

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université Mouloud MAMMERRI Tizi-Ouzou  
Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques  
Département des sciences alimentaires



## Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique en sciences alimentaires  
Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

### Thème

**Effet des ultrasons sur l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de  
l'armoise blanche**

**Réalisé par :**

M<sup>lle</sup> AIT AOUDIA Dihya

&

M<sup>lle</sup> AMEUR Radhia

**Membres du jury :**

|            |        |           |     |       |
|------------|--------|-----------|-----|-------|
| Président  | MSELA  | AMINE     | MCB | UMMTO |
| Encadrante | CHENAH | May       | MCB | UMMTO |
| Examineur  | KENNAS | Abderezak | MCB | UMBB  |

**Année universitaire 2023-2024**

## Remerciements

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre sincère reconnaissance à Dieu, source d'inspiration et de guidance, et dont la bienveillance a illuminé chacune des étapes de notre parcours.

Notre gratitude s'adresse particulièrement à notre promotrice Mme. CHENAH May pour avoir encadré ce travail, nous vous sommes reconnaissantes pour votre disponibilité et votre orientation durant tout au long de la réalisation de ce travail, ce fut une expérience précieuse de travailler avec vous.

Nous tenons à remercier M. HOUALI. K qui a veillé à ce que toutes les fournitures soient fournies pour la réussite de ce travail, et nous tenons également à exprimer nos sincères gratitude à M. SAOUDI. B qui a été l'un des responsables de la mise en œuvre de ce projet par ses conseils et son aide.

Nous tenons aussi à exprimer note profonde gratitude et nos sincères remerciements aux membres de jury : M. MSELA. A et M. KENNAS. A d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Monsieur METNA. B et un grand merci à tous nos enseignants du département des sciences alimentaires pour tout le savoir qu'ils ont partagé durant notre cursus universitaire. Nous tenons à exprimer ici toute notre reconnaissance à Mme BOUAZZOUNI. K et Mme CHAOUCHI. D pour leurs soutiens, leurs disponibilités sans faille, ainsi qu'à l'ensemble du personnel du laboratoire de l'université Mouloud Mammeri -bastos - pour leur coopération. Enfin, nous remercions nos familles, et amis pour leurs soutiens et leurs patiences durant la réalisation de ce travail.

# DEDICACE

*Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu clément et miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

*Ensuite, Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur que je dédie du fond du cœur : À celle qui m'a fait venir au monde, celle qui s'est sacrifiée pour me voir grandir et réussir, à celle qui je ne pourrai jamais révéler mon grand amour avec de simples mots,*

*À toi chère Maman.*

*Au guide de ma vie, celui qui a répandu de la lumière sur mon chemin, celui qui s'est donné tant de mal pour me voir en arriver là où je suis, A celui qu'aucune dédicace ne saurait exprimer l'affectation et l'amour que je lui éprouve,*

*À toi cher papa.*

*A mon chère frère Arezki.*

*A mes chères sœurs Sonia, Klylia, Sylvia, Souad.*

*A ma grand-mère Dhawiya.*

*A mes oncles Ouali et Hamid ainsi qu'à leurs familles.*

*A mes chères tantes Tania et Farida ainsi qu'à leurs familles.*

*À Amine, ma source d'inspiration infinie et mon pilier de soutien. Ton amour inébranlable, ta patience et tes encouragements constants ont été les fondations sur lesquelles j'ai pu construire ce mémoire. Je suis profondément reconnaissant(e) de t'avoir à mes côtés, et je ne saurais exprimer à quel point ton soutien a été précieux pour moi. Merci pour ta présence et ton amour qui ont illuminé ce chemin*

*À notre promotrice Mme CHENAH May.*

*À Mon binôme Radhia.*

*À mes chers amis et tous les gens que j'aime.*

*Dihya*

# DEDICACE

*Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu clément et miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

*Au guide de ma vie, celui qui a répandu de la lumière sur mon chemin, celui qui s'est donné tant de mal pour me voir en arriver là où je suis, A celui qu'aucune dédicace ne saurait exprimer l'affectation et l'amour que je lui éprouve,*

*À toi cher papa.*

*Ensuite, Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur que je dédie du fond du cœur : À celle qui m'a fait venir au monde, celle qui s'est sacrifiée pour me voir grandir et réussir, à celle qui je ne pourrai jamais révéler mon grand amour avec de simples mots,*

*À toi chère Maman.*

*À mes chers frères Mourad, Kamel, Youcef, Amar*

*À mes chère sœur Zahia*

*À ma belle-sœur Nabila*

*À mon binôme Dihya.*

*À ma chère famille Ameer.*

*À Mme CHENAH May ma promotrice.*

*À mes chers amis Lydia, Djouher, Djidji, Lyza, Lydia*

*Radhia*

Liste des abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux

Introduction ..... 1

I. Plante Armoise blanche ..... 3

    I.1 Généralités sur l'armoise blanche ..... 3

    I.2 Caractéristiques Botaniques de l'Armoise ..... 3

    I.3 Classification ..... 4

    I.4 Composition Chimique ..... 4

II. Les polyphénols de l'armoise et leurs propriétés antimicrobiennes ..... 5

    II.1 Présentation des polyphénols de l'Armoise ..... 5

        II.1.1 Classification ..... 5

            II.1.1.1 Phénols simples et acides phénoliques ..... 6

            II.1.1.2 Flavonoïdes ..... 6

            II.1.1.3 Tanins ..... 7

            II.1.1.4 Coumarines (C6-C3) ..... 8

            II.1.1.5 Stilbénes ..... 8

            II.1.1.6 Lignanes ..... 8

III. Méthodes d'extraction des polyphénols de l'armoise ..... 9

    III.1 Méthodes d'extraction traditionnelles ..... 9

        III.1.1 Infusion ..... 9

        III.1.2 Décoction ..... 9

        III.1.3 Macération ..... 9

    III.2. Méthodes d'extractions modernes ..... 10

        III.2.1 Extraction par Soxhlet ..... 10

        III.2.3 Extraction par ultrasons ou sonication ..... 10

IV. Facteurs influençant les performances de l'extraction des polyphénols ..... 11

    IV.1 Taille des particules ..... 11

    IV.2 Nature du solvant ..... 12

    IV.3 pH du milieu d'extraction ..... 12

    IV.4 Temps et température ..... 12

    IV.5 Agitation ..... 13

|   |    |
|---|----|
| IV.6 Rapport solide/liquide .....   | 13 |
| IV.7 Soluté.....  | 13 |
| IV.8 Humidité.....  | 13 |
| V. Activités antimicrobiennes des polyphénols.....  | 14 |
| VI. Mécanismes d'action des polyphénols contre les microorganismes .....  | 15 |
| VI.1 Intercalation dans la membrane bactérienne .....   | 15 |
| VI.2 Pénétration des composés phénoliques jusqu'au cytoplasme .....   | 16 |
| VI.3 Perturbation du métabolisme.....   | 16 |
| VI.4 Autres propriétés .....  | 16 |
| VII. Évaluation des activités antimicrobiennes des polyphénols .....  | 16 |
| VII.1 Méthodes de test utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne .....  | 16 |
| VII.1.1 Méthode de l'antibiogramme .....  | 16 |
| VII.1.2 Méthode de diffusion en disque.....   | 17 |
| VII.1.3 Méthode de dilution en bouillon .....   | 18 |
| VII.1.4 Méthode de dilution en gélose .....   | 18 |
| VIII. Résultats des études sur l'activité antimicrobienne des polyphénols .....   | 19 |
| VIII.1 Utilisation des polyphénols comme nouvelle stratégie de lutte contre la résistance microbienne en combinaison avec des médicaments anti-infectieux ..... | 19 |
| VIII.2. Rôle des polyphénols dans la réduction de la formation de biofilms .....  | 20 |
| IX. Utilisations et intérêts de l' <i>Artemisia herba alba</i> .....  | 20 |
| IX.1 Usages traditionnels .....   | 20 |
| IX.2 Usages cosmétiques.....  | 21 |
| IX.3 Usages alimentaires .....  | 21 |
| IX.4 Intérêt Médical .....  | 21 |

### Matériel et méthodes

|  |    |
|--|----|
| I. Matériel.....   | 22 |
| I.1 Matériel biologique .....                              | 22 |
| I.1.1 Armoise blanche ( <i>Artemisia herba alba</i> )..... | 22 |
| I.1.2 Souches microbiennes utilisées.....                  | 22 |
| I.2 Matériels non biologiques .....                        | 23 |
| I.2.1 Milieux de cultures.....                             | 23 |
| II. Méthodes.....  | 23 |
| II.1 Préparation de la poudre végétale de l'armoise .....  | 23 |
| II.2 Préparation de l'extrait assisté aux ultrasons .....  | 24 |

|   |    |
|---|----|
| II.3 Préparation et utilisation des Disques .....   | 24 |
| III. Analyses physico-chimiques de la poudre d'armoïse blanche .....                        | 25 |
| III.1 Détermination du taux d'humidité.....   | 25 |
| III.2 Détermination du taux de cendres .....  | 26 |
| III.3 Détermination de la teneur des extractibles.....                                      | 27 |
| IV. Analyse phytochimiques des extraits.....  | 28 |
| IV.1 Détermination du rendement .....   | 28 |
| IV.2 Dosage des polyphénols totaux (Méthodes de Folin- Ciocalteu).....                      | 29 |
| IV.3 Dosage des flavonoïdes (Méthode de dosage avec AlCl <sub>3</sub> ).....                | 30 |
| IV.4 Dosage des tanins condensés.....   | 31 |
| V.1 Vérification de souches de références et purification des souches .....                 | 32 |
| V.1.1 Observation macroscopique .....   | 32 |
| V.1.2 Observation microscopique .....   | 32 |
| V.1.4 Coloration de Gram .....  | 33 |
| V.2 Conservation des souches et repiquage /Revivification .....                             | 33 |
| V.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne .....  | 34 |
| V.3.1 Préparation des prés cultures et des suspensions microbiennes .....                   | 34 |
| V.3.2 Antibiogramme .....   | 34 |
| V.3.2.1 Ensemencement.....  | 34 |
| V.3.2.2 Dépôt des Disques .....   | 35 |
| V.3.2.3 Lecture .....   | 35 |
| V.3.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI et bactéricides CMB..... | 36 |
| V.3.3.1 Détermination des CMI en milieu liquide .....                                       | 36 |
| V.3.3.2 Détermination des CMB.....  | 37 |
| V. Etude statistique .....  | 37 |

**Résultats et discussion**

|   |    |
|---|----|
| I. Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre d'armoïse .....      | 38 |
| II. Résultats des analyses phytochimique des extraits.....                    | 39 |
| III. Résultats des analyses microbiologiques .....                            | 43 |
| III.1 Résultats de vérification des souches de références .....               | 43 |
| III.1.1 Résultats de l'observation macroscopique .....                        | 43 |
| III.1.2 Résultats de l'observation microscopique.....                         | 43 |
| III.2 Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....               | 44 |
| III.2.1 Résultats de l'antibiogramme et du test de diffusion sur gélose ..... | 44 |

|   |    |
|---|----|
| III.2.2 Résultats de détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI et bactéricides<br>CMB ..... | 47 |
| III.2.2.1 Résultats de la CMI .....   | 47 |
| III.2.3 Résultats de la CMB .....   | 51 |
| CONCLUSION.....   | 53 |
| Liste des références bibliographiques   |    |
| Annexes   |    |
| Résumé  |    |

## Liste des abréviations

| <b>Unités</b> | <b>Significations</b> |
|---------------|-----------------------|
| <b>µg</b>     | Microgramme           |
| <b>Mg</b>     | Milligramme           |
| <b>G</b>      | Gramme                |
| <b>Kg</b>     | Kilogramme            |
| <b>µl</b>     | Microlitre            |
| <b>ml</b>     | Millilitre            |
| <b>L</b>      | Litre                 |
| <b>Nm</b>     | Nanomètre             |
| <b>Mm</b>     | Millimètre            |
| <b>°C</b>     | Degré Celsius         |
| <b>kHz</b>    | Kilohertz             |
| <b>UFC</b>    | Unité formant colonie |
| <b>%</b>      | Pourcentage           |

| <b>Abréviations</b> | <b>Significations</b>   |
|---------------------|---|
| <b>US</b>           | Ultrasons   |
| <b>MS</b>           | Matière sèche   |
| <b>EAU</b>          | Extraction assistée aux ultrasons                               |
| <b>EAE</b>          | Extraction assistée par enzyme                                  |
| <b>CLSI</b>         | The Clinical & Laboratory Standards Institute)                  |
| <b>EUCAST</b>       | The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) |
| <b>CMI</b>          | Concentration minimale inhibitrice                              |
| <b>CMB</b>          | Concentration minimale bactéricide                              |
| <b>DMSO</b>         | Diméthylsulfoxyde   |
| <b>ATCC</b>         | American Type Culture Collection                                |
| <b>BM</b>           | Bleu de méthylène   |
| <b>MH</b>           | Muller Hinton   |
| <b>ZI</b>           | Zone d'inhibition   |
| <b>CN10</b>         | Gentamicine   |
| <b>TE 30</b>        | Tétracycline  |
| <b>KET 30</b>       | Kétokonazol   |
| <b>pH</b>           | Potentiel hydrogène   |
| <b>G</b>            | Grossissement   |
| <b>AG</b>           | Acide gallique  |
| <b>EAG</b>          | Equivalent acide gallique                                       |
| <b>EQ</b>           | Equivalent quercétine   |
| <b>EC</b>           | Equivalent catéchine  |

---

|                                     |                             |
|-------------------------------------|-----------------------------|
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b> | Carbonate de sodium         |
| <b>AlCl<sub>3</sub></b>             | Trichlorure d'aluminium     |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>  | Acide sulfurique            |
| <b>UV</b>                           | Ultraviolet                 |
| <b>Tr/min</b>                       | Tour par minute             |
| <b>RDT</b>                          | Rendement                   |
| <b>PPT</b>                          | Polyphénols totaux          |
| <b>P</b>                            | Probabilité                 |
| <b>S.C.E</b>                        | Somme des carrés des écarts |
| <b>DDL</b>                          | Degré de liberté            |

---

## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I</b> : Classification de la plante <i>Artemisia herba alba</i> (INPI, 2014). .....      | 4  |
| <b>Tableau II</b> : Souches bactériennes utilisées et leurs caractéristiques.....                   | 22 |
| <b>Tableau III</b> : Souches fongiques utilisées et leurs caractéristiques. ....                    | 23 |
| <b>Tableau IV</b> : Milieux de culture utilisés. ....   | 23 |
| <b>Tableau V</b> : Préparation des dilutions de l'acide gallique. ....                              | 29 |
| <b>Tableau VI</b> : Préparation des dilutions de la quercétine. ....                                | 30 |
| <b>Tableau VII</b> : Préparation des dilutions de la catéchine. ....                                | 31 |
| <b>Tableau VIII</b> : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition ..... | 35 |
| <b>Tableau IX</b> : Résultats des analyses phytochimiques. ....                                     | 39 |
| <b>Tableau X</b> : Résultats de l'analyse de la variance des différentes variables étudiées.....    | 39 |
| <b>Tableau XI</b> : Effet de l'extraction par ultrasons sur les PPT. ....                           | 40 |
| <b>Tableau XII</b> : Les différentes propriétés microscopiques des souches étudiées. ....           | 44 |
| <b>Tableau XIII</b> : Résultats de l'Antibiogramme et du test de diffusion. ....                    | 45 |
| <b>Tableau XIV</b> : Résultats de la CMI. ....  | 48 |
| <b>Tableau XV</b> : Résultats de la CMB.....  | 51 |

---

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1.</b> L'armoise blanche.....  | 3  |
| <b>Figure 2.</b> Structure chimique principale de quelques flavonoïdes.....  | 7  |
| <b>Figure 3.</b> Structure chimique principale des tanins.....   | 8  |
| <b>Figure 4.</b> Génération, croissance et éclatement de bulles résultante du phénomène de cavitation.....   | 11 |
| <b>Figure 5.</b> Schéma de l'antibiogramme.....  | 17 |
| <b>Figure 6.</b> Etapes de broyage et tamisage de la plante.....   | 24 |
| <b>Figure 7.</b> Etapes de séchage de la poudre.....   | 25 |
| <b>Figure 8.</b> Etapes de détermination de taux de cendres.....   | 26 |
| <b>Figure 9.</b> Etapes d'extraction des extractibles.....   | 27 |
| <b>Figure 10.</b> Etapes de séchage de l'extrait.....  | 28 |
| <b>Figure 11.</b> Résultats de la teneur en humidité, des cendres et des extractibles.....   | 38 |
| <b>Figure 12.</b> Résultats des CMI sur microplaque. (A): CMI de l'extrait sans US ; (B) : CMI de l'extrait soumis aux US 15min ; (C) : CMI de l'extrait soumis aux US 60min. .... | 49 |

---

# **Introduction**

---

---

L'utilisation des plantes médicinales est très ancienne et connaît un regain d'intérêt aussi bien pour les populations que pour les scientifiques, notamment dans les pays en voie de développement où les systèmes de santé sont peu développés et limités aux grandes villes. Les plantes médicinales possèdent diverses activités biologiques et pharmacologiques. Elles sont des réservoirs d'une grande variété des métabolites primaires (acides organiques, les glucides, les lipides et les acides nucléiques) et métabolites secondaires : les alcaloïdes, les composés phénoliques et les terpénoïdes (**Zerargui et al., 2015**).

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 et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

Le continent africain possède une biodiversité exceptionnelle, avec une grande variété de plantes qui sont couramment utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles 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.

Cependant, malgré des études approfondies, il reste encore beaucoup à apprendre sur les propriétés antimicrobiennes globales de l'*Artemisia herba alba*. De nombreux efforts de recherche se sont concentrés sur des composés isolés ou des techniques d'extraction spécifiques, souvent sans comparer différents extraits et leurs bioactivités (**Mapoung et al.,**

---

**2023**). En outre, il est nécessaire d'établir un lien entre la composition chimique de ces extraits et leur efficacité antimicrobienne afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail, dont l'objectif est d'extraire les polyphénols d'*Artemisia herba alba* en utilisant une méthode assistée aux ultrasons, avec des durées d'extraction de 15 minutes et 60 minutes, ainsi qu'un témoin sans ultrasons. Les différents extraits seront ensuite dosés pour comparer les concentrations en polyphénols, flavonoïdes et tanins. L'axe central de ce travail est d'évaluer les activités antibactériennes et antifongiques des extraits obtenus par ces différentes méthodes. Cette étude vise à approfondir notre compréhension du potentiel pharmacologique de l'*Artemisia herba alba*, en mettant en lumière ses propriétés médicinales traditionnelles et en explorant ses applications pratiques dans le domaine de l'agroalimentaire pour améliorer la qualité et la sécurité des produits.

