

MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE



Mémoire de fin de cycle

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliqué

Présenté par :

SI AHMED Sara

KHELOUL Malika

Titre :

Activité antibactérienne et antibiofilm de l'extrait aqueux
de feuilles de *Malva Sylvestris* L.

Devant le jury composé de :

Président : Pr HOUALI Karim (Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou).

Examineur : Dr Sebbane Hilal (Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou).

Encadreur : Dr Moualek Idir (Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou).

Soutenu le : 10/07/2023

Remerciements

Nous commençons tout d'abord par remercier « Dieu » le tout puissant, qui nous a accordé la santé et la force d'accomplir à terme ce modeste travail.

Nos profondes gratitude vont à **Mr MOUALEKI**, Maitre de Conférences à la faculté des sciences biologiques et agronomiques à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou de nous avoir fait l'honneur de diriger ce travail et de nous avoir guidés et encouragés pendant tout le long de celui-ci.

Nous adressons aussi nos remerciements les plus sincères à **Mr HOUALI K.**, Professeur en Biochimie Appliquée à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou et directeur du laboratoire LABAB pour son accueil, sa rigueur scientifique, ses qualités humaines et pour les meilleures conditions techniques mises à notre disposition durant la réalisation de ce présent travail, ainsi que pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de notre mémoire.

Nos remerciements les plus distingués vont aussi à **Mr SEBBANE H.**, Maitre de Conférences de classe B, pour son aide si précieuse, son orientation et son soutien, ainsi pour son acceptation d'examiner ce travail.

Enfin, nous remercions les doctorants, nos parents, nos camarades et amis et toute personne ayants contribué de prêt ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : Présentation de *Malva sylvestris* L.

1. Les plantes médicinales.....	03
2. Description botanique.....	03
3. Classification systématique.....	04
4. Noms vernaculaires.....	05
5. Répartition géographique.....	05
6. Usages et propriétés thérapeutiques.....	05
6.1. Usages pharmacologiques.....	05
6.2. Usages alimentaires.....	06
6.3. Usages cosmétiques.....	06
7. Composition chimique.....	07
8. Toxicité.....	07
9. Activités biologiques.....	08
9.1. Activité antibactérienne et antifongique.....	08
9.2. Activité anti-biofilm.....	09
9.3. Activité anti-oxydante.....	09
9.4. Activité anti-inflammatoire.....	10
9.5. Activité laxative.....	10

Chapitre II : Les composés phénoliques.

1. Généralités sur les polyphénols.....	11
2. Principales structures polyphénoliques.....	11
3. Classification des polyphénols.....	12
3.1. Les flavonoïdes.....	12
3.2. Les acides phénoliques.....	13
3.3. Les tanins.....	14
3.4. Les lignanes.....	15
4. Rôles et intérêts des composés phénoliques.....	15
4.1. Chez les humains.....	15
4.2. Chez les végétaux.....	15

Partie II : partie expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	17
1. Matériels.....	17
2. Matériel biologique.....	17
2.1. Matériel végétal.....	17
2.2. Souches bactériennes.....	17
2.2.1. Appareillages et réactifs.....	17
II. Méthodes.....	17
1. Séchage du matériel végétal.....	17
2. Préparation de l'extrait brut.....	18
3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	19
4. Evaluation de l'activité anti-biofilm.....	20
5. Analyse phytochimique.....	21
6. Dosage des polyphénols totaux.....	21

Partie III : Résultats et discussions

1. Rendement de l'extraction.....	27
2. Activité antibactérienne.....	27
3. Activité antibiofilm.....	28
4. Screening phytochimique.....	30
5. Teneur en polyphénols totaux (PPT).....	31
Conclusion	

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Planche botanique de <i>Malva sylvestris</i> L.	9
Figure 2 : Structure chimique de base du groupement phénolique.....	11
Figure 3 : Les Principales classes de polyphénols.....	12
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.....	13
Figure 5 : Les différentes sous classes des flavonoïdes.....	13
Figure 6 : Propriétés et activités biologiques des polyphénols.....	15
Figure 7 : Schéma récapitulatif des étapes expérimentales	16
Figure 8 : Forme séchée et broyée de <i>Malva sylvestris</i> L.....	17
Figure 9 : Diagramme de l'extraction aqueuse de <i>Malva sylvestris</i> L.....	18
Figure 10 : Diagramme de la première série de dilutions de la solution mère d'acide gallique.23	
Figure 11 : Résultats du test de formation de biofilm pour les deux souches testées.....	29
Figure 11A : <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Figure 11B : <i>Escherichia coli</i>	29
Figure 12 : Courbe étalon de l'acide gallique.....	31

Liste de tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Malva sylvestris</i> L.....	4
Tableau II : Les noms vernaculaires de <i>Malva sylvestris</i> L.....	5
Tableau III : Structures et principaux représentants des sous-groupes de l'acide phénolique..	14
Tableau IV : Les souches bactériennes testées.....	17
Tableau V : Densités optiques des inoculums après standardisation.....	19
Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux de feuilles de <i>Malva sylvestris</i> en mm.....	27
Tableau VII : Résultats de zones d'inhibitions de l'activité antibiofilm des extraits aqueux de feuilles de <i>Malva sylvestris</i> en mm.....	29
Tableau VIII : Résultats du screening phytochimique.....	30

Résumé

Dans le cadre de la recherche de nouvelles substances naturelles et bioactives ayant des propriétés biologiques, le présent travail s'intéresse à l'évaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L.

Dans la première étape de notre travail nous avons évalué l'activité antibactérienne de l'extrait de feuilles de la plante de *Malva Sylvestris* L., par la méthode de diffusion en milieu solide, cette activité a été révélée sur deux souches bactériennes de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram négatif) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positif). L'extrait aqueux de *M. sylvestris* a la concentration de 100mg/ml a montré une activité antimicrobienne contre la souche *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 10mm, tandis que l'extrait aqueux ayant une concentration de 200mg/ml n'exerce aucune activité antibactérienne. La propriété anti-biofilm de l'extrait a également été examinée par la méthode de diffusion sur gélose (RCA) contre *staphylococcus aureus*, les résultats enregistrés montrent une résistance de la souche vis-à-vis l'extrait de feuilles de notre plante a ses deux concentrations.

Dans la deuxième étape, une série de tests phytochimiques a été mise en œuvre, les résultats obtenus révèlent la richesse qualitative de *Malva sylvestris* en flavonoïde, tanins et composés phénoliques.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux (PPT) par la méthode colorimétrique a montré que l'extrait aqueux est caractérisé par une teneurs moyenne en PTT (18.58 ± 0.722 mg EAG/g MS).

Les résultats de cette étude représentent la puissance élevée de l'extrait de *M. sylvestris* en tant que source de composés biologiquement actifs pour le développement de futurs produits phytothérapeutiques à activité antibactérienne et antibiofilm.

Introduction

Introduction

L'histoire de la phytothérapie a commencé avec nos ancêtres, qui avaient la connaissance des herbes et savaient que la consommation de certains types d'herbes entraînait l'effet apaisant de plusieurs types de maladies (Ekor, 2014).

La phytothérapie désigne l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques. Selon les cas, la plante entière ou certaines parties de celle-ci sont utilisées, incluant les parties souterraines, tiges, feuilles, fleurs, sommités fleuries, bourgeons, fruits, graines, qui sont utilisées sous forme fraîches ou séchées. Plusieurs types de transformation de ces plantes sont appliqués : infusion, décoction (dans l'eau maintenue bouillante), macération (dans l'eau froide), extraction hydro-alcoolique, pour obtenir différentes préparations finales. Les plantes contiennent un très grand nombre de molécules pouvant avoir des modes d'action pharmacologiques variés voire synergiques vis-à-vis des bactéries ou de l'animal infecté, en prévention ou en traitement des maladies d'étiologie bactérienne. Chez les bactéries, l'activité peut être antibactérienne ou réduire la virulence des bactéries en perturbant, par exemple, la communication bactérienne ou la formation de biofilm. Chez l'animal, les propriétés des plantes peuvent être anti-inflammatoires, immuno-modulatrices ou physiologiques, réduisant les signes cliniques de l'infection tout en aidant aux processus de guérison (Ducrot et *al*, 2017).

Depuis quelques années, on assiste à une recrudescence de l'utilisation des remèdes à base de plantes médicinales pour un certain nombre de raisons. Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, puis elles arrivent à un moment où les gens sont déçus que la médecine moderne ne puisse pas guérir tous les maux (Bouhmama, 2013) en plus du fait qu'elles n'ont pratiquement aucun effet secondaire comparativement aux molécules synthétiques ; qui ont un spectre d'action qui se réduit de plus en plus à cause de la multi-résistance des bactéries aux antibiotiques ce qui en fait un problème de santé publique important à l'échelle mondiale (Moualek, 2018).

En raison de l'incidence croissante des souches de bactéries résistantes aux médicaments et des effets secondaires des drogues synthétiques les chercheurs se sont tournés vers l'étude des plantes médicinales à la recherche de substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action (Newman et Cragg, 2016 ; Boudra et Boutine, 2017).

L'Algérie est un pays qui se distingue par son vaste territoire et sa riche diversité naturelle en espèces végétales, On compte environs 3000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles (Becheikhi et *al*, 2021). *Malva sylvestris* L., Communément appelée la grande mauve est considéré comme étant l'une des plantes médicinales les plus répandus à travers le territoire national. Cette espèce a une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle en raison de sa pertinence thérapeutique (Gasparetto et *al*, 2012), elle possède des propriétés antimicrobiennes, hépatoprotectrices, anti-inflammatoires et antioxydantes et est considérée comme l'une des espèces médicinales à base de plantes les plus prometteuses (Mousavi et *al*, 2021).

L'objet de cette recherche sera donc de valoriser les plantes médicinales et de démontrer leurs propriétés curatives. Dans cette optique nous nous sommes intéressé à *Malva sylvestris* L. connue par sa richesse en métabolites secondaires. La plante entière a montré des propriétés thérapeutiques, mais en général les effets pharmacologiques de *Malva sylvestris* L sont attribués

aux feuilles et aux fleurs, notamment en raison de la présence de certains flavonoïdes et mucilages dans ces parties (Gasparetto et *al*, 2012).

L'étude est faite en deux parties, la première théorique qui se base sur la présentation et la description de *Malva sylvestris* L., ainsi que sa composition chimique. Les activités biologiques sont mentionnées à la fin de cette première partie.

La deuxième partie dite « pratique » présente et résume tous les travaux et les expériences réalisées au sein des laboratoires du département. Notre travail s'est porté sur deux aspects :

Le premier se basant sur la mise en évidence des activités biologiques de *Malva sylvestris* L., notamment l'activité antibactérienne et l'activité anti-biofilm.

La deuxième s'appuie sur l'analyse phytochimique des feuilles de *Malva sylvestris* L., et la détermination de leurs teneurs en polyphénols totaux.

Notre modeste travail se poursuit par des multiples résultats finaux et conclusions pratiques

Synthèse
bibliographique

Partie I : synthèse bibliographique

1. Les plantes médicinales

L'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes remonte à des milliers d'années, à l'époque, le choix des plantes se faisait instinctivement, ce qui a permis de déceler petit à petit celles qui pouvaient être utilisées, et celles qui s'avéraient toxiques (Moral, 2012 ; Chebira, 2019). Aujourd'hui, plus de la moitié de la population mondiale a recours la phytothérapie, un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées en grande quantité dans les cosmétiques, comme conservateurs alimentaires et comme suppléments nutritionnels ainsi qu'ingrédient naturel dans un grand nombre de médicaments dans de nombreuses industries pharmaceutiques (Chebira, 2019 ; Ekor, 2014).

Les plantes médicinales sont des ressources non toxiques ou moins toxiques, rentables, facilement accessibles et sûres pour les médicaments. Les herbes contiennent des composés phytochimiques, tels que des tanins et des flavonoïdes, qui ont une activité antimicrobienne contre les formes planctoniques et biofilm des bactéries (Fathi et al, 2021)

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés curatives. Cela signifie qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs) peut être employée dans le but de guérir. Aujourd'hui, elles sont la base de la phytothérapie et de l'homéopathie. Il existerait plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter. En effet, les plantes médicinales étant issues de la nature, il est possible d'en croiser tous les jours. De plus, on distingue les plantes herboristes qui sont utilisées telles quelles, de manière « traditionnelle », et les plantes qui constituent une matière première pour l'industrie pharmaceutique (Moral, 2012).

Malva sylvestris L., ou « Meijer » est une plante herbacée de la famille malvacées qui est connue depuis l'Antiquité pour ces utilisations médicinales efficaces (Batiha et al, 2022). Les propriétés médicinales de cette plante sont dues aux molécules bioactives qu'elle synthétise et qui sont appelées métabolites secondaires (Alexieva et al, 2022).

2. Description botanique

Malva sylvestris L. Communément appelée la grande mauve est une plante médicinale de la pharmacopée algérienne, qui appartient à la famille des malvaceae ayant environ 5000 espèces (Dupont et Guignard, 2015), son nom dérive du latin « Malva » signifiant mauve qui lui-même dérive du grec « malasso » voulant dire « adoucir » en référence à ses propriétés émollientes (Llopis, 2017)

C'est est une plante hermaphrodite vivace, bisannuelle ou pluriannuelle à floraison estivale (juin à septembre), à tige généralement prostrée à la base, hérissée de longs poils, pouvant atteindre 120 cm de hauteur avec une racine pivotante charnue et profonde, de couleur blanche (Flores, 2011 ; Baumann , 2015).

