

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

Contribution à l'étude des activités antioxydante et antimicrobienne de la fraction lipidique des galles et des fruits d'*Artemisia campestris*

Présenté par:

- AISSAOUI Abir
- AOUISSI Nabila
- BEN SAHRAOUI Nesrine

Devant le jury composé de :

Mme. KRAZA Lamia	MCB (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Présidente
Mlle. ZAKHROUF Zohra	MAA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Examinatrice
Mme. NEBEG Halima	MCB (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme. ELHOUITI Fatiha	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Soutenu publiquement le : 27 /06/2022

Résumé

Artemisia campestris est une plante médicinale, connue sous le nom de « T'gouft », elle est très répandue dans le sud algérien. Cette étude a pour but d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits lipidiques des galles et fruits de cette plante. Les lipides ont été obtenus par sonication en utilisant l'hexane comme solvant. Les rendements trouvés sont : 1,9% (m/m) pour les galles, et 2,1% (m/m) pour les fruits. La teneur totale en tocophérols a été déterminée par dosage colorimétrique, elle est de 686,59 et 1725,28 mg Eq Vit E/100 g dans les extraits des fruits et des galles respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH, avec l'utilisation de la vitamine E comme standard. Les résultats montrent une activité meilleure pour les extraits de fruits. L'activité antimicrobienne des deux extraits a été évaluée pour cinq souches bactériennes et deux souches de levure. Selon la méthode de diffusion sur milieu solide, les diamètres des zones d'inhibition varient selon la sensibilité des souches vis-à-vis les deux extraits, ces derniers ayant une sensibilité modérée sur les microorganismes testés. La concentration minimale inhibitrice et la concentration bactéricide et fongicide des extraits ont été déterminées pour les souches microbiennes et fongiques. Selon les résultats obtenus, les souches les plus sensibles vis-à-vis nos extraits sont les souches de *Candida*, *Y.enterocolitica*, *S. aureus* et *E. coli*, respectivement. Alors que *K.pneumoniae* et *P.aeruginosa* sont avérées résistantes.

Mots clés : *Artemisia campestris*, extraits lipidique, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Artemisia campestris is a medicinal plant, known as «T'gouft», it is widespread in southern Algeria. This study aims to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of the lipid extracts of galls and fruits of this plant. Lipids were obtained by sonication using hexane as a solvent. The yields found are: 1,9% (w/w) for galls, and 2,1% (w/w) for fruits. The total tocopherol content was determined by colorimetric assay, it was 686,59 and 1725,28 mg Eq Vit E/100 g in fruits and galls extracts respectively. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH method, with the use of vitamin E as a standard. The results show better activity for fruit extracts. The antimicrobial activity of the two extracts was evaluated for five bacterial strains and two yeast strains. According to the method of diffusion on solid medium, the diameters of the inhibition zones vary according to the sensitivity of the strains to the two extracts, the latter having a moderate sensitivity on the microorganisms tested. The minimum inhibitory concentration and bactericidal and fungicidal concentration of extracts were determined for microbial and fungal strains. According to the results obtained, the strain the most sensitive to our extracts are *Candida* strains, *Y.enterocolitica*, *S. aureus* and *E. coli*, respectively. While *K.pneumoniae* and *P.aeruginosa* are resistant.

Keywords: *Artemisia campestris*, lipid extracts, antioxidant activity, antimicrobial activity.