# **Partie I**

---

## **Synthèse bibliographique**

---

## I. Plante Armoise blanche

### I.1 Généralités sur l'armoise blanche

L'armoise blanche, connue depuis des milliers d'années, a été mentionnée par l'historien grec Xénophon au début du IV<sup>e</sup> siècle avant notre ère, dans les régions steppiques de Mésopotamie (**Francise, 2001**). Elle a été officiellement identifiée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordan Claudio de Asso y del Río. Cette plante, surtout appréciée comme pâturage d'hiver pour le bétail, dégage une odeur typique de thymol et a un goût amer qui lui confère ses propriétés astringentes (**Francise, 2001**).



**Figure 1.** L'armoise blanche (<https://remedes.ca/larmoise-une-plante-medicinale-a-connaître/>).

### I.2 Caractéristiques Botaniques de l'Armoise

L'*Artemisia Herba alba*, ou armoise blanche, est une herbacée atteignant 30 à 50 cm de hauteur (**Baba Aissa, 2000**). Ses tiges, très feuillues, forment des touffes plus denses selon les conditions de précipitation (**Ozenda, 1977**). Les feuilles sont courtes, alternes, très découpées et recouvertes d'un duvet blanc. Elles ont une structure pennatifide et se réduisent en taille sur les rameaux, améliorant ainsi la tolérance de la plante à la sécheresse

(Pourrat, 1975). Les fleurs, petites, tubulaires et jaunes, sont hermaphrodites et peuvent dégager une forte odeur. La floraison se produit généralement de juillet à octobre. Les fruits sont des akènes ovoïdes (Messai, 2011). En phytothérapie, les feuilles et les sommités fleuries sont les parties les plus utilisées (Mucciarelli et Maffei, 2002).

### I.3 Classification

L'armoise herba alba est de la famille des *Asteraceae* et du genre *Artemisia*. Elle est aussi connue sous les noms d'armoise des sables ou d'armoise blanche. La classification classique d'*Artemisia Herba alba* selon Judd et al., (2002) est détaillée dans le tableau suivant :

**Tableau I** : Classification de la plante *Artemisia herba alba* (The International Plant Name Index, 2014).

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>Règne</b>              | <b>Plante – Plantae</b>                              |
| <b>Embranchement</b>      | Spermaphytes (Phanérogames) ou « plantes à graines » |
| <b>Sous-embranchement</b> | Angiospermes (Plantes à fleurs)                      |
| <b>Classe</b>             | Dicotylédones (Magnoliopsida)                        |
| <b>Sous-classe</b>        | Asteridae  |
| <b>Ordre</b>              | Asterales  |
| <b>Famille</b>            | Astéracées ou composée                               |
| <b>Tribu</b>              | Anthemideae  |
| <b>Sous-tribu</b>         | Aremisiinae  |
| <b>Genre</b>              | <i>Artemisia</i>                                     |
| <b>Espèce</b>             | <i>Artemisia herba alba</i>                          |

### I.4 Composition Chimique

L'armoise blanche est un fourrage de grande valeur, avec un taux de cellulose inférieur à son apparence (17 à 33 %). La matière sèche (MS) contient de 6 à 11 % de protéines brutes, dont 72 % sont des acides aminés. Le  $\beta$ -carotène varie de 1,3 à 7 mg/kg selon les saisons. La valeur énergétique est faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente au printemps (0,92 UF/kg MS), diminue en été (0,6 UF/kg MS) et augmente de nouveau en automne après les pluies de septembre (0,8 UF/kg MS). La partie aérienne de l'*Artemisia Herba alba* a des propriétés antioxydantes importantes grâce aux flavonoïdes, polyphénols et

tanins, qui inhibent la production de superoxyde, d'hydroxyle et la peroxydation lipidique dans les microsomes (**Bruneton, 1999**).

## II. Les polyphénols de l'armoise et leurs propriétés antimicrobiennes

### II.1 Présentation des polyphénols de l'Armoise

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

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs dans les racines, les tiges, les fleurs, et les feuilles. Ce sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation qui se trouvent dans les légumes et fruits, les légumes secs et graines oléagineuses, les céréales, les olives, le café, et les jus de fruits. Les fruits et légumes contribuent environ pour la moitié de notre apport en polyphénols (**Middleton et al., 2000**). Un rôle important est attribué aux phénols dans la résistance des plantes aux maladies, Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. En effet l'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les zones avoisinantes est également observée à la suite de blessures causées par des facteurs mécaniques. De plus, les polyphénols sont connus aussi pour leur rôle dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur, pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, et enfin pour leurs propriétés antifongiques et antibactériennes (**Benhammou, 2012**).

#### II.1.1 Classification

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

### II.1.1.1 Phénols simples et acides phénoliques

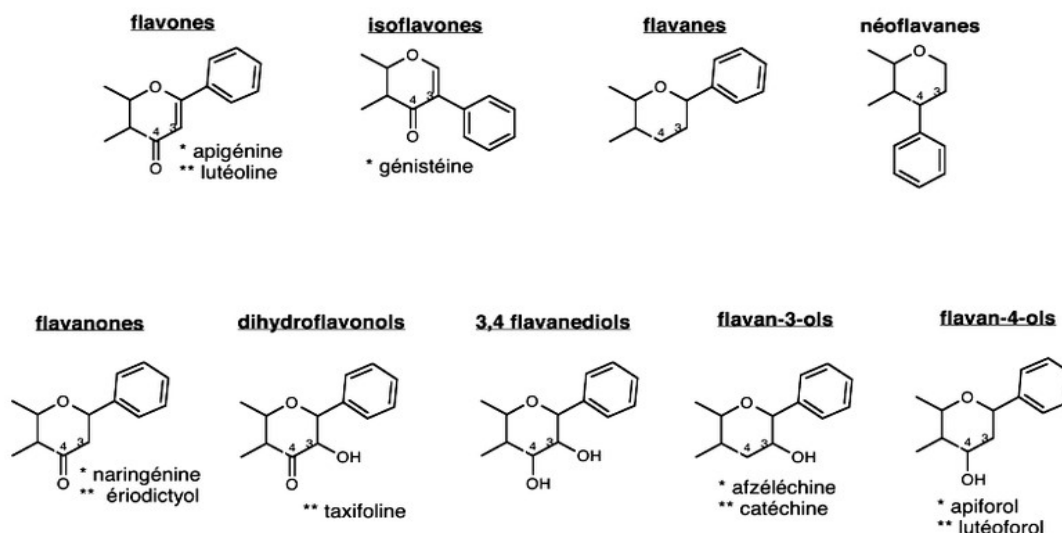
➤ **Phénols simples** : les phénols simples tels que le catéchol, le gaulthol, et le phloroglucinol sont plutôt rare dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles des plantes (Rosacées) (**Bruneton, 2009**).

➤ **Acides phénoliques** : Ils représentent tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils se trouvent en abondance dans les fruits et les légumes tels que le chou vert, le chou blanc, les haricots verts, les épinards, et la salade pommée, ils sont subdivisés en deux groupes :

### II.1.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus représentatif et le plus étudié des composés phénoliques ; ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. De point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, à ce jour environ 4000 variétés flavonoïques sont connus, et ont tous la même structure de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> de type phényl-2-benzopyrane, les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux aromatiques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (**De Rijke et al., 2006**).

Les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères. Le squelette d'hydrocarbures est la base de subdivision des flavonoïdes en plusieurs sous-classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones ; isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanones, isoflavanones, etaurones (**Tsimogiannis et Oreopoulou, 2019**).

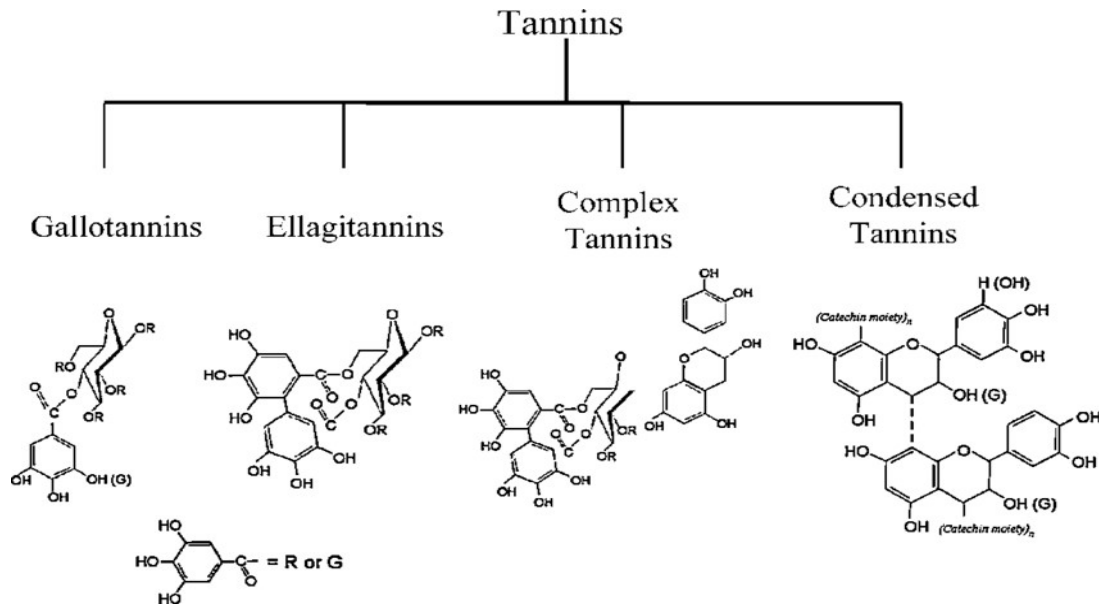


**Figure 2.** Structure chimique principale de quelques flavonoïdes (Boutakiout et Elothmani, 2015)

### II.1.1.3 Tanins

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire très répandu dans le règne végétal particulièrement dans certaines familles (Fagacée, Rosacées, Conifères), et se trouvent dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines. Ce sont des molécules fortement hydroxylées ayant la capacité de former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux protéines, aux glucides et aux enzymes digestives en réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés ainsi à d'autres polymères tels que la cellulose et les éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2010).

Ils sont divisés en deux groupes : les tanins condensés, constitués d'unités de flavan-3-ols ou flavan-3-diols, le plus souvent épicatechine et catéchine, et les tanins hydrolysables qui peuvent libérer par hydrolyse chimique ou enzymatique une partie non phénolique (souvent le glucose ou l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins) soit un dimère de ce même acide, l'acide éllagique (cas des éllagitannins) (Macheix, 1996).



**Figure 3.** Structure chimique principale des tanins (Aguilar *et al.*, 2007).

#### II.1.1.4 Coumarines (C6-C3)

Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres, et constituent un moyen de défense aux attaques biotiques et abiotiques (Bendif, 2017).

#### II.1.1.5 Stilbènes

Ce sont des composés phénoliques qui possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines produit par les plantes en réponse aux attaques des pathogènes (resveratrol, transresveratrol). Les principales sources sont les raisins, les vins, le soja, et l'arachide (Ozcan *et al.*, 2014).

#### II.1.1.6 Lignanés

Ils résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Ils sont élaborés par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool confrérique ; ils se trouvent essentiellement dans les graines oléagineuses (Dacosta, 2003).

### III. Méthodes d'extraction des polyphénols de l'armoise

#### III.1 Méthodes d'extraction traditionnelles

##### III.1.1 Infusion

L'infusion est un processus similaire à la préparation des tisanes, consistant à verser de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale. Ce processus permet d'extraire efficacement les composés actifs présents dans les plantes, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les terpènes, qui peuvent avoir divers effets sur la santé humaine. L'infusion est particulièrement adaptée pour les feuilles, les fleurs et les petites graines, car elle permet une libération optimale des composés phytochimiques solubles dans l'eau. La durée de repos de la mixture, généralement entre 10 et 15 minutes, est importante pour garantir une concentration maximale de ces composés dans l'infusion finale (**Lehout, 2015**).

##### III.1.2 Décoction

C'est un procédé de préparation des extraits de plantes où la matière végétale est placée dans de l'eau froide, puis portée à ébullition et maintenue à feu doux pendant environ 15 minutes ou plus. Ce processus permet une extraction efficace des composés actifs présents dans les racines et l'écorce des plantes, tels que les alcaloïdes, les tanins et les saponines. La décoction est une méthode appropriée pour extraire ces composés spécifiques en raison de leur nature souvent insoluble dans l'eau froide mais solubles dans l'eau chaude. Une fois la décoction terminée, l'extrait aqueux est généralement décanté ou filtré pour obtenir un liquide clair et concentré en principes actifs végétaux (**Akesbi, 2021**).

##### III.1.3 Macération

C'est une méthode simple d'extraction des composés actifs des plantes, impliquant le trempage des plantes dans de l'eau froide pendant plusieurs heures. Cette technique permet à l'eau d'absorber progressivement les principes actifs des plantes, tels que les huiles essentielles, les flavonoïdes et les composés phénoliques. Il convient de noter que les plantes peuvent également être macérées dans d'autres solvants tels que l'alcool ou la glycérine, offrant ainsi des options d'extraction adaptées à différents besoins et applications (**Allaki, 2021**).

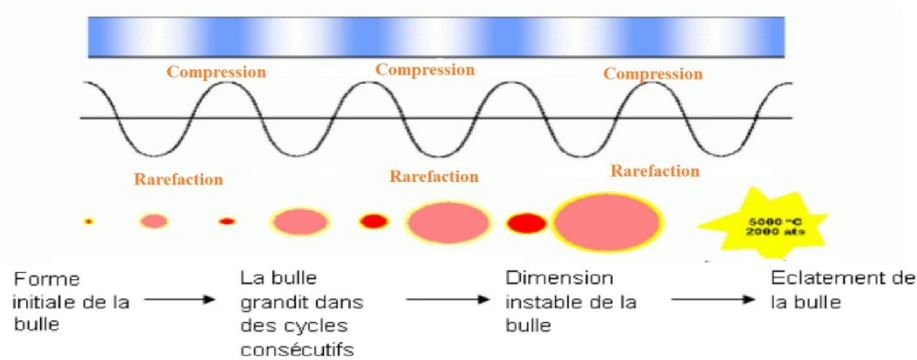
### III.2. Méthodes d'extractions modernes

#### III.2.1 Extraction par Soxhlet

C'est une méthode largement utilisée en chimie et en pharmacologie pour isoler efficacement les composés actifs des plantes. Cette technique implique l'utilisation d'un solvant organique chauffé dans un appareil Soxhlet. Le solvant s'évapore du ballon central de l'appareil et traverse une cartouche de cellulose contenant la matière végétale à extraire, assurant ainsi un contact continu avec les composés à extraire. Ensuite, le solvant se condense goutte à goutte et, lorsqu'il atteint un seuil dans le tube siphon, il est renvoyé dans le ballon, marquant la fin d'un cycle d'extraction. Ce processus se répète pour plusieurs cycles, permettant une extraction exhaustive des composés souhaités (**Kallela, 2020 ; Ferdjallah, 2021**)

#### III.2.3 Extraction par ultrasons ou sonication

L'extraction par ultrasons, également connue sous le nom de sonication, est une méthode qui s'inspire de l'hydrodistillation traditionnelle et de l'extraction par solvant organique. Contrairement aux méthodes conventionnelles, où la matière première est simplement immergée dans de l'eau ou du solvant, l'extraction par ultrasons implique l'application simultanée d'ondes ultrasonores à la solution. Ces ondes agissent sur la matière première en provoquant des phénomènes de cavitation et de micro turbulences, ce qui facilite l'extraction des composés souhaités. Cette technique est particulièrement adaptée à l'extraction des huiles essentielles, où elle permet d'améliorer le rendement et la qualité des extraits obtenus. Cependant, son application ne se limite pas aux huiles essentielles ; elle a également été largement étudiée pour l'extraction de molécules présentant un intérêt thérapeutique, telles que les composés bioactifs des plantes médicinales. L'avantage principal de l'extraction par ultrasons réside dans sa capacité à réduire les temps d'extraction et à améliorer l'efficacité globale du processus, tout en minimisant l'utilisation de solvants et en préservant la qualité des extraits. Cette méthode offre donc une alternative prometteuse aux techniques conventionnelles d'extraction, en répondant aux exigences croissantes en matière d'efficacité, de durabilité et de qualité des produits extraits (**Benzeggouta, 2014**).



**Figur4.** Génération, croissance et éclatement de bulles résultante du phénomène de cavitation (Mason al., 2002).

Les méthodes d'extraction modernes incluent diverses techniques innovantes qui optimisent l'extraction de composés précieux tout en réduisant l'empreinte environnementale. L'extraction par fluides supercritiques utilise des solvants comme le CO<sub>2</sub> au-dessus de leur point critique, permettant une extraction efficace et sélective sans résidus de solvant. L'extraction par eau surchauffée ou subcritique utilise l'eau à des températures et pressions spécifiques pour extraire des composants thermolabiles tout en préservant leur intégrité. L'extraction assistée par micro-ondes applique une énergie électromagnétique pour chauffer rapidement et uniformément les échantillons, accélérant ainsi l'extraction de composés volatils. Enfin, l'extraction assistée par enzymes (EAE) utilise des enzymes spécifiques pour catalyser la dégradation des composés cibles, offrant une méthode douce et sélective. Ces approches témoignent de l'engagement de l'industrie à développer des techniques d'extraction plus efficaces, respectueuses de l'environnement et adaptées aux exigences croissantes de durabilité.

#### IV. Facteurs influençant les performances de l'extraction des polyphénols

##### IV.1 Taille des particules

Le broyage est largement reconnu pour son impact positif sur les opérations d'extraction. En fragmentant le solide, il accroît la surface spécifique, favorisant ainsi le transfert du solvant et réduisant la distance de pénétration dans le matériau végétal. Cette intensification améliore le gradient de concentration, accélérant le processus d'extraction (Mafart et al., 2004). Cependant, une fragmentation excessive peut entraîner des problèmes tels que l'évaporation des composés volatils et la suppression des éléments actifs. Les particules très fines peuvent également réduire la perméabilité du lit solide au solvant, créant

des chemins préférentiels qui entravent le processus d'extraction dans certaines zones. Ainsi, un équilibre doit être trouvé pour maximiser les avantages du broyage sans compromettre la qualité de l'extrait (**Leybros et al., 1990**).

### IV.2 Nature du solvant

La sélection du solvant pour l'extraction est importante, nécessitant un équilibre entre efficacité et sécurité. Idéalement, le solvant doit être sélectif, avoir une forte capacité de dissolution et une température de fonctionnement basse pour éviter la dégradation des composés thermolabiles (**Aguilera et al., 2003**). Il doit également être non toxique, non inflammable et avoir une volatilité élevée pour réduire les temps d'évaporation. Les solvants comme l'eau et l'éthanol, et leurs mélanges, sont souvent privilégiés pour leur innocuité, les rendant adaptés à l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Ignat et al., 2011**).