Cette plante se caractérise par des feuilles simples, membraneuses d'un beau vert foncé légèrement lustré, sous forme de palmivervia ayant un bord denté, arrondies, stipulées, veloutées des deux côtés avec de longs pétioles et découpées en 5 à 7 lobes plus au moins profonds et mesurent jusqu'à 12 cm de longueur et 15 cm de largeur (Baumann , 2015 ; Ladjaimi, 2016)

Les fleurs de *Malva sylvestris* L. se composent de cinq pétales soudées de couleur rose violacée qui sont portées par un pédoncule floral et regroupées en bouquet de deux ou plus. Elles sont régulières et actinomorphes disposées en cymes unipares axillaires composées de 2 à 6 unités (Botineau, 2011 ; Flores, 2011).

Les fruits sont des capsules schizocarpes déhiscentes circulaires constitués de 12 akènes réniformes aplatis ayant un mode de dissémination barochore (Flores, 2011 ; Gardner, 2014 ; Lim, 2014).

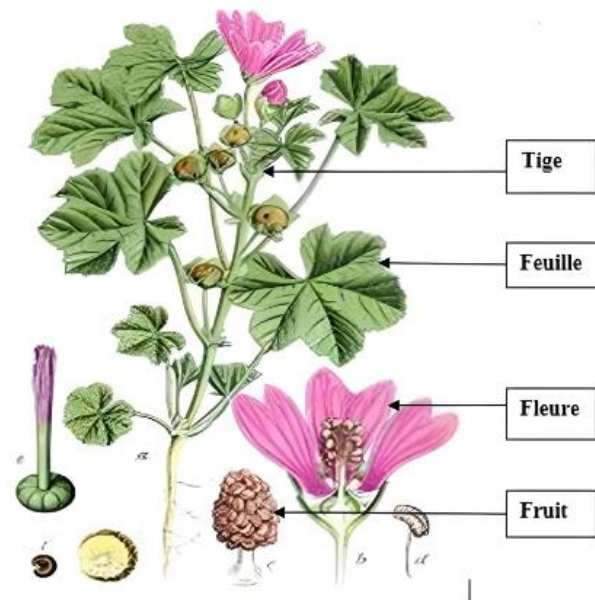


Figure 1 : planche botanique de *Malva sylvestris* L. (Beloued, 2001)

3. Classification systématique

La position taxonomique de *Malva sylvestris* L. est représenté dans le tableau I

Tableau I : classification botanique de *Malva sylvestris* L. (Ghedira et Goetz, 2016).

Règne	Plantae (plante)
Embranchement	Magnoliophyta
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Ordre	Malvales
Famille	Malvaceae
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva sylvestris</i> L.

4. Noms vernaculaires

L'appellation vernaculaire de la plante varie selon la région et la culture, offrant ainsi une richesse de dénominations ce qui facilite son identification et ainsi son usage traditionnel (Tableau II).

Tableau II : Les noms vernaculaires de *Malva sylvestris* L. (Ait Youcef, 2006 ; Flores, 2011 ; Ghedira et Goetz, 2016).

Langue	Nom vernaculaire
Berbère	Mejyer, amedjir
Arabe	Khoubeiza
Français	Mauve, grande mauve, mauve sauvage, fromageon
Anglais	Blue Mallow, High Mallow

5. Répartition géographique

La grande mauve est une plante très commune dans tous le bassin méditerranéen, elle s'étend du Nord-africain et l'Europe jusqu'en Asie occidentale et l'Asie centrale. On la trouve aujourd'hui dans presque toutes les régions tempérées et s'est naturalisé dans un grand nombre d'entre elles, échappant à la culture dans l'est de l'Australie, aux États-Unis, au Canada et au Mexique (Lim, 2014).

Cette plante est commune dans toute l'Algérie de la zone méditerranéenne à la basse montagne ; elle affectionne les terrains fertiles et on la trouve près des villages, des étables et parfois dans les décombres, les champs et les cultures (Dellil, 2013).

Malva sylvestris L. est une plante qui peut pousser dans différentes conditions, en particulier sur les sols rocheux, à différents pH et concentrations d'azote, de phosphore et de carbone organique (Godefroid et al, 2007), elle se développe aussi dans les régions humides, et dans les terres de consistance moyenne légèrement argileuse par contre elle redoute la chaleur de l'été et préfère les climats tempérés et dans les terres de consistance moyenne légèrement argileuse (Quezel et Santa, 1963).

6. Usages traditionnels et propriétés thérapeutiques

Malva sylvestris L. une plante annuelle qui est non seulement consommée comme aliment, mais aussi largement utilisée en médecine traditionnelle (Guarrera, 2005).

6.1. Usages pharmacologiques

Parmi les nombreuses espèces utilisées en médecine traditionnelle, *Malva sylvestris* L. se distingue par sa polyvalence, avec une histoire d'utilisation comme remède remontant au 6ème siècle avant JC (Llopis, 2017).

cette plante est utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections telles que la toux, le rhume, la diarrhée et la constipation (Batiha et *al*, 2022).

L'analyse phytochimique de *Malva sylvestris* L. a révélé que les feuilles et les fleurs de cette plante sont les parties les plus couramment utilisées en raison de leurs richesses en divers composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des dérivés phénoliques, des stérols, des mucilages, des tanins et des alcaloïdes. Ces composés sont responsables des nombreuses activités pharmacologiques de la mauve telles que les propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, hépatoprotectrices, laxatives, anti-biofilm et antioxydantes. De ce fait, elles donnent des résultats très efficaces dans le traitement de diverses affections notamment celles des appareils respiratoire, digestif et urinaire, et sont employées avec succès contre les affections cutanées, les ulcérations de l'estomac, des intestins, les maladies bucco-dentaires et, en gargarismes, contre la sécheresse de la bouche, de la gorge et du nez. Quant à la racine de mauve ; Mâchée ou sous forme de poudre, elle est utilisée comme désinfectant de la bouche (Labri et Ziani, 2019 ; Batiha et *al*, 2022).

La mauve peut s'utiliser en usage interne et externe

➤ **Application interne :**

La mauve est traditionnellement utilisée par voie orale comme traitement symptomatique de la toux, des inflammations des voies respiratoires, des troubles fonctionnels digestifs, traitement asymptomatique de la constipation. Elle a aussi le pouvoir d'épurer les toxines emmagasinées dans l'organisme et d'apporter du soulagement pour les affections pulmonaires (Limonier, 2018 ; Salhi, 2018).

➤ **Application externe :**

En usage local, elle a une action adoucissante et hydratante sur la peau. La plante peut être utilisée comme antiprurigineux des affections dermatologiques, antalgique dans les affections de la cavité buccale et/ou du pharynx, et en cas d'irritation ou de gêne oculaire, trophique protecteur dans le traitement des crevasses, écorchures, gerçures et contre les piqûres d'insectes. La décoction des feuilles et des fleurs fournit un bon gargarisme contre les amygdalites, angine, maux de gorge et inflammation des gencives. Pour les douleurs rhumatismales et les gouttes, on se sert de la racine et les feuilles en cataplasmes sur les zones à traiter (Gasparetto, 2012 ; Limonier, 2018 ; Salhi, 2018).

6.2. Usages alimentaires

Les jeunes feuilles sont consommées crues dans les salades et thé, les feuilles et les pousses sont consommées dans les soupes et sous forme de légumes bouillis. Les fruits immatures sont sucés ou mâchés par des enfants, des bergers et des chasseurs (Neves et *al*, 2009 ; Barros, et *al*, 2010).

6.3. Usages cosmétiques

L'utilisation des fleurs et des feuilles de *Malva sylvestris* L. en cosmétologie revient à leurs propriétés adoucissantes, rafraichissantes, astringentes et anti-couperose. De ce fait des extraits de feuilles ou fleurs sont utilisés dans des laits ou shampooings pour bébés, des produits démaquillants, des crèmes anti-rougeurs, des crèmes émoullientes pour peaux sèches ou des bains moussants rafraichissants (Llopis, 2017).

7. Composition chimique

Plusieurs études ont montré que les activités biologiques de *Malva sylvestris* L. Sont dues à sa richesse en molécules bioactives qui peuvent être soit des métabolites primaires ou secondaires comme les mucilages, les polyphénols, les vitamines et d'autres substances phytochimique importantes (Batiha et al, 2022).

➤ Les métabolites primaires :

• Les Mucilages :

Sont des substances polysaccharidiques qui sont considérées comme l'un des constituants principaux responsables des effets thérapeutiques de *Malva sylvestris* L. Leurs répartitions au niveau de la plante varient en fonction de la partie végétale, mais on général les feuilles possèdent le pourcentage le plus élevé en mucilages (Gasparetto et al, 2012).

• Les acides gras :

Les résultats d'une étude réalisée par Tabaraki et son équipe (2012) a démontré que l'huile de la mauve est composée de quatre principaux acides gras (acides linoléique, linoléique, palmitique et oléique) qui représentent plus de 82% du total des acides gras. De plus Barros et al. (2018) ont montrés que la consommation des repas riches en acides gras oméga-3 peuvent aider à prévenir le diabète, le cancer et la cardiomyopathie, entre autres troubles (Batiha et al, 2022).

• Vitamines :

L'origine du pouvoir antioxydant de *Malva sylvestris* L. revient à la présence de tocophérols (vitamine E) et acide ascorbique (vitamine C) (Barros et al, 2010).

➤ Les métabolites secondaires

➤ Flavonoïdes :

Malgré le nombre limité d'informations disponibles sur la présence et la composition détaillée des flavonoïdes dans la famille des Malvaceae mais certaines données indiquent que cette famille est caractérisée par la présence des de flavonols et de flavones, notamment *M. sylvestris* qui contient des quantités importantes de ces substances antioxydantes qui contribuent entre-autre à colorer les fleurs et les fruits (Gasparreto et al, 2012).

➤ Les acides phénoliques :

Les feuilles de la mauve contiennent plusieurs acides phénoliques tels que l'acide férulique, acides gallique, catéchique, épicatechique, vanillique et coummarique qui sont tous antioxydants (protecteurs des tissus du stress oxydatif) et antiviraux (Cutillo et al, 2006 ; Della Greca et al, 2009 ; Ben Saad et al, 2016).

D'autres éléments chimiques ont été identifiés à des concentrations relativement importantes tels que le calcium, phosphore, fer, potassium, magnésium et des vitamines A, B1, B2, B3 et C qui sont contenus dans les jeunes feuilles de la mauve, quant aux fleurs sont contenue principalement des anthocyanosides et anthocyanidines (Razavi, 2011).

8. Toxicité de la plante

La mauve peut s'utiliser sans aucun danger, au dosage recommandé car aucun effet néfaste n'est enregistré concernant la consommation humaine de cette plante. Cependant Une

utilisation prolongée et abusive de cette plante peut être toxique pour les cellules humaines (Conforti et al, 2008).

Certains auteurs ont signalé que lorsque la plante est cultivée sur des sols riches en azote cette dernière a tendance à concentrer des niveaux élevés de nitrates dans ses feuilles ce qui pourrait avoir des effets nocifs sur le bétail (Barros et al., 2010). De plus d'autres auteurs déconseillent la consommation de la mauve sylvestre par les femmes enceintes à cause de l'activité ocytotique de ses feuilles (Duraffourd et Lapraz, 2002).

9. Activités biologiques

Malva sylvestris L. est dotée de nombreuses activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques qui sont dues à sa richesse en divers substances bioactives. Les innombrables études menées sur les activités biologiques de la mauve ont démontrés que cette plante été dotée de propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antibiofilm et antioxydantes significatives qui pourraient être utiles dans le traitement de diverses maladies (Fathi et al, 2022).

9.1. Activité antibactérienne et antifongique

Malva sylvestris L, est munie d'un pouvoir antimicrobien contre de multiples espèces bactériennes et fongiques. L'activité antimicrobienne de la mauve a été démontré par la méthode de l'antibiogramme par diffusion, ce qui a mené les chercheurs à conclure que cette plante est dotée d'une activité modérée contre certains microorganismes associés à des antibiotiques typiques (Dulger et Gonuz, 2004).

En 2006, Cheng et Wang ont testé la capacité de l'anthocyanine extraite de *Malva sylvestris* à inhiber *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, en utilisant des méthodes de culture solides et liquides. Les résultats ont montré que l'anthocyane de *M. sylvestris* avait une grande activité bactériostatique chez *Staphylococcus aureus*, mais n'avait aucune activité bactériostatique chez *Escherichia coli* et *Aspergillus niger*. L'activité bactériostatique de *Staphylococcus aureus* a augmenté avec la teneur croissante en anthocyanes de *Malva Sylvestris* dans l'expérience de culture solide.

Razavi et son équipe. (2011) ont alliés les effets antibactériens élevés de *M. sylvestris* contre certaines bactéries pathogènes humaines, telles que *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus aureus*, à l'extrait de ses fleurs.

L'activité antifongique de la teinture (hydro-alcoolique) de *Malva sylvestris* contre des souches de *C. albicans*, de *C. tropicalis* et de *C. krusei* a été évaluée in vitro à une concentration de 20% (200 mg/ml), le résultat obtenu indique que la concentration minimale inhibitrice (CMI) de *Malva sylvestris* a été estimée à 20 % (Cardoso et al. 2012).

