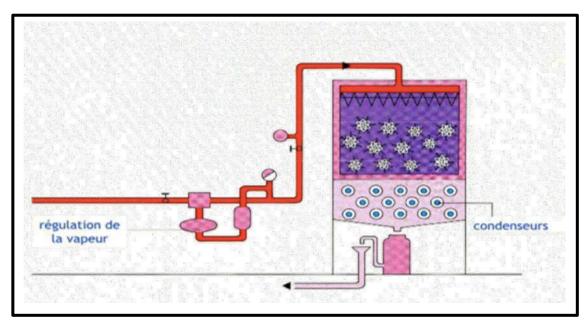


Figure 1.1: Schéma d'extraction d'une HE par l'hydrodiffusion

• Entraînement à la vapeur d'eau (figure 1.2)

Cette technique nécessite un diapositif semi pilote. Durant cette technique la matière végétale ne macère pas directement dans l'eau, et elle est placée au-dessus de cette dernière. La vapeur endommage la structure cellulaire de plante qui va enrichir les composants volatils, et elle se condense puis se décante (Franchomme et Pénoel, 1990; Aberchane et al., 2001; Brada et al., 2005; Bezza et al., 2010).

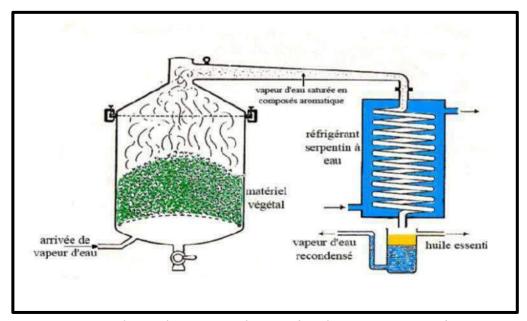


Figure 1.2 : Schéma du montage d'extraction d'une HE par entrainement à la vapeur d'eau

4.2. Expression à froid

C'est un traitement mécanique, généralement utilisé pour les agrumes et les péricarpes des hespéridés pour obtenir leurs huiles essentielles. Il suffit de presser la peau qui est riche en cellules sécrétoires, le produit obtenu est recueilli par un courant d'eau et il reçoit de l'entraînement à la vapeur d'eau (Huet, 1991; Vercauteren, 2011; Samate, 2002).

4.3. Extraction par les solvants et les graisses

Elle est basée sur l'utilisation des solvants organiques, non aqueux tels que les graisses, les huiles et aussi les gaz. Ces solvants peuvent donner un bon rendement en huiles essentielles que l'eau. De plus l'extrait est riche en composés volatils et d'autres composés non volatils, tels que les pigments, les cires et les acides gras (Richard, 1992; Robert, 2000).

4.4. Extraction par CO₂ supercritique (figure 1.3)

Basée sur l'utilisation du dioxyde de carbone à l'état supercritique comme un solvant. Ce solvant permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ liquide est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, ensuite le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en essence et en solvant (El Haib, 2011; Fernandez et Chemat, 2012).

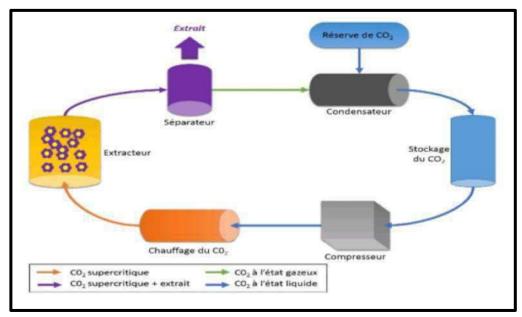


Figure 1.3 : Schéma simplifié d'un extracteur au CO₂ supercritique

Chapitre II:

Généralités Sur

Les Infections

Urinaires

1. Définition de l'infection urinaire

Les infections urinaires correspondent à l'agression de l'arbre urinaire par un ou plusieurs microorganismes conduisent le plus souvent à une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variable selon la localisation. Elle constitue un vrai problème de santé publique car elles représentent l'une des infections bactériennes les plus fréquentes (Ben Abdallah et al., 2005).

L'infections urinaires constitue un motif fréquent de consultation et des prescriptions d'antibiotique (Bentroki et al., 2012).

2. Physiopathologie

L'arbre urinaire est physiologiquement stérile à l'exception de la partie distale de l'urètre qui est colonisé par divers microorganismes commensaux d'origine digestive (entérobactéries; streptocoques...), cutanée (staphylocoques à coagulase négative; corynébactéries...) et génitale (lactobacilles chez la femme) (Ghourri et al., 2014).

Généralement, l'agent infectieuse s'introduit par le méat urétral et progresse jusqu'à la vessie et parfois le rein.

L'infection urinaire explique l'interaction entre la virulence des germes et les moyens de défense (Pilly, 2020).

3. Epidémiologie

Les infections urinaires sont très fréquentes et viennent à la deuxième position après les infections respiratoires, et la première cause des infections nosocomiales. On les trouve plus souvent chez les femmes (Ghourri et al., 2014 ; Patrick et al., 1988).

4. Les germes responsables des infections urinaires

4.1 Les bacilles à gram négative

4.1.1 Entérobactéries

Elle situe dans le tube digestif principalement dans le colon de l'homme. Ces microorganismes sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité et de leur écologie. Les genres les plus fréquemment en cause dans les infections urinaires sont : Escherichia coli, proteus mirabilis, klebsiella pneumoniae (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2007).

4.1.1.1 Escherichia coli

c'est un germe de la flore commensale du tube digestif de l'homme, aérobie anaérobie facultatif, bacille mobile. *E. coli* est l'une des espèces la plus souvent impliquée en pathologie infectieuse avec des fréquences d'isolement d'environ 80% (Jauréguy, 2009 ; Clave, 2015).

Le tableau 1.2 résume certains caractères bactériologiques de cette bactérie.

Tableau 1.2: les caractères bactériologiques d'Escherichia coli (Jauréguy, 2009; Clave, 2015).

Escherichia coli	
Caractères positifs	Caractères négatifs
Catalase	Oxydase
Lactose	Uréase
	Citrate

4.1.1.2 Klebseilla pneumoniae

C'est un bacille capsulé, immobile, gram négatif, commensale de l'intestin et des voies respiratoires (Sekhri-Arafa, 2011).

Il possède certains caractères biochimiques mentionnés dans ce tableau (Tableau 1.3)

Tableau 1.3 : les caractères bactériologiques de Klebseilla pneumoniae (Sekhri-Arafa, 2011).

Klebseilla pneumoniae	
Caractères positifs	Caractères négatifs
Glucose	Indole
Citrate	H2S
Nitrate	TDA
Uréase	

K. pneumpniae vient en deuxième position avec des fréquences d'isolement 10.5% (Ben Abdallah et al., 2005).

4.1.2 Pseudomonas aeruginosa

Elle est classée comme la troisième cause des infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries pathogènes opportuniste. *P. aeruginosa* est une bactérie gram négatif, aérobie strict et saprophyte (**Sophie et Patrick, 2013**).

4.2 Les Cocci à gram positives

Les infections urinaires à Cocci gram positif sont moins fréquentes, ces germes sont représenté par:

4.2.1 Les Staphylocoques

Il s'agit d'une bactérie aérobie-anaérobies facultatifs, catalase +, et généralement regroupés en amas :

- Staphylocoques à coagulase négative : S. saprophycus.
- Staphylocoques à coagulase positive : S. aureus (Roland, 2006).

4.2.2 Les Streptocoques

Les plus fréquemment rencontrés lors d'infection urinaire iatrogène sont les Streptocoque appartenant aux groupes D (Entérocoque), G et B (Roland, 2006).