### IV.3 pH du milieu d'extraction

L'ajustement du pH dans le processus d'extraction est essentiel, surtout pour les polyphénols. La solubilité des molécules varie avec le pH du solvant. Dans le cas des polyphénols, une acidification est souvent préférée pour stabiliser ces composés, faciliter leur dissolution et leur diffusion dans la matrice végétale. Différents pH peuvent cibler spécifiquement différents groupes de polyphénols, permettant ainsi d'obtenir des extraits riches en composés particuliers. Par exemple, une extraction à pH 6 à partir de fibres d'avoine a donné des rendements intéressants en composés phénoliques, tandis qu'à pH 10, les acides gras et les protéines ont été extraits (**Lehtinen et al., 1998**).

### IV.4 Temps et température

L'optimisation du temps et de la température est essentielle pour réduire les coûts énergétiques de l'extraction des polyphénols. La détermination du temps optimal d'extraction demeure un sujet de débat, avec des recommandations variant de courtes durées de 5 à 30 minutes (**Yilmaz et al., 2006**) à des périodes plus longues allant jusqu'à 24 heures (**Fischer, 2013**). Un temps d'extraction excessivement prolongé peut cependant compromettre à la fois le rendement et la qualité antioxydante des extraits (**Galvan et al., 2012**). En ce qui concerne la température, les températures élevées sont généralement favorables au rendement d'extraction. Elles réduisent la viscosité du solvant, favorisant ainsi sa pénétration dans la matrice végétale, et augmentent la solubilité et les coefficients de diffusion des composés. Cependant, une température excessive peut entraîner la dénaturation des composés à extraire

et affecter la stabilité des polyphénols. Ainsi, trouver un équilibre entre une température optimale pour l'extraction efficace et une température qui préserve la qualité des composés est essentiel dans le processus d'extraction des polyphénols (**Larrauri et al., 1998**).

### **IV.5 Agitation**

Elle permet la mise en suspension des particules de solide dans le solvant mais aussi l'homogénéisation du milieu considéré. L'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide-liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert. Si l'agitation est maintenue durant une longue période, elle va favoriser les chocs entre les différentes particules et permettre ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu (**Dibert et al., 1989**).

### **IV.6 Rapport solide/liquide**

Un faible rapport solide/liquide favorise l'extraction des polyphénols. Ce ratio peut être ajusté en modulant le volume de solvant. Cependant, l'augmentation du volume de solvant, outre les préoccupations liées à sa toxicité, peut impacter les coûts économiques et énergétiques de l'extraction. Elle risque également de diluer le soluté et de prolonger la procédure d'extraction en rendant l'élimination du solvant plus longue. À l'inverse, des rapports solide/liquide trop élevés peuvent saturer le soluté dans le solvant et réduire la pénétration du solvant dans le matériau végétal (**Pradal et al., 2016**).

### **IV.7 Soluté**

Le soluté à extraire influe sur la diffusion de par sa structure moléculaire, sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés. Il a été montré que la vitesse de diffusion diminue quand la taille moléculaire augmente. Les substances à extraire, localisées à l'intérieur des cellules, se présentent sous forme libre lorsque celles qui participent à la structure sont liées à d'autres composés. Leurs concentrations varient selon les conditions climatiques de croissance, les conditions de récoltes, l'état de maturité et le conditionnement (**Lalou, 1995**).

### **IV.8 Humidité**

En règle générale, les matières végétales sont séchées pour faciliter leur conditionnement et leur stockage. Un surplus d'humidité peut donc détériorer le substrat. De

plus, lors de l'utilisation de solvants hydrophobes, la diffusivité est inversement proportionnelle à la teneur en eau du solide (Leybros, 1990).

## V. Activités antimicrobiennes des polyphénols

Une des fonctions incontestées des composés phénoliques et des flavonoïdes est leur rôle dans la protection des plantes contre l'invasion des pathogènes (bactéries, champignons, virus...) ; alors il n'est pas surprenant qu'ils se soient révélés être des substances antimicrobiennes efficaces in vitro contre un large éventail de microorganismes (Cowan, 1999).

Parmi les polyphénols, les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leur large spectre et de leur activité antimicrobienne plus élevée que celle des autres polyphénols, et du fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer un certain nombre de facteurs de virulence microbiens (comme l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion des ligands de l'hôte, et la neutralisation de toxines bactériennes) ; en présentant ainsi une synergie avec les antibiotiques, ils peuvent augmenter ou restaurer l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance (Daglia, 2012).

Il y a lieu de mentionner quelques résultats importants publiés ces dernières années : les extraits méthanoliques d'écorces de grenades (*Punicagranatum*) contiennent des concentrations élevées de tanins hydrolysables, d'acide ellagique et d'acide gallique qui ont montré une activité contre *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae* et *Listeria monocytogenes* (Coppo et Marchese, 2014).

Parmi les plantes aussi contenant de différents composés phénoliques douées d'activités antimicrobiennes on peut citer : *Zingiberofficinalis*, *Thymus vulgaris*, *Boswelliacarterii*, *Momordicabalsamina*, *Cyperus rotundus*, *Nymphéa lotus*, *Olea europaea*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinusofficinalis*, *Curcuma longa*, *Haloxylonscoparium*, *Artemisia herba-alba*, et la liste est très longue (Haida et al., 2020 ; Othman et al., 2019)

## VI. Mécanismes d'action des polyphénols contre les microorganismes

### VI.1 Intercalation dans la membrane bactérienne

Les composés phénoliques, notamment les flavonols, ciblent les phospholipides de la membrane bactérienne en raison de leur hydrophobie, ce qui leur permet d'exercer leur activité antibactérienne à l'intérieur de la cellule. Certains flavonols ont la capacité de pénétrer la membrane bactérienne. L'entrée de molécules telles que le carvacrol crée un grand espace entre les chaînes d'acides gras des phospholipides. Cela augmente la fluidité de la membrane et provoque des fuites de protons et d'ions potassium, une diminution du gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique et un blocage de la synthèse d'ATP. Ces changements entraînent des modifications de conformation et un manque de régulation de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaire des substances nutritives. Finalement, ces perturbations conduisent à la mort des cellules bactériennes (Ultee et al., 2002).

Il a été démontré que les composés phénoliques peuvent agir en chélatant le fer, essentiel pour la survie de nombreuses bactéries. Ils interagissent également par des forces non spécifiques, affectant les membranes microbiennes, les adhésines, les enzymes et le transport à travers l'enveloppe cellulaire. Les polyphénols peuvent induire des changements irréversibles chez différentes bactéries telles qu'*Escherichiacoli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylocoque aureus*, provoquant la rupture des membranes et la formation de pores, entraînant des fuites de constituants intracellulaires. De plus, les polyphénols inhibent la motilité bactérienne en provoquant la perte des flagelles et peuvent empêcher la formation de biofilms (Ceruso et al., 2020). Ces effets s'appliquent également à d'autres composés tels que les phénols simples, les flavan-3 ols, et les tannins (y compris les proanthocyanidines, les gallotannins et les ellagitannins). Ces composés agissent directement sur le métabolisme microbien en privant les cellules de micronutriments essentiels, notamment le fer et le zinc. Par exemple, les flavan-3-ols ont inhibé la croissance in vitro de plusieurs espèces bactériennes telles que *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* et *Escherichia coli* en réduisant certains facteurs de virulence comme la formation de biofilms et la motilité bactérienne (Burt, 2004 ; Borges et al., 2012). Lorsqu'ils s'incorporent dans la membrane bactérienne, les composés phénoliques peuvent également perturber le fonctionnement des protéines membranaires par interaction directe. Ces interactions, présentes sur la paroi cellulaire bactérienne, peuvent entraîner la complexation irréversible de protéines, conduisant souvent à leur inactivation et à une perte de fonction. Les protéines d'adhésines exposées en surface, les polypeptides de la paroi

cellulaire et les enzymes membranaires telles que l'ATPase sont les principales cibles de ces composés, ce qui perturbe le métabolisme énergétique et inhibe ainsi la croissance microbienne (Pooja *et al.*, 2017 ; Prescott *et al.*, 2018).

### **VI.2 Pénétration des composés phénoliques jusqu'au cytoplasme**

Certains composés phénoliques, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, peuvent traverser les limites de la membrane jusqu'au cytoplasme. Les acides phénoliques sont caractérisés par leur aptitude d'agir comme des acides faibles, et entraînent une altération des fonctions enzymatiques et/ou des molécules structurelles ainsi qu'une perte d'énergie nécessaire à l'efflux des protons et donc inhibition de la croissance microbienne.

### **VI.3. Perturbation du métabolisme**

Les flavonoïdes perturbent le métabolisme bactérien en provoquant une perte d'équilibre de la membrane. Ils inhibent la synthèse des acides nucléiques et le métabolisme énergétique en inactivant des enzymes clés nécessaires à la synthèse de l'ADN, telles que la topo-isomérase et la dihydrofolate réductase (Zhang *et al.*, 2009).

### **VI.4. Autres propriétés**

Les composés phénoliques sont impliqués dans la modulation immunitaire, où nous les trouvons dans l'immunité innée. Leur rôle est l'amélioration de l'activité phagocytaire des macrophages, et donc la capacité de tuer les agents pathogènes intracellulaires, aussi ils sont impliqués dans l'immunité acquise par la stimulation cellulaire qui entraîne la sécrétion d'IFN $\gamma$  et améliore le fonctionnement des cellules présentant l'antigène (macrophage et cellule dendritique) conduisant à une stimulation supplémentaire de la réponse immunitaire et enfin la mort des cellules.

## **VII. Évaluation des activités antimicrobiennes des polyphénols**

### **VII.1 Méthodes de test utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne**

#### **VII.1.1 Méthode de l'antibiogramme**

Le test de sensibilité aux antibiotiques, ou antibiogramme, est un test *in vitro* qui détermine la sensibilité ou la résistance des bactéries à des antibiotiques spécifiques. Il est réalisé en exposant le micro-organisme à différents antibiotiques dans un environnement de laboratoire contrôlé pour évaluer leur efficacité à inhiber ou à tuer les bactéries. Les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques aident les cliniciens à choisir le ou les antibiotiques

les plus efficaces pour traiter une infection bactérienne. L'antibiogramme joue également un rôle important dans la surveillance des modèles de résistance bactérienne. En évaluant la sensibilité ou la résistance des bactéries à divers antibiotiques, il fournit des données précieuses sur la prévalence et les tendances de la résistance aux antibiotiques dans une population ou une zone géographique particulière. Les principes de l'antibiogramme reposent sur l'évaluation de la capacité des antibiotiques à inhiber la croissance des bactéries ou à les tuer. Un inoculum standardisé de bactéries, est appliqué sur la surface d'une boîte de gélose Mueller-Hinton (MH). Des disques de papier filtre imprégnés d'agents antimicrobiens sont ensuite placés sur la gélose. Après une nuit d'incubation, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré autour de chaque disque. En se référant aux tableaux de la norme CLSI (The Clinical & Laboratory Standards Institute) ou EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), on obtient un rapport qualitatif indiquant si les bactéries sont sensibles, intermédiaires ou résistantes à l'agent antimicrobien testé. ([Antibiogramme : Définition, Protocole, Interprétation \(microbiologie-clinique.com\)](http://microbiologie-clinique.com))

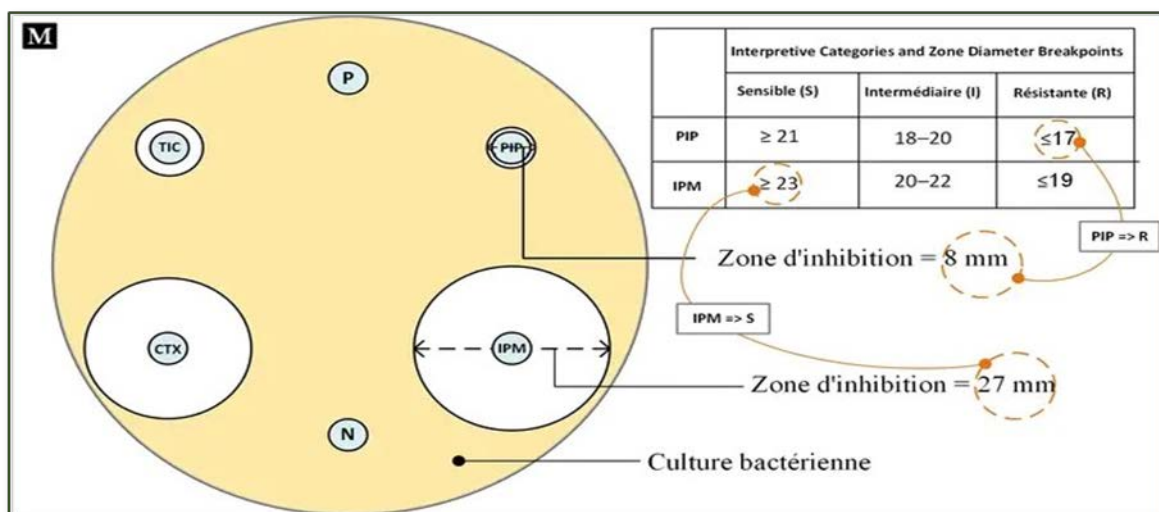


Figure 5. Schéma de l'antibiogramme ([Antibiogramme : Définition, Protocole, Interprétation \(microbiologie-clinique.com\)](http://microbiologie-clinique.com))

### VII.1.2 Méthode de diffusion en disque

La diffusion en disque fait référence à la diffusion d'un agent antimicrobien à partir d'un disque ou d'un comprimé contenant une concentration donnée de l'agent dans un milieu de culture solide (généralement une gélose de Müller-Hinton), inoculé avec une culture pure. Le résultat de la diffusion en disque est obtenu par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque, ce diamètre étant proportionnel à la sensibilité de la bactérie à l'agent antimicrobien présent dans le disque. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le

milieu de culture se traduit par un gradient de concentration de l'antimicrobien. Lorsque la concentration de l'antimicrobien devient si faible qu'il ne parvient plus à inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition se démarque. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque d'antimicrobien est lié à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour cette combinaison spécifique bactérie/antimicrobien ; la zone d'inhibition est en corrélation inverse avec la CMI de la bactérie testée. En règle générale, plus la zone d'inhibition est large, plus la concentration d'antimicrobien requise pour inhiber la croissance des microorganismes est faible. Cela dépend toutefois de la concentration d'agent antimicrobien dans le disque et de sa diffusibilité. Les agents antimicrobiens dont la taille moléculaire est très élevée diffusent mal dans la gélose, ce qui rend les méthodes de diffusion en disque peu fiables pour ces composés. C'est pourquoi les méthodes de diffusion en disque ne sont par exemple pas recommandées pour tester la sensibilité à la colistine/polymyxine (Matuschek *et al.*, 2018).

### VII.1.3 Méthode de dilution en bouillon

C'est une technique dans laquelle une suspension de bactéries d'une concentration optimale préalablement définie est testée par rapport à des concentrations variables d'un agent antimicrobien (en général, dilutions sérielles au demi) dans un milieu liquide à la formulation prédéfinie et documentée. La méthode de dilution en bouillon peut être réalisée soit dans des tubes contenant un volume minimal de 2 ml (macrodilution) ou en plus petits volumes au moyen de plaques microtitres (microdilution). De nombreuses plaques microtitres contenant, dans leurs puits échantillon, des antibiotiques pré-dilués lyophilisés ou déshydratés sont sur le marché. L'utilisation de plaques microtitres issues des mêmes lots peut contribuer à minimiser les variations susceptibles d'apparaître lors de la préparation et de la dilution des antimicrobiens par différents laboratoires. L'utilisation de ces plaques, avec un protocole de test documenté incluant la spécification ainsi que les organismes de référence appropriés, facilitera la comparabilité des résultats entre laboratoires (Matuschek *et al.*, 2018).

### VII.1.4 Méthode de dilution en gélose

La dilution en gélose consiste à incorporer des concentrations variables d'agent antimicrobien dans un milieu gélifié, traditionnellement en procédant à des dilutions sérielles au demi, suivies de l'insémination d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose. Cette méthode peut être considérée comme la plus fiable pour déterminer la CMI pour certains antimicrobiens (fosfomycine, mécillinam) ainsi que pour certaines bactéries pour lesquelles les méthodes de dilution en bouillon ne sont pas bien établies (CLSI, 2015).

## VIII. Résultats des études sur l'activité antimicrobienne des polyphénols

Les polyphénols ont suscité un intérêt croissant au cours des deux dernières décennies en raison de leur potentiel préventif contre les maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et les maladies neurodégénératives. Initialement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et chélatrices de métaux, les polyphénols ont également démontré leur capacité à inhiber diverses enzymes clés, comme la télomérase (Naasani et al., 2003) la cyclooxygénase (Hussain et al., 2005) et la lipoxygénase (Sadik et al., 2003) ainsi qu'à interagir avec les voies de signalisation cellulaires et les récepteurs (Wiseman et al., 2001). Parallèlement, leur potentiel antimicrobien contre un large éventail de micro-organismes a été étudié en profondeur, mettant en lumière les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins pour leur spectre étendu et leur activité antimicrobienne supérieure. Ces composés sont capables de supprimer des facteurs de virulence bactérienne tels que la formation de biofilms, réduire l'adhésion aux ligands hôtes et neutraliser les toxines bactériennes, souvent agissant en synergie avec les antibiotiques. Les applications potentielles incluent le développement de nouveaux conservateurs alimentaires (Rodriguez et al., 2010) pour répondre à la demande croissante de solutions naturelles et l'exploration de thérapies innovantes face à la montée de la résistance microbienne aux antibiotiques traditionnels (Jayaraman et al., 2010).

### VIII.1 Utilisation des polyphénols comme nouvelle stratégie de lutte contre la résistance microbienne en combinaison avec des médicaments anti-infectieux

Les maladies infectieuses restent parmi les principales causes de morbidité et de mortalité tant dans les pays développés que dans les pays en développement. La pression sélective exercée par l'utilisation, la mauvaise utilisation et la surutilisation de médicaments anti-infectieux a soulevé le problème des microbes résistants aux antibiotiques (bactéries, virus ou parasites) qui ont acquis la capacité de survivre aux médicaments existants à des concentrations cliniquement pertinentes et sont responsables de maladies très graves, telles que le sida, la tuberculose, la gonorrhée, le paludisme, la grippe, la pneumonie, la diarrhée et les infections chroniques causées par les biofilms bactériens. Les options thérapeutiques pour ces agents pathogènes dits acquis dans la communauté (tels que *S. aureus* résistant à la pénicilline, à la méthicilline et à la vancomycine ou *V. cholera* multirésistant) sont extrêmement limitées, de même que les perspectives de développement de la prochaine génération de médicaments antimicrobiens. Récemment, en considérant que les antibiotiques sont des composés biologiques produits par des bactéries ou d'autres micro-organismes et

capables de tuer ou de supprimer la croissance et la reproduction d'autres bactéries (Martinez, 2009) plusieurs recherches ont proposé que les polyphénols, métabolites secondaires développés par les plantes comme stratégie de défense contre les insectes, champignons ou bactéries phytophages, pourraient être utilisés en combinaison avec des antibiotiques afin de potentialiser leur efficacité, pour réduire la dose d'antibiotiques et, par conséquent, pour réduire les effets indésirables des antibiotiques (Coutinho et al., 2009).