Koohsari et coll. (2015) ont étudié l'activité antimicrobienne de six plantes indigènes dans le nord de l'Iran contre six bactéries pathogènes à Gram positif (*S. aureus*, *S. epidermidis* et *E. faecalis*, résistant à la vancomycine) et à Gram négatif (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *dysenterie Shigella*). Ils ont constaté que les souches à Gram positif étaient plus sensibles que les souches à Gram négatif, et la bactérie la plus sensible était *S. aureus* (Fathi et al, 2021)

D'autres études ont également montré que l'extrait de *M. sylvestris* est pourvu d'une activité cytotoxique contre *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium, *Listeria monocytogenes*,

Bacillus cereus, *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM), et les espèces de *Candida* (Ana Maria, 2005 ; Cardoso et al, 2012 ; Mousavi et al, 2020).

Mousavi et ses collaborateurs ont montrés en 2020 que l'huile de graines de la mauve a le pouvoir d'inhiber la croissance de divers microorganismes tels que *C. albicans*, *S. aureus*, *M. luteus*, *Bacillus subtilis*, *S. epidermidis*, *E. coli* et *S. cerevisiae* à l'exception de la bactérie à Gram négatif *P. aeruginosa*.

En 2021, une étude réalisée par Shadid et al, a montré que l'extrait acétonique de *M. sylvestris* a une forte activité antibactérienne contre *Proteus vulgaris* et *S. aureus* avec des valeurs de CMI de 0,078 et 0,125 mg/ml, respectivement.

Des travaux réalisés par Fathi et ses collègues durant la même année ont permis d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait de *Malva sylvestris* contre certaines bactéries à Gram positif (*S. aureus* et *E. faecalis*) et à Gram négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) par la méthode de diffusion sur puits. Les résultats obtenus démontrent que cette plante exerce une activité antibactérienne contre les cinq bactéries pathogènes.

Razavi et ses collaborateurs (2011) ont associés l'activité antibactérienne de *Malva sylvestris* L., à ses multiples constituants, tel que les flavonoïdes, des acides phénoliques, des tanins, des naphthoquinones, polysaccharides mucilagineux et des huiles essentielles qui existent en grande quantité dans les différentes parties de plante.

9.2. Activité antibiofilm

Afin d'identifier le meilleur extrait végétal qui inhibe la croissance de microorganismes, les activités antifongiques des extraits aqueux et éthanoliques des différentes parties des plantes de *M. sylvestris*, *Dorema aucheri*, *Ferulago angulata* ont été évaluées in vitro à l'aide d'un test de diffusion sur disque et d'un test de microdilution du bouillon contre *C. albicans* et *C. krusei*. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique de racine de *Malva sylvestris* L., avait un pouvoir antibiofilm plus significatif comparé aux autres extraits testés, ce qui qualifie l'extrait de racine de *Malva sylvestris* L., en tant qu'un inhibiteur puissant de la formation de biofilm de *C. albicans* (Alizadeh et al, 2017).

L'effet de l'extrait méthanolique de *M. sylvestris* sur la formation du biofilm a été étudié in vitro à l'aide du test du cristal violet. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait a un effet antibiofilm contre les souches à Gram positif (*S. aureus* et *E. faecalis*) et à Gram négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) d'une manière dose-dépendante. L'activité antibiofilm la plus élevée a été observée contre *S. aureus*, *E. faecalis*, et *K. pneumoniae* (Fathi et al, 2021).

9.3. Activité anti-oxydante

En 2019, Petkova et ses collègues ont mené une étude sur l'activité antioxydante des extraits des feuilles et des fleurs de la mauve sylvestre en utilisant deux tests : DPPH et FRAP. Ils ont trouvé que les extraits de fleurs avaient l'activité antioxydante la plus élevée 6,01 mM TE/g poids frais (essai DPPH) et 5,98 mM TE/g poids frais pour l'essai FRAP, tandis que les feuilles avaient une activité antioxydante de 3.88 mM TE/g poids frais (DPPH) et 4.04 mM TE/g poids frais (FRAP).

En Algérie le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles *Malva sylvestris* a été évalué in vitro par Moualek et ses collègues (2020) à l'aide d'un ensemble de tests (DDPH,

Piégeage des radical H₂O₂ et du radical hydroxyle, la chélation des ions ferreux, le pouvoir réducteur ferrique et la capacité antioxydante totale). Les résultats obtenus ont démontré que l'extrait étudié possède un pouvoir antioxydant élevé en raison de sa richesse en polyphénols ce qui rends l'extrait aqueux de *Malva sylvestris* utile dans la prévention des processus oxydatifs.

Glenda M et son équipe (2022) ont également étudiés la capacité antioxydante des extraits aqueux de *Malva sylvestris* L. et *Malva Pseudolavatera* in vitro en utilisant les tests FRAP, DPPH et ABTS. Les résultats ont montré que *M. sylvestris* possède un effet antioxydant plus élevé que *M. Pseudolavatera* et ils conclus que la différence trouvé dans l'activité antioxydante entre les espèces peut être due à la teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes dans l'extrait hydroalcoolique de *M. Sylvestris*.

9.4. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique et des fraction (hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et résiduel) de feuilles et de fleurs de *Malva sylvestris* a été évaluée par quantification des prostaglandines et la concentration de thromboxane B₂. Comme résultat une inhibition de la libération de médiateurs anti-inflammatoires a été observée principalement dans l'extrait brut et la fraction d'acétate d'éthyle et résiduelle, ce qui confirme l'activité anti-inflammatoire de *Malva sylvestris* (Martins et al, 2017).

Une étude visant la mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire de la poudre de fruit de *Malva sylvestris* L. à été réalisée sur des souris dans lesquels les chercheurs ont induit un œdème de pattes par l'injection de carraghénane, puis leurs administrer des doses différentes d'extraits éthanoliques et aqueux des fruits de *Malva sylvestris*. Après un certain temps, les souris traitées avec ces extraits ont montré une réduction notable de l'œdème. L'étude a révélé que les extraits préparés à base de fruit de *M. sylvestris* ont montrés une activité anti-inflammatoire significative (Akhlaq et Mohammed, 2022).

9.5. Activité laxative

Jabri et son équipe (2017) ont réalisés une étude sur les effets laxatifs de l'extrait aqueux des feuilles de *Malva sylvestris* dans le traitement de la constipation induite par le loperamide chez les rats Wistar mâles. Les résultats obtenus après traitement des cobayes avec l'extrait de la plante ont démontré que ce dernier avait un effet puissant contre la constipation induite par le loperamide en partie grâce à une augmentation de la motilité gastro-intestinale, une stimulation de la sécrétion intestinale de l'eau ainsi que ses propriétés antioxydantes.

1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels synthétisés exclusivement par les plantes qui possèdent une structure chimique commune caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs substituants hydroxyle (-OH) (Ayad et Akkal, 2019).

Ces constituants phytochimique sont qualifiés de métabolites secondaires car ils n'exercent pas une activité directe au niveau des activités fondamentales de la plante (tels que la reproduction et la croissance), cependant ils jouent un rôle majeur dans l'interaction de la plante avec son environnement (Dai et Mumper, 2010) et la protection contre les rayons ultraviolets (Jaganath et Crozier 2010). Ces caractéristiques expliquent leur large utilisation commerciale en tant qu'agents aromatisants, médicaments naturels, antioxydants, additifs naturels, etc... (Mello, 2015)

Cette description englobe un grand nombre de composés hétérogènes en fonction de leur complexité. Par conséquent, les polyphénols peuvent être simplement classés en flavonoïdes et non flavonoïdes ou subdivisés en de nombreuses sous-classes en fonction du nombre d'unités phénoliques dans leur structure moléculaire, des groupes de substituants et/ou de la structure de l'organisme (Singla et *al*, 2019)

Les polyphénols végétaux attirent de plus en plus l'attention en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes et de leurs effets marqués dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif telles que le cancer (Dai et Mumper, 2010).

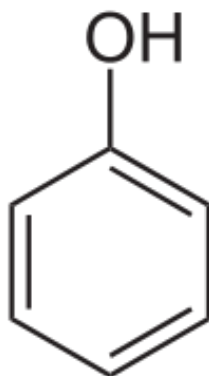


Figure 2 : Structure chimique de base du groupement phénolique (Cheynier, 2005).

2. Principales structures polyphénoliques

Plus de 10 000 composés phénoliques ont été répertoriés chez les végétaux allant des molécules les plus simples comme les acides phénoliques aux substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper, 2010 ; Li et *al.*, 2014)

Tous les composés phénoliques possèdent la même structure chimique de base. Cependant, les éléments structuraux qui se lient à cette dernière varient considérablement en fonction de la présence de différents groupes fonctionnels tels que des groupes méthoxyle (-OCH₃), des groupes glycosyle (-O-glucose, -O-galactose), des groupes acyle (-COCH₃, -COOH). Par

conséquent, il existe une grande variété de polyphénols différents, chacun ayant une structure unique (Clifford, 2004).

Les principales classes de polyphénols sont regroupées dans le Tableau III (Manach, 2004 ; Macheix, 2005).

3. Classification des polyphénols

Les polyphénols sont classés sur la base du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et des éléments structurels qui lient ces cycles les uns aux autres (Pandey et Rizvi, 2009) ce qui donne naissance à plusieurs classes et sous-classes de polyphénols, telles que ; Acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes , tanins et lignanes (figure 3) (Li et al, 2014).

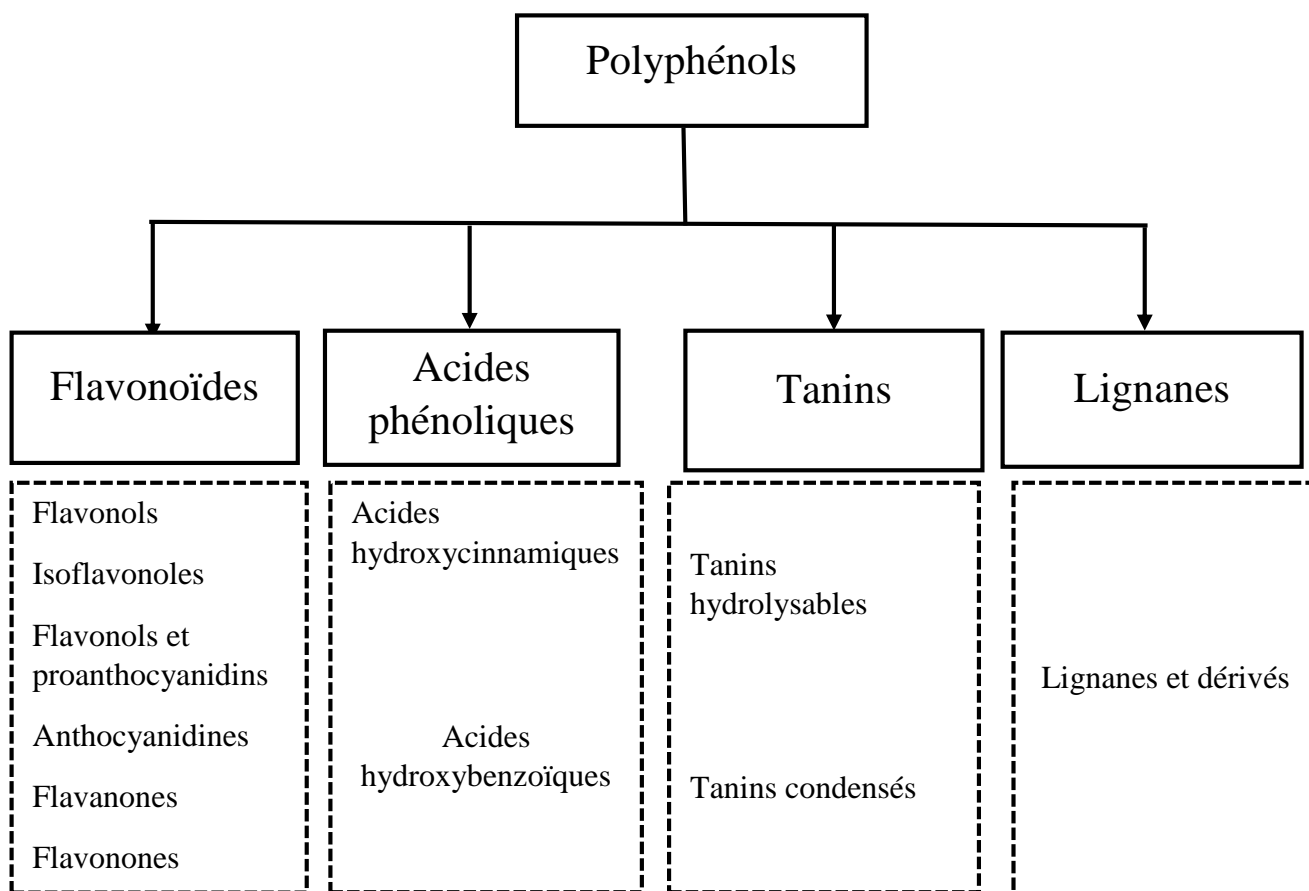


Figure 3 : Les Principales classes de polyphénols (Olivier et al, 2016).

3.1. Les flavonoïdes

Ils sont l'un des groupes de produits naturels les plus reconnus, même en dehors de la communauté scientifique. Ils sont largement représentés dans l'alimentation humaine, car ils sont présents dans les plantes, les graines et divers aliments. Ils sont responsables de la pigmentation de différentes parties de la plante (Abedini, 2013).