المـلـخـص

الشيخ الحقلي أو كما هو متعارف عليه محليا باسم الدقفت, هو عشبة طبية موجودة بكثرة في جنوب الجزائر. يهدف هذا العمل الى تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات الدهنية لكل من العفص والفواكه لهاته النبتة. تم الحصول على الدهون عن طريق الموجات فوق الصوتية باستخدام الهكسان كمذيب, حيث تقدر قيمة المردود 1,9% (ك/ك) بالنسبة للعفص و 2,1% (ك/ك) بالنسبة للفاكهة. كما تم تحديد إجمالي محتوى التوكوفيرول باستخدام الفحص اللوني, القيم المتحصل عليها تقدر ب 686,59 و 1725,28 مغ مكافئ لفيتامين هـ في كل 100 غ من المستخلص لكل من الفاكهة و العفص على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق إختبار تثبيط الجذر الحر الألكيلي مع استخدام فيتامين هـ كمعيار, أظهرت النتائج نشاطا أفضل لمستخلصات الفواكه. من جهة أخرى تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصين لخمس سلالات بكتيرية وسلالتين من الخميرة. وفقاً لطريقة الإنتشار على الوسط الصلب, تختلف أقطار مناطق التثبيط وفقاً لحساسية السلالات تجاه المستخلصين, حيث يختص الأخيرين بحساسية معتدلة على الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها. تم تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز البكتيري والفطري للمستخلصات. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها, فإن السلالة الأكثر حساسية لمستخلصاتنا هي الخميرة الفطرية (كونديدا) بريسينيا القولون, العُثْقُوبِيَّةُ الدَّهْيِيَّةُ ثم الإشريكية القولونية على التوالي. بينما أظهرت السلالتين الكليسية الرئوية و الزائفة الزنجارية مقاومة ضد المستخلصين.

الكلمات المفتاحية : الشيخ الحقلي, المستخلصات الدهنية, النشاط المضاد للأكسدة, النشاط المضاد للميكروبات.

Dédicace

Je dédie ce petit travail

*A la plus belle perle du monde, pour son encouragement, et pour son sacrifice...ma mère **Ghezal Fatima**, que dieu la préserve.*

A celui qui a garni mes chemins, malgré toutes les peines endurées et tous les sacrifices consentis...mon cher père

***Abderrahmane**, que dieu le garde.*

*A la mémoire de mon grand-père **El Hadj Djenidi**, puisse dieu l'accueillir dans son infinie paradis.*

*A mes chères sœurs **Kaouther, Loubna, Hadjer, Zineb** et ma grande sœur **Houria** pour tant de confiance, de solidarité, et pour leur encouragement durant toutes ces années.*

*A mes chers frères **Otman** et **Ibrahim** pour leur appui et leur encouragement.*

*A toute la famille **AISSAOUI** et **GHEZAL** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*A toutes mes amies, mes compagnons de route, avec qui l'on partage la joie du quotidien, les doutes, je suis très heureuse de vous avoir rencontré : **Nesrine, Nabila, Ferdaous, Imane**. A la belle Tata **Nacira BENSABRAOUI** pour son sourire, son âme pure et son hospitalité.*

A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin...

Abir

Dédicace

C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

*A ceux qui me donne la vie, mes très chers parents, **Messaoud, Aïcha**
pour leur soutien, leur patience et leur encouragement durant ma vie.*

*A mes parents de cœur **Ammar, Nacira**, cet événement vous fait
vieillir tous les deux, mais ne vous inquiétez pas, vous êtes encore
jeune pour moi.*

*Mes frères **Mouhamed, Fala'h et Hamoudi**.*

*Infiniment à ma grand sœur **Meryouma***

*À ma meilleur partenaire, mon âme sœur : **Afaf**.*

*La joie, la sourire et l'ambiance de la famille : **Djihane***

*Mes bonbons : **Lina, Yasmine***

*A mes doux petits obstacles : **Bouchra et Messaoud junior***

*A ma chère **grand-mère**, qui je souhaite une bonne santé.*

*Mon amie d'enfance **Sumo**, pour sa fidélité*

Mes compagnons de parcours :

Doussa, Aboura, Imane, Nabila

*A celle qui me donne l'encouragement **BRAKTIA Randa***

*A tous membre de la famille **BEN SAHRAOUI**.*

Nesrine

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Premièrement a toute famille AOUISSI et BOUGRINE

À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père Ahmed

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore BOUGRINE Fatima
A la plus chère de ma vie pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices, ma second maman*

BEN YAAGOUB Yamina Rahma

À ma chère sœur Chaïma et à mes chers frères Abdessamed, Bilal et Mehdi en leurs souhaitant le bonheur, la santé et toute la réussite dans la vie.

À mes chères amies proches ou loin, à tous les gens que je sais, et que j'aime : Nesrine, Abir, Imane, Doussa et Sarah

Nacira BEN SAHRAOUI et son fils Messaoud junior.