### VIII.2. Rôle des polyphénols dans la réduction de la formation de biofilms

Les recherches sur l'activité des composés phénoliques végétaux contre les biofilms bactériens ont révélé qu'en plus de leur capacité à détruire les bactéries, ils peuvent également interférer avec les mécanismes de régulation bactériens tels que la détection du quorum et d'autres systèmes régulateurs mondiaux. Cela permet de réduire la formation de biofilms sans affecter la croissance bactérienne directement (Silva, 2016). Les bactéries les plus étudiées pour leur capacité à former des biofilms comprennent *Staphylococcus aureus* et les staphylocoques à coagulase négative, qui sont impliqués dans les infections associées aux dispositifs médicaux (Donlan, 2001). De plus, *Streptococcus mutans* est reconnu comme un agent majeur dans la formation de caries dentaires (Do, 2013).

## IX. Utilisations et intérêts de l'*Artemisia herba alba*

### IX.1 Usages traditionnels

L'espèce *Artemisia herba alba* est largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle a été utilisée, tout d'abord, comme aromatisant dans le thé et le café, puis elle est devenue une panacée dans la médecine traditionnelle arabo-musulmane. Traditionnellement utilisée pour traiter les désordres gastriques ainsi que pour son activité antihelminthique, elle présente aussi un caractère vermifuge très prisé pour le bétail. Des études ethno pharmacologiques ont montré l'intérêt de l'armoise blanche contre le diabète grâce à son activité hypoglycémiante, ainsi que contre l'hypertension, et également la présence d'activité emménagogue. Les extraits aqueux d'armoise blanche montrent des activités antileishmaniose, antigénotoxiques, antidiabétiques, antibactériennes et antispasmodiques. L'huile essentielle présente quelques activités : antimicrobiennes, antifongiques, spasmolytiques et hypoglycémiques (Marrif, 1995 ; Bellakhdar, 1997).

### IX.2 Usages cosmétiques

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

### IX.3 Usages alimentaires

En alimentation, l'*Artemisia herba alba* est utilisée comme 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**).

### IX.4 Intérêt Médical

Depuis l'isolement de l'artémisinine en 1972, plus d'un million de malades, en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud, ont été traités avec cette molécule ou un de ses dérivés, principalement l'artésunate et l'artéméther (**Rawls et al., 2003**). Actuellement, l'artémisinine est disponible en Chine et au Vietnam, sous forme de capsules et de suppositoires. Elle est moins onéreuse que ses dérivés mais également moins active ; des résultats probants ont toutefois été obtenus avec les suppositoires chez des enfants souffrants de malaria aiguë (**Bremner et Mulvaney, 1982**). Par ailleurs, l'artéméther, sous forme injectable, est aujourd'hui enregistré dans plusieurs pays d'Afrique, d'Amérique du Sud et bien sûr d'Asie du Sud-Est. Mais le dérivé le plus prometteur est certainement l'artésunate, que ce soit sous forme injectable, de comprimés ou de suppositoire. Des médicaments confectionnés avec cette molécule sont disponibles depuis quelques années déjà en Chine, en Thaïlande, en Birmanie et au Vietnam et au Brésil (**Soltner, 1996**). *Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (**Ghrabi et Sand, 2008**).

## **Partie II**

---

### **Partie expérimentale**

---

---

## **Matériel et méthodes**

---

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'effet des ultrasons sur l'extraction des polyphénols totaux de l'*Artemisia herba alba* et de tester l'activité antimicrobienne de ces extraits sur différentes souches microbiennes. Cette étude a été réalisée dans les laboratoires de physico-chimie et de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de TIZI- OUZOU.

## **I. Matériel**

### **I.1 Matériel biologique**

#### **I.1.1 Armoise blanche (*Artemisia herba alba*)**

La plante *Artemisia herba alba* était récoltée dans la région de Boussaâda (wilaya de Msila) commune Ben Srour en Avril 2023. Les échantillons ont été conservés dans des sacs à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leur utilisation.

#### **I.1.2 Souches microbiennes utilisées**

Les souches bactériennes et fongiques utilisées sont des souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) fournies par le laboratoire de biochimie analytique et biotechnologie et le laboratoire de microbiologie pédagogique du département de biochimie microbiologie de l'UMMTO. Les souches et leurs caractéristiques sont résumées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II** : Souches bactériennes utilisées et leurs caractéristiques.

| <b>Souches bactériennes</b>              | <b>Gram</b> | <b>Température d'incubation</b> | <b>Durée d'incubation</b> |
|--|-------------|---------------------------------|---------------------------|
| <i>Esherichia Coli</i> ATCC 25922        | Gram -      | 37°C                            | 18 à 24H                  |
| <i>Klebsiella Pneumoniae</i> ATCC 700603 |             |                                 |                           |
| <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC MU50   | Gram+       |                                 |                           |
| <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 494552 |             |                                 |                           |
| <i>Bacillus Subtilis</i> ATCC 6633       |             |                                 |                           |

**Tableau III** : Souches fongiques utilisées et leurs caractéristiques.

| Souches fongiques              | Type       | Température d'incubation | Durée d'incubation |
|--------------------------------|------------|--------------------------|--------------------|
| <i>Candida albicans</i> ATCC37 | Levure     | 25°C                     | 4-5 jours          |
| <i>Aspergillus niger</i>       | Moisissure |                          |                    |

## I.2 Matériels non biologiques

### I.2.1 Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés pour les activités antimicrobiennes sont résumés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau IV** : Milieux de culture utilisés.

| Tests  | Milieux de culture    | Microorganismes  |
|--|-----------------------|--|
| <b>Repiquage / revivification des souches microbiennes</b> | Gélose Chapman        | <i>Staphylococcus aureus</i> ,                             |
|  | Gélose Hektoen        | <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>     |
|  | Gélose Nutritive      | <i>Bacillus subtilis</i> ,<br><i>Enterococcus faecalis</i> |
|  | Gélose Sabouraud      | <i>Candida albicans</i><br><i>Aspergillus niger</i>        |
| <b>Antibiogramme</b>                                       | Gélose Mueller-Hinton | Bactéries, levure et Moisissure                            |

La suite du matériel non biologique à savoir les appareils, la verrerie et les produits utilisés dans cette étude sont résumés dans l'**annexe 01**.

## II. Méthodes

### II.1 Préparation de la poudre végétale de l'armoise

Après la récolte de la plante, toutes les impuretés ont été soigneusement enlevées. Les plantes ont ensuite été séchées au soleil. Une fois séchées, les parties aériennes ont été séparées et broyées à l'aide d'un mortier jusqu'à obtention d'une poudre très fine. Cette poudre a été tamisée pour éliminer les particules grossières, puis conservée dans des boîtes en

verre à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante, jusqu'au moment de l'utilisation.



**Figure 6.** Etapes de broyage et tamisage de la plante.

### II.2 Préparation de l'extrait assisté aux ultrasons

Le solvant éthanol à 70% a été choisi en raison de sa capacité à extraire un large éventail de polyphénols, de sa faible toxicité et de sa disponibilité. Ce solvant est optimal en raison de ses propriétés combinées, alliant à la fois des caractéristiques polaires et non polaires qui facilitent la solubilisation des biomolécules. Comparé à d'autres solvants organiques, l'éthanol à 70% présente une toxicité moindre, ce qui le rend plus sûr à manipuler et plus respectueux de l'environnement. Chaque essai a débuté par l'ajout de 40 ml d'éthanol à 70% à 2 g de poudre végétale, suivi d'une homogénéisation sur une table d'agitation à 200 tr/min pendant 24 heures. Ensuite, le macérât a été soumis à un bain à ultrasons à une fréquence constante de 35 kHz et à une température de 5°C, pour des durées de 15 et 60 minutes respectivement. Deux échantillons de contrôle ont été maintenus au réfrigérateur sans exposition au bain à ultrasons. Une filtration minutieuse a été réalisée à l'aide d'une passoire et de papier filtre (type Whatman N°1). Par la suite, l'extrait obtenu a été évaporé par le rota vapeur afin de récupérer les résidus secs. Les résidus secs ont été reconstitués avec 10 ml d'éthanol et conservés au froid. Cette procédure expérimentale a été répétée deux fois pour assurer la fiabilité des résultats obtenus. Les évaluations chimiques, incluant le dosage des polyphénols, des tanins et des flavonoïdes, ont été menées sur ces résidus secs tout au long de l'étude.

### II.3 Préparation et utilisation des Disques

Pour préparer les disques sans antibiotiques, le papier Whatman N°01 a été découpé en disques de 6 mm de diamètre. Ces disques ont ensuite été placés dans un flacon en verre et

stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes pour éliminer tout risque de contamination par des germes exogènes (Goumni *et al.*, 2013). En parallèle, des disques témoins positifs ont été utilisés pour leurs propriétés antimicrobiennes spécifiques. Deux disques antibiotiques, contenant de la Gentamicine (CN10) et de la Tétracycline (TE30), ont été utilisés pour l'antibiogramme, tandis qu'un troisième disque antifongique, contenant du Kétoconazole (KET50), a été employé pour l'antifongogramme. Le choix de ces disques est justifié par leur capacité à inhiber spécifiquement la croissance de certains micro-organismes, ce qui est essentiel pour évaluer la sensibilité des agents antimicrobiens.

### III. Analyses physico-chimiques de la poudre d'armoise blanche

#### III.1 Détermination du taux d'humidité (Audigie *et al.*, 1982)

##### ➤ Principe

L'échantillon à analyser est séché dans l'étuve à 105°C pendant 24h, à pression atmosphérique, jusqu'à ce qu'il atteigne une masse constante.

##### ➤ Mode opératoire

Peser les creusets en aluminium vide sur une balance de précision ensuite introduire dedans 1g de poudre végétale et les placer dans l'étuve réglée à 105°C pendant 24 h. Les creusets avec poudre sont repesés après refroidissement.



Figure 7. Etapes de séchage de la poudre.

##### ➤ Expression des résultats

La teneur en eau (%) est donnée par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{P1 - P2}{P1} \times 100$$

Dont :

P1 : Poids initial en (g) de la prise d'essai avant séchage.

P2 : Poids final en (g) de la prise d'essai après séchage.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de la matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

### III.2 Détermination du taux de cendres

#### ➤ Principe

Le procédé implique l'incinération de la poudre végétale dans un four à moufle, utilisant des creusets en terre cuite, à une température de 500°C pendant cinq heures, suivie d'un refroidissement de quatre heures. L'opération est considérée achevée lorsque les résidus prennent une teinte blanche grisâtre.

#### ➤ Mode opératoire

Peser avec précision trois creusets en terre cuite à l'aide d'une balance de précision, puis y introduire 1 gramme de poudre végétale dans chacun. Placer ces creusets dans un four à moufle réglé à 500°C pendant quatre heures. Après dessiccation, reprendre le poids des trois creusets contenant les cendres.

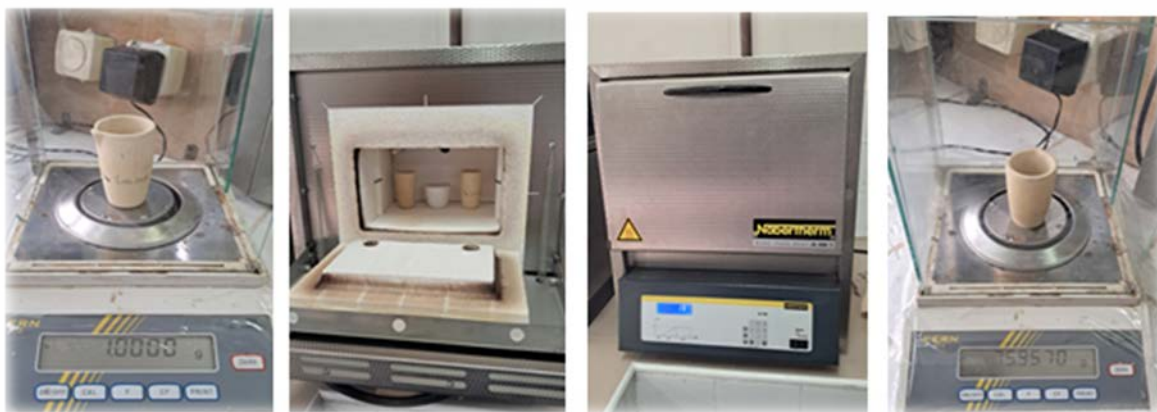


Figure 8. Etapes de détermination du taux de cendres.

#### ➤ Expression des résultats

Le pourcentage de cendres est calculé par la formule suivante :

Dont :

$$Tc \% = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Tc : Taux de cendres en %.

$m_0$  : La masse du creuset vide en (g).

$m_1$  : La masse du creuset et l'échantillon avant séchage en (g).

$m_2$  : La masse de creuset et l'échantillon après séchage en (g)

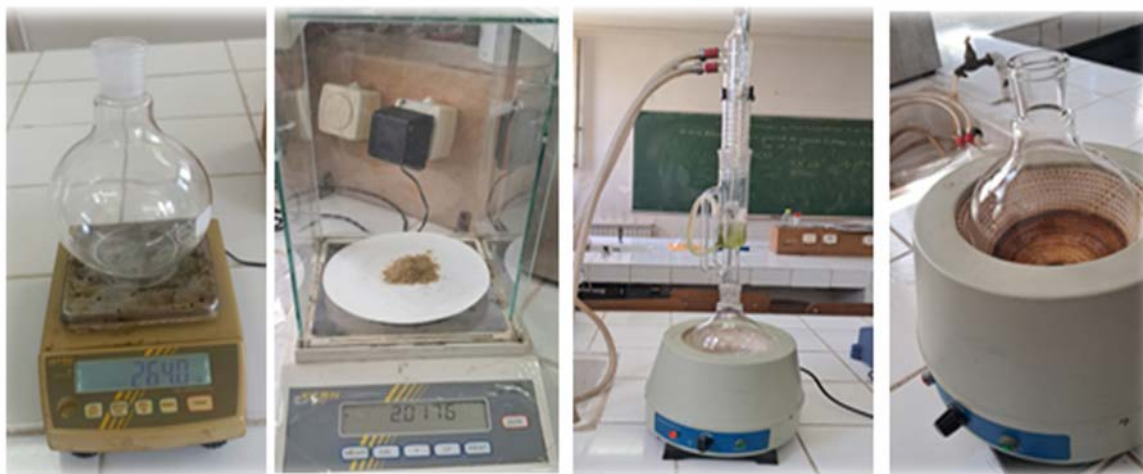
### III.3 Détermination de la teneur des extractibles

#### ➤ Principe

Les extractibles ont été extraits par une combinaison de deux solvant organiques (le toluène et l'éthanol), avec un appareil de type Soxhlet, le solvant est évaporé, l'échantillon est séché puis pesé.

#### ➤ Mode opératoire

Le ballon est d'abord pesé à l'aide d'une balance, puis 2 grammes de poudre végétale sont soigneusement pesés et placés dans une cartouche cellulosique de l'appareil d'extraction. Dans le ballon, 200 ml de toluène et 100 ml d'éthanol sont ajoutés. Une fois l'extracteur monté sur le ballon et positionné sous le réfrigérant, l'appareil est allumé et le chauffe-ballon est activé jusqu'à ce que le niveau du solvant dépasse la cartouche. À ce stade, l'ébullition est stoppée et le solvant contenu dans l'extracteur est vidé. Par la suite, l'ensemble des solvants est porté à ébullition dans le chauffe-ballon pendant une durée de 5 heures. Après évaporation maximale du solvant, le ballon est séché à l'étuve pendant quelques minutes avant d'être transféré dans un dessiccateur. Une fois refroidi, le ballon est repesé pour évaluer précisément la masse des résidus restants.



**Figure 9.** Etapes d'extraction des extractibles.

➤ **Expression des résultats**

Le taux d'extractibles est exprimé par un pourcentage obtenu comme suit :

$$\% EX = (P2 - P1) / PE \times 100$$

P1 : Poids du ballon vide (g) ;

P2 : Poids du ballon après séchage (g) ;

PE : Prise d'essai (g).

**IV. Analyse phytochimiques des extraits**

**IV.1 Détermination du rendement**

➤ **Principe**

Le rendement représente la quantité d'extrait obtenue après évaporation du solvant (éthanol), exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante utilisée pour l'extraction. Ce calcul suit l'équation décrite par (Mahmoudi *et al.*, 2013).

➤ **Mode opératoire**

Le filtrat obtenu a été évaporé jusqu'à ce que tout le solvant soit éliminé, laissant un résidu sec. Ensuite, ce résidu est gratté avec une lame pour obtenir une poudre finement divisée.



**Figure 10.** Etapes de séchage de l'extrait.

➤ **Expression des résultats**

Le rendement qui est exprimé en pourcentage, il est calculé par la formule suivante :

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

R : Rendement en pourcentage

M<sub>ext</sub> : Masse de l'extrait après évaporation en mg

M<sub>éch</sub> : Masse de poudre végétale en mg de matière sèche.

## IV.2 Dosage des polyphénols totaux (Méthodes de Folin- Ciocalteu)

### ➤ Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolibdique. Ce dernier est réduit par des phénols, en mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765 nm (Moualek, 2018).

### ➤ Mode opératoire

Pour chaque extrait, 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) sont ajoutés à 1 ml dans des tubes à essais. Après une incubation de 5 minutes, 4 ml de carbonate de sodium à 7,5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) sont ensuite ajoutés. Les tubes sont laissés à incuber pendant 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après incubation, l'absorbance est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Les concentrations en polyphénols totaux des extraits sont calculées en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique à différentes concentrations (0-320 µg/ml).

**Tableau V** : Préparation des dilutions de l'acide gallique.

|                                |           |              |              |            |            |            |
|--------------------------------|-----------|--------------|--------------|------------|------------|------------|
| <b>Concentration (µg/ml)</b>   | <b>0</b>  | <b>20</b>    | <b>40</b>    | <b>80</b>  | <b>160</b> | <b>320</b> |
| <b>Volume SM (ml)</b>          | <b>0</b>  | <b>0,625</b> | <b>1,250</b> | <b>2,5</b> | <b>5</b>   | <b>10</b>  |
| <b>Volume éthanol 70% (ml)</b> | <b>10</b> | <b>9,375</b> | <b>8,750</b> | <b>7,5</b> | <b>5</b>   | <b>0</b>   |

### ➤ Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (AG). Elle est exprimée en mg

équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g de matière sèche « MS ») selon l'équation suivante :

$$T_{pt} = C \cdot V / M$$

T<sub>pt</sub> : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g de matière sèche)

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : Volume de l'extrait (ml)

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g).