D'un point de vue chimique, les flavonoïdes sont des composés phénoliques constitués de deux cycles benzéniques (A et B) combinés à un cycle benzopyrane hétérocyclique (C)

contenant de l'oxygène (figure 4). Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes en fonction de leur structure moléculaire. Le nombre de ces classes varie selon les critères de classification (Samanta et al, 2011).

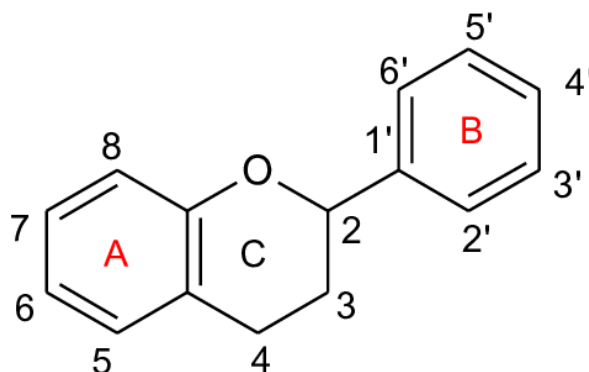


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Abedini, 2013).

En fonction de leurs structures (type d'hétérocycle impliqué) les flavonoïdes sont répertoriés en six sous-classes (figure 5) (Manach et al, 2004).

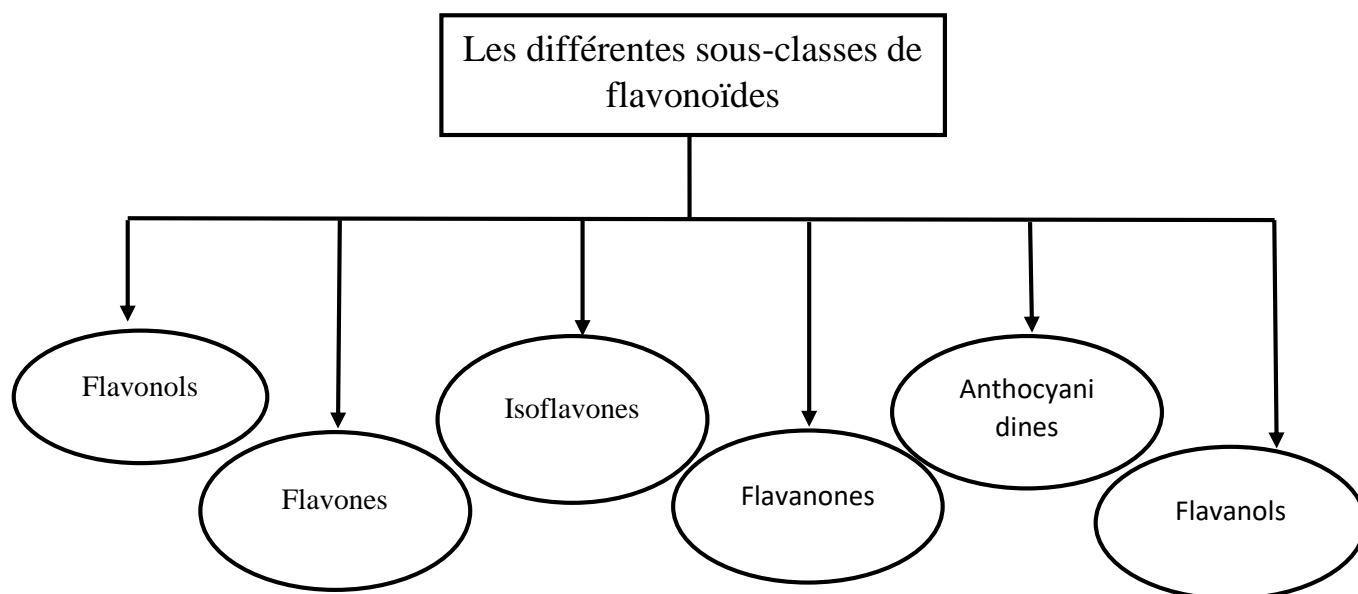


Figure 5 : Les différentes sous classes des flavonoïdes (Manach et al, 2004).

3.2. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques ou phénolcarboxyliques sont l'une des principales classes de composés phénoliques végétaux qu'on trouve dans la variété des aliments à base de plantes. Le terme « acides phénoliques » décrit généralement tous les composés acides aromatiques ayant un cycle phénolique et une fonction acide carboxylique organique. En général ils sont présents sous forme liée tels que des amides, des esters ou des glycosides et rarement sous forme libre (Kumar et Goel, 2019).

Les acides phénoliques sont principalement divisés en deux sous-groupes (Tableau III) (Kumar et Goel, 2019) :

- Les acides hydroxybenzoïques.
- Les acides hydroxycinnamiques.

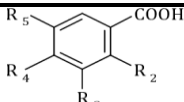
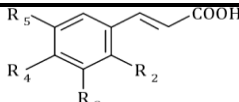
	Acides hydroxybenzoïques	Acides hydroxycinnamiques																																																												
Structure du noyau	Noyau benzénique	Noyau cinnamique																																																												
Acides contenus	<ul style="list-style-type: none"> • Acide salicylique • Acide gallique 	<ul style="list-style-type: none"> • Acide férulique • Acide Caféique • Acide p-coumarique • acide sinapique 																																																												
Structure chimique des deux acides	 <p>Acides benzoïques</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>R₂</th> <th>R₃</th> <th>R₄</th> <th>R₅</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Acide <i>p</i>-hydroxybenzoïques</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Acide protocatéchique</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Acide vanillique</td> <td>H</td> <td>OCH₃</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Acide galique</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>Acide syringique</td> <td>H</td> <td>OCH₃</td> <td>OH</td> <td>OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Acide salicylique</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Acide gentistique</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>OH</td> </tr> </tbody> </table>		R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïques	H	H	OH	H	Acide protocatéchique	H	OH	OH	H	Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H	Acide galique	H	OH	OH	OH	Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide salicylique	OH	H	H	H	Acide gentistique	OH	H	H	OH	 <p>Acides cinnamiques</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>Acide <i>p</i>-coumarique</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acide caféique</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acide férulique</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acide sinapique</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Acide <i>p</i> -coumarique					Acide caféique					Acide férulique					Acide sinapique				
	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅																																																										
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïques	H	H	OH	H																																																										
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H																																																										
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H																																																										
Acide galique	H	OH	OH	OH																																																										
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃																																																										
Acide salicylique	OH	H	H	H																																																										
Acide gentistique	OH	H	H	OH																																																										
Acide <i>p</i> -coumarique																																																														
Acide caféique																																																														
Acide férulique																																																														
Acide sinapique																																																														

Tableau III : Structures et principaux représentants des sous-groupes de l'acide phénolique (Farhoosh et *al*, 2016 ; Kumar et Goel, 2019).

3.3. Les tanins

Issues du métabolisme secondaire, les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles très répandues dans le règne végétal, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000. Cette vaste famille de molécules se démarque par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés.

Chez les végétaux, les tanins se localisent dans divers organes. Les plus fortes concentrations se rencontrent souvent dans les fruits, les fleurs et les feuilles.

Du point de vue de la composition chimique, on distingue aujourd'hui plusieurs catégories de tanins, les tanins hydrolysables et les tanins condensés étant les principales catégories

Qu'ils soient leurs catégories, les tanins possèdent un large éventail d'activités biologiques, antibactériennes et antioxydantes en particulier, liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines (Rira, 2020).

3.4. Les lignanes

Sont des molécules naturelles de nature polyphénoliques présentes dans environ soixante-dix familles de végétaux. Les lignanes représentent plus de 200 molécules qui s'accumulent dans les tissus ligneux, les graines et les racines de nombreuses plantes. Elles possèdent plusieurs propriétés biologiques telles que les activités anti tumorale, insecticide, antibactérienne, etc... (Perrot, 2018 ; Garros, 2021).

4. Rôle et intérêt des composés phénoliques

4.1. Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre diverses maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs activités biologiques (figure 6) (A. Fleuriet et *al*, 2005).

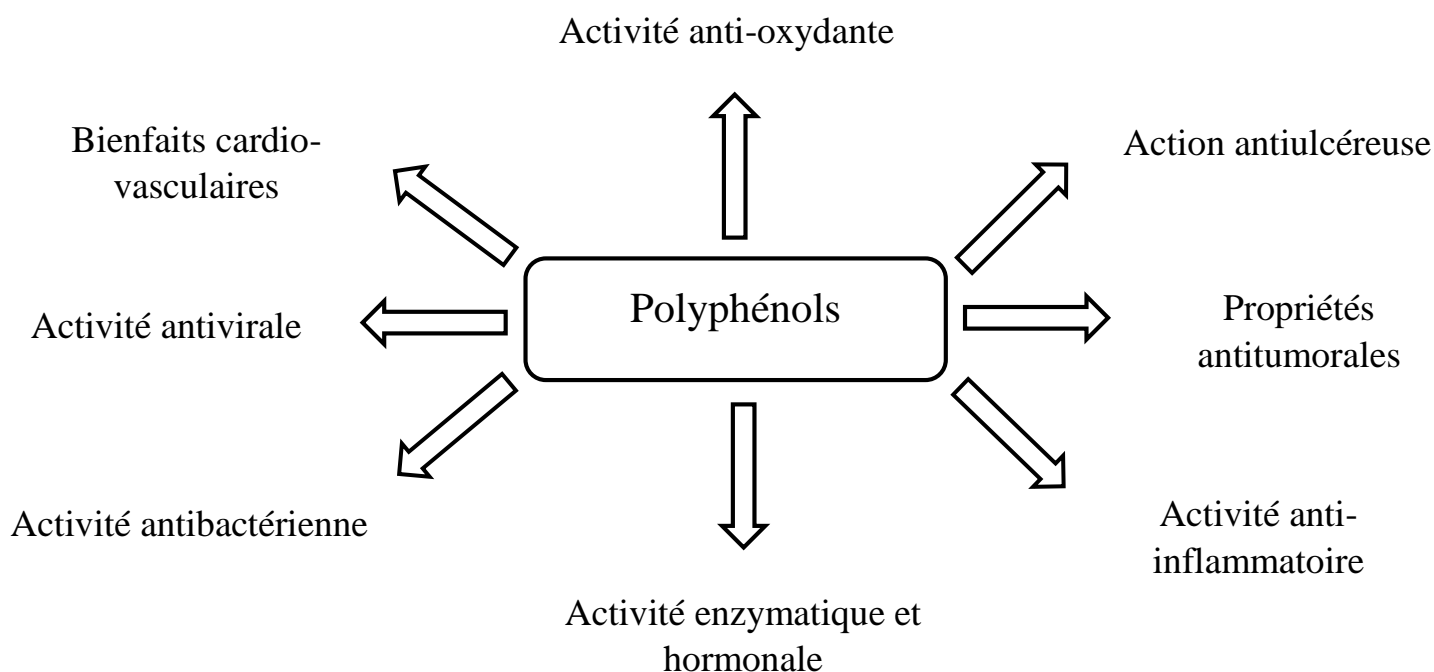


Figure 6 : Propriétés et activités biologiques des polyphénols (Masseaux, 2012).

4.2. Chez les plantes

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ; dans les critères de qualité (couleur, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) (A. Fleuriet et *al*, 2005).

Matériel et méthodes

Partie II : partie expérimentale✓ **Cadre de l'étude**

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques de recherche en biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) et physico-chimique du département de Biochimie-Microbiologie, Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Notre pratique s'est déroulée du début du mars jusqu'au mois de mai 2023.

✓ **Objectif de l'étude**

Notre travail expérimental avait pour objectif l'évaluation et la mise en évidence de l'activité antibactérienne et antibiofilm de l'extrait aqueux de *Malva sylvestris* L. et d'analyser les propriétés phytochimiques de cette plante, ainsi que la détermination de sa teneur en polyphénols totaux

✓ Le diagramme de notre expérimentation est schématisé dans la figure ci-dessous.