*À mes amis de promotion de 2^{ème} année Master en Biochimie
Appliquée 2022*

Nabila

Remerciements

Avant tout nous remercions **ALLAH**, le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tous d'abord, notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadrant **Dr. NEBEG Halima** pour avoir encadré et dirigé ce travail, sa patience, ses judicieux conseils et ses précieuses orientations, et elle a été présente à tout moment surtout pendant le travail pratique.

Nos sincères remerciements vont aussi à la Co-encadrant **Dr. El-HOUITI Fatiha** pour sa gentillesse, pour son grand aide durant la réalisation de ce travail, surtout coté matériels et besoins. Elle n'a pas cessé de nous encourager tout au long de cette épreuve. Elle nous a orientées vers le succès avec ses connaissances.

Un grand merci pour le directeur du laboratoire des Sciences Fondamentales le professeur **YOUSFI Mouhamed**, de nous accepter dans son laboratoire de recherche durant la réalisation de notre projet de fin d'étude.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à **M. HARRAT Mouhamed** pour son aide durant le travail, et ainsi pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Nous tenons à remercier les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger, et d'évaluer ce travail.

Grands et respectueux remerciements vont à tous les enseignants du département de Biologie de l'université de Laghouat (**M. BOUBRIMA Y, M. GUENANE H, M. OUINTEN M, M. SIFI I, Mlle. ZEKHROUF Z, Mme. KRAZA L, Mme. TAKHI D, Mme. BENAROUSS K, M. LINANI A, Mme. BOUSSOUSSA H, M. GOUZI H, M. ZAROUK S, M. BICHEUR M, Mme. TALEB et M. BOUKEROUIS D**) pour leurs aides et leurs dévouements à leurs missions académiques

Nos sincères remerciements aux ingénieurs de laboratoire, à **Mlle. Zegrir Anfal** pour son précieux aide ainsi sa gentillesse, et à toutes personnes qui nous a aidé de proche ou loin lors de la réalisation de cette initiation à la recherche.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....	2
I. Généralités.....	5
I.1 Les plantes médicinales	5
I.2 Les métabolites.....	5
I.2.1. Les métabolites primaires.....	5
I.2.2. Les métabolites secondaires	5
II. Les lipides	6
II.1 Fraction saponifiable	6
II.1.1 Les acides gras libres	6
II.1.2. Les glycerides	7
II.2. Fraction insaponifiable	8
II.2.1 Les stérols.....	8
II.2.2 Les tocophérols.....	8
II.2.3. Les pigments.....	9
III. Le stress oxydatif.....	10
III.1. Définition.....	10
III.2. Origine	11
III.3. Conséquences de stress oxydant	11
III.4. Système de défense contre le stress oxydatif (les antioxydants)	12
III.5. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	12
III.5.1. Source des radicaux	14
IV. Les infections microbiennes.....	14
IV.1. Les souches bactériennes	14
IV.2. La levure.....	15
V. Matériels biologiques	18
V.1. Matériels végétales (<i>Artemisia campestris</i>).....	18
V.1.1. Echantillonnage et période de collecte <i>d'A. campestris</i>	19
V.1.2. Description botanique	19

V.1.3.	Systématique	21
V.1.4.	Répartition géographique	21
V.1.5.	Utilisation de la plante	22
V.1.6.	Etude antérieures des activités biologiques d' <i>Artemisia campestris</i>	22
V.2.	Les souches microbiennes	23
VI.	Produits chimiques et équipements de laboratoire	23
VII.	Méthodes expérimentales.....	24
VIII.	Extraction des lipides	25
VIII.1.	Détermination du rendement.....	26
IX.	Analyses quantitative des extraits	26
IX.1.	Dosage spectrophotométrique des tocophérols totaux.....	26
IX.1.1.	Principe	26
IX.1.2.	Le mode opératoire.....	27
X.	Evaluation du pouvoir antioxydant.....	27
X.1.	Principe du test de DPPH	27
X.2.	Le mode opératoire	28
XI.	Etude de l'activité antimicrobienne.....	28
XI.1.	Préparation des milieux de culture	28
XI.2.	Ajustement de l'inoculum	29
XI.3.	Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne	29
XI.3.1.	Technique de diffusion sur milieu solide.....	29
XI.3.2.	Technique de diffusion sur milieu liquide	31
XII.	Résultats et discussion.....	36
XII.1.	La teneur en lipide	36
XII.2.	Dosage de tocophérols totaux	38
XII.3.	Evaluation du pouvoir antioxydant par le test de DPPH	40
XII.4.	Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits lipidique d' <i>A. campestris</i>	42
XII.4.1.	Les résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode des disques. 42	
XII.4.2.	Les résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de dilution en milieu liquide	45
	Conclusion et perspectives	50
	Références bibliographiques.....	52
	Annexe	61