Chapitre III: Artemisia herba alba

Chapitre III Artemisia herba alba

1. Présentation d' Artemisia herba alba

Artemisia herba alba ou l'armoise blanche, également dénommée absinthe du désert, et en arabe on dit : Chih. (Bezza et al., 2010). C'est une plante steppique de terre aride ou semi-aride, on la trouve dans l'hémisphère nord principalement en Afrique du Nord, Moyen-Orient, en Espagne et dans l'hémisphère sud du Chili (Quezel et Santa, 1963; Fenardji et al., 1974; Breckle, 1983).

En Algérie, l'armoise blanche existe dans les hauts plateaux, les zones steppiques et le Sahara (Ayad et al., 2008).

2. Description botanique

Artemisisa herba alba est une plante herbacée, dressée, sèche, et blanchâtre, sous forme des touffes à des tiges ligneuses et ramifiées de 30 à 80 cm de hauteur, ses feuilles sont des petites languettes d'aspect argenté qui présentent une forte odeur aromatique, et ses fleurs forme de grappe et elles sont minuscules, hermaphrodites, jaune à rougeâtre à capitules très petites et ovoïdes de 0,15 à 0,30 cm de diamètre et elles ont des capitales très petites (Bezza et al., 2010; Baba Aissa, 1990; Fenardji et al., 1974).

3. Taxonomie

D'après **Quezel et Santa (1963),** l'*Artemisia herba alba* est classée sur le plan systématique comme suit : **(tableau 1.3)**

Tableau 1.3 : Classification de la plante *Artemisia herba alba*

Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteracea ou Composée
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisia herba alba Asso

4 Domaine d'utilisation

✓ Usage alimentaire

Artemisia herba alba a été utilisée depuis l'antiquité pour aromatiser certaines boissons comme le thé et le café (Bezza et al., 2010).

Chapitre III Artemisia herba alba

Elle est considérée comme ressource fourragère très importante pour l'élevage du bétail (Houmani et al., 2004), elle sert aussi comme aliment pour les ovins des nomades (Fenardji et al., 1974).

✓ Usage thérapeutique

Cette espèce est un remède très courant dans la médecine traditionnelle, elle est utilisée pour traiter les troubles gastriques et hépatiques. Elle possède de propriétés vermifuges (contre les ascaris et les oxyures), antispasmodiques, emménagogues, antidiabétique, anti-génotoxique, anti-leishmanienne et antibactérienne. De plus, l'armoise blanche est utilisée pour soulager certains malaises et elle est indiquée contre l'hypertension et les troubles nerveux (Bezza et al., 2010; Baba Aissa, 1990).

✓ Usage cosmétique

En plus de ses utilisations thérapeutiques et alimentaires, cette plante est utilisée dans le domaine cosmétique : en parfumerie et en industrie des produits de toilette (Bouzidi, 2016; Sobia et al., 2019).

Partie Expérimentale

Matériel & Méthodes

1. Lieu d'étude

L'étude a été réalisée au niveau des Laboratoires de pharmacologie et de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

2. Matériels utilisés

2.1. Matériel végétal

La plante médicinales utilisée au cours de cette étude à savoir l'*Artemisia herba-alba*. Elle à été récolté de la région de Takhmaret (35° 06′ 26″ nord, 0° 41′ 00″ est); Wilaya de Tiaret, durant le mois de Février.

L'identification botanique de cette plante a été faite par un spécialiste en botanique au niveau de département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, université Ibn Khaldoun de Tiaret.



Figure 2.1 : Touffe d'*Artemisia herba alba* (cliché, Allouche A, Seddik I, 2021)

2.2 Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail sont : deux souches de *Staphylococcus aureus* (une référenciée et un isolat clinique urinaire), deux souches d'*Escherichia coli* (une référenciée et un isolat clinique vaginale). Ces souches ont été obtenues d'un laboratoire d'analyse médicale privé et du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires.

2.3 Matériels et produits utilisés

Le matériel et les produits utilisés dans ce travail sont indiqués dans le tableau 2.1

Tableau 2.1 : Les matériels utilisés pour réaliser le travail.

	Balance analytique
	Séchoir
	Chauffe ballon
	Centrifugeuse
	Spectrophotomètre
Appareillages	Vortex
	Réfrigérateur
	Agitateur magnétique
	Bain marie
	Etuve
	Bec bunsen
	Autoclave
	Béchers
	Ballon
	Ampoule
Verreries	Fiole
Verreires	Boite de pétri
	Tubes à essai
	Cuves
	Eau distillée
	Eau oxygénée à 3%
	Ethanol
Produits	Solution du DPPH
	Acide gallique
	Quercétine
	Acide ascorbique
	Ferricyanure de potassium (K3 Fe (CN)6)
	Tampon phosphate(0,02 M, pH 6,6).
	Acide trichloroacétique (TCA)
	Chlorure de fer
	Sulfate de sodium anhydre (Na2 SO4)
	Oxalate de N-Diméthyl Paraphénylène
	J 1 J
	Diamine
	Huile de paraffine
	Antibiotiques
	Colorants
	Gélose Muller Hinton
	Gélose Hecktœn
	Milieu de Chapman
	Ecouvillons
A water o we - 4 (Spatule
Autre matériel	Pipette de pasteur
	Seringue
	Pince
	Anse de platine
	Galeré API
	Gaicic Ai i

3 - Extraction de l'huile essentielle

3-1 Méthodes d'extraction

Les feuilles sèches de *l'Artemisia herba-alba* ont été séchées à l'aide d'un séchoir (Heraeaus Instrument, Allemagne) à une température de 40°C pendant 24 h. Les feuilles ont été broyées à la main a fin de faciliter l'éclatement des cellules et permettre la libération des molécules volatiles. L'huile a été extraite par hydro-distillation, à l'aide du dispositif d'hydro distillation (figure 2.2). Le procédé consiste à introduire la matière première végétale à raison de 60g de feuille séché d' *Artemisia herba-alba* dans un ballon de un litre, imprégné de 500 ml d'eau distillée. L'ensemble est ensuite porté à l'ébullition à pression atmosphérique et l'hydro-distillation se fait pendant 1 heure et demi; la chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs chargées d'huile essentielle; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

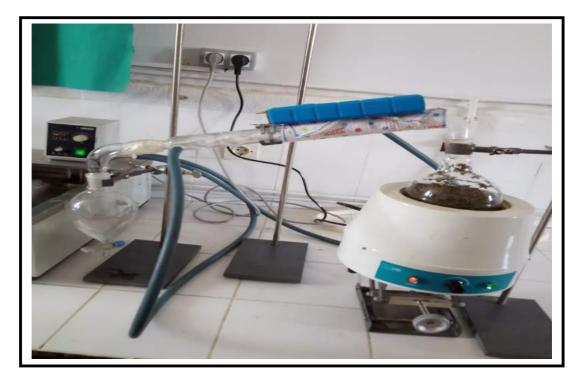


Figure 2.2 : Dispositif d'hydro-distillation (cliché, laboratoire de pharmacologie ISV Tiaret, 2021)

3-2 Traitement de l'extrait

L'eau est rejetée et la phase huileuse est récupérée par une micropipette. La phase huileuse récupérée est séchée par le sulfate de sodium anhydre (Na₂ SO₄) (**Eyob et al., 2008**). L'huile essentielle extraite a été conservée à 4 °C dans des fioles scellées hermétiquement et

couvertes de papier aluminium jusqu'à leurs utilisations ultérieures (évaluation de l'activité antibactérienne et l'effet antioxydant).