### IV.3 Dosage des flavonoïdes (Méthode de dosage avec AlCl<sub>3</sub>)

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits est effectuée par la méthode colorimétrique en utilisant des solutions de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) adaptée par (Bahorun et al., 1996).

#### ➤ Principe

La méthode repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), cette propriété est propre aux groupements hydroxyles des phénols flavonoïdes capables de donner un complexe en présence d'aluminium (chlorure d'aluminium) (Ribéreau-Gayon, 1968).

#### ➤ Mode opératoire

Introduire 1,5ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium 2 % dans 1,5ml d'extrait dans un tube à essai. Après une incubation de 15 min à température ambiante. La lecture est faite dans un spectrophotomètre UV-visible à 430 nm. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations (0-10mg/ml).

**Tableau VI** : Préparation des dilutions de la quercétine.

|                               |             |                |               |             |             |             |
|-------------------------------|-------------|----------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Concentration (mg/ml)</b>  | <b>0</b>    | <b>0,625</b>   | <b>1,25</b>   | <b>2,5</b>  | <b>5</b>    | <b>10</b>   |
| <b>Volume SM (µl)</b>         | <b>0</b>    | <b>31,25</b>   | <b>62,5</b>   | <b>125</b>  | <b>250</b>  | <b>500</b>  |
| <b>Volume éthanol 70%(µl)</b> | <b>2000</b> | <b>1968,75</b> | <b>1937,5</b> | <b>1875</b> | <b>1750</b> | <b>1500</b> |

➤ **Expression des résultats**

La concentration des flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine. Elle est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de matière sèche « MS ») selon l'équation suivante :

$$Tf = C. V / M$$

Tf : Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait sec de la plante)

C : Concentration de l'extrait équivalente à la quercétine, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : Volume de l'extrait (ml)

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g).

**IV.4 Dosage des tanins condensés (Raja et al., 2017)**

➤ **Principe**

La méthode adoptée est celle de la vanilline avec l'acide sulfurique. Cette méthode est basée sur l'interaction de la vanilline avec le groupe flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de complexes rouges, ce qui s'explique par la propriété des tanins à se convertir en anthocyanidines rouges par interaction avec la vanilline (Schofield et al., 2001).

➤ **Mode opératoire**

Une prise de 1 ml de chaque extrait a été ajoutée à 2 ml de vanilline préparée à 2 gde vanilline dans 78 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 70%. L'absorbance est mesurée à 500 nm après 15 min d'incubation dans un bain marin à 25°C. La courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine avec des concentrations comprises entre 0-3 mg/ml.

**Tableau VII** : Préparation des dilutions de la catéchine.

|                                |          |              |              |              |            |          |
|--------------------------------|----------|--------------|--------------|--------------|------------|----------|
| <b>Concentration (mg/ml)</b>   | <b>0</b> | <b>0,162</b> | <b>0,325</b> | <b>0,750</b> | <b>1,5</b> | <b>3</b> |
| <b>Volume SM (ml)</b>          | <b>0</b> | <b>0,162</b> | <b>0,325</b> | <b>0,75</b>  | <b>1,5</b> | <b>3</b> |
| <b>Volume éthanol 70% (ml)</b> | <b>3</b> | <b>2,838</b> | <b>2,675</b> | <b>2,25</b>  | <b>1,5</b> | <b>0</b> |

➤ **Expression des résultats**

La concentration des tanins condensés est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la catéchine. Elle est exprimée en mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g de matière sèche « MS ») selon l'équation suivante :

$$Tt = C. V / M$$

Tt: Teneur en tanins (mg EC/g d'extrait sec de la plante)

C : Concentration de l'extrait équivalente à la catéchine, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : Volume de l'extrait (ml)

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g)

**V. Analyses microbiologiques**

**V.1 Vérification de souches de références et purification des souches**

Afin de vérifier la pureté des souches, des examens microscopiques et macroscopiques, une coloration simple et une coloration de gram ont été réalisés

**V.1.1 Observation macroscopique**

Cette observation repose sur des critères morphologiques tels que l'aspect, la forme et la taille des colonies.

**V.1.2 Observation microscopique**

L'observation des microorganismes vivants permet de faire une approche de leur morphologie, de mettre en évidence leur mobilité ainsi que leur mode de groupement. Pour cela, on dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame, on prélève une fraction de culture en grattant une colonie isolée avec une pipette Pasteur stérile et on l'incorpore dans la goutte d'eau. La lame est ensuite séchée sans brûler la colonie au-dessus de la flamme du bec Bunsen jusqu'à évaporation totale de l'eau physiologique. On recouvre la préparation d'une lamelle sans enfermer de bulles d'air ni faire déborder la suspension et on observe à l'objectif (G10 x 40) du microscope.

### V.1.3. Coloration simple

En plus d'observer la mobilité et la forme des bactéries, une coloration permet de mieux observer leurs structures ainsi que leurs modes de regroupement. Sur une lame, une goutte d'eau physiologique stérile est déposée, puis une fraction de culture est prélevée stérilement et incorporée à la goutte d'eau pour obtenir une suspension homogène. Une goutte de bleu de méthylène (BM) est ajoutée au centre de la lame et mélangée avec la suspension. Après 5 minutes, la préparation est rincée avec de l'eau physiologique stérile, séchée et fixée à la chaleur au-dessus de la flamme du bec Bunsen. Une goutte d'huile à immersion est ensuite ajoutée et l'observation se fait avec un objectif x100.

### V.1.4 Coloration de Gram

Cette méthode est basée sur la différence de perméabilité des bactéries à l'alcool, ce qui affecte leur capacité à retenir un colorant primaire, le violet de gentiane. La préparation du frottis consiste à déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame, à y ajouter une fraction de culture, puis à sécher et fixer ce frottis à la chaleur au-dessus de la flamme du bec Bunsen. La lame contenant le frottis est recouverte pendant 30 secondes à 1 minute par le violet de gentiane, puis rincée avec de l'eau physiologique. La préparation est ensuite décolorée avec de l'éthanol à 96% pendant 30 secondes, rincée et colorée avec de la fuchsine pendant 30 secondes. Après un dernier rinçage, la lame est séchée, fixée à la chaleur, une goutte d'huile à immersion est ajoutée et l'observation se fait au microscope avec un objectif x100. Les bactéries colorées en violet sont des Gram positives (+), et celles colorées en rose sont des Gram négatives (-).

## V.2 Conservation des souches et repiquage /Revivification

Les différentes souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur des milieux de culture sélectifs favorables à leur croissance, puis incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 25°C pendant 4 à 5 jours pour les levures et les moisissures. Cette méthode permet d'obtenir des colonies bactériennes jeunes et isolées, nécessaires pour préparer l'inoculum.

Dans des conditions stériles, une colonie isolée et représentative de la souche est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou d'une anse, puis étalée en stries sur une nouvelle boîte de milieu de culture sélectif pour chacune des souches. Les boîtes sont ensuite

incubées dans une étuve à 37°C pour les bactéries et à 25°C pour les levures et les moisissures.

### V.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne

#### V.3.1 Préparation des prés cultures et des suspensions microbiennes

À partir d'une culture jeune et pure, des colonies bien isolées sont prélevées à l'aide d'une anse ou d'une pipette Pasteur, puis déchargées dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La suspension est homogénéisée à l'aide d'un vortex (**Rahal et al., 2005**). Pour garantir des résultats fiables lors de la préparation de l'inoculum, une standardisation est essentielle.

Les souches conservées à 4°C sontensemencées sur des milieux de culture sélectifs spécifiques à chaque type de bactérie, puis incubées à 37°C pendant 18 heures pour les bactéries, et à 25°C pendant 48 heures pour les levures et les moisissures. À l'aide d'une anse, une à deux colonies bien isolées sont prélevées et introduites dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation de la suspension au vortex, la standardisation est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm pour obtenir une absorbance comprise entre 0,08 et 0,1 pour les bactéries et 0,04 pour les levures et les moisissures, en ajoutant une colonie ou en diluant avec de l'eau physiologique stérile. Cela correspond à une concentration de  $10^6$ - $10^7$  UFC/ml.

#### V.3.2 Antibiogramme

Pour évaluer les activités antimicrobiennes des extraits éthanoliques d'*Artemisia herba alba* à une concentration de 1 g/ml, un antibiogramme a été réalisé selon les étapes suivantes :

##### V.3.2.1 Ensemencement

La gélose Muller Hinton (MH) stérile a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles, puis laissée à refroidir et à solidifier à température ambiante avant utilisation. L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage. Un écouvillon stérile a été trempé dans la suspension microbienne des souches testées : *Escherichia. coli*, *Klebsiella. pneumoniae*, *Staphylococcus. aureus*, *Bacillus. subtilis*, *Enterococcus. faecalis*, *Aspergillus. niger*, et *Candida. albicans*. Après avoir égoutté l'écouvillon à l'intérieur du tube, il a été frotté sur toute la surface de la gélose de manière à obtenir des stries serrées. Cette opération a été répétée trois fois en

tournant la boîte de 60° à chaque application pour assurer une distribution homogène de l'inoculum.

### V.3.2.2 Dépôt des Disques

Des disques de papier Whatman (6 mm de diamètre) stérilisés ainsi que des disques d'antibiotiques (pour les bactéries) et des disques antifongiques (pour les levures et moisissures) ont été disposés à égale distance les uns des autres sur les boîtes ensemencées, de manière à éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Chaque disque a reçu 20 µL des extraits purs d'*Artemisia herba alba* à une concentration de 1g/ml à l'aide d'une micropipette. Un disque imprégné de DMSO a été utilisé comme témoin négatif.

Les boîtes ont été placées au réfrigérateur à 4°C pendant une heure pour permettre une diffusion des extraits. Elles ont ensuite été incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

### V.3.2.3 Lecture

Après l'incubation, l'effet des extraits se manifeste par l'apparition autour des disques de zones d'inhibition circulaires transparentes, indiquant l'absence de croissance microbienne. Le diamètre de ces zones d'inhibition est mesuré. La sensibilité des bactéries envers les différents extraits est classée selon les diamètres des halos d'inhibition mentionnée dans le tableau suivant :

**Tableau VIII** : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Mouas *et al.*, 2017).

| Sensibilité                | Symbole | Zone d'inhibition                 |
|----------------------------|---------|-----------------------------------|
| Non sensible ou résistante | -       | Diamètre < 8mm                    |
| Sensible                   | +       | Diamètre compris entre 9 à 14 mm  |
| Très sensible              | ++      | Diamètre compris entre 15 à 19 mm |
| Extrêmement sensible       | +++     | Diamètre > 20 mm                  |

### V.3.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI et bactéricides CMB

#### V.3.3.1 Détermination des CMI en milieu liquide

##### ➤ Principe

La détermination des CMI a été réalisée par la méthode de micro dilution en milieu liquide, couramment effectuée dans des plaques à 96 puits à fond arrondi. Les suspensions bactériennes ont été diluées dans du bouillon et distribuées dans ces plaques (**Kahlmeter et Turnidge, 2012**).

##### ➤ Mode opératoire

L'inoculum bactérien a été standardisé afin de préparer une suspension adéquate. 100 µl de cette suspension standardisée ont été introduits dans 10 ml de bouillon Mueller-Hinton. Tous les puits des plaques de microdilution ont été remplis avec 50 µl de bouillon Mueller-Hinton. Une solution mère des extraits purs a été préparée et 100 µl de cette solution ont été ajoutés au premier puits. Des dilutions en série au demi (1/2) ont été réalisées dans la plaque de 96 puits. Ensuite, 50 µl de chaque dilution ont été transférés dans 50 µl de bouillon Mueller-Hinton dans chaque puits. Chaque puits a ensuite étéensemencé avec 50 µl de l'inoculum bactérien standardisé, portant le volume final de chaque puits à 150 µl. Les concentrations finales obtenues étaient de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, et 1/512 de la concentration initiale. Chaque essai a été répété trois fois pour chaque souche bactérienne. Un contrôle positif, contenant 50 µl d'inoculum et 50 µl de bouillon Mueller-Hinton, ainsi qu'un témoin négatif, contenant 50 µl d'extrait pur et 50 µl de bouillon Mueller-Hinton sans inoculum, ont été inclus dans chaque série.

Les microplaques ont été recouvertes et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Ensuite, 30 µl de résazurine à 0,015 % ont été ajoutés à tous les puits comme indicateur de viabilité bactérienne, et les plaques ont été réincubées pendant 1 à 2 heures. La CMI a été définie comme la plus faible concentration d'extrait pour laquelle aucune modification visible de la couleur, indicative de la croissance bactérienne, n'a été observée.

##### ➤ Lecture des résultats

- Une coloration bleu-violette indique l'absence de croissance bactérienne.
- Une coloration rose indique la présence de croissance bactérienne.

### V.3.3.2 Détermination des CMB

#### ➤ Principe

La concentration minimale bactéricide (CMB) est définie comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable de tuer 99,9 % de la population bactérienne initiale. Après la détermination de la CMI, les puits de la microplaque contenant des concentrations d'agent antimicrobien strictement supérieures à la CMI sont utilisés pour la détermination de la CMB (Khobzaoui, 2014).

#### ➤ Mode opératoire

La CMB a été déterminée en prélevant 10 µl des dilutions correspondant à la CMI et des deux dilutions immédiatement supérieures, qui ne montrent pas de croissance visible, et en les ensementant sur des boîtes de gélose Mueller-Hinton (MH). Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Cette technique permet de vérifier la viabilité et la capacité de culture des cellules. La CMB est définie comme la concentration pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée sur la gélose.

Cette méthode permet de confirmer l'efficacité bactéricide des agents antimicrobiens testés, offrant ainsi des données cruciales pour l'évaluation de leur potentiel thérapeutique.

## V. Etude statistique

Les résultats des analyses phytochimiques et microbiologiques ont été comparés par l'analyse de la variance (ANOVA) avec un seuil de signification  $\alpha = 0,05$  à l'aide du logiciel STATBOX

Version

6.

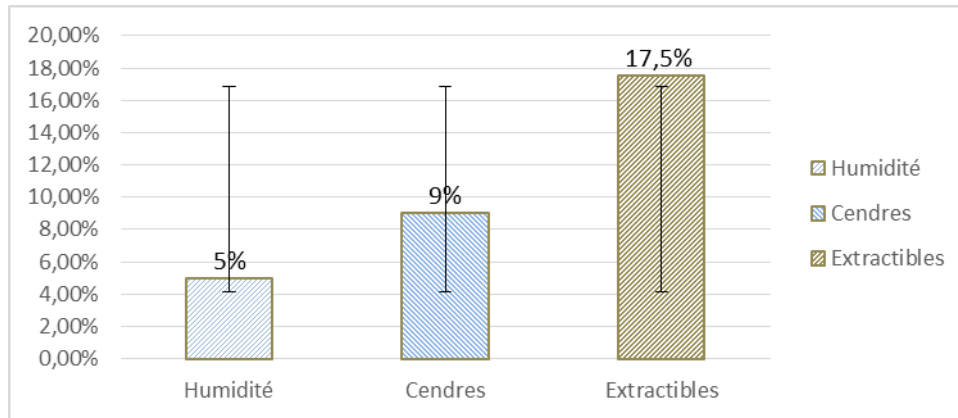
---

## **Résultats et discussion**

---

**I. Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre d'armoise**

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'armoise blanche sont résumés dans la figure ci-dessous :



**Figure 11.** Résultats de la teneur en humidité, des cendres et des extractibles.

Les analyses physicochimiques de la poudre d'*Artemisia herba alba* ont révélé des résultats intéressants et des variations par rapport à d'autres études. Le taux d'humidité de la poudre est de  $5\% \pm 0,82$ , correspondant à une teneur en matière sèche de 95%. Ce taux est inférieur à celui rapporté par **Kulbanu (2022)**, qui a trouvé une teneur en humidité entre 8,55% et 8,77%. Une faible teneur en humidité, comme celle observée, est bénéfique car elle réduit les risques de décomposition des substances actives par des micro-organismes, garantissant ainsi une meilleure qualité de conservation de la plante (**Pharmacopée européenne, 2005**).

En ce qui concerne la teneur en minéraux, les résultats indiquent une teneur de  $9\% \pm 1$ , ce qui est supérieur aux valeurs trouvées par **Sango et Matilebou (2021)** et **Eoukili (2013)**, qui ont rapporté des taux de cendres de 6% et de 3,1% à 3,4% respectivement. Les cendres totales représentent la partie inorganique de la plante, contenant des éléments essentiels tels que le calcium, le phosphore, le sodium, le potassium, le magnésium et le manganèse. La teneur en minéraux dépend de plusieurs facteurs, notamment les réserves du sol, la disponibilité des éléments pour la plante et l'efficacité de la captation racinaire (**Riviere, 1978 ; Jarrige et al., 1995**). La relation entre la quantité d'eau et d'éléments minéraux absorbés par la plante est importante pour la nutrition végétale (**Bruch et Jones, 1978**).

Enfin, la teneur en extractibles de la poudre d'armoise blanche est de  $17,5\% \pm 2,5$ , déterminée par extraction avec de l'éthanol et le toluène. Les extractibles, constitués de

composés de faible poids moléculaire, peuvent être extraits aisément sans traitements sévères. Ces composés varient selon l'essence, le site géographique, la génétique et la saison (Amusant, 2003). Une teneur en extractibles de 5% à 20% est courante et leur nature varie considérablement.

Ces résultats montrent que la poudre d'*Artemisia herba alba* possède une faible teneur en humidité, une teneur élevée en minéraux et une teneur significative en extractibles, faisant d'elle une plante potentiellement utile pour diverses applications thérapeutiques et médicinales.