Liste des abréviations

A	
ABTS	Radical cation 2,2- azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)
ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
AG	Acide Gras
AGMI	Acide Gras Mono insaturé
AGPI	Acide Gras Poly insaturé
ATB	Antibiotique
ATCC	American Type Culture Collection
ATF	Antifongique
C	
C _E	Concentration de l'extrait
CMB	Concentration Minimale Bactérienne
CMF	Concentration Minimale fongique
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
C _{VE}	Concentration de la vitamine E
D	
DMSO	Diméthyle sulfoxide
DO	Densité Optique
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
E	
Eq	Equivalent
ERO	Espèces Réactives de l'oxygène
F	
FRAP	Ferric reducing-antioxidant power
FeCl ₃	Chlorure de fer
I	
IUPAC	International Union of Pure and Chemistry
K	
KOH	Hydroxyde de potassium
M	
MH	Mueller Hinton agar
MHB	Mueller Hinton Broth
N	
NaOH	Hydroxyde de sodium
O	
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
P	
PI	Pourcentage d'Inhibition
pH	Potentiel Hydrogène
R	
R	Rapport
S	
SB	Sabouraud dextrose agar
SBB	Sabouraud dextrose Broth
T	
TG	Triglycéride
U	
UFC	Unité Formant Colonie

V

VEEAC	Vitamine E Equivalent Anti oxydant Capacité
Vit E	Vitamine E

Liste des tableaux

Tableau 1 : Sources de stress oxydant endogènes et exogènes.	11
Tableau 2 : Systèmes de défense contre le stress oxydatif	12
Tableau 3 : Métabolites radicalaires et non radicalaires de l'oxygène	13
Tableau 4 : Classification botanique de la plante <i>A. campestris</i>	21
Tableau 5 : Référence des souches microbiennes testées.	23
Tableau 6 : Propriétés et préparation des milieux de culture.	29
Tableau 7 : Aspect et couleur de différents extraits d' <i>A. campestris</i>	37
Tableau 8 : Quantités des tocophérols des huiles d' <i>A. campestris</i>	39
Tableau 9 : Valeurs de VEEAC des extraits lipidiques d' <i>A. campestris</i>	40
Tableau 10 : Diamètres moyens en (mm) des zones d'inhibition des cultures microbiennes incubés avec des extraits d' <i>A. campestris</i> de différentes concentrations.	42
Tableau 11 : Les dilutions des extraits et leurs positions dans la microplaque.	46
Tableau 12 : CMI des extraits lipidiques des galles et des fruits d' <i>Artemisia campestris</i>	46
Tableau 13 : Rapport CMB/CMI et CMF/CMI.....	48