3-3 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$RHE (\%) = MHE / MS.100$$

R: Rendement en extraits fixes en g/100g de matière sèche;

MHE: Quantité d'extrait récupérée exprimée en g;

MS: Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

4. Evaluation l'activité antibactérienne in vitro

4.1. Repiquage et Revivication des souches

Les isolats cliniques obtenus sur milieu chromogène (Chromagar) ou sur milieux sélectifs et les souches de référence conservées dans le glycérol à -20°C ont été repiquées sur des milieux sélectifs adéquats (milieu de Chapman pour *Staphylococcus aureus* et gélose Hecktæn pour *Escherichia coli*).

Les boites de pétri ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h

4. 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 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 :

Catalase

$$2H_2O_2$$
 \rightarrow $2H_2O + O_2$

> Technique

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

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit par l'apparition immédiate d'une couleur violet foncée.

3. Identification biochimique des isolats cliniques par galerie API

Deux galeries (API Staph et API 20 E) ont été utilisées pour confirmer l'identité des souches

Principe

Les galeries API Staph et API 20 E sont des systèmes standardisés pour l'identification du genre *Staphylococcus* et des *Enterobacteriaceae*, respectivement. Elles comprennent des tests biochimiques miniaturisés et se présentent sous forme de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests sont reconstitués en inoculant les microtubes avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph medium pour les staphylocoques ou dans l'eau physiologique stérile pour les entérobactéries.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs

Technique

Une suspension bactérienne préparée et standardisée à l'échelle 0.5 McFarland est inoculée dans la galerie en remplissant les microtubes uniquement, les microtubes et les cupules pour les tests encadrés et en ajoutant l'huile de paraffine dans les cupules pour les tests soulignés. L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24heures.

Lecture et identification

Après incubation, la lecture de la galerie a été faite en se référant au tableau de lecture et l'identification du profil numérique a été faite à l'aide d'un logiciel **Apiweb**TM.

4.3. Etude de l'activité antibactérienne

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 la standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale.

Antibiogramme standard

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

Préparation et standardisation des suspensions bactériennes

Une suspension bactérienne de chaque souche à tester est préparée à partir d'une culture jeune de 18heures : 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.

Ensemencement des boites

Les suspensions bactériennes obtenues sont étalées par écouvillonnage à la surface de la gélose Mueller-Hinton coulée sur une épaisseur de 4 mm dans des boites de pétri de 90 mm.

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.

Nous avons testé divers les antibiotiques appartenant à plusieurs familles sur chaque souche (tableau 2.2).

Tableau 2.2 : les antibiotiques utilisés pour tester la sensibilité des souches étudiés

Souches bactériennes	E. coli (vaginale) et	S.aureus (urinaire) et S. aureus
	E. coli ATCC25922	ATCC6538
β-lactamines	-Ampicilline (AM10)	-Cefoxitime (FOX30)
	-Amoxicilline (AX10)	-Oxacilline (OX5)
	-Amoxicilline+acide clavulanique	
	(AUG30)	
	-Ceftriaxone CTX30	
Aminosides	-Gentamicine (CN10)	-Gentamicine(CN10)
	-Amikacine (AK30)	-Kanamycine (K30)
		-Amikacine (AK30)
Polypeptides	-Colistine (CT10)	
Quinolones	-Acide nalidixique (NA30)	
Sulfamides	-Sulfametoxazole-Trimethoprime	-Sulfametoxazole-
	(SXT 25)	Trimethoprime (SXT 25).
Glycopeptides		-Vancomycine (VA30)
Macrolides		-Erythromycine (E15)
Tetracyclines		-Tetracycline (TE30)
Phénicolés		-Chloramphénicol (C30)

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

4.4. Activité antibactérienne de l'huile essentielle

Les résultats de l'antibiogramme ont permis de sélectionner trois souches multirésistantes ; *E. coli* ATCC25922, *E. coli* isolat clinique d'origine vaginale et *S. aureus* isolat clinique d'origine urinaire. Ces dernières ont fait ensuite l'objet d'un test de sensibilité à l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide (Aromatogramme).

L'aromatogramme est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles (**Benkherara et al., 2011**). Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'huile essentielle (**Kheyar et al., 2014**).

• Technique

Les suspensions bactériennes ont été préparées puis standardisées à l'échelle 0.5 Mc Farland comme décrit précédemment.

Chaque suspension est ensemencée par écouvillonnage sur des boites de pétri contenant la gélose de Mueller-Hinton.

Des disques de papier Wattman N°1 de 6mm de diamètres imprégnés de 5µl de chaque huile essentielle ont été appliqués ensuite à la surface du milieu de culture préalablement ensemencé. Des disques imprégnés de 5 µl d'eau distillée stérile ont été utilisés comme témoins négatifs. L'essai est réalisé en triplicate.

Les boites ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

Lecture

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. La souche est considérée non sensible (-) ou résistante si le diamètre est inférieur à 8mm, sensible (+) si le diamètre est compris entre 9 et 14mm, très sensible (++) si le diamètre est compris entre 15 et 19 mm et extrêmement sensible (+++) si le diamètre est supérieur à 20mm (Ponce et al., 2003).

5. Activité antioxydante

La capacité antioxydante a été mesurée par deux méthodes complémentaires : le pouvoir réducteur et l'activité anti-radicalaire au DPPH.

5.1. Pouvoir réducteur

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 K₃Fe(CN)₆ en Fer (II) (Ferreira et al., 2007; Ak et Gulçin, 2008).

■ Mode opératoire (figure 2.3)

L'extrait est solubilisé dans l'éthanol (1/100 v/v), puis 2,5 ml de chaque solution (ou éthanol pour l'échantillon de contrôle) sont mélangés avec 2,5 ml d'une solution à 1 % de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) et 2,5 ml d'un tampon phosphate (0,02 M, pH 6,6). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Après refroidissement, 2,5 ml d'une solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% sont ajoutés. La solution est centrifugée à 3000 rpm pendant 10 min. Le surnageant (1 ml) est mélangé à 1ml d'eau distillée puis 0,5 ml de chlorure de fer (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm (Yen et Duh, 1993). La figure 2.4 reprend les principales étapes du protocole expérimental du pouvoir réducteur. Une

augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. 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**).

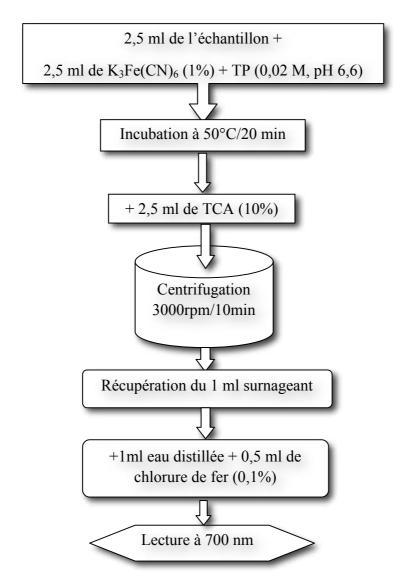


Figure 2.3: Protocole de détermination du pouvoir réducteur (Yen et Duh, 1993).

5.2. Activité anti-radicalaire à l'égard du DPPH

L'activité anti-radicalaire a été estimée selon la méthode de Tien et al. (2005).

Principe

Le DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) est pratiquement, le radical libre le plus stable (**Niki, 2010**). En solution dans l'éthanol, le DPPH est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 517 nm (**Niki, 2010**).

Lorsque son électron seul est apparié à un hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pâle.

Ce passage, de la première forme à la seconde, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction du DPPH.

$$AA (\%) = \frac{(A_T - A_E)}{A_T} \times 100$$

AA: activité anti-radicalaire

A_T: absorbance du témoin.