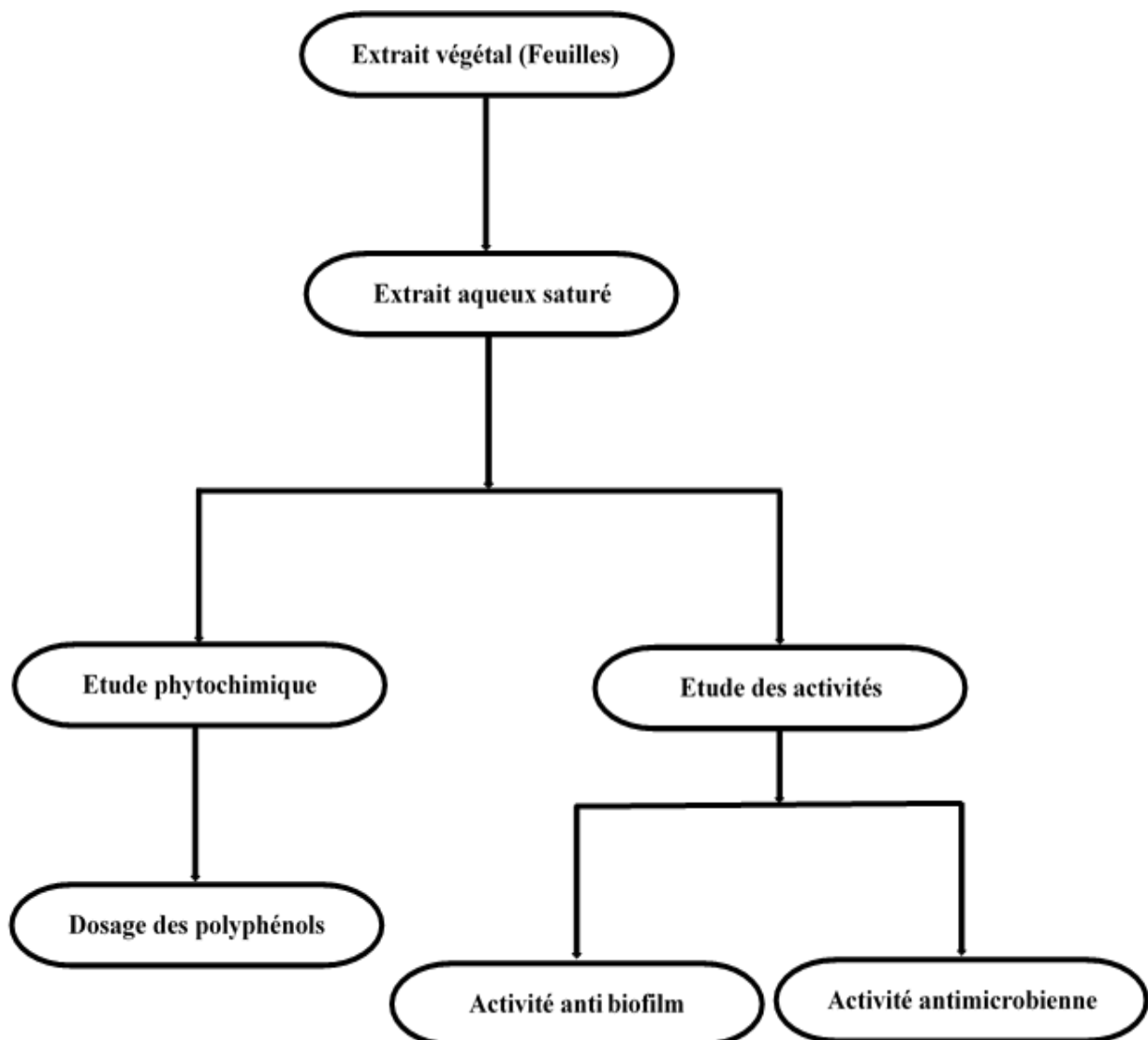


Figure 7 : Schéma récapitulatif des étapes expérimentales.

I. Matériel et méthodes

1. Matériel

2. Matériel biologique

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Malva sylvestris* L. qui ont été récoltées en mars 2023 dans la commune d'Iflissen (36° 51' 49" nord, 4° 13' 13" est). L'échantillonnage se fait sur des feuilles matures, saines et éloignées de la route et de toute exploitation agricole. Par la suite ces feuilles sont triées, soigneusement lavées à l'eau distillée puis séchées à température ambiante.

2.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes vis-à-vis desquelles nous avons testé les extraits de la plante proviennent du laboratoire de recherche en biochimie analytique et biotechnologie (LABAB), département Biochimie-Microbiologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (Tableau IV).

Tableau IV : Les souches bactériennes testées.

Souches bactériennes	Type	Reference	Famille
<i>Escherichia coli</i>	Bacille a Gram négatif	ATCC 25922	Enterobacteriaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci a Gram positif	ATCC 25923	Staphylococcaceae

1.2.2. Appareillage et réactifs

Les équipements utilisés dans notre travail expérimental ainsi que les réactifs chimiques, les solvants et les milieux de cultures, sont détaillés dans l'annexe (1).

II. Méthodes

1. Séchage et broyage du matériel végétal

Une fois que le séchage des feuilles achevé, celles-ci sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisées afin d'obtenir une poudre fine et homogène (figure 8).



Séchage



Tamissage



Poudre fine

Figure 8 : Forme séchée et broyée de feuilles de *Malva sylvestris* L. (photos personnelles).

2. Préparation de l'extrait brut

Afin d'extraire les composés bioactifs de la plante étudiée, nous procédons à une macération, ou 6.8g de poudre de feuilles ont été mélangées à 68 ml d'eau distillée, puis laissées sous agitation continue pendant 24h à température ambiante.

Le macéra est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre whatman numéro 01 afin d'éliminer le maximum de matières végétales et d'obtenir un liquide limpide et homogène.

Le filtrat obtenu sera versé dans un cristalliseur, puis déposé dans une étuve réglée à une température de 40°C pendant 24h. Après évaporation complète de l'eau, on récupère l'extrait sec.

✓ Les différentes étapes qui nous ont permis d'obtenir l'extrait brut sont résumées dans la figure 9.

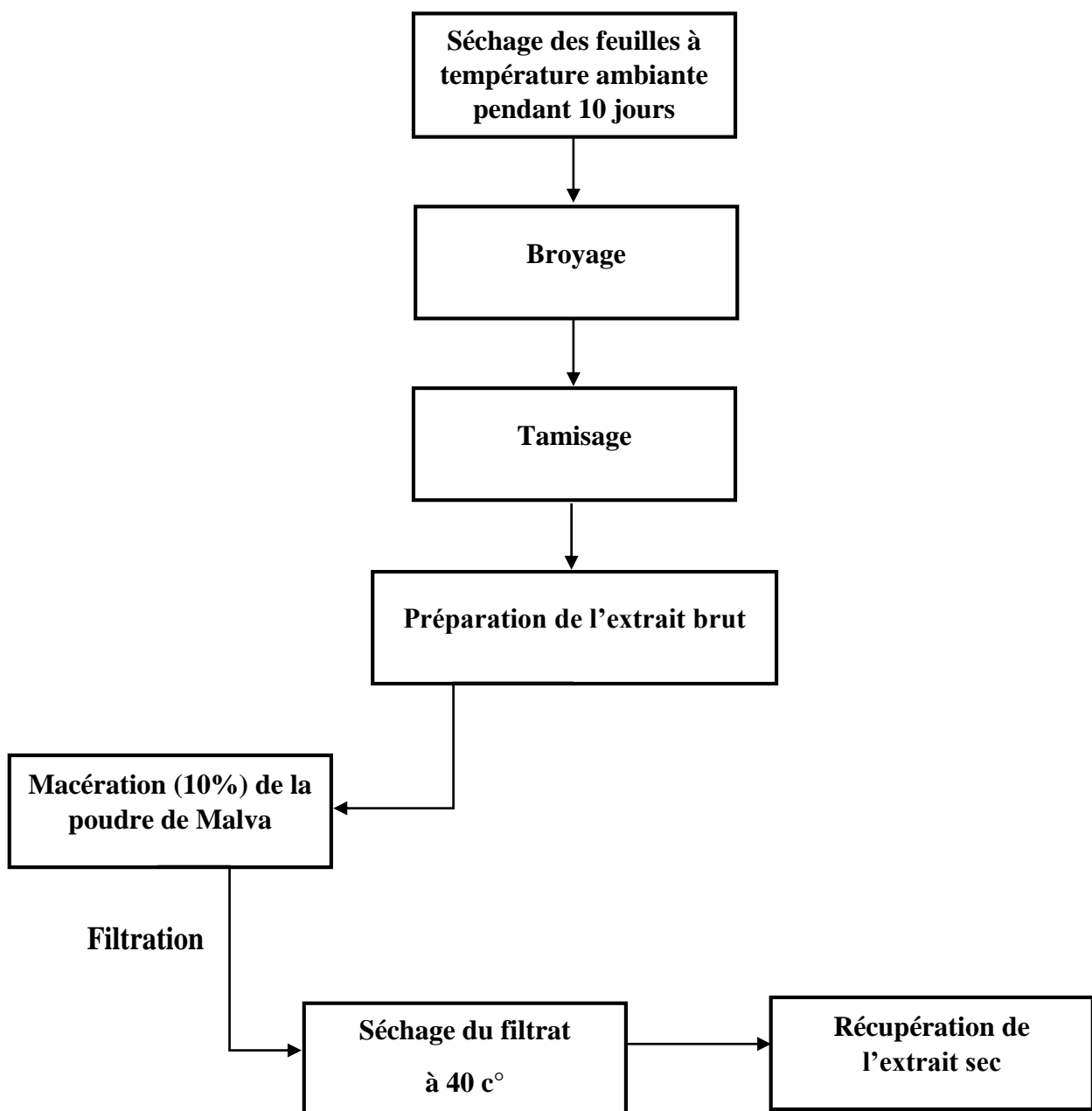


Figure 9 : Diagramme de l'extraction aqueuse de *Malva sylvestris* L.

➤ Rendement de l'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait obtenue après évaporation complète de l'eau par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé suivant la formule présentée ci-dessous :

$$R (\%) = [M / M0] \times 100$$

R (%) : rendement exprimé en %

M : masse en gramme de l'extrait sec obtenu

M0 : masse en gramme de la poudre végétale utilisée (g)

3. Activité antibactérienne

3.1. Préparation des inoculums

Les souches bactériennes utilisées pour cette préparation sont préalablement revivifiées en milieu BHIB (24 à 37°C), puis encencées sur milieux Mueller-Hinton par la méthode de stries, puis réincubées à 37°C pendant 24h.

La préparation des suspensions bactériennes est effectuée en suivant le protocole de Djennane et al. (2012). Une ou plusieurs colonies sont prélevées à partir de cultures jeunes purifiées et revivifiées, ces colonies sont ensuite inoculées dans 9ml d'eau physiologique stérile, tout en les homogénéisant.

De nouvelles boîtes sont ensemencées à partir de cet inoculum par écouvillonnage.

L'absorbance (DO) des deux suspensions est ensuite mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (620nm). Une densité optique comprise entre 0,08 et 0.1 correspondant à une charge bactérienne de 10⁸ UFC/ml est considérée comme standard pour les suspensions bactériennes.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant :

Espèce bactérienne	Densité optique
<i>Escherichia coli</i>	0.093
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.1

Tableau V : Densités optiques des inoculums après starnadrisation.

3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Malva sylvestris* L.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Malva sylvestris* a été déterminée vis-à-vis d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* par la méthode d'aromatogramme, qui est une méthode de diffusion par disque sur milieu solide Mueller Hinton (MH) décrite par Celiktas et al (2007).

➤ **Mode opératoire**

Les suspensions bactériennes sont ensemencées séparément par stries serrées à l'aide d'un écouvillon sur milieu agar Mueller-Hinton en tournant la boîte de 60° à trois reprises jusqu'à ensemencement de la totalité de la surface.

Ensuite deux disques de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre, stériles, sont déposés à la surface du milieu Mueller Hinton puis chargés de 15 µl d'extrait aqueux pur à la concentration de 200mg/ml et 15 µl de l'extrait dilué à la concentration de 100mg/ml respectivement.

Les disques des contrôles positifs (antibiotique de référence gentamicine 10µg/disque) et des contrôles négatifs (imprégnés d'eau distillée) sont placés à la surface de ces boîtes, puis le tout est mis au réfrigérateur à 4°C pendant 2 à 4h afin de permettre aux extraits de bien se diffuser puis incubés à 37°C pendant 24h.

La croissance des germes sera inhibée suite à la diffusion des extraits dans la gélose dans le cas d'une éventuelle activité antibactérienne, le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque est mesuré. Chaque contact d'un microorganisme avec un antibiotique produit un diamètre particulier (Vazquez-Pertejo, 2022).

4. Activité antibiofilm

4.1. Sélection des souches productrices de biofilm

Pour la détection de la production de biofilm par les souches testées, nous avons appliqué le protocole établi par Freeman et al. (1989).

➤ **Mode opératoire**

Les souches à tester (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) sont ensemencées séparément sur géloses au rouge congo, puis incubées à 37°C pendant 24h.

La formation de biofilm est révélée par la présence des colonies noires résultant de la fixation des polysaccharides au le rouge congo (Freeman et al, 1989).

4.2. Evaluation de l'activité antibiofilm des extraits de feuilles de *Malva sylvestris* L.

L'activité antibiofilm de l'extrait aqueux de *Malva sylvestris* est évaluée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* par la méthode de diffusion sur gélose décrite par Celiktas et al. (2007).

Une boîte contenant de la gélose au rouge congo a été ensemencée avec la suspension standardisée de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Deux disques de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre, stériles, sont déposés à la surface de la boîte puis chargés de 15 µl d'extrait aqueux pur à la concentration de 200mg/ml et de 15 µl d'extrait dilué à la concentration de 100mg/ml respectivement.

Les disques de Témoin positif (antibiotique de référence gentamicine 10µg/disque) et Témoin négatif (imprégné d'eau distillée) sont ensuite placés à la surface de cette boîte.

L'absence de formation de biofilm se traduit par l'apparition de colonies bactériennes claires.

5. Analyse phytochimique

Les tests phytochimique réalisés ont permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires composant l'extrait aqueux étudié en utilisant les procédures standards telles que décrites par Trease et al. (1989).

➤ Mise en évidence de la présence des anthocyanes :

5ml d'extrait à tester sont versés dans un erlenmeyer, auquel on rajoute quelques gouttes d'HCl. Une réaction positive se traduit par une coloration rouge.

➤ Mise en évidence de la présence des tanins :

Dans un erlenmeyer, introduire 5ml de l'extrait aqueux puis ajouter quelques gouttes de la solution FeCl₃ (5%).

L'apparition d'une coloration bleu noir signifie la présence des tanins.