## II. Résultats des analyses phytochimique des extraits

Les résultats des analyses phytochimiques et l'analyse des différentes variables étudiées sont présentées dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau IX** : Résultats des analyses phytochimiques.

| Extraits  | RDT (%) | PPT (mg EAG/g MS) | Flavonoïdes (mg EQ/g MS) | Tannins (mg EC/g MS) |
|-----------|---------|-------------------|--------------------------|----------------------|
| Sans US   | 17,02   | 19,15             | 2,85                     | 0,76                 |
| US 15 min | 21,4    | 19,5              | 3,5                      | 0,78                 |
| US 60 min | 15,4    | 18,85             | 3,25                     | 0,9                  |

**Tableau X** : Résultats de l'analyse de la variance des différentes variables étudiées.

| Variables   | S.C.E | DDL | TEST F | P       |
|-------------|-------|-----|--------|---------|
| RDT         | 38,43 | 2   | 1,321  | 0,3882  |
| PPT         | 8,402 | 2   | 18,794 | 0,0169  |
| Flavonoïdes | 0,178 | 2   | 0,519  | 0,62294 |
| Tannins     | 0,002 | 2   | 0,057  | 0,94459 |

Les résultats de l'analyse des rendements d'extraction ont montré un rendement de 17,02% pour l'extrait témoin, et des rendements de 21,4% et 15,4% pour les extraits assistés par ultrasons (US) à 15 minutes et 60 minutes respectivement. Ces résultats suggèrent que l'extrait avec une durée d'exposition aux ultrasons de 15 minutes a le rendement le plus élevé, comparé à celui de 60 minutes. Cela indique que la durée d'exposition aux ultrasons est un paramètre qui influence l'efficacité de l'extraction par ultrasons. Une exposition prolongée aux ultrasons peut entraîner une dénaturation de certains composés sensibles. La cavitation excessive, l'augmentation de la température, ou la destruction partielle des composants de l'échantillon peuvent également affecter négativement le rendement global. Cependant l'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative, avec une valeur de probabilité de ( $P > 0,05$ ). Selon **Quy et al., (2014)**, les variations de rendement au sein d'une même plante peuvent être attribuées à divers facteurs, tels que les propriétés génétiques de la plante, son origine géographique, ainsi que les conditions d'extraction, incluant le type de solvant, le pH, la température et la composition de l'échantillon. De plus, la durée de stockage et les conditions de récolte peuvent également jouer un rôle important.

Le rendement enregistré pour l'extrait éthanolique sans US (17,02%) est nettement supérieur à ceux obtenus par **Bezza et al., (2010)** et **Nia (2018)**, qui ont rapporté des rendements de 6,72% et 3,04% respectivement. Ces différences peuvent être attribuées aux variations dans les méthodes d'extraction, les conditions expérimentales, et les caractéristiques spécifiques des échantillons utilisés dans les différentes études.

Les résultats obtenus pour le taux des polyphénols totaux montrent que la valeur la plus élevée est enregistrée dans l'extrait assisté par ultrasons (US) pendant 15 minutes (19,5 mg EAG/g MS), suivie par le témoin sans US (19,15 mg EAG/g MS), et la plus basse dans l'extrait assisté par US pendant 60 minutes (18,85 mg EAG/g MS). L'analyse statistique indique que l'extraction par ultrasons influence significativement le taux de polyphénols dans les extraits, avec une valeur de probabilité de 0,0169 (Tableau XI)

**Tableau XI** : Effet de l'extraction par ultrasons sur les PPT.

Ces observations démontrent que la durée d'exposition aux ultrasons joue un rôle important dans l'efficacité de l'extraction des polyphénols, une exposition plus longue n'entraînant pas nécessairement un meilleur rendement. Une exposition prolongée aux ultrasons pourrait provoquer des changements structuraux ou chimiques dans les polyphénols, réduisant ainsi leur concentration mesurable dans l'extrait. Le traitement par ultrasons implique une sonication, une fragmentation, un cisaillement local et une détérioration, réduisant les résistances de transfert de masse à travers les membranes cellulaires et favorisant la libération des constituants des cellules (**Chemat et al., 2017**). Cela souligne l'importance de choisir judicieusement les paramètres d'extraction, tels que la durée et l'intensité des ultrasons, pour maximiser le rendement tout en préservant la qualité des composés phytochimiques recherchés.

La quantité de polyphénols totaux peut varier en fonction de plusieurs facteurs : les conditions expérimentales, environnementales et climatiques, ainsi que les conditions de stockage, la période de collecte, la maturité et les facteurs génétiques (**Falleh et al., 2008**). De plus, la teneur en composés phénoliques peut être influencée par la nature du solvant utilisé et la méthode d'extraction. Par exemple, **Muthanna et al., (2021)** ont obtenu une valeur de 88 mg EAG/g MS, nettement supérieure à celle de cette étude. En revanche, une teneur en polyphénols totaux proche de celle que nous avons enregistrée (20,38 mg EAG/g MS) a été obtenue dans l'extrait éthanolique 70% d'*Artemisia campestris* (**Djeridane et al., 2006**).

Bien que l'extraction par ultrasons puisse améliorer le rendement en polyphénols, il est essentiel d'optimiser les paramètres d'extraction pour éviter la dégradation des composés actifs. Les résultats de cette étude montrent que l'exposition aux ultrasons pendant 15 minutes

| Variables | UAE            | Moyennes | Groupes homogènes |
|-----------|----------------|----------|-------------------|
| PPT       | US15 min       | 19,5     | A                 |
|           | Témoin sans US | 19,15    | B                 |
|           | US 60 min      | 18,85    | B                 |

offre le meilleur compromis entre rendement et préservation de la qualité des polyphénols.

Les résultats de l'analyse des flavonoïdes montrent des variations dans les concentrations des trois extraits. La concentration de flavonoïdes dans le témoin est de 2,85 mg EQ/g MS, tandis que pour les extraits soumis à une sonication de 15 minutes, elle est de

3,5 mg EQ/g MS, et pour ceux soumis à une sonication de 60 minutes, elle est de 3,25 mg EQ/g MS. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative entre ces valeurs, avec une probabilité de 0,623. Ces variations dans les teneurs en flavonoïdes peuvent être attribuées à divers facteurs expérimentaux, environnementaux et biologiques. Les conditions climatiques, la période de récolte, le degré de maturation de la plante, ainsi que les méthodes de traitement et de stockage peuvent tous influencer la biosynthèse et la concentration des flavonoïdes dans les extraits (**Falleh et al., 2008**). Par exemple, des conditions de stress environnemental comme la sécheresse ou une forte exposition au soleil peuvent stimuler la production de flavonoïdes, qui agissent comme des antioxydants protecteurs pour la plante.

En comparaison avec d'autres études, nos résultats sont en accord avec ceux de **Boudjouref et al., (2018)**, qui ont trouvé une teneur de 2,85 mg EQ/g MS dans l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris*. Cependant, ils sont inférieurs aux valeurs obtenues par **Khennouf et al., (2010)**, qui ont rapporté une concentration de 17,80 mg EQ/g MS dans l'extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba*. Cette différence peut s'expliquer par les variations dans les méthodes d'extraction et les solvants utilisés. Contrairement à nos résultats, **Djeridane et al., (2006)** ont enregistré une teneur très faible en flavonoïdes (0,32 mg EQ/g MS) dans l'extrait éthanolique d'*Artemisia arborescens*. Cette divergence peut être due à des différences dans les espèces, les conditions de culture des plantes, ou encore la présence de différents composés phénoliques spécifiques à chaque espèce d'*Artemisia*.

Les concentrations en tanins dans les trois extraits analysés, soit 0,76 mg EC/g MS pour le témoin, 0,78 mg EC/g MS pour l'extrait assisté par ultrasons pendant 15 minutes, et 0,9 mg EC/g MS pour l'extrait assisté par ultrasons pendant 60 minutes, montrent des valeurs très similaires et ne révèlent aucune différence significative.

L'absence de différence notable peut être expliquée par la stabilité relative des tanins face aux conditions d'extraction utilisées, qui sont moins sensibles aux variations de paramètres que d'autres composés plus volatils ou sensibles aux changements de solvant ou de traitement. Les tanins, connus pour leur capacité à former des complexes avec les protéines et d'autres macromolécules, peuvent être extraits de manière efficace sans subir de dégradation significative lors de l'exposition aux ultrasons, contrairement à d'autres composés plus délicats.

Comparativement à d'autres études, ces résultats pour les tanins sont inférieurs à ceux rapportés par **El Hajli et al., (2024)**, qui ont enregistré une teneur de 20,99 mg EC/g MS dans

l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba*, et par **Benmammar et Lazizi (2021)**, qui ont rapporté une concentration de 22,77 mg EC/g MS. Ces écarts pourraient être dus à des différences dans les méthodes d'extraction, les conditions environnementales, et les variations naturelles entre les plantes récoltées à différentes périodes et dans des régions géographiques distinctes.

Bien que ces résultats montrent une similarité dans les concentrations de tanins entre les différents extraits étudiés, il est essentiel de continuer à explorer et à optimiser les conditions d'extraction pour garantir une récupération maximale des composés phytochimiques tout en préservant leur intégrité et leur activité biologique.

### III. Résultats des analyses microbiologiques

#### III.1 Résultats de vérification des souches de références

##### III.1.1 Résultats de l'observation macroscopique

- *Escherichia coli* : Colonies rondes, de contour régulier et lisse, avec un diamètre de 2 à 4 mm. Sur milieu Hektoen, elles sont de couleur rouge.
- *Klebsiella pneumoniae* : Colonies lisses, brillantes à surface rugueuse, de couleur rouge sur milieu Hektoen.
- *Staphylococcus aureus* : Petites colonies rondes, lisses et brillantes, d'un diamètre de 1 à 3 mm sur milieu Chapman.
- *Enterococcus faecalis* : Petites colonies opaques et blanchâtres, d'un diamètre de 0,5 à 2 mm sur gélose nutritive.
- *Bacillus subtilis* : Colonies rondes, blanchâtres avec un aspect en forme de bâtonnet (bombées), d'un diamètre de 2 à 5 mm sur milieu nutritif.
- *Candida albicans* : Colonies arrondies à ovales, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur blanche crémeuse sur milieu Sabouraud.
- *Aspergillus niger* : Mycéliums de couleur noire et sombre, d'un diamètre de 4 à 6 mm.

##### III.1.2 Résultats de l'observation microscopique

Les résultats de l'observation microscopique des souches microbiennes étudiées sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau XII** : Les différentes propriétés microscopiques des souches étudiées.

| Souches microbiennes                     | Aspect microscopique de la coloration de Gram                         |         |
|--|---|---------|
|  | Apparence des colonies  | Gram    |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       | Coccobacilles, contour régulier                                       | Négatif |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 | Colonies rondes et lisses   | Négatif |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC MU50   | Coques à gram positif, groupés en amas sous forme de grappe de raisin | Positif |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452  | Colonies opaque et blanchâtres  | Positif |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633       | Colonies rondes, bombées  | Positif |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 37          | Colonies arrondies et ovales blastoconidie                            | -       |
| <i>Aspergillus niger</i>                 | Mycéliums à tête de conidies  | -       |

Les observations macroscopiques ont initialement confirmé l'identification et la pureté des souches microbiennes utilisées en mettant en évidence leurs caractéristiques sur milieu solide, telles que leur forme, leur contour et leur taille. À travers ces observations, il a été possible de vérifier la conformité des colonies avec les descriptions attendues. Les observations microscopiques ont ensuite renforcé cette confirmation en permettant une visualisation détaillée de la forme, de la couleur et de la taille spécifiques des bactéries.

### III.2 Résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne

#### III.2.1 Résultats de l'antibiogramme et du test de diffusion sur gélose

Pour évaluer les résultats, on a mesuré les diamètres des zones d'inhibition (ZIs) autour des disques, en tenant compte également du diamètre du disque lui-même (6mm). Les tableaux ci-dessous montrent les résultats de l'antibiogramme et du test de diffusion sur gélose.

**Tableau XIII** : Résultats de l'Antibiogramme et du test de diffusion (moyenne de trois répétitions).

| Souches microbiennes                        |             | Zone d'inhibition des disques avec les extraits de 1g/ml en (mm) |                  |                  | Zone d'inhibition des disques témoins (mm) |                      |                      |            |
|---|-------------|--|------------------|------------------|--|----------------------|----------------------|------------|
|   |             | Extrait sans US  | Extrait US 15min | Extrait US 60min | CN 10µg                                    | TE 30µg              | KET 50µg             | DMSO       |
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 25922       | Diamètre    | 6  | 6                | 6                | 8  | 6                    | /                    | 6          |
|   | Sensibilité | Résistante   |                  |                  | Résistante                                 | Résistante           | /                    | Résistante |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i><br>ATCC 700603 | Diamètre    | 6  | 6                | 6                | 10   | 6                    | /                    | 6          |
|   | Sensibilité | Résistante   |                  |                  | Sensible                                   | Résistante           | /                    | Résistante |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC MU50   | Diamètre    | 20   | 20               | 20               | 20   | 8                    | /                    | 6          |
|   | Sensibilité | Extrêmement sensible   |                  |                  | Extrêmement sensible                       | Résistante           | /                    | Résistante |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC 49452  | Diamètre    | 6  | 6                | 6                | 11   | 6                    | /                    | 6          |
|   | Sensibilité | Résistante   |                  |                  | Sensible                                   | Résistante           | /                    | Résistante |
| <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | Diamètre    | 18   | 17               | 17               | 40   | 30                   | /                    | 6          |
|   | Sensibilité | Très sensible  |                  |                  | Extrêmement sensible                       | Extrêmement sensible | /                    | Résistante |
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC 37          | Diamètre    | 6  | 6                | 6                | /  | /                    | 60                   | 6          |
|   | Sensibilité | Résistante   |                  |                  | /  | /                    | Extrêmement sensible | Résistante |

|                          |             |            |   |   |   |   |                      |            |
|--------------------------|-------------|------------|---|---|---|---|----------------------|------------|
| <i>Aspergillus niger</i> | Diamètre    | 6          | 6 | 6 | / | / | 60                   | 6          |
|                          | Sensibilité | Résistante |   |   | / | / | Extrêmement sensible | Résistante |

L'étude évalue l'activité antimicrobienne des extraits d'*Artemisia herba-alba* sur sept souches microbiennes, comparée à celle des antibiotiques standards, la gentamicine (CN10) et la tétracycline (TE30), ainsi qu'à l'antifongique kétoconazole (KET50).

Les résultats du tableau XIII montrent que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus faecalis* sont résistants aux trois extraits (sans ultrason, US 15, et US 60 minutes), indiquant que les ultrasons n'ont pas amélioré l'efficacité antimicrobienne de ces extraits. Cependant, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* ont montré une sensibilité notable aux trois extraits testés. Cette absence de différence statistique entre les extraits avec ou sans traitement ultrasonore, malgré les observations visuelles, suggère que l'effet des ultrasons sur l'activité antimicrobienne est limité dans ces conditions spécifiques.

Ces résultats concordent avec ceux de **Seddik et al., (2010)**, qui ont démontré que les composés phénoliques d'*Artemisia* ont un effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus*. De même, **Naili et al., (2010)** ont observé un effet inhibiteur des extraits phénoliques d'*Artemisia* sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Les extraits éthanoliques d'*Artemisia herba-alba* ont montré une efficacité comparable à celle de la gentamicine (CN10) contre *Staphylococcus aureus*, tandis que la tétracycline (TE30) n'a montré aucun effet.

Concernant *Aspergillus niger* et *Candida albicans*, les trois extraits n'ont montré aucune activité antifongique, contrairement au kétoconazole (KET50) qui a présenté une forte activité avec une zone d'inhibition de 60 mm, démontrant une sensibilité extrême des souches fongiques à cet antifongique. Ces résultats contrastent avec ceux de **Djoughri, (2018)**, qui a rapporté que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba* inhibe la croissance d'*Aspergillus niger*. De plus, **Benouar, (2015)** a identifié des alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes et saponines comme bioactifs responsables de l'activité antifongique dans l'extrait aqueux d'*Artemisia*.

Les extraits testés montrent une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram positives, sauf *Enterococcus faecalis*, et aucune activité contre les bactéries Gram négatives.

Cette tendance est cohérente avec la littérature, qui rapporte une efficacité accrue des composés phénoliques contre les bactéries Gram positives (Toda et al., 1989 ; Ikigai et al., 1993 ; Arakkwa et al., 2004). Cela pourrait s'expliquer par la structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives, qui, avec un peptidoglycane épais, est moins imperméable, facilitant l'accès des molécules antimicrobiennes (Scherrer et Gerhardt, 1971). En revanche, la membrane externe des bactéries Gram négatives limite l'interaction avec les composés, réduisant ainsi leur efficacité (Nisa et al., 2016).

L'utilisation des ultrasons (US) dans l'extraction des composés bioactifs peut potentiellement modifier l'efficacité antimicrobienne en augmentant la libération des composés phénoliques et autres métabolites secondaires. Cependant, dans cette étude, les traitements aux ultrasons de 15 et 60 minutes n'ont pas montré d'amélioration significative de l'activité antimicrobienne par rapport aux extraits sans ultrason. Cela peut être dû à plusieurs facteurs, tels que la dégradation thermique des composés sensibles ou une concentration suboptimale des bioactifs après traitement ultrasonore.

Les extraits d'*Artemisia herba-alba* montrent une activité antimicrobienne notable contre certaines bactéries Gram positives, mais l'absence d'effet antifongique et l'inefficacité contre les bactéries Gram négatives limitent leur utilisation. Les traitements ultrasonores, bien qu'intéressants pour l'extraction, n'ont pas significativement amélioré l'activité antimicrobienne dans cette étude.