A_E : absorbance de l'échantillon

Mode opératoire

A 0,4 ml de la solution du DPPH à 0,5 mM (préparé dans du méthanol pur), on ajoute 2 ml de l'échantillon à étudier préalablement solubilisé dans l'éthanol. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, la lecture se fait à 517 nm (Figure 2.4). L'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique sont utilisés comme standard. La valeur IC₅₀ est définie comme étant la quantité en échantillon capable de réduire 50% de la concentration initiale du DPPH (Niki, 2010), les IC₅₀ sont calculées à partir des courbes à régression linéaire (Chang et al., 2007).

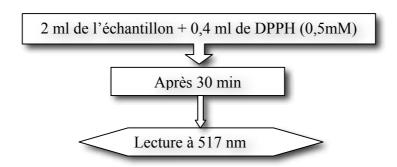


Figure 2.4 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire au DPPH (Tien et al., 2005).

Résultats U Discussion

1. Rendement de l'huile essentielle

L'huile essentielle a été extraite des feuilles séchées d'*Artemisia herba-alba* à l'aide d'un hydro distillateur. La figure 2.5 montre le rendement moyen (moyenne ± écart type) en huiles essentielles calculé en fonction de la matière végétale sèche de la plante.

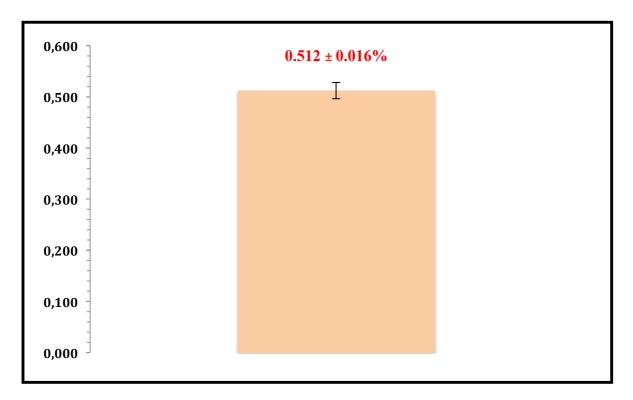


Figure 2.5: Rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*.

Dans la présente étude, le rendement moyen obtenu en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a été de 0.512 ± 0.016% (p/p). Ce dernier est très proche de celui enregistré dans la région de Djelfa qui est de l'ordre de 0.54% (Goudjil et al., 2015). Un rendement inferieur de 0.264% ± 0.024 (p/p) a été obtenu dans la région de Kasr El Chellala (Behih et al., 2020). Alors que Belhattab et al. (2014) ont noté un rendement plus faible de 0.16% v/p dans la région de Boutaleb (Est de l'Algérie). Cependant, des rendements supérieurs de l'ordre de 0.72%, 0.79% et 0.94% (v/p) ont été signalés pour la plante collectée des régions de l'est Algérien (Boussaada, Benifouda, Bougaa, respectivement) (Belhattab et al., 2014). De même, un rendement supérieur de l'ordre de 0.932% a été noté dans la Station de Sidi Ahmed de Saida (Nord-Ouest d'Algérie) (Bouzidi et al., 2016). Toutefois, des rendements supérieurs à celui annoncé par cette étude variant de 0.7% à 1.02% ont été rapportés dans divers régions de l'Algérie (Dob et Benabdelkader, 2006; Bezza et al., 2010; Benyoucef et al., 2018).

Au Maroc, des rendements de 0.5% et 1.2% ont été notés par Bencheqroun et al. (2012), Zaim et al. (2012) et Ghita et al. (2019).

Alors qu'en Tunisie, le rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* collectée de quatre régions différentes a varié de 0.35% à 1.18% (p/p) (**Bourgou et al., 2016**; **Aloui et al., 2016**; **Salmi et al., 2016**) et un rendement très important de 4% pour la plante collectée dans la région d'El Kef (**Boukrich et al., 2010**)

Cependant, au Sud de la Jordanie, un rendement élevé de 3% a été obtenu de la plante collecté dans la région de Boussaira (Abu-Darwish et al., 2015).

Cette différence peut être attribuée à l'origine géographique qui est liée aux facteurs environnementaux (Bourgou et al., 2016) tels que le climat (Kaouane, 2017) et le pH de sol (Bouzidi et al., 2016). Il y'a d'autres facteurs qui influencent sur le rendement tels que la saison de récolte (Magraoui et Zahaf, 2018; Zaim et al.; 2012), le cycle végétatif (où la phase de développement des plantes peuvent être en partie responsables de cette différence) (Magraoui et Zahaf, 2018; Bourgou et al., 2016; Fellah et al., 2006), l'état de fraîcheur (Bruneton, 1999) et enfin la technique et la durée d'extraction (Magraoui et Zahaf, 2018).

2. Test de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches bactériennes vis-àvis des antibiotiques. Nous avons testé l'activité de neuf antibiotiques à l'égard d'*E. coli* et dix antibiotiques à l'égard de *Staphylococcus* par la méthode standard de diffusion des disques.

Les tableaux 2.3 et 2.4 résument les résultats de l'antibiogramme.

Tableau 2.3 : Résultats de l'antibiogramme d'*E. coli* isolat et de la souche de référence

Classe	Disque	E. coli (vaginale)	E. coli ATCC25922
d'antibiotique	d'antibiotique		
	Ampicilline	R	R
	Amoxicilline	R	R
β-lactamines	Amoxicilline+acide	R	NT
	clavulanique		
	Ceftriaxone	S	S
Aminosides	Gentamicine	R	S
	Amikacine	S	S
Polypeptides	Colistine	S	NT
Quinolones	Acide nalidixique	R	R
Sulfamides	Sulfametoxazole-	R	R
	Trimethoprime		

NT: non testé, S: sensible, R: résistante

L'isolat d'*E. coli* a été résistante à ampicilline, amoxicilline, amoxicilline+ acide clavulanique, gentamicine, acide nalidixique et aulfaméthoxazole- triméthomprime, ces antibiotiques appartiennent à quatre classes d'antibiotiques différentes (β -lactamines, les Aminosides, les Quinolones et les Sulfamides). Tandis que, la souche de référence a été résistante à ampicilline, amoxicilline, l'acide nalidixique et sulfaméthoxazole-triméthomprime qui font partie de trois classes d'antibiotique à savoir les β -lactamines, les Quinolones et les Sulfamides.

Tableau 2.4 : Résultats de l'antibiogramme de S. aureus isolat et de la souche de référence

Disque + charge		S. aureus (urinaire)	S. aureus ATCC6538
β-lactamines	Céfoxitime	S	S
	Oxacilline	R	S
Phénicolés	Chloramphénicol	R	S
	Gentamicine	S	S
Aminosides	Kanamycine	R	R
	Amikacine	S	S
Glycopeptides	Vancomycine	S	S
Macrolides	Erythromicine	R	S
Tétracyclines	Tetracycline	R	S
Sulfamides	Sulfamétoxazole-	R	R
	Triméthoprime		

L'isolat de *S. aureus* a été résistant à oxacilline, chloramphénicol, kanamycine, erythromicine, tetracycline et sulfamétoxazole-triméthoprime qui font partie de six familles d'antibiotique (β-lactamines, les phénicolés, les aminosides, les macrolides, les tétracyclines, et les sulfamides). Tandis que la souche de références a été résistante seulement à la kanamycine et la sulfamétoxazole-triméthoprime.