➤ Mise en évidence de la présence des flavonoïdes :

Dans une Sorbonne de laboratoire on mélange 5ml de l'extrait aqueux avec 5ml d'HCl pur en ajoutant un copeau de magnésium (Mg) et 1ml de l'alcool iso-butanol.

L'apparition d'une coloration rouge violacée indique la présence des flavonoïdes.

6. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été évaluées suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, telle que décrite Talbi et al. (2015).

Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses (Bessas, 2008).

- ✓ Le but de ce dosage est d'évaluer quantitativement la teneur en composés phénoliques de l'extrait de *Malva sylvestris* L.

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide jaune constitué d'un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique. Lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (Boizot et Charpentier, 2006).

➤ Mode opératoire

200 µl d'extrait dissout dans de l'eau distillée à la concentration de 500 µg/ml sont mélangés à 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué au dixième) et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 75mg / ml, le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes. La couleur vire au bleu suite à une réaction d'oxydoréduction entre le réactif du Folin et les polyphénols présents dans l'extrait, la coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait végétal (Ghazi et Sahraoui, 2005).

L'absorbance est mesurée à 760 nm et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g) en se référant à la courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) de l'acide gallique à des concentrations allant de 10 à 100 µg/ml. Les solutions d'extrait ainsi que la gamme d'étalonnage sont préparés le même jour dans les mêmes conditions opératoires.

Pour s'assurer que les résultats sont fiables, le dosage des composés phénolique a été réalisé en trois essais.

- Le blanc est préparé en mélangeant 200 µl d'eau distillée avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au dixième) et 800 µl de solution de carbonate de sodium.

7. Protocole de préparation de la gamme étalon d'acide gallique

7.1. Préparation de la solution mère

Une gamme de dix concentrations d'acide gallique allant de 10 à 100 µg/ml a été préparée à partir d'une solution mère obtenue en mélangeant 0.01g d'acide gallique avec 100 ml d'eau distillée en s'assurant d'une bonne homogénéisation à l'aide d'un agitateur magnétique.

7.2. Dilution de la solution mère

Une série de neuf dilutions a été établie à partir de la solution mère en introduisant des volumes décroissants de la solution d'acide gallique dans des tubes à essai de la première série, ajustés avec de l'eau distillée pour obtenir un volume final de 3ml, en plus d'un dixième tube qui contient le même volume mais de la solution mère (figure 10) (Annexe 3)

7.3. Préparation des solutions du mélange réactionnel

➤ Dilution du réactif de Folin- Ciocalteu

On procède à une dilution au dixième en mettant 1 ml du réactif de Folin- Ciocalteu dans 9 ml d'eau distillée, équivalent de 4 ml du réactif de Folin dans 36 ml du solvant pour avoir un volume suffisant.

➤ Mise en solution de la poudre de carbonate de sodium

2.25g de carbonates de sodium en poudre ont été dissoutes dans 30 ml d'eau distillée, qui a été mis sous agitation continue pendant 5minutes.

- Pour la deuxième série on prélève un volume de 600 µl de chaque tube de la première série auquel on ajoute 3ml du réactif du Folin-Ciocalteu de couleur jaune (les tubes sont recouverts avec du papier aluminium en raison de la sensibilité du réactif a la lumière), après 4 minutes un volume de 2.4 ml du carbonate du sodium est additionné au mélange réactionnel, incubé pendant 30minutes à température ambiante.

Le blanc est préparé en suivant le même protocole mais on remplace l'acide gallique par l'eau distillée.

L'absorbance de ce complexe coloré sera ensuite mesurée dans un spectrophotomètre à 760 nm.

Résultats et discussion

Partie III : Résultats et discussions

1. Détermination du rendement

Afin de récupérer les molécules biologiquement actives contenus dans les feuilles de notre plante, nous avons procédé à une extraction aqueuse par macération, puis évaporation du solvant dans lequel ces molécules se trouvent.

Le rendement a été déterminé à 14,68 %, ce résultat est relativement proche de celui rapporté par MEZITI (2018) sur l'extrait aqueux de *Malva parviflora* (19%). Par contre ce taux est très élevé par rapport à celui rapporté par Ouldyeou et Righi (2020) sur l'extrait méthanolique de tiges de *Malva sylvestris* (5,26%) et de celui rapporté par Benabdellah et al. (2022) dont la valeur égale à 3.4%.

Les variations des rendements au sein d'une plante, peuvent être liés à différents facteurs, comme les propriétés génétiques de cette dernière et son origine géographique, aux conditions et à la durée du stockage et aux méthodes d'extractions appliquées (Moualek, 2018).

2. Activité antibactérienne

De nombreuses études *in vitro* ont été menées afin de déterminer le potentiel antibactérien des composés bioactifs des extraits des feuilles de *Malva sylvestris* L., ce qui a permis de confirmer leur efficacité comme agents antimicrobiens contre un grand nombre de microorganismes pathogènes avec des spectres d'activités variables.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L. a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque, contre deux (2) souches bactériennes de référence qui sont *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATTC 25923.

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

Les résultats sont transcrits dans le tableau suivant.

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* en mm.

Disques testés / Souches	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923
Témoin positif (Antibiotique gentamicine 10µg)	35 mm Ø	38 mm Ø
Témoin négatif (Eau distillée)	Négatif	Négatif
Extrait aqueux pur (200 mg/ml)	Négatif	Négatif
Extrait aqueux dilué (100mg/ml)	Négatif	10 mm Ø

Suite aux résultats présentés dans le tableau VI, l'extrait aqueux pur de feuilles de *Malva sylvestris* ne présente aucune activité antibactérienne vis-à-vis des deux souches testées, contrairement à l'extrait pur dilué à 1/2 qui présente une activité antibactérienne moyenne contre *staphylococcus aureus* qui se manifeste par une zone d'inhibition de 10 mm Ø, cependant aucun effet n'est enregistré contre *Escherichia coli*.

L'analyse de ces résultats révèle l'absence de zones d'inhibitions pour la souche *Escherichia coli*, traduit sa résistance vis-à-vis les deux extraits testés.

L'analyse de ces résultats révèle la présence d'une différence relative entre le pouvoir antibactérien des deux extraits aqueux testés. En effet, le phénomène de résistance contre l'extrait aqueux pur observé chez *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus* peut s'expliquer par la difficulté de diffusion de cet extrait à travers le disque de papier whatman à cause de sa concentration élevée. De plus, l'absence de zone d'inhibition pour la souche *Escherichia coli*, testée avec l'extrait aqueux dilué traduit sa résistance à cet extrait.

Ces résultats montrent un effet relativement plus important de cet extrait sur les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATTC 25923) et une résistance des Gram négatifs, ce qui est en corrélation avec la littérature qui confirme que les bactéries Gram négatif sont les plus résistantes aux différents extraits des plantes (Fathi et al, 2021).

Des résultats similaires sont rapportés par Larbi et Ziani (2018) sur la même plante ou ils ont également confirmé la sensibilité de *staphylococcus aureus* vis-à-vis le même extrait avec un diamètre de 12.3 mm qui est légèrement supérieur à celui obtenu par notre étude.

La variation des diamètres des zones d'inhibition ou leurs absences peut être impacté par le micro- organisme, la plante (genre, partie utilisée, variations génétiques etc.) et le potentiel antibactérien des substances bioactive de l'extrait, elle l'est aussi par la capacité de diffusion dans le milieu gélosé de ces dernières (Sassi et al, 2007 ; Carneiro et al, 2008 ; Malheiro et al, 2012 ; Miguel et al, 2014).

3. Activité antibiofilm

Le criblage de la production de biofilm par *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* a été déterminé par la méthode Gélose Rouge Congo.

Les résultats que nous avons enregistrés montrent la présence des colonies noires avec un cristallin de consistance sèche dans la boîteensemencée par *Staphylococcus aureus* ATCC2592 sur milieu RCA (figure 11A), Cet aspect s'explique par la capacité de cette souche à produire des exo-polysaccharides (EPS) ou (SLIME) qui en réagissant avec le rouge congo donnent des colonies noires. Ces résultats, indiquent que *staphylococcus aureus* est fortement formatrice de biofilms. Cependant, aucun changement de couleur n'est observé dans la boîteensemencée avec *Escherichia coli* ATCC 25922 (figure 11B), qui présente des colonies rouges sur le même milieu. Cela s'explique par son incapacité de former de biofilm.

Des études menées par Archer et al (2011) ont confirmé la capacité de *staphylococcus aureus* à produire un biofilm.



A : *Staphylococcus aureus*



B : *Escherichia coli*

Figure 11 : Résultats du test de formation de biofilm pour les deux souches testées.

La bioactivité des extraits de feuilles de *Malva sylvestris* L. a été testée contre *Staphylococcus aureus* sur milieu rouge congo agar (RCA). Les résultats obtenus après 24h d'incubation sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Résultats de zones d'inhibitions de l'activité antibiofilm des extraits aqueux des feuilles de *Malva sylvestris* en mm.

Disques testés	Souche	<i>Staphylococcus aureus</i>
Témoin positif (Antibiotique Gentamicine 10µg/disque)		38 mm Ø
Témoin négatif (Eau distillée)		Négatif
Extrait aqueux pur (200mg/ml)		Négatif (6mm Ø)
Extrait aqueux dilué (100mg/ml)		Négatif (6mm Ø)

L'analyse de ces résultats indique que les deux extraits de la plante ne présentent aucune activité antibiofilm contre *staphylococcus aureus* en raison de l'absence de zones d'inhibition, ce qui nous mène à conclure que les extraits préparés à base de feuilles de *Malva sylvestris* ne sont pas efficaces contre la formation de biofilm par cette souche.

Les résultats que nous avons enregistrés sont différents de ceux rapportés par Fathi et al (2021) sur l'extrait méthanolique de *Malva sylvestris*, où ce dernier inhibait la formation de biofilm chez toutes les bactéries testées comprenant *staphylococcus aureus*.

Cela peut être dû à plusieurs raisons tels que la résistance de la souche, le procédé d'extraction appliqué (extraction aqueuse, méthanolique, etc.), composition chimique de la plante.

4. Screening phytochimique

Les tests phytochimique consistent à détecter les différents composés bioactifs existants dans chaque fraction de plante par des réactions de précipitation ou de changement de couleurs spécifique.

Le screening phytochimique de l'extrait végétal de feuilles de *Malva sylvestris* L. a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de trois composés chimiques (métabolites secondaires), Cela n'exclut pas la présence d'autres substances.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Résultats du screening phytochimique.

Métabolite secondaires	Remarque	Résultats
Anthocyanes	Pas de virement de couleur vers le rouge.	Absence des anthocyanes
Tanins	Apparition d'une couleur bleue noirâtre.	Présence des tanins
Flavonoïdes	Apparition d'une couleur rouge orangée.	Présence des flavonoïdes

Les résultats présentés dans le tableau VIII, indiquent l'existence des tanins et des flavonoïdes dans l'extrait végétal de feuilles de *Malva sylvestris* L. En effet le non virement de couleur pour le test des anthocyanes traduit leur absence dans l'extrait végétal de notre plante.

Selon Ghedira et Goetz (2016), chez la mauve se sont les fleurs (pétales) qui sont les plus riches en anthocyanosides, ce qui explique leur absence dans notre extrait de feuilles.

Nos résultats sont comparables à ceux de Ouldyyerou et Righi (2022) sur l'extrait méthanolique de *Malva sylvestris* ou elles ont confirmé la présence des tanins et des flavonoïdes ainsi que d'autres éléments.

5. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux (PPT) de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L. a été déterminée par dosage colorimétrique au Folin-Ciocalteu.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de PTT présents dans l'extrait végétal, et est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda_{\max}=765$ nm.

La quantité en polyphénols, est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage (figure13) qui représente la variation de l'acide gallique (AG) en fonction de sa concentration. En plus de sa sensibilité, le protocole est reproductif puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisée dans la gamme étalon, $R^2=0,995$.