### III.2.2 Résultats de détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI et bactéricides CMB

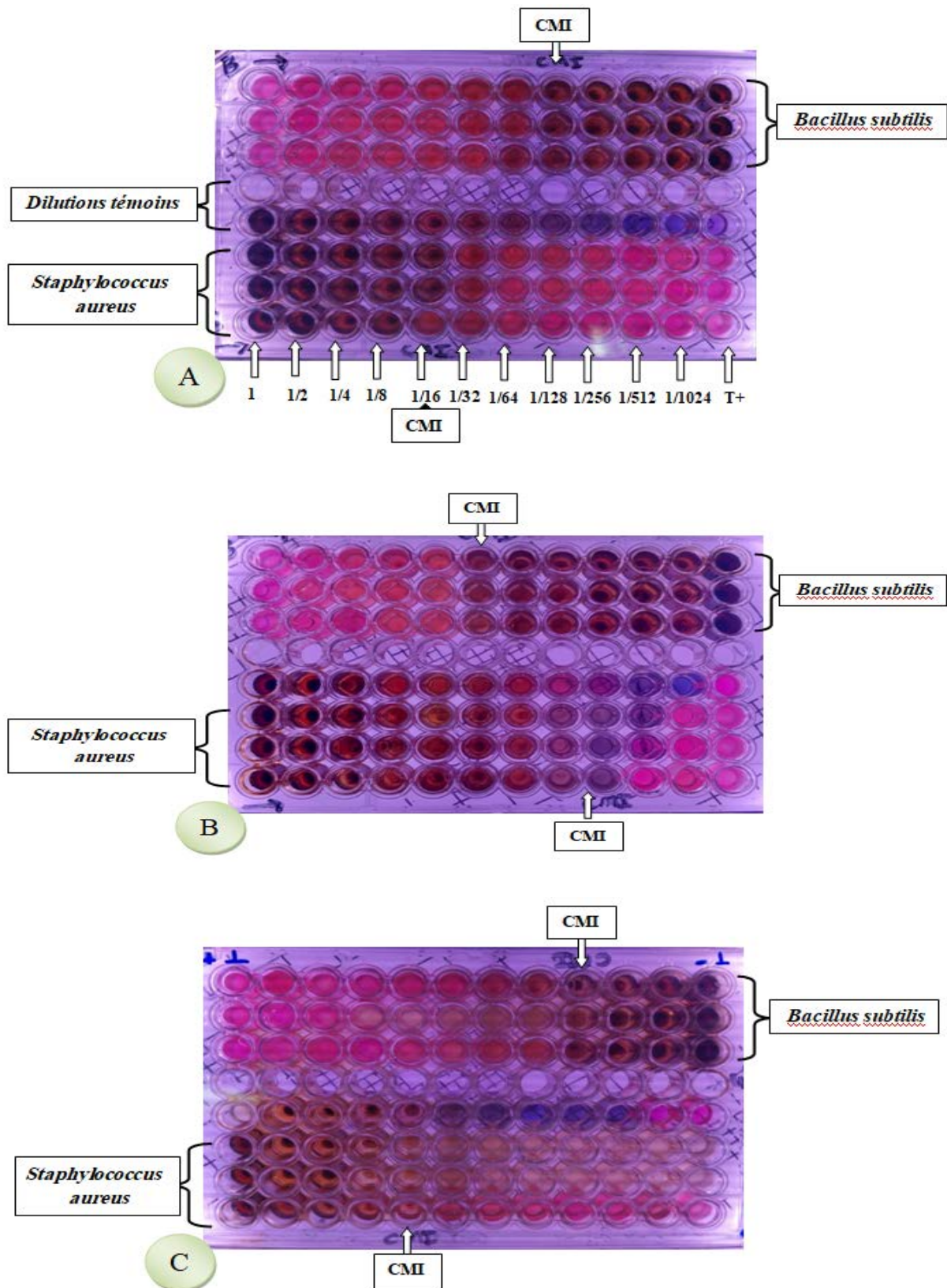
#### III.2.2.1 Résultats de la CMI

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des trois extraits sur les deux souches *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis* sont présentés dans le tableau et les figures ci-dessous :

Tableau XIV : Résultats de la CMI.

| Extraits                      | <i>Staphylococcus aureus</i> |          |          | <i>Bacillus subtilis</i> |          |          |
|-------------------------------|------------------------------|----------|----------|--------------------------|----------|----------|
|                               | Sans US                      | US 15min | US 60min | Sans US                  | US 15min | US 60min |
| 1g/ml                         | -                            | -        | -        | -                        | -        | -        |
| 0,5g/ml<br>dilution 1/2       | -                            | -        | -        | -                        | -        | -        |
| 0,250g/ml<br>Dilution 1/4     | -                            | -        | -        | -                        | -        | -        |
| 0,125g/ml<br>dilution 1/8     | -                            | -        | -        | -                        | -        | -<br>CMI |
| 0,062g/ml<br>dilution 1/16    | -<br>CMI                     | -        | -<br>CMI | -<br>CMI                 | -        | +        |
| 0,032g/ml<br>dilution 1/32    | +                            | -        | +        | +                        | -        | +        |
| 0,015g/ml<br>dilution 1/64    | +                            | -        | +        | +                        | -<br>CMI | +        |
| 0,007g/ml<br>dilution 1/128   | +                            | -        | +        | +                        | +        | +        |
| 0,0039g/ml<br>dilution 1/256  | +                            | -<br>CMI | +        | +                        | +        | +        |
| 0,0019g/ml<br>dilution 1/512  | +                            | +        | +        | +                        | +        | +        |
| 0,0009g/ml<br>dilution 1/1024 | +                            | +        | +        | +                        | +        | +        |

(-) Absence de croissance bactériennes ; (+) il y a une croissance bactérienne



**Figure 12.** Résultats des CMI sur microplaque. (A) : CMI de l'extrait sans US ; (B) : CMI de l'extrait soumis aux US 15min ; (C) : CMI de l'extrait soumis aux US 60min.

La concentration minimale inhibitrice (CMI), définie comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien qui inhibe complètement la croissance des micro-organismes après 24 à 48 heures d'incubation (Wan et al., 1998 ; Canillac et Mourey, 2001), est un indicateur décisif de l'efficacité des extraits étudiés. Dans notre étude, seules *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* ont montré une réponse significative aux extraits d'*Artemisia herba-alba*, justifiant ainsi la focalisation de nos analyses sur ces deux souches.

Les plantes telles qu'*Artemisia herba-alba* contiennent une diversité de composés biologiquement actifs tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes, connus pour leur potentiel antimicrobien (Rojas et al., 1992). L'activité antimicrobienne de ces extraits dépend étroitement de leur composition chimique spécifique.

Les résultats de la CMI ont été interprétés à partir des tests réalisés avec la résazurine, où le changement de couleur des micropuits indique la réduction de la résazurine par les micro-organismes en croissance (rose) ou l'absence de croissance (violet). Pour l'extrait témoin (sans ultrasons), une CMI de 0,062 g/ml a été observée pour *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, correspondant à une dilution de 1/16 de l'extrait pur. Cette concentration n'a montré aucune différence significative entre les deux souches.

En revanche, pour l'extrait traité aux ultrasons pendant 15 minutes, la CMI était de 0,0039 g/ml (dilution de 1/256) pour *Staphylococcus aureus* et de 0,015 g/ml (dilution de 1/64) pour *Bacillus subtilis*, indiquant une différence notable dans la concentration efficace entre les deux souches. L'extrait soumis à 60 minutes d'ultrasonication a montré une CMI de 0,062 g/ml pour *Staphylococcus aureus* et de 0,125 g/ml pour *Bacillus subtilis*, soit deux fois plus élevée que pour la première souche.

Selon Chemat et al., (2017), l'utilisation des ultrasons peut améliorer l'activité antimicrobienne des composés phénoliques en augmentant leur diffusion et leur interaction avec les micro-organismes. Cette méthode est particulièrement efficace contre les biofilms microbiens, où les ultrasons peuvent perturber la structure du biofilm, augmentant ainsi l'efficacité des agents antimicrobiens.

### III.2.3 Résultats de la CMB

Les concentrations testées pour les CMB correspondent aux concentrations minimales inhibitrices identifiées précédemment, augmentées de deux niveaux supplémentaires.

Les résultats de la concentration minimale bactéricide CMB des trois extraits étudiés sont exprimés dans le tableau suivant :

**Tableau XV** : Résultats de la CMB

| <i>Staphylococcus aureus</i>  |         |       |       |          |       |       |          |       |       |
|-------------------------------|---------|-------|-------|----------|-------|-------|----------|-------|-------|
| Extraits                      | Sans US |       |       | US 15min |       |       | US 60min |       |       |
| Concentrations testées (g/ml) | 0,062   | 0,125 | 0,250 | 0,0039   | 0,007 | 0,015 | 0,062    | 0,125 | 0,250 |
| Dilutions                     | 1/16    | 1/8   | 1/4   | 1/256    | 1/128 | 1/64  | 1/16     | 1/8   | 1/4   |
| Croissance bactérienne        | +       | +     | +     | +        | +     | +     | +        | +     | +     |
| <i>Bacillus subtilis</i>      |         |       |       |          |       |       |          |       |       |
| Extraits                      | Sans US |       |       | US 15min |       |       | US 60min |       |       |
| Concentrations testées (g/ml) | 0,062   | 0,125 | 0,250 | 0,015    | 0,032 | 0,062 | 0,125    | 0,250 | 0,5   |
| Dilutions                     | 1/16    | 1/8   | 1/4   | 1/64     | 1/32  | 1/16  | 1/8      | 1/4   | 1/2   |
| Croissance bactérienne        | +       | +     | +     | +        | +     | +     | +        | +     | +     |

Les résultats de la CMB (concentration minimale bactéricide) complètent ceux de la CMI en montrant que les extraits d'*Artemisia herba-alba* ne sont pas bactéricides contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, mais plutôt bactériostatiques. Cela signifie qu'ils inhibent la croissance bactérienne sans induire la mort cellulaire à ces concentrations.

L'examen de la littérature révèle une variabilité significative dans les effets des ultrasons sur l'activité antimicrobienne des extraits végétaux, y compris ceux d'*Artemisia herba-alba*. Alors que certains travaux soulignent une augmentation substantielle de l'activité antimicrobienne après ultrasonication, comme observé dans notre étude pour *Staphylococcus aureus*, d'autres études indiquent des résultats mitigés ou non significatifs selon les conditions spécifiques d'application des ultrasons. Cette diversité de résultats peut être attribuée à des facteurs tels que la composition chimique des extraits, la durée et l'intensité de l'ultrasonication, ainsi que la sensibilité spécifique des micro-organismes testés. Dans le cas de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, notre étude confirme que l'ultrasonication

pendant 15 minutes a considérablement réduit la CMI, suggérant un potentiel d'amélioration de l'activité antimicrobienne de l'*Artemisia herba-alba*. Cependant, des recherches complémentaires sont nécessaires pour élucider pleinement les mécanismes sous-jacents à cette amélioration et pour optimiser les conditions d'application des ultrasons dans le contexte de la lutte contre les infections microbiennes.

---

# **Conclusion**

---

Cette étude a évalué le potentiel phytochimique et l'activité antimicrobienne des composés polyphénoliques d'*Artemisia herba-alba*, extraits par ultrasons.

Les analyses physicochimiques ont révélé que la poudre d'*Artemisia herba-alba* est riche en minéraux (9 %) et en composés extractibles (17,5 %). L'analyse phytochimique a démontré que la durée d'extraction assistée par ultrasons est un paramètre essentiel pour augmenter le rendement en polyphénols, bien qu'elle n'ait pas eu d'effet significatif sur les flavonoïdes et les tanins. Concernant l'activité antimicrobienne, les extraits polyphénoliques ont montré des zones d'inhibition variables selon l'espèce microbienne, avec une efficacité notable contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Toutefois, les traitements aux ultrasons de 15 et 60 minutes n'ont pas significativement amélioré l'activité antimicrobienne par rapport aux extraits sans ultrasons. Les tests de concentration minimale inhibitrice (CMI) ont révélé qu'un extrait sans ultrasons avait une CMI de 0,062 g/ml pour *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Avec 15 minutes d'ultrasonication, la CMI a diminué à 0,0039 g/ml pour *Staphylococcus aureus* et à 0,015 g/ml pour *Bacillus subtilis*, tandis qu'un traitement de 60 minutes a donné des valeurs de 0,062 g/ml et 0,125 g/ml, respectivement. Les résultats de la concentration minimale bactéricide (CMB) indiquent que les extraits d'*Artemisia herba-alba* ont un effet bactériostatique contre ces deux souches.

Ces résultats confirment l'utilisation traditionnelle d'*Artemisia herba-alba* dans le traitement des infections causées par les souches sensibles, et soulignent le potentiel de ces extraits dans l'industrie pharmaceutique. Ces découvertes justifient l'intérêt croissant pour cette plante comme source prometteuse de composés antimicrobiens, offrant des perspectives importantes pour le développement de nouveaux traitements contre les maladies infectieuses.

Cette étude constitue une première étape dans la valorisation d'*Artemisia herba-alba*. Pour approfondir, il serait intéressant de :

- Évaluer d'autres effets biologiques in vitro.
- Explorer le potentiel des polyphénols comme agents conservateurs naturels.
- Intégrer ces composés dans des emballages alimentaires actifs pour prolonger la durée de conservation des aliments sans recours aux conservateurs chimiques.

---

## **Références bibliographiques**

---

### « A »

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

**Achat, S. (2013, November).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon.

**Aguilar, C. N., Rodríguez, R., Gutiérrez-Sánchez, G., Augur, C., Favela-Torres, E., Prado-Barragan, L. A., & Contreras-Esquivel, J. C. (2007).** Microbial tannases: advances and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 76, 47-59.

**Aguilera, J., & Michel, M. (2003).** Solid-liquid extraction. *Food Sciences and Technology*, 128(4), 35-55.

**Aidoud, A. (1989).** Les écosystèmes steppiques pâturés d'Algérie : fonctionnement, évaluation et dynamique des ressources végétales. *Th. Doct. Ecologie, Univ. USTHB, Alger*.

**Akesbi, M. (2021).** La pratique de la médecine alternative et complémentaire chez les herboristes à la région de Fès. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Mohammed V de Rabat, Maroc. P: 8.

**Aliannis, N., Kalpotzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 4168-4170.

**Alkurd, A., Hamed, T. R., & Al-Sayyed, H. (2008).** Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4, 265-274.

**Allaki, F., & Mammeri, S. (2021).** Étude ethno-pharmacologiques et phytochimiques de deux plantes : *Astragalus* (mémoire de master). Université Saida.

**Amusant N., (2003).** Durabilité naturelle et couleur des bois de Guyane : mesure, variabilité, déterminisme chimique. Applications à *Dicorynia guianensis* (Angélique), *Sextonia rubra* (Grignon), *Eperua falcata* (Wapa) et *Eperua grandiflora* (Wapa courbaril). *Sciences forestières et Sciences du bois, Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts*, pp. 228

**Arakawa, H., Maeda, M., Okutro, S., & Shimamura, T. (2004).** Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(3), 277-281.

### « B »

**Baba Aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *Ed Librairie moderne Rouiba*, 46.

**Bahorun, T. (1998, March).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83, pp. 83-94).

**Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim-Forschung/Drug Research*, 46, 1086-1108.

**Bellakhdar, J. (1997).** *Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc: la situation actuelle, les produits, les sources du savoir (enquête ethnopharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992)* (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz).

**Bendif, H., Miara, M. D., Peron, G., Sut, S., Dall'Acqua, S., Flamini, G., & Maggi, F. (2017).** NMR, HS-SPME- GC/MS, and HPLC/MS n Analyses of Phytoconstituents and Aroma Profile of *Rosmarinus eriocalyx*. *Chemistry & Biodiversity*, 14(10), e1700248.

**Benhammou, F. (2012).** Jean-Marc Moriceau, L'homme contre le loup: une guerre de deux mille ans. Paris, Fayard, 2011, 479 p. *Études rurales*, (189).

**Benmammar, R., & Lazizi, N. (2021).** Contribution à l'étude physico-chimique, phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes d'*Artemisia Herba alba*. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, Algérie

**Benouaer, A. (2016).** Activité antifongique des extraits aqueux et des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur des champignons potentiellement mycotoxigéniques du blé dur (*Triticum durum* var VITRON).

**Benzeggouta, N., & Ghanemi, A. (2015).** Ethnopharmacology-Based Chemical Extraction Approaches: Toward Further Optimizing Green Chemistry. *MOJ Public Health*, 3(3), 00061.

**Bezza L. et Mannarino A., 2010.** Composition chimique de l'HE d'artemesia herba-alba provenant de la région de Djelfa (Algérie) in springer-verlag phytothérapie, n.8, p. 277-281.

**Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadjminaglon F. et Kaloustian J., 2010.** Chemical composition of the essential oil of Artemisia herba alba from the region of Biskra (Algeria). *Phytotherapy*; 277-281.

**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.

**Boutakiout, A., Elothmani, D., Mahrouz, M., & Hanine, H. (2015).** Effect of season on proximate composition of cladode juice of two species of cactaceae. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Reserch, New Delhi*, 3(1), 3.

**Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants* (No. Ed. 2). Intercept Limited.

**Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie ; phytochimie, plantes médicinales*. 4ème édition Lavoisier. Paris. 1234p.

**Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

### « C »

**Canillac, N., & Mourey, A. (2001).** Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, 18, 261–268.

**Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017).** Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.

**Coutinho, H.D.M., Costa J.G.M., Lima EO, Falca~o-Silva VS, Siqueira JP Jr:2009** Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin — resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. *BMC Complement Altern Med*, 9:13-35.

**Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.

### « D »

**Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Éd. Yves Dacosta, France, 317p.

**Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.

**Dahmani, N. (2004).** *Extraction et Analyse d'huiles essentielles d'armoise Algérienne (ARTEMISIA herba alba)* (Doctoral dissertation, Alger).

**De Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Udo, A. (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2), 31-63.

**Dibert, K. (1989).** Contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert (Doctoral dissertation, Lyon 1).

**Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2005).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.

**Djoughri, N. (2018).** Evaluation in vitro de l'activité biologique des extraits de deux écotypes d'Artemisia herba-alba. Biotechnologie végétale, Université Kasdi Merbah Ouargla.

**Do, T., Devine, D., & Marsh, P. D. (2013).** Oral biofilms: molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. *Clinical, cosmetic and investigational dentistry*, 11-19.

**Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002).** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.

### « E »

**EL Hajli, F., Kachmar, M. R., Assouguem, A., Ullah, R., Bari, A., Hammani, K., Chakir, S., Lahlali, R., Ait Barka, E., & Echchgadda, G. (2024).** Phytochemical analysis, in vitro antioxidant and antifungal activities of extracts and essential oil derived from *Artemisia herba-alba* Asso. *Antioxidants*, 13(5), Article 612. <https://doi.org/10.3390/antiox13050612>

« F »

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(8-9), 709-719

**Fenardji, F., Klur, M., Furlon, C., & Ferrando, R. (1974).** Contribution à l'étude de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* L.). *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 27(2), 203-206.

**Ferdjallah, I., & Ben sania, N. (2021).** *Optimisation et évaluation de quelques techniques d'extraction de curcumine à partir des matières différentes* (Doctoral dissertation, université de Ghardaïa).

« G »

**Ghrabi, Z., & Sand, R. L. (2008).** *Artemisia herba alba* Asso. *A Guide to Medicinal Plants in North Africa*, 49.

**Goumni, Z., & Salhi, A. (2013).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite de la plante *Laurus nobilis* L. Mémoire de Master, Université Kasdi Merbah, Ouargla.

« H »

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

**Haouat, A., Sqalli, C., Haggoud, H., et al. (2012).** Extra and intracellular antimicrobial activity of *Arbutus unedo* L. *African Journal of Microbiology Research*, 6(6), 1283-1290.

**Hussain, S., Pan, J. A., Chen, Y., Yang, Y., Xu, J., Peng, Y., ... & Guo, D. (2005).** Identification of novel subgenomic RNAs and noncanonical transcription initiation signals of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of virology*, 79(9), 5288-5295

« I »

**Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011).** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.

**Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., & Shimamura, T. (1993).** Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1147(1), 132-136.

**IPNI.** The International Plant Name Index

« J »

**Jarrige R 1988** Alimentation des bovins, ovins et caprins; Institut National de la Recherche Agronomique Paris p471

**Jayaraman, P., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., Tang, T. H., & Sakharkar, K. R. (2010).** Activity and interactions of antibiotic and phytochemical combinations against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *International journal of biological sciences*, 6(6), 556.