En terme littéraire, la multi-résistance bactérienne signifie «la résistance à plus d'un antibiotique». Cependant, aucune définition standardisée n'a encore été approuvée par la communauté médicale. L'absence de consensus sur la définition de la multi-résistance dans les protocoles des études cliniques a donné lieu à des données très difficiles à comparer. L'une des méthodes la plus employée par divers auteurs et autorités pour caractériser les organismes en tant que multi-résistants est basée sur les résultats des tests *in vitro* de la sensibilité aux antibiotiques, lorsqu'ils testent la résistance à divers agents antimicrobiens (classes ou sous-classes). La définition la plus fréquemment utilisée pour les bactéries Grampositives et Gram-négatives est « la résistance à trois classes d'antibiotique ou plus » (Magiorakos et al., 2012).

En se basant sur cette définition, les tableaux 2.3 et 2.4 montre que l'isolat d'*E. coli* (vaginale) et la souche de référence d'*E. coli* ainsi que *S. aureus* (urinaire) sont considérés comme des souches multi-résistantes.

3. Activité antibactérienne de l'huile essentielle

La méthode de diffusion des disques a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* vis-à-vis de trois souches multi-résistantes identifiées préalablement (*E. coli* (vaginale), *E. coli* ATCC25922, et *S. aureus* (urinaire)). Le tableau 2.5 résume les résultats obtenus par cette méthode.

Tableau 2.5 : Halos d'inhibition en (mm) (moyenne ± écart type) provoqués par les huiles essentielle d'*Artemisia herba alba*

	E. coli	E. coli ATCC25922	S. aureus
	(vaginale)		(urinaire)
H E d'Artemisia herba-alba	9 ± 0	8 ± 0	7.33 ± 0.57
Contrôle	ΑΖΝ	AZN	ΑΖΝ
Appréciation	Résistant	Résistant	Résistant

Remarque : Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition. A Z N : aucune zone notée

Les résultats résumés dans le tableau 2.6 ont montré des diamètres de zone d'inhibition de 9 ± 0 mm et 8 ± 0 mm pour *E. coli* (vaginale) et *E. coli* ATCC25922 respectivement. Cependant, un diamètre de zone d'inhibition de 7.33 ± 0.57 mm a été observé pour *S. aureus* (urinaire).

Un diamètre inférieur de 6 ± 0 mm a été enregistré pour *E. coli* 32 (Ghita et al., 2019). Alors que Bertella (2020) a noté des diamètres supérieurs varient de 10.3 ± 0.5 à 11.3 ± 0.5 mm pour trois souches d'*E. coli* différentes.

De même, Ghita et al., (2019) ont signalé un diamètre inférieur de 6 ± 0 mm pour S. aureus. Des diamètres supérieurs à ceux enregistrés lors ce travail et qui varient de 16.3 ± 0.5 à 28.3 ± 0.5 mm ont été rapportés par Bertella (2020) à l'égard de cinq souches de S. aureus.

Les résultats de la présente étude ont révélé une faible activité antibactérienne de l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* sur les souches testées.

On se basant sur la lecture de **ponce et al. (2003)** nous pouvons déduire que les souches *E. coli* ATCC25922 et *S. aureus* (urinaire) sont résistantes à cette huile essentielle. Alors que la souche *E. coli* (vaginale) est sensible (à la limite la plus faible).

4. Activité Antioxydante

L'activité anti-oxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir réducteur et la capacité de piégeage du radical libre DPPH. Les différents tests ont été menés avec des standards et les huiles essentielles à différentes concentrations. Les EC₅₀ et les IC₅₀ calculées sont rapportées

dans le tableau 2.6. Pour le test du pouvoir réducteur, une faible EC₅₀ correspond à une forte capacité réductrice (**Chang et al., 2007**). De même, dans les tests aux DPPH un faible IC₅₀ indique une meilleure capacité scavenger des radicaux libres (**Lim et Tee, 2007**).

Tableau 2.6: Résultats de l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle et de la molécule standard.

Echantillon	Pouvoir réducteur (EC ₅₀) mg/ml	DPPH (IC ₅₀) mg/ml
Huile essentielle d'Artemisia herba-alba	3.868 ± 0.346	7.73 ± 0.584
Acide gallique	-	0.0129 ± 0.003
Quercétine	0.0242 ± 0.002	0.0085 ± 0.000
Vit C	0.0533 ± 0.000	0.0084 ± 0.000

4.1. Pouvoir réducteur

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* testée a présenté une capacité antioxydante à réduire les ions ferriques (Fe³⁺) aux ions ferreux correspondants (Fe2 +) avec une apparition d'une coloration de bleu de Prusse qui a été mesuré à une longueur d'onde de 700 nm (Bajpai et al., 2013; Kadri et al., 2011; Attou, 2017).

Les résultats de cette étude montre que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* possède une faible activité antioxydante par le test du pouvoir réducteur. La valeur de l'EC₅₀ de l'huile essentielle obtenu dans notre étude a été faible avec une concentration de 3.868 mg/ml comparativement à les molécules standard (quercétine=24.2 μg/ml et vit C=53.3 μg/ml). **Goudjil et al. (2015)** ont signalé un EC₅₀ très faible de l'ordre de 12.53 μg/ml pour l'huile essentielle de même espèce récoltée dans la région de Djelfa. Cependant, **Bourgou et al. (2016)** ont rapporté des EC₅₀ variant de 1.2 à 2.9 mg/ml pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* récoltée de quatre régions de la Tunisie. Alors que, **Behih et al. (2020)** ont constaté un EC50 de 6.44 mg/ml pour l'armoise récoltée dans la région de Kasr El Chellala.

4.2. Activité anti-radicalaire (DPPH)

L'activité antioxydante évaluée par la méthode de DPPH est basée sur la capacité des huiles essentielles à donner un atome d'hydrogène ou un électron en transforment le DPPH en forme réduite DPPH-H (**Singleton et al., 1999**).

La réduction de DPPH à DPPH-H se fait en présence d'un composé antioxydant, cette réaction confère à la solution une coloration jaune (Perez et al., 2007; Azzoubi et al., 2018; Kadri et al., 2011). L'intensité de cette coloration est mesurée à une longueur d'onde de 517

nm (Singleton et al., 1999).

L'huile essentielle de l'*Artemisia herba alba* a exerce une faible activité antioxydante avec une IC₅₀ de 7.73 mg/ml qui est nettement inférieure à celle du l'acide gallique, la quercétine et la vit C avec des valeurs d'IC₅₀ de 12.9 μg/ml, 8.5 μg/ml et 8.4 μg/ml, respectivement. **Bouzidi et al. (2016)** ont montré que IC₅₀ l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* récoltée de Saida a été de 2.66 μg/ml. Un IC₅₀ de 17.73 μg/ml a été noté pour l'huile essentielle de même espèce collectée de Djelfa (**Goudjil et al., 2015**). Au Maroc, **Azzoubi et al. (2018)** ont enregistré un IC₅₀ de 2.9 μg/ml. Cependant en Tunisie, **Bourgou et al. (2016)** ont noté des IC₅₀ variant de 110 à 1300 μg/ml pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* récoltée de quatre régions. Tandis que, **Selmi et al., (2016)** ont présenté une valeur d'IC₅₀ de121.43 μg/ml. Alors que, **Kadri et al. (2011)** ont mentionné un IC₅₀ de 50 μg/ml.

Dans la présente étude, activité antioxydante est considérée comme faible pour les deux tests réalisés. Toutefois, nous constatons une concentration en huile essentielle plus élevée pour réduire le DPPH comparativement à celle du pouvoir réducteur. Ce résultat nous permet de déduire que notre huile essentielle est faible en molécules donneuses d'atome d'hydrogène ou d'électron.

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus au cours de cette étude nous pouvons conclure ce qui suit :

Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* colletée de la région de Takhmaret a été de $0.512 \pm 0.016\%$ (p/p).