Les résultats obtenus sont exprimés en équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

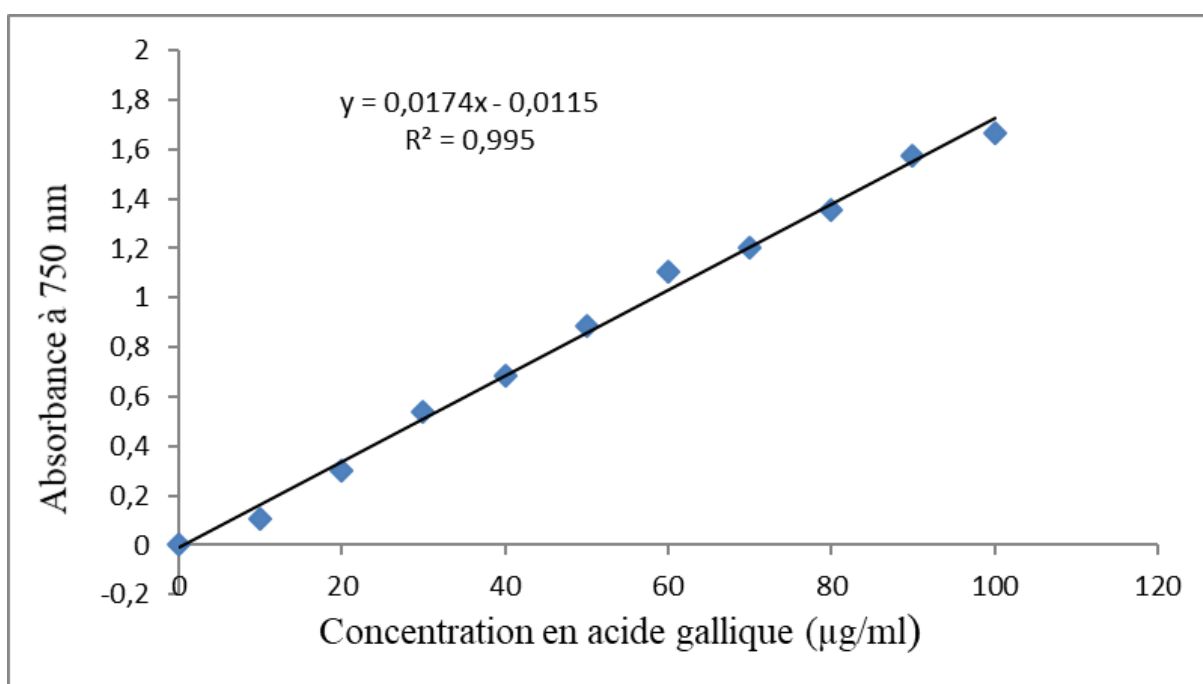


Figure 13 : Courbe étalon de l'acide gallique.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

L'extrait aqueux de feuilles de *M. sylvestris* est caractérisé par une teneur en polyphénols totaux de 103,75 mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

La teneur en polyphénols de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* ($103,75 \pm 2,95$ mg EAG/g MS) s'avère être relativement proche de celle rapportée par Messaoudi et al. (2015) sur l'extrait éthanolique de la même plante ($240,93 \pm 1,74$ mg EAG/g MS) et de celle de Moualek (2018) ($207,84 \pm 15,03$ mg EAG/g d'extrait) sur l'extrait aqueux d'*Arbutus Unedo*. Cependant notre extrait contient une teneur relativement supérieure par rapport à celle rapportée par Beghdad (2014) ($24,123 \pm 0,718$ mg/g) et Selmi et al. (2022) sur l'extrait aqueux de *Malva sylvestris* ($51,4 \pm 0,64$ mg EAG/g MS).

Les variations de la teneur en polyphénols peuvent être dues à plusieurs facteurs, parmi lesquels on site : la localisation géographique, le stade de maturation qui est étroitement lié au taux de polyphénols puisque ce dernier augmente avec la maturation de la plante, la saison de récolte l'ensoleillement et l'humidité, le type de sol et la météorologie jouent un rôle important dans ces variations, mais aussi les différentes maladies aux quelles la plante est exposée (Moualek, 2018).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales continuent toujours d'être la source idéale des métabolites secondaires, ce qui explique leur exploitation accrue en thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances bioactives en industrie pharmaceutique, ce qui fait d'elles un sujet d'étude et un regain d'intérêt important qui a augmenté considérablement ces dernières années et cela dans divers pays notamment en Algérie.

Le présent travail a eu pour objectif l'étude des activités biologiques ; antibactérienne et antibiofilm de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L. collectés dans la région de Tizi Ouzou et de déterminer sa teneur en polyphénols totaux.

Dans un premier temps nous avons testé l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L., par la méthode de diffusion sur disque sur gélose Muller Hinton (aromatogramme) en utilisant deux souches bactériennes, il s'agit d'*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux à la concentration de 200mg/ml n'avait aucun effet inhibiteur contre les deux souches testées, tandis que l'extrait dilué (100mg/ml) était capable d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*, ce qui indique sa possible utilisation comme agent antibactérien.

En ce qui concerne l'activité antibiofilm, celle-ci est mise en évidence par la méthode de détection de biofilm sur rouge congo agar (RCA) où l'extrait testé n'a montré aucun pouvoir inhibiteur de production de biofilm vis-à-vis *S. aureus*.

Dans un deuxième temps, un dosage des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu a été effectué. Celui-ci a montré que l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L., contient une teneur en polyphénols importante, évalué à un taux de $103,75 \pm 2,95$ mg EAG/g MS.

L'ensemble des résultats obtenus montrent le potentiel antibactérien et antibiofilm de *Malva sylvestris* L., et justifie l'utilisation traditionnelle de cette plante. De plus ceci ouvre la voie à de possibles applications comme source de biomolécules en phytothérapie.

Références
bibliographiques

- **Abedini, A. (2013).** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Od'hyptis atrorubens* Poit (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes ; diplôme de doctorat ; université de Lille ; France.

- **Ait Youcef, M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. *Ibis press*, Paris, pp.199-202.291–297.

- **Akhlaq, M., Alum, M. K., & Alam, M. M. (2022).** Anti-inflammatory potential of medicinal plants. *Mediterranean Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(1), Pp. 15-23.

- **Alexieva, I., Baeva, M., Popova, A., Fidan, H., Goranova, Z., et Milkova-Tomova, I. (2022).** Development and Application of Edible Coatings with *Malva sylvestris* L. Extract to Extend Shelf-Life of Small Loaf. *Foods*, 11(23), pp. 3831.

- **Alizadeh M., Mao H., et Netravali, R. (2017).** Neural adaptive video streaming with pensieve. In *Proceedings of the conference of the ACM special interest group on data communication*, pp. 197-210.

- **Ayad, R., et Akkal, S. (2019).** Phytochemistry and biological activities of algerian *Centaurea* and related genera. *Studies in natural products chemistry*, 63, pp. 357-414.

- **Baccouri, B., Temime, S. B., Campeol, E., Cioni, P. L., Daoud, D., et Zarrouk, M. (2007).** Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars. *Food chemistry*, 102(3), pp. 850-856.

- **Barros, L., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R. (2010).** Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris* : A comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology* 48(6), pp. 1466–1472.

- **Batiha, G. E. S., Tenen, S. T., Teibo, J. O., Shaheen, H. M., Oluwatoba, O. S., Teibo, T. K. A., et Papadakis, M. (2022).** The phytochemical profiling, pharmacological

activities, and safety of malva sylvestris : a review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 396(3), pp. 421-440.

- **Baumann, V. (2015).** Malva sylvestris, Mauve sauvage en phytothérapie

- **Bencheikh, N., Merrouni, I. A., Kharchoufa, L., et Elachouri, M. (2021).** Ethnobotanical profile of medicinal plants used by people of North-eastern Morocco: Cross-cultural and Historical approach (Part I). *Ethnobotany Research and Applications*, 21, pp.1-45.

- **Ben Kaddour, S., Ben abdellah, S. (2019).** Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de Malva sylvestris L.

- **Ben Saad, A., Rjeibi, I., Sdayria, J., Feriani, A., Ncib, S., Allagui, M. S., ... & Souid, S. (2019).** HPLC–DAD identification of polyphenols from ethyl acetate extract of *Amaranthus spinosus* leaves and determination of their antioxidant and antinociceptive effects. *Inflammopharmacology*, 27(5), pp. 975-984.

- **Botineau, M. (2010).** Guides des plantes médicinales. Lavoisier, France, pp.128-129.

- **Bouhamama, A., (2013).** Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles de *Pergularia tomentosa* L. de la région d'Adrar. Mémoire Master Microbio. Univ. Tlemcen, pp. 69.

- **Boizot, N., & Charpentier J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial*, pp. 79-82.

- **Bovei, B. (1962).** Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963).

- **Chebira, M. (2019).** Etude quantitative des différentes familles des principes actifs dans l'extrait hydro-alcoolique de la plante « *Malva Sylvestris* »

- **Cabrac, I. S. R., Oldoni, J. L. C., Alencas, S. M. D., Rosalen, P. C. et Ikegaki, M. (2012).** The correlation between the phenolic composition and biological activities of two varieties of Brazilian Properties (G6 and G12). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science*, 48(3), pp. 557-564

- **Carneiro, F. T., Pérez, M., et Romero, L. I. (2008).** Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource technology*, 99(15), pp. 6994-7002.

- **Cardoso, A. M. R., Cavalcanti, Y. W., de Almeida, L. D. F. D., de Lima Pérez, A. L. A., et Padilha, W. W. N. (2012).** Antifungal activity of plant-based tinctures on *Candida*. *RSBO Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 9(1), pp.25-30.

- **Clifford, M. N. (2004).** Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. *Planta medica*, 70(12), pp. 1103-1114.

- **Conforti, F., Delfino, S., Marrelli, M., Formisano, C., Rigano, D., Menichini, F., et Senatore, F. (2017).** Variation of *Malva sylvestris* essential oil yield, chemical composition and biological activity in response to different environments across Southern Italy. *Industrial Crops and Products*, 98, pp. 29-37.

- **Cutillo F., D'Abrosca B., Della Greca M., Fiorentino A. and Zarrelli A (2006).** Terpenoids and phenol derivatives from *Malva sylvestris*. *Phytochemistry*, 67, pp. 481-485

- **Dai, J., et Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics : extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), pp. 7313-7352.
- **Delille, L., (2013).** Les plantes médicinales d'Algérie. 1ère Edition Berti. Alger & 240p.
- **Delfine, S., Loreto, F., et Alvino, A. (2001).** Drought-stress effects on physiology, growth and biomass production of rainfed and irrigated bell pepper plants in the Mediterranean region. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(3), pp. 297-304.
- **Della Greca, M., Cutillo, F., D'Abrosca, B., Fiorenato, A., Pacifico, S., Zarelli, A. (2009).** « Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris* » *Nat. Prod*, pp. 893-96.
- **Dib, B. (2014).** Inventaire des plantes médicinales dans la région d'Oum El Bouaghi - Djebel Sidi R'ghiss, pp. 40
- **Ducrot, C., Fric, D., Lalmanach, A. C., Monnet, V., Sanders, P., & Schouler, C. (2017).** Perspectives d'alternatives thérapeutiques antimicrobiennes aux antibiotiques en élevage. *INRAE Productions Animales*, 30(1), pp. 77-88.
- **Dulger, B., et Gonuz, A. (2004).** Antimicrobial activity of some endemic *Verbascum*, *Salvia*, and *Stachys* species. *Pharmaceutical biology*, 42(4-5), pp. 301-304.
- **Duraffourd C, Lapraz J. C (2002)** Traité de phytothérapie clinique. Masson
- **Duraffourd, C., Hervicout, L., et Lapraz, J. C. (1990).** Cahier de phytothérapie clinique 1. Examen de laboratoire génétique. Eléments thérapeutiques synergiques (2^e éd). Paris, France : Masson.
- **Ekor, M. (2014).** The Growing Use of Herbal Medicines : Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitoring Safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4, pp. 117

- **Ebrahimzadeh, A. M., Pourmorad, F., et Bekhradnia, A. R. (2008).** Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology Vol. 7 (18)*, pp. 3188-3192.
- **Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N., et Sharif, A. (2016).** Structure–antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid. *Food chemistry, 194*, pp.128-134.
- **Fathi, M., Ghane, M., et Pishkar, L. (2022).** Composition phytochimique, activité antibactérienne et antibiofilm de *Malva sylvestris* contre les bactéries pathogènes humaines. *Journal Jundishapur des produits pharmaceutiques naturels, 17 (1)*.
- **Fleuriet, A., Macheix, J. J., et Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.
- **Flores, M. (2011).** *Malva sylvestris* L. et autres mauves de France, Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de NANTES Faculté de pharmacie, Nantes, pp.197.
- **Gardner, J. (2014).** Living with Herbs : A Treasury of Useful Plants for the Home and Garden (2nd edition). United States of America. *The Countryman Press*, pp. 189.
- **Garros, L. (2021).** Impact de conduites culturelles innovantes sur la production de métabolites actifs pour la cosmétique (Doctoral dissertation, université d'Orléans).
- **Gasparetto, J. C., Martins, C. A., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., et Pontarolo, R. (2012).** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L. a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology, 64(2)*, pp. 172– 189.

- **Ghazi, F., & Sahraoui, S. (2005).** Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes : Tantboucht et Hamraïa. *Mémoire d'ingénieur. Institut national d'agronomie. Alger.*
- **Ghedira, K., Goetz, P. (2016).** *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) : Mauve. *Phytotherapie* 14, pp. 68-727.
- **Gholami, A., Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Behbudi, G., Mazraedoost, S., Omidifar, N., et Pynadathu Rumjit, N. (2021).** A review on health benefits of *Malva sylvestris* L. nutritional compounds for metabolites, antioxidants, and anti-inflammatory, anticancer, and antimicrobial applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp. 1-13.
- **Guarrera, P. M. (2005).** Traditional phytotherapy in Central Italy (marche, abruzzo, and latium). *Fitoterapia*, 76(1), pp. 1-25.
- **Jaganath, I. B., et Crozier, A. (2010).** Dietary flavonoids and phenolic compounds. Plant phenolics and human health. *biochemistry, nutrition, and pharmacology*, pp. 1-50.
- **Kumar, N., et Goel, N. (2019).** Phenolic acids : Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, édition 00370.
- **Labri, M., Ziani, S. (2019).** Etude de l'activité antioxydant et antibactérienne de l'extrait aqueux de feuille de *Malva Sylvestris*, mémoire de master en microbiologie option Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Ladjaimi, F. (2016).** Etude de la variabilité morphologique de la mauve *Malva sylvestris* L., relation avec le rendement en polyphénols.
- **Li, A. N., LI, S., Zhang, Y. J., Xu, XR., Chen, Y. M., et Li, H. B. (2014).** Resources and Biological activities of Natural Polyphenols. *Nutrients*, 6(12), pp. 6020-6047.