**Joannès, F. (2001).** Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Éd. Robert Laffont. ISBN 2-221-09207-4.

**Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. (2002).** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 1ère éd. Paris et Bruxelles, pp. 369-384.

« K »

**Kahlmeter, G., & Turnidge, J. D. (2012).** Reviving old antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(8), 2177-2181.

**Kaouane, A., & Chabane, F. (2017).** *Contribution à l'étude des activités antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de l'Armoise blanche (Artemisia herba alba)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

**Khennouf, S., Amira, S., Arrar, L., & Baghiani, A. (2010).** Effect of some phenolic compounds and Quercus tannins on lipid peroxidation. Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases, Department of Biology, Faculty of Science, University Ferhat Abbas, Setif, 19000, Algeria

**Khobzaoui, S. (2014).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ». Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

**Kubanu .Kabdulkarimova.K., Dinzhumanova, R., Olzhayeva, R., Karimova, A. A., Uzbekova, S. Y., Orazalina, A., Dosbayeva, A., & Lauyenova, S. A. (2022).** Determination

of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Artemisia vulgaris* and *Artemisia absinthium* Growing in the Conditions of the Semey Region. Open Access Macedonian Journal Of Medical Sciences.

### « L »

**Lalou, A. (1995).** *Mise au point d'un procédé d'extraction des hémicelluloses à partir d'un substrat végétal ligno-cellulosique: application au cas des coques de tournesol* (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).

**Larrauri, J. A., Sánchez-Moreno, C., & Saura-Calixto, F. (1998).** Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(7), 2694-2697.

**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 en Biochimie moléculaire et santé. Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie.*

**Lehtinen, P., & Laakso, S. (1998).** Effect of Extraction Conditions on the Recovery and Potency of Antioxidants in Oat Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 4842–4845.

**Leybros, J., & Frémeaux, P. (1990).** *Extraction solide-liquide. Techniques et appareillage.* Editions TI.

### « M »

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

**Mafart, P., & Beliard, E. (2004).** Génie industriel alimentaire : Techniques séparatives, Tome 2. Édition Lavoisier, 2ème éd., 274p

**Malheiro, R., Sà, O., Pereira, F., Aguiar, C., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2012).** *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 473-478.

- Mapoung, S., Semmarath, W., Arjsri, P., Thippraphan, P., Srisawad, K., Umsumarng, S., ... &Dejkriengkraikul, P. (2023).** Comparative analysis of bioactive-phytochemical characteristics, antioxidants activities, and anti-inflammatory properties of selected black rice germ and bran (*Oryza sativa* L.) varieties. *European Food Research and Technology*, 249(2), 451-464.
- Margraoui, S., & Zahaf, D. (2017).** Etude de l'extraction de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Artemisia chih* en Algérie.
- Marrif, H. I., Ali, B. H., & Hassan, K. M. (1995).** Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba* (Asso.) in rabbits and mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 49(1), 51-55.
- Martinez JL, 2009:** The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc Biol Sci* 276:2521-2530.
- Mason T., & Lorimer J., 2002:** Applied Sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing. Wiley-VCH, p-293
- Matuschek, E., Åhman, J., Webster, C., &Kahlmeter, G. (2018).** Antimicrobial susceptibility testing of colistin–evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *ClinicalMicrobiology and Infection*, 24(8), 865-870.
- Messai, L., &Belkacemi, D. (2011).** Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est Algerien.
- Middleton, E., Kandaswami, C., &Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- Moualek, I. (2018).** Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. Université Mouloud Mammeri, Doctoral dissertation.
- Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017).** Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de Romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.

**Mucciarelli, M., & Maffei, M. (2002).** Introduction to the genus. 1–50 in CW Wright, *Artemisia. Medicinal and aromatic plants-industrial profiles*. V. 18.

**Muthanna,J., Mohammed., Anand, U., Altemimi, A. B., Tripathi, V., Guo, Y., & Pratap-Singh, A. (2021).** Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of white wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Antioxidants*, 10(2), Article 275.

« N »

**Naasani, I., Oh-Hashi, F., Oh-Hara, T., Feng, W. Y., Johnston, J., Chan, K., &Tsuruo, T. (2003).** Blocking telomerase by dietary polyphenols is a major mechanism for limiting the growth of human cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer research*, 63(4), 824-830.

**Naili, M. B., Alghazeer, O. A., Saleh, N. A., & Al-Najjar, A. Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnacea). *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 79–84.

**Nia B., 2018.** Effets des extraits phénoliques sur le potentiel biotique du puceron vert du pêcher (*Myzus persicae* Sulzer, 1776) (Homoptera : Aphididae). Thèse de doctorat. Sciences Agronomiques. Université Mohamed KHIDER Biskra, 52p

« O »

**Orak, H. H., Yagar, H., Isbilir, S. S., Demirci, A. S., Gumus, T., & Ekinci, N. (2011).** Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf. *Food Science and Biotechnology*, 20(5), 1249-1256.

**Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., &Delikanli, B. (2014).** Phenolics in human health. *International Journal of chemical engineering and applications*, 5(5), 393-396.

**Ozenda, P. (1991).** Les relations biogéographiques des montagnes sahariennes avec la région méditerranéenne. *Revue de géographie alpine*, 79(1), 43-53.

« P »

**Pooja, V., Das, R., & Kanchana, V. (2017, April).** Identification of plant leaf diseases using image processing techniques. In *2017 IEEE Technological Innovations in ICT for Agriculture and Rural Development (TIAR)* (pp. 130-133). IEEE.

**Pourrat, Y. (1975).** Comportement ecophysiologique d'artemisia herba-alba dans les conditions du phytotron de gif-sur-yvette.

**Pradal, J., Maudens, P., Gabay, C., Seemayer, C. A., Jordan, O., & Allémann, E. (2016).** Effect of particle size on the biodistribution of nano-and microparticles following intra-articular injection in mice. *International journal of pharmaceutics*, 498(1-2), 119-129.

**Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2018).** *Microbiologie*. De Boeck Supérieur.

« Q »

**Quy Diem D., Artik E., Phuong L., Lien H., Felycia E., Suryadi I., Yi-hsu J., 2014** -Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food Drug Anal*, 22(3) :296-302.

« R »

**Rahal, et al. (2005).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de L'OMS (4ème édition). 7-8.

**Ribéreau-Gayon, J., & Peynaud, E. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. *Traité d'œnologie*. Edition Dunod, Paris, 254 pages.

**Rivière R. 1978** Manuel d'alimentation des ruminants domestiques en milieu tropical, 2e édition. Paris, France, ministère de la Coopération, 527 p.

**Rodriguez Vaquero MJ, AredesFernaández PA, Manca de Nadra MC. (2010).** Strasser de Saad AM: Phenolic compound combinations on *Escherichia coli* viability in a meat system. *J Agric Food Chem*, 58:6048-6052.

**Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., & Mata, R. (1992).** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 275-283.

« S »

**Sadiq, R., Husain, T., Al-Zahrani, A. M., Sheikh, A. K., & Farooq, S. (2003).** Secondary effluent treatment by slow sand filters: performance and risk analysis. *Water, Air, and Soil Pollution, 143*, 41-63.

**Sassi, A. B., Harzallah-Skhiri, F., & Aouni, M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical Biology, 45*(5), 421-428.

**Scherrer, R., & Gerhardt, P. (1971).** Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall and protoplast. *Journal of Bacteriology, 107*(3), 718-735.

**Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001).** Analyses of condensed tannins: A review. *Animal Feed Science and Technology, 91*.

**Silva, L. N., Zimmer, K. R., Macedo, A. J., & Trentin, D. S. (2016).** Plant natural products targeting bacterial virulence factors. *Chemical reviews, 116*(16), 9162-9236.

**Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology, 299*, 152–178.

### « T »

**Toda, M., Okubo, S., & Shimamura, T. (1989).** The bactericidal activity of tea and coffee. *Letters in Applied Microbiology, 8*(4), 123-125.

**Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019).** Classification of phenolic compounds in plants. In *Polyphenols in plants* (pp. 263-284). Academic Press.

### « U »

**Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. J. A. E. M. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology, 68*(4), 1561-1568.

### « W »

**Wan, J., Wilcock, A., & Coventry, M. J. (1998).** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology, 84*, 152–158.

**Wiseman S, Mulder T, 2001** Rietveld A: Tea flavonoids: bioavailability in vivo and effects on cell signaling pathways in vitro. *Antioxid Redox Signal* 2001 3:1009-1021.

« Z »

**Zerargui, F., Boumerfeg, S., Charef, N., Baghiani, A., Djarmouni, M., Khennouf, S., ... & S Mubarak, M. (2015).** Antioxidant potentials and xanthine oxidase inhibitory effect of two furanocoumarins isolated from *Tamus communis* L. *Medicinal chemistry*, 11(5), 506-513.

**Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y. L., & Sun, X. (2009).** Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 C. *Meat science*, 81(4), 686-692.

**Zhou, J., Lin, Z., Ju, Y., Rahim, M. A., Richardson, J. J., & Caruso, F. (2020).** Polyphenol-mediated assembly for particle engineering. *Accounts of chemical research*, 53(7), 1269-1278.

**Les liens :**

<https://remedes.ca/larmoise-une-plante-medicinale-a-connaître/>.

[Antibiogramme : Définition, Protocole, Interprétation \(microbiologie-clinique.com\)](#)

---

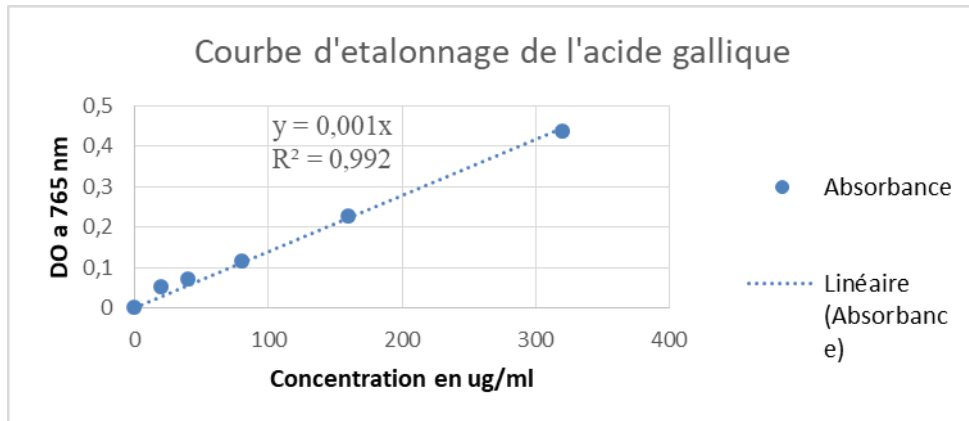
# **Annexes**

---

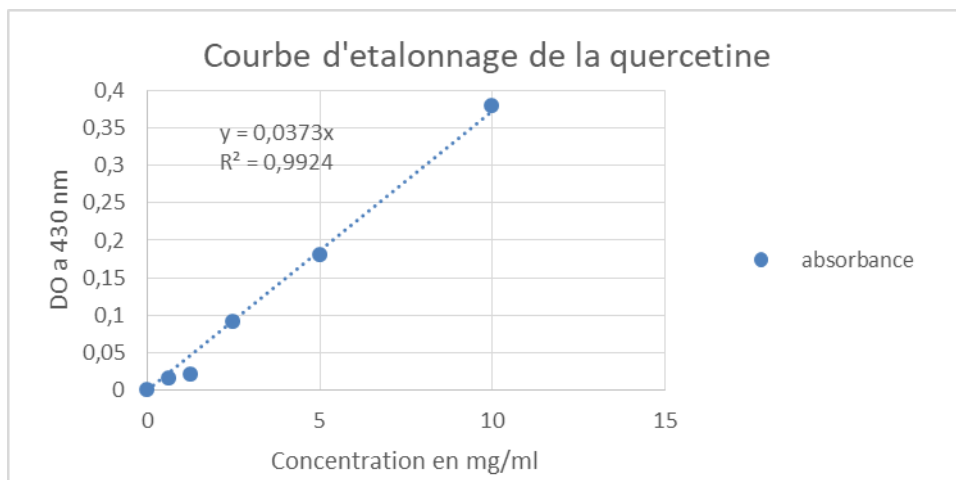
**Annexe 01 : Matériel non biologique utilisées : les appareils, la verrerie et les produits.**

| <b>Matériel et appareillage</b>             | <b>Produits</b>           | <b>Verreries</b>            |
|---|---------------------------|-----------------------------|
| -Etuve                                      | -Toluène                  | - Verre à montre.           |
| -Spectrophotomètre UV Visible               | - Méthanol                | - Bécher.                   |
| -Four à moufle                              | - Acide sulfurique à 96%. | - Tubes à essai stériles.   |
| -Soxhlet                                    | - Folin-Ciocalteu à 7.5%. | - Boîtes de Pétri en verre. |
| - Micropipettes (1000 $\mu$ l, 10 $\mu$ l). | - Carbonate de sodium.    | - Burette graduée 100ml.    |
| - Agitateur magnétique.                     | - Éthanol 96%.            | - Erlenmeyer.               |
| - Balance de précision.                     | - Acide gallique.         | - Entonnoir.                |
| - Bain marie.                               | - Catéchine               | - Pipettes pasteurs.        |
| - Plaque chauffante.                        | - Quercitine              | - Flacons stériles.         |
| - Autoclave.                                | - Eau distillée.          | - Lame et lamelles.         |
| - Bec bunsen.                               | - DMSO.                   |                             |
| - Dessiccateur.                             |                           |                             |
| - Boîtes de Pétri.                          |                           |                             |
| -Creusets en terre cuite                    |                           |                             |
| - Creusets en aluminium                     |                           |                             |
| - Papier filtre.                            |                           |                             |
| - Portoir.                                  |                           |                             |
| - Spatule.                                  |                           |                             |
| - Broyeur.                                  |                           |                             |
| - Barreau magnétique.                       |                           |                             |

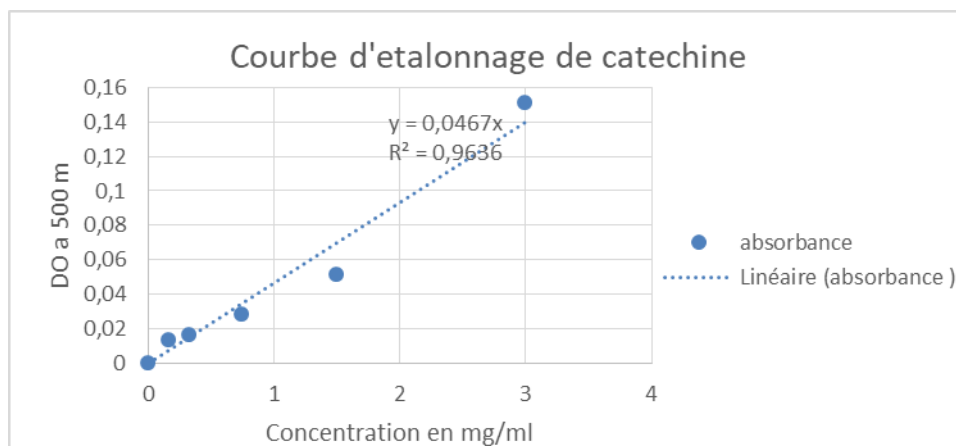
## Annexe 02



Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Courbe d'étalonnage de la quercétine



Courbe d'étalonnage de la catéchine

## Résumé

L'effet des ultrasons sur l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques d'*Artemisia herba-alba* a été examiné pour évaluer son potentiel antimicrobien. Bien que les ultrasons n'aient pas entraîné d'amélioration significative sur l'extraction des composants phénoliques (à l'exception des polyphénols) et l'activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, les tests de CMI ont montré des réductions de 0,062 g/ml à 0,0039 g/ml pour *Staphylococcus aureus* et de 0,015 g/ml pour *Bacillus subtilis* avec une exposition de 15 minutes. Les résultats de la CMB ont confirmé un effet bactériostatique. Ces résultats soutiennent l'utilisation traditionnelle d'*Artemisia herba-alba* dans le traitement des infections, soulignant son potentiel pour l'industrie pharmaceutique. Pour approfondir, des recherches futures pourraient explorer d'autres effets biologiques in vitro, évaluer les polyphénols comme conservateurs naturels, et intégrer ces composés dans des emballages alimentaires actifs pour prolonger la durée de conservation sans recours aux conservateurs chimiques.

**Mots clés :** *Artemisia herba-alba*, ultrasons, activité antimicrobienne, CMI, CMB.

## Abstract

The effect of ultrasound on the antibacterial activity of *Artemisia herba-alba* was examined to assess its antimicrobial potential. Although ultrasound did not result in any significant improvement in the extraction of phenolic components (except the polyphenols) and antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, MIC tests showed reductions from 0.062 g/mL to 0.0039 g/mL for *Staphylococcus aureus* and 0.015 g/mL for *Bacillus subtilis* with a 15-minute exposure. MBC results confirmed a bacteriostatic effect. These findings support the traditional use of *Artemisia herba-alba* in treating infections, highlighting its potential for the pharmaceutical industry. Future research could explore other in vitro biological effects, evaluate polyphenols as natural preservatives, and integrate these compounds into active food packaging to extends half-life without chemical preservatives.

**Keywords:** *Artemisia herba-alba*, ultrasound, antimicrobial activity, MIC, MBC.

## ملخص

فُحص تأثير الموجات فوق الصوتية على النشاط المضاد للبكتيريا في نبات الشيح الأبيض (*Artemisia alba-herba*) لتقييم إمكاناتها المضادة للميكروبات. على الرغم من أن الموجات فوق الصوتية لم تؤدي إلى أي تحسن كبير في استخلاص المكونات الفينولية (باستثناء البوليفينول) و النشاط المضاد للميكروبات ضد المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) والعصوية الرقيقة (*Bacillus subtilis*) ، أظهرت اختبارات التركيز المثبط الأدنى (CMI) انخفاضات من 0.062 جم/مل إلى 0.0039 جم/مل ضد المكورات العنقودية الذهبية وإلى 0.015 جم/مل ضد العصوية الرقيقة مع تعرض لمدة 15 دقيقة. أكدت نتائج التركيز القاتل الأدنى (CMB) وجود تأثير مثبط للبكتيريا. تدعم هذه النتائج الاستخدام التقليدي لنبات الشيح الأبيض في علاج العدوى، مشيرة إلى إمكاناته الكبيرة في صناعة الأدوية. لمزيد من التعمق، يمكن أن تستكشف الأبحاث المستقبلية تأثيرات بيولوجية أخرى في المختبر، وتقييم البوليفينولات كمحافظات طبيعية، ودمج هذه المركبات في عبوات غذائية نشطة لتمديد مدة الصلاحية دون الحاجة إلى المحافظات الكيميائية.

الشيح الأبيض، الموجات فوق الصوتية، النشاط المضاد للميكروبات، التركيز المثبط الأدنى، التركيز القاتل الأدنى