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* par la méthode aromatogramme a montré une absence de sensibilité des souches bactériennes testées ; *Staphylocoque aureus d'origine urinaire* et *E. coli* ATCC25922 vis-à-vis de cette huile essentielle.

Une activité antioxydante faible de cette huile essentielle avec un EC $_{50}$ de l'ordre de 3.868 mg/ml contre 24.2 µg/ml pour la vit C et 53.3 µg /ml pour la quercétine, respectivement. Cependant, l'IC50 a été de 7.73mg/ml comparativement à 12.9 µg /ml pour l'acide gallique, 8.5 µg/ml pour la quercétine et 8.4 µg /ml pour la vit C.

Toutefois, nous pouvons conclure que l'huile essentielle d'*Artemisia herbaalba* utilisée au cours de cette étude est faible en molécules donneuses d'atome d'hydrogène ou d'électron.

D'autres investigations seront nécessaires en vue de déterminer la composition chimique et de confirmer les présents résultats.

Références Bibliographiques

- 1. Aberchane, M., Fechtal, M., Chaouch, A., Bouayoune, T. (2001). Influence de la durée et de la technique d'extraction sur le rendement et la qualité des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). Ann. Rech. for. Maroc. 2001. T(34), 110-118
- 2. Abu-Darwish, M.J., Cabral, C., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Efferth, T., Salgueiro, L. (2015). *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): chemical characterzation and essessement of safe antifungal and anti-inflammatory doses. J. Ethnopharmacol., 174, 153-160
- **3. Ak T., Gulçin I. (2008).** Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. Chemico-Biological Interactions. 174: 27–37.
- **4.** Aloui, Z., Messaoud, C., Haoues, M., Neffati, N., Jamoussi, I.B., Essafi-Benkhadir, K., Boussaid, M., Guizani, I., Karoui, H. (2016). Asteraceae *Artemisia comestris* and *Artemisia herba-Alba* essential oils Trigger appoptosis and cell cycle arrest in Leishmania infantum promastigotes. Hindawi Publishing Corporation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Vol 2016, Art. ID 9147096, 15 p
- 5. Amarti, F., Satrani, A., Aafi, A., Ghanmi, M., Farah, A., Aberchane, M., El Ajjouri, M., El Antry, S., Chaouch, A. (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. Phytothérapie (2008) 6: 342-347. DOI 10.1007/s10298-008-0346-7
- **6. Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (2000).** Bactériologie clinique, Ellipses 2éme édition, Paris, France.
- 7. Ayad, N., Benchaben, H., Maatoug, M. (2008). Article scientifique des peuplements d' *Artemisia herba alba Asso* dans la steppe du Sud oranais (Algérie occidentale).

 \mathcal{B}

- **8. Baba aissa, F. (1990).** Les plantes médicinales en Algérie. (identification, description, principe actif, propriétés et usage traditionnel de plantes communes en Algérie). 3 : 5
- **9.** Bajpai, V. K., Sharma, A., Kim, S. H., Baek, K. H. (2013). Phenolic content and antioxidant capacity of essential oil obtained from sawdust of Chamaecyparis obtusa bymicrowave-assisted hydrodistillation. Food Technol Biotechnol. 51:360–369.
- **10.** Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2007). Biological effects of essential oils-A review. Food and Chemical Toxicology 46 (2008) 446-475
- 11. Ben Abdallah, H., Sahnoun, O., Ben Romdhane, F., Loussaif, C., Noomen, S., Bouzouaia, N., Chakroun, M., Mastouri, M. (2005). Profil de sensibilité aux antibiotiques

- des entérobactéries uropathogenes isolées dans la région de Monastir. Revu Tun infectiol, Avril 08, Vol 2, N°2, 5-8.
- **12. Behih, A., Boussafi, S., Lahouazi, K.A. (2020).** Evaluation de l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. Mémoire de Master académique Infectiologie. Université Ibn Khaldoun. Tiaret
- **13.** Belhattab, R., Amor, L., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Cristina Figueiredo, A. (2014). Essential oil from *Artemisia herba-alba Asso*. grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. Arabian Journal of Chemistry. 7 (2):243-251.
- **14. Bencheqroun, H. K., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Chaouch, A. (2012).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 81 : 4 21
- 15. Bentroki, A., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Abderrahim, G., Takieddine, B. (2012). Résistance aux antis biotiques de souches isolée d'infection urinaire communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie). Volume 70 P 666-8
- **16.** Benyoucef, F., Dib, M. E-A., Arrar, Z., Costa, J., Muselli, A. (2018). Synergistic Antioxidant Activity and Chemical Composition of Essential Oils From *Thymus fontanesii*, *Artemisia herba- alba* and *Rosmarinus officinalis*. J Appl Biotechnol Rep. 5(4):151-156
- **17. Berche, P., Gaillard, J., Simonet, M. (1988).** Bactériologie. Bactéries des infections humaines. Collection de la biologie à la clinique. Flammarion Médecine-Sciences. Paris. France. ISBN: 2-257-10489-7
- **18. Bertella**, **A. (2020).** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*. Thèse Microbiologie Appliquée. Université Ahmed Benbela Oran
- 19. Bezza, L., Mannarino, A., Fattari, K., Mikaili, C., Abou, L., Hadji- Minaglou, F., Kaloustian, J. (2010). Chemical composition of the esseential oil of *Artemisia herba-alba* issued from the district of Biskra (Algeria). Phytothérapie.8: 277-281
- **20. Bouarfa, M. (2019).** Aromathérapie Propriétés thérapeutiques et réglementation des huiles essentielles. Huiles essentielles, Réf : J2309
- **21. Boukhatem, M., Hamaidi, M., Saidi, F., Hakim, Y. (2010).** Extraction, composition et propiétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens L*). cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nature et Technologie.
- 22. Boukrich, F., Zouari, S., Neffati, M., Abdelly, C., Liu, K., Casanova, J., Tomi, F. (2010). Cemical variability of *Artemisia herba-alba Asso* growing wild in semi-arid and arid land (Tunisia). J. Essent. Oil Res., 22, 331-335

- 23. Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A., Satrani, B. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition des huiles essentielles de *Tetraclinis* articulata (Vahl) Masters. Agrosolutions 20 (1):44-48
- **24. Bourgou, S., Tammar, S., Salem, N., Mkadmini, K., Msaada, K. (2016).** Phenolic Composition, Essential Oil, and Antioxidant Activity in the Aerial Part of *ArtemisiaHerba-Alba* from Several Provenances: A Comparative Study, International Journal of Food Properties. 19(3): 549-563.
- **25. Bouzabata**, **A. (2016).** Les médicaments à base de plantes en Algérie : réglementation et enregistrement. Phytothérapie (2017) 15 : 401-408
- **26. Bouzidi, N., Mederbal, K., Raho, B. (2016).** Antioxydant activité of essential oil of *Artemisia herba alba*. Journal of Appled Environmental and Biuological Sciences. ISSN: 2090-4274. *J. Appl. Environ. Bio. Sci.*, 6(5)59-65, 2016
- **27. Bouzidi, N. (2016).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba asso* ». *Université Mustapha Stambouli de Mascara, Département de Bi, 2016.*
- 28. Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A., Lognay, G. (2005). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2007 11 (1), 3-7
- **29. Breckle, S. (1983)**. Temperate deserts and semi-deserts of Afghanistan and Iran in Elsevier scientific Publishing Company, New-York, NY, USA.
- **30. Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, TEC et DOC . Paris. p1120.
- **31. Brut, S. (2004).** Essential oils . Their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. Int. J. Food Microbiol. 94, 223-253