- **Lim, T. K. (2012).** Plantes médicinales et non médicinales comestibles. Dordrecht, Pays-Bas : Springer (1), pp. 656-687.

- **Limonier, A. s. (2018).** La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie.

- **Llopis. (2017).** Les Plantes médicinales pyrénéenne et leurs utilisations.

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., et Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.

- **Maria, A., Prado, B., Diaz, M., et Veronica, M. (2005).** Uso de adyuvantes en aplicaciones de glifosato en control de *Malva. Aconex*, (89), pp. 5-8.

- **Martins, C. A. F., Campos, M. L., Irioda, A. C., Stremel, D. P., Trindade, A. C. L. B., & Pontarolo, R. (2017).** Anti-inflammatory effect of *Malva sylvestris*, *Sida cordifolia*, and *Pelargonium graveolens* is related to inhibition of prostanoid production. *Molecules*, 22(11), pp. 1883.

- **Manach, C., Augustin, S., Christine, M., Christian, R., Liliana, J. (2004).** Polyphénols, Sources alimentaires et biodisponibilité. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), pp. 727- 747

- **Masseaux, C. (2012).** Revue abeilles et Cie, polyphénols déliés pour la santé, 2012 édition 149.

- **Mello, B. M., M. T. C., et Hubinger, M. D. (2015).** Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense Camb.*) aqueous extract quality processed by membranes. *Food and Bioproducts Processing*, 95, pp. 304-312.

- **MEZITI H. (2018)**. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. ; Diplôme de Magister ; université FERHAT ABBAS, Sétif, Algérie.

- **Messaoudi, I., M'hiri, N., Mihoubi, D., Ksouri, R., Chekir, R., Boudhrioua Mihoubi, N. (2015)**. Effect of processing on color and antioxydants of *Malva parviflora* leaves.

- **Moualek, I. (2018)**. Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou

- **Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Behbudi, G., Mazraedoost, S., Omidifar, N., Gholami, A., ... & Pynadathu Rumjit, N. (2021)**. Un examen des avantages pour la santé des composés nutritionnels de *Malva sylvestris* L. pour les métabolites, les antioxydants et les applications anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves, 2021*, pp. 1-13.

- **Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Zarei, M., Bahrani, S., Savardashtaki, A., Esmaeili, H., ... & Ramavandi, B. (2020)**. Données sur l'activité cytotoxique et antibactérienne des nanoparticules de Fe₃O₄ synthétisées à l'aide de *Malva sylvestris*. *Données en bref*, 28, pp. 104929.

- **Newman, D. J., et Cragg, G. M., (2016)**. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*, 79(3), pp. 629-661

- **Neves, J. M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G., Gomes, L. R. (2009)**. Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trastos- Montes (northern of Portugal). *J. Ethnopharmacol* 124, pp. 270-283.

- **Olivier, S., Vittorio, O., Cirelloe, G. et Boyer, C. (2016)**. Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules. *Polymer Chemistry*, 7(8), pp. 1529-1544.

- **Ouldyeou, k., Righi, S. (2020)**. Etude Comparative Entre Les Plantes : *Malva Sylvestris*, *Olea Europea*, *Citrus Aurantium*, utilisées Dans Le Traitement du diabète dans la

médecine traditionnelle de la région de Mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*.

- **Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2, pp. 270-278.

- **Perrot, T. (2018).** Diversité fonctionnelle des systèmes de détoxification chez les champignons lignolytiques (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

- **Petkova, N., Popova, A., & Alexieva, I. (2019).** Antioxidant properties and some phytochemical components of the edible medicinal *Malva sylvestris* L. *Journal of Medicinal Plants*, 7(1), pp. 96-99.

- **Rajeev, K., Singla, Ashok, K., Dubey, Arun, G., Ramesh, Marco, F., Sara, M., Ameen, Moawiya, H., et Masnat Al-Hiary. (2019).** Polyphénols naturels : Classification chimique, définition des classes, sous-catégories et structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), pp. 1397–1400.

- **Razavi, M. S., Zarrini, G., Molavi, G., et Ghasmi, G. (2011).** Bioactivity of *Malva Sylvestris* L., a Medicinal Plant from Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 14 (06), pp. 574-579.

- **Rira, M. (2019).** Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne [2017-2020]).

- **Russo, P., Rustaci, A., Del Bufalo, A., Fini, M., et Cesario, A. (2013).** Multitarget drugs of plants origin acting on Alzheimer's disease. *Current medicinal chemistry*, 20(13), pp. 1686-1693.

- **Samanta, A., Das, G., & Das, S. K. (2011).** Roles of flavonoids in plants. *Carbon*, 100(6), pp. 12-35.
- **Salhi .C (2018).** Les plantes antitussives à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Grenoble Alpes faculté de pharmacie, Grenoble, pp 45-59.
- **Selmi, H., Rouissi, H., Dhifallah, A., Abidi, S., Jedidi, S., Abbas, C. (2022).** Activités biologiques et potentiel nutritionnel de *Rubia Peregrina* et *Malva sylvestris* chez les ovins et les caprins. *Revue marocaine des sciences agronomiques et vétérinaires*, 10(1)
- **Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., et Al-Hiary, M. (2019).** Natural polyphenols : Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), pp, 1397-1400.
- **Tabaraki, R., Yosefi, Z., Asadi Gharneh., H. A. (2012).** Chemical composition and antioxidant properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research and Agricultural Science*. 8(114), 59–68.
- **Vazquez-Pertejo, M. (2022).** Antibiogramme, Wellington Regional Medical Center, édition professionnelle du manuel MSD.

Annexes

Annexe 1 : Appareillages et réactifs

Appareillage	Verreries et autres matériels	Solvant	Colorants et réactifs chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Etuve • Spectrophotomètre • Bain marie • Autoclave • Dessiccateur • Broyeur • Agitateur magnétique • Plaque chauffante • Balance • Balance de précision (0.0001) • Bec bunsen • Sorbonne de laboratoire. 	<ul style="list-style-type: none"> • Becher • Erlenmeyer • Fiole jaugée • Entonnoirs • Cristallisoir • Burette de graduation • Boites pétri • Pipettes pasteur • Ense à boucle • Micropipette de : 50 μl 1000 μl • Ecouvillons • Papiers Whatman 6mm • Papiers filtre • Seringues de 1ml et 2.5ml • Verre de montre • Spatules • Passoire • Tubes à essai • Eppendorfs 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • HCL • Magnésium • Alcool iso-butanol • Folin-Ciocalteu • Carbonate de sodium (NaCO_3) • Acide gallique

Annexe 2 : milieux de cultures

- **Milieu Mueller-Hinton (MH)**

Extrait de viande..... 3g

Hydrolysate acide de caséine..... 17,5g

Amidon..... 1,7g

Agar..... 18g

PH = 7,4

- **Milieu rouge congo (RCA)**

BHIB..... 37g

Saccharose..... 50g

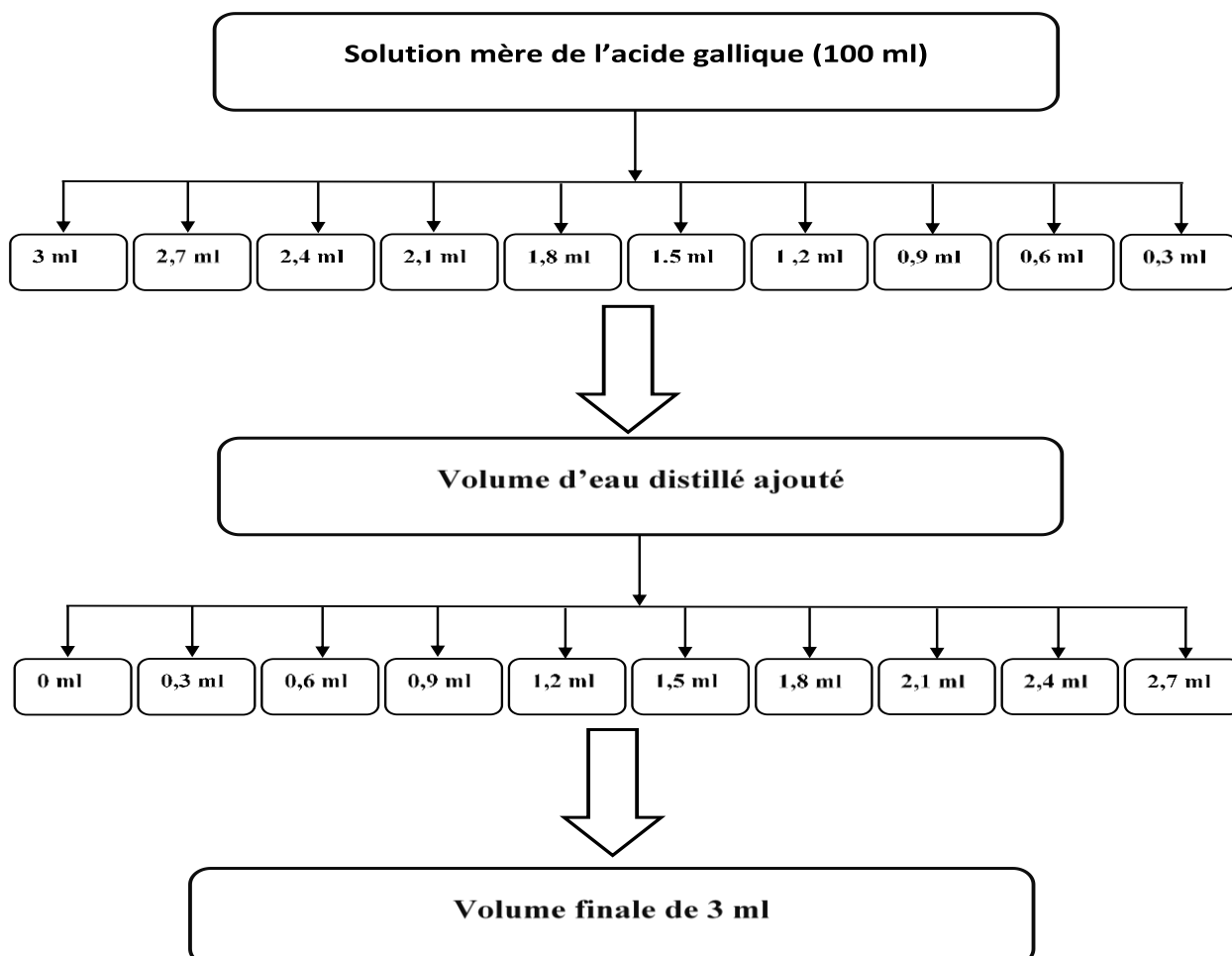
Agar..... 10g

Rouge Congo..... 0,8g

Eau distillée..... 1000 ml

PH = 7,4

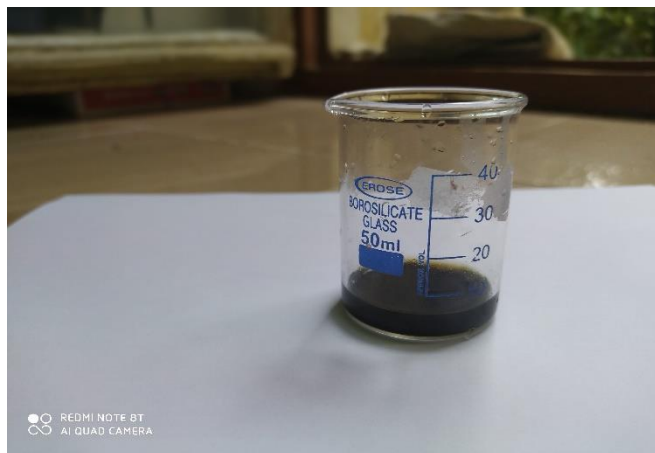
Annexe 3 : Diagramme de la première série de dilutions de la solution mère d'acide gallique



Annexe 4 : résultats du screening phytochimique

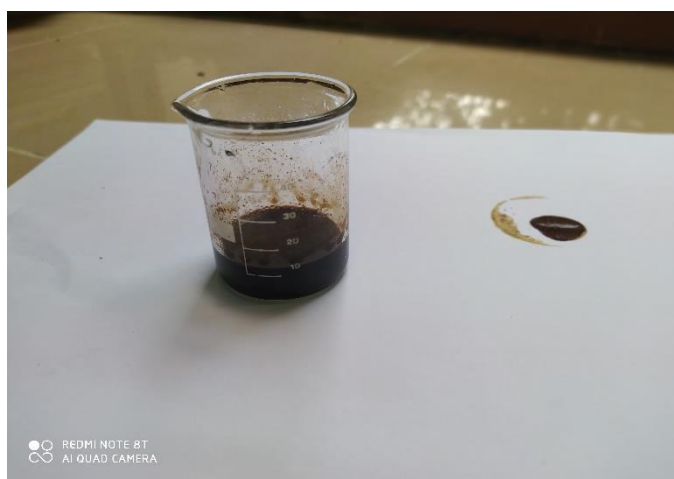
- **Mise en évidence des tanins**

Apparition d'une couleur bleu noirâtre qui signifie la présence des tanins dans les feuilles de *Malva sylvestris*.



- **Mise en évidence des flavonoïdes**

Apparition d'une couleur rouge orangée qui signifie la présence des flavonoïdes dans les feuilles de *Malva sylvestris*.



Annexe 5 : Résultats du dosage des polyphénols totaux

La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait aqueux de feuilles de *M. sylvestris*.