C

- **32.** 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.
- **33.** Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! le parrainage des antimicrobiens : vision 2010
- **34.** Carson, F., Hammer, K. (2011). Chemistry and bioactivity of essential oils. In: lipids and essential oils as antimicrobial agents. (Ed. Thormar H). John Wiley & Sons. Islande. 336 p

- **35.** Charles, N. (2019). Destin des maladies infectieuses. (Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique). P12. ISBN: 978-0-244-51887-5
- **36.** Clave, D. (2015). Fiche technique Bactériologique :Escherichia coli, centre toulousain pour le contrôle de qualité en Biologie clinique, édition 2015
- **37. CLSI. 2006.** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, 7th Ed
- **38. Coulibaly, F. (2007).** Infections bactériennes invasives dans le service de pédiatre du chu Gabriel Toure. (à propos de 341 cas.) *Thèse pharmacie, Université de Bamako*

 \mathcal{D}

- **39. Danièle, F. (2014).** Huiles essentielle. Le guide visuel. Le guide aroma indispensable. ISBN 978-2-84899-679-0
- **40. Deans, S., Ritchie, G. (1987).** Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*, 5, 165-180
- **41. Dob, T., Ben Abdelkader, T. (2006).** Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba asso* grown in Algeria. J. Essen. Oil Res. 18: 685-690.
- **42. Dobignard, A., CHatelain, C. (2010-2013).** Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord (4vol), Genève, C.J.B.G

 \mathcal{E}

- **43.** El Haib, A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Doctoral dissertation. Université Toulouse III-Paul Sabatier
- **44.** Eyob S., Martinsen B. K., Tsegaye A., Appelgren M., Skrede G. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (Aframomum corrorima ((Braun) P.C.M. Jansen). African Journal of Biotechnology. 7: 2585–2592.
- **45.** Ezzoubi, Y., Lairini, S., Farah, A., Taghzouti, K., El Ouali Lalami, A. (2018). Antioxidant and antibacterial activities of *Artemisia herbe-alba Asso* essential oil from Middle Atlas, Marocco. Phytothérapie. DOI 10.3166/phyto-2018-0057

 \mathcal{F}

46. Fabre, N. (2017). Conceils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat en scienses pharmaceutiques. Spécialité : pharmacie. Université Paul Sabatier Toulouse III (France). P225

- **47. Fellah, S., Romdhane, M., 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 J Soc Alger Chin. 16(2):193-202.
- **48. Fenardji, F., Klur, M., Fourlon, C., Ferrando, R. (1974).** Contribution à l'étude de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*). Rev. Eev. Méd. vét. Pays trop., 1974, 27 (2): 203-206
- **49. Ferchichi, A., Chaieb, C., Ferjani, E. (2004).** Caractérisation de la variabilité du comportement phytologique de certaines populations d' *Artemisia herba-alba* du sud tunisien. Institut des Régions Arides, 4119 Médecine, Tunisie. Faculté des Sciences de Bizerte, 7021 Zarzonna, Tunisie

50.

- **51. Fernandez, X., Chemat, F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert 2012. 288 p
- **52. 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.
- **53. Floret, C., Pontannier, R. (1982).** L'aridité en Tunisie présaharienne, climat, sol, végétation et aménagement. Trav. Docum. ORSTOM n° 155, 544 p
- **54. Franchomme**, **P.**, **Pénoel**, **D.** (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jailois éditeur. Limonges, 445 p
- **55.** Françoise, L., Annelise, L. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques

G

- 56. Ghita, A., Lucia, C., Antonietta, L.S., Vincenzo, D.F., Gianluigi, M., Taoufiq, F. (2019) Chemical composition and antimicrobial activity of Artemisia herba-alba and Origanum majorana essential oils from Moroco. Academic Editor: Daniela Rigano
- **57. Ghourri, M., Lahcen, Z., Allal, D. (2014).** La phytothérapie et les infections urinaires (La pyélonéphrite et la cystite) au Sahara Marocain (Tan-Tan). Journal of Animal and Plant Sciences, Vol 20, Issu 3:3171-3193.
- **58.** Goudjil, M. B., Ladjel, S., Bencheikh, S-E., Zighmi, S., Hamada, D. (2015). Chemical Compounds Profile, Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential Oil Extracted from the Artemisia herba-alba of Southern Algeria. International Journal of Biological Chemistry. 9 (2): 70-78.

 \mathcal{H}

- **59. Hammer, K., Carson, F., Riley, T. (1996).** Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Am. J. Infect. Control, 24,186-189
- **60. Haouari, M., Ferchichi, A. (2009).** Essential oil compositrion of *Artemisia herba-alba* from Southen Tunisia. Molecules 2009, 14,1585-1594., doi: 10.3390/moleculees 14041585. ISSN 1420-3049
- **61.** Houmani, M., Houmani, Z., Skoula, M. (2004). Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso dans l'alimentation du bétail des des steppes Algériennes. Acta Botanica Gallica, 151:2, 165-172, DOI: 10.1080/12538078. 2004.10516031. ISSN: 1253-8078
- **62. Huet, R. (1991).** Les huiles essentielles d'agrumes. Fruits, Jul-Aug. 1991, vol.46, n° 4, p. 501-513

J

- **63. Jauréguy, F. (2009).** Déterminant cliniques et bactériens au cours des infections extraintestinales dues à *Escherichia coli*. Médecine Sciences 25(3), 221-223
- **64. Joly, B., Reynaud, A. (2007).** Entérobactérie : systémique et méthode de diagnostic. Edition Techniques et documentation, Paris

 \mathcal{K}

65. Kadri, A., Ben Chobba, I., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R. (2011). Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region. African Journal of Biotechnology. 10(15): 2923-2929.

L

- **66.** Lee, B., Choi, W., Lee, S., Park, B. (2001). Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil. Sitophilus oryzae (L). Corp Prot.,20, 317-320
- **67.** Le Floc'h, E. (1989). Biologie et écologie des principaux taxons in « Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne : l. Eléments de botanique et de phyto-écologie » ., 193 p

68. Lim, T. T., Tee, J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. Food Chemistry, 103: 1003–1008.

M

- 69. Magiorakos, A-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect, 18: 268–281.
- **70. Magraoui, S., Zahaf, D. (2018).** Etude de l'extraction et l'activité biologique des huiles essentielles d'*Artemisia* «Chih» en Algérie. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master spécialité Microbiologie appliquée. Université Khemis Miliana.p 102
- **71. Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrout, A., Najjaa, H., Neffati, M. (2009)**. Antimicrobial and antioxydant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. C.R Chimie 13(2010), 380-386
- **72. Moufid, A., Eddouks, M. (2012).** *Artemisia herba alba*: A popular plant with potential medicinal properties. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(24)1152-1159
- **73. Mourey, A., Canillac, N. (2002).** Anti-listeria monocytogene activity of essential oils components of conifers. Food Control, 13, 289-292

N

74. Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. Free Radical Biology and Medicine, 49: 503–515.

0

- **75. Ourcival, J. (1992).** Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. Thèse Doc. USTL, Montpellier, 167 p
- **76.** Oussou, K., Yolou, S., Boti, J., Kouadio, N., Kanko, C., Ahibo, C., Casanova, J. (2008). Etude chimique et activité antidiarrheique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. European journal of scientific research. 24 (1): 94-103

- 77. Pilly, E. (2020). Maladies infectieuses et tropicales. 6éme édition, ISBN 978-2-916641-69-0.
- **78. Piochon, M., Legault, J., Pichette, A. (2008).** Chemical composition of the essential oil from Solidago puberuia Nutt. Growing wild in the north of Quebec. J. Ess. Oil Res. Numero: RN-2783
- **79. Piochon, M. (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université du Quebec
- **80. Ponce**, **A. G.**, **Fritz**, **R.**, **Del Valle**, **C.**, **Roura**, **S. I. (2003)**. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, *36*(7), 679-684.
- **81. Preuss, H., Echard, B., Enig, M., Brook, I., Elliott, T. (2005).** Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Mol. Cell. Biochem.*, 272, 29-34

Q,

82. Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, C.N.R.S, 1962-1963

 \mathcal{R}

- **83. Richard, H. (1992).** Epices et aromates. Technologie et documentation lavoisier. Paris, 339 p
- 84. Robert, G. (2000). Les sens du parfum. Osman Eroylles Multimedia. Paris. 224 p
- **85. Roland, Y. (2006).** Profile antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako Maligiy. 53 : 520-523

S

- **86. Samate, A. (2002).** Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone Soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Thèse Chimie Organique. Université de Ouagadougou
- 87. Selmi, S., Rtibi, K., Grami, D., Hajri, A., Hosni, K., Marzouki, L., Sebai, H. (2016). Antioxydant properties of *Artemisia herba-alba* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils on malathion-induced repoductive damage in rat. DOI: 10.1039/C6RA182688

- **88. Sekhri-Arafa, N. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Université Mentouri Constantine
- 89. Seri-Kouassi, B., Kanko, C., Aboua, L.R.N., Bekon, K.A., Koukoua, G., N'Guessan, Y.T. (2004). Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Cote-d'Ivoire sur Callosobruchus maculatus F. du niébé. *Comptes Rendus Chimie* 7 (10-11), 1043-1046
- **90. Shaaban, H., El-Ghorab, A., Shibamotoand, T. (2012).** Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components. Review. J. Ess. Oil Res., 24 (2), 203-212
- **91. Singleton, V.L., Orthofer, L.R.R.** (1999). Analysis of total and other oxidation subtrates and antioxidant by mmeans of clinciocalteru reagent. Methods Enzymol., 299: 152-178
- 92. Sobia, Z., Ashaq, A., Wajid, Z., Sidra, Z., Chabana, A., Fazal, U., Abdul Shakoor. (2019). Pharmaceutical and biomedical reaserch, 2019
- **93. Sophie, B., Patrick, P. (2011).** *Pseudomonas aeruginosa* : une virulence complexe Revu Francophone des Laboratoires volume 2011. Issu 435 P73-81
- 94. Soro, L., Grosmaire, L., Ocho-Anin Atchibri, A., Munier, S., Menut, C., Pelissier, Y. (2015). Variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *lippia multiflora* cultivées en côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences 88 :8180-8193*. ISSN 1997-5902

τ

- **95. Tabuti**, **J.**, **Lye**, **K.**, **Dhillion**, **S.** (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 19-44
- **96.** Taouraght, K., Benouda, A., Chibani, F., Kerkeb, O., Alaoui, M. (2004). Infections bactériennes communautaires aux urgences. Maroc Médical 26 (1)
- 97. Tien, Y. Y., Ng, C. C., Chang, C. C., Tseng, W. S., Kotwal, S., Shyu, Y. T. (2005). Studies on the lactic-fermentation of sugar apple (Annona squamosa L.) puree. Journal of Food and Drug Analysis, 13: 377–381.
- **98. Toure**, **D. (2014).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote D'Ivoire. Thèse Biochimie. Université Felix Houphouet-Biology

ν

99. Vercauteren, J. (2011). Plan, Formules et illustrations du cours de pharmacognosie. 2^{ième} cycle des études de pharmacie. Université Montpellier I. laboratoire de pharmacognosie

Υ

100.Yen G.C., Duh P.D. (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free radical and active-oxygen species. J Agric Food Chem. 42:629-632

101.Yen G. C., Duh P. D. (1993). Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. Journal of the American Oil Chemists' Society. 70: 383–386 114

 \mathcal{W}

102. Waisel, Y., Liphschitz, N., Kuller, Z. (1972). Pattern of water movements in stress and shrubs. Ecolo

 \mathcal{Z}

103. Zaim A., El Ghadraoui L., Farah A. (2012). Effets des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba sur la survie des criquets adultes d'Euchorthippus albolineatus (Lucas, 1849). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie. 34 (2): 127-133.

Annexes



Figure 1: Résultat d'aromatogramme à l'égard d'*E.coli*



Figure 1: Résultat d'aromatogramme à l'égard de Staphylococcus aureus

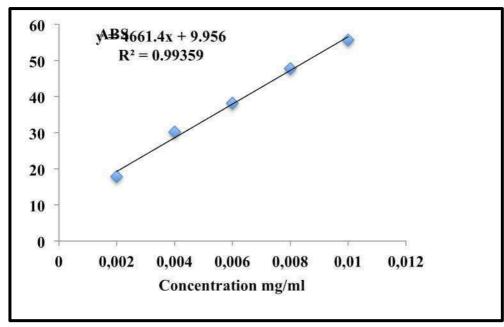


Figure 3 : Courbe d'étalonnage DPPH Quercétine

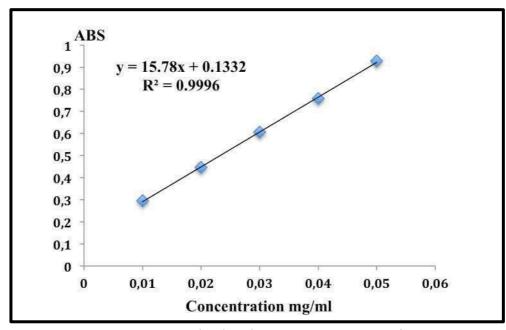


Figure 4 : Courbe d'étalonnage FRAP Quercétine

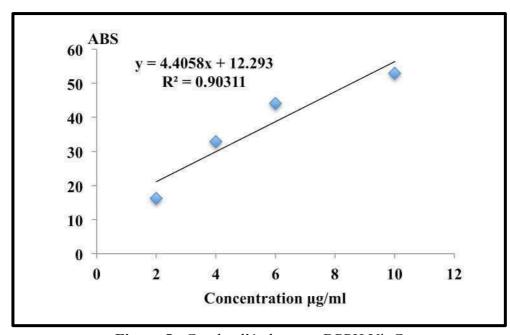


Figure 5 : Courbe d'étalonnage DPPH Vit C

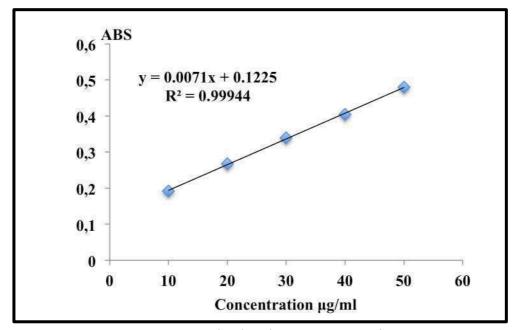


Figure 6: Courbe d'étalonnage FRAP Vit C

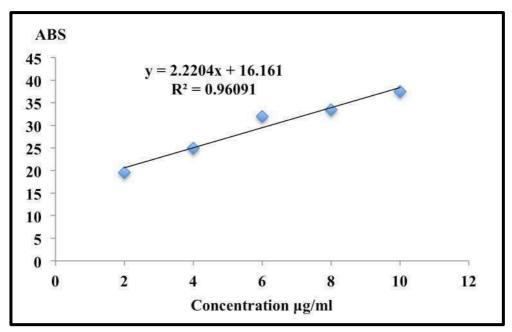


Figure 7 : Courbe d'étalonnage DPPH Acide gallique