Liste des figures

Figure 1 : Structure des principaux AGPI.....	7
Figure 2 : Structure de base d'un stérol avec numérotation standardisée de carbone selon les recommandations IUPAC-IUB de 1989.....	8
Figure 3 : Structure des tocophérols. Le tableau indique le nombre et la position des groupes méthyle sur le cycle aromatique	9
Figure 4 : La structure chimique de la chlorophylle a	9
Figure 5 : Structure des caroténoïdes (caroténoïdes rouges).....	10
Figure 6 : Schéma illustrant l'orbitale externe d'un ERO radicalaire.....	13
Figure 7 : Les sources endogènes et exogènes des ERO	14
Figure 8 : Photo d' <i>Artemisia campestris</i>	18
Figure 9 : Photo représentative des galles et des fruits d'armoïse rouge.....	19
Figure 10 : Caractéristiques morphologiques d' <i>A. campestris</i> L	20
Figure 11 : Photo illustre les galles d' <i>A. campestris</i>	20
Figure 12 : Organigramme des principales étapes suivi dans notre travail.....	24
Figure 13 : Protocole de l'extraction des lipides des galles et des fruits d' <i>A. campestris</i>	25
Figure 14 : La réaction de tocophérol avec Fe^{3+} suivie de la réaction de Fe^{2+} avec phénanthroline.	26
Figure 15 : Réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.....	27
Figure 16 : Lecture d'antibiogramme.....	30
Figure 17 : Schéma expliquant le dépôt des disques sur les milieux gélosés.....	31
Figure 18 : Schéma représentatif d'une microplaque de 96 puits.	32
Figure 19 : Schéma représentatif de la série des dilutions.	33
Figure 20 : Photo originale et la structure chimique d'INT.	34
Figure 21 : Aspect des extraits lipidique des fruits et des galles d' <i>A.campestris</i>	36
Figure 22 : Comparaison de teneur en lipides entre les galles et les fruits d' <i>A. campestris</i> . .	37
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la vit E.	38
Figure 24 : Comparaison du taux de tocophérols totaux des lipides extraits à partir des fruits et des galles d' <i>A. campestris</i>	39
Figure 25 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition PI% en fonction de la concentration en antioxydants standards (Vit E).	40
Figure 26 : Comparaison du VEEAC entre les fruits et les galles d' <i>A. campestris</i>	41

Figure 27 : les diamètres des zones d'inhibition obtenus suite à l'effet des deux extraits d' <i>A.campestris</i> sur les sept souches microbiennes.	43
Figure 28 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance de <i>C. albicans</i> (10) avec le témoin positif (ATF).....	44
Figure 29 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galles sur la croissance de <i>C. albicans</i> (10) avec le témoin positif (ATF).....	44
Figure 30 : Photo illustrant l'Effet de l'extrait des fruits sur la croissance de <i>C. albicans</i> (26) avec le témoin positif (ATF).	45
Figure 31 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galles sur la croissance de <i>C. albicans</i> (26) avec le témoin positif (ATF).	45
Figure 32 : photo illustrant les microplaquesensemencées utilisé pour la détermination de CMI après l'ajout du révélateur INT.....	46
Figure 33 : Comparaison des valeurs de CMI entre les extraits des galles et des fruits d' <i>A.campestris</i>	47

Introduction générale

Les plantes médicinales ont été découvertes par les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) à cause de leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles. Durant des siècles, nos ancêtres ont utilisé ces plantes comme remède pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures sans savoir les molécules responsables de l'activité curative. Ils ont transmis leur connaissance et leurs expériences de génération à génération. Et c'est grâce aux études scientifiques actuelles basées sur des méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde découvre de plus en plus le bien des plantes médicinales. même actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays dépourvus d'un système médical moderne (**Lahsissene et al., 2009; Benkhnik et al., 2010**).

Deux grands conflits ont conduit les chercheurs à trouver des alternatives dans le monde végétal et d'adopter des méthodes d'extraction des molécules naturelles efficaces et avec des effets secondaires minimes. Ces deux problèmes se traduisent par la toxicité des antioxydants d'origine synthétiques, une grande menace de santé publique. Ainsi que de la résistance microbienne aux antibiotiques usuels (**Boudjouef et al., 2018**).

A l'heure actuelle, Plusieurs tests *in vitro* sont réalisées pour évaluer les activités antioxydantes des échantillons d'intérêt tel que : test de DPPH, test d'ABTS, test de FRAP, méthode d'ORAC, méthode de phosphomolybdate et test de blanchissement de β -carotène etc. Généralement, les tests utilisant des radicaux libres sont relativement simples, rapide à effectuer et peu coûteux. (**Alem et al., 2013**). Aussi, afin de tester l'activité antimicrobienne de n'importe quel extrait, il existe deux techniques : la dilution en milieu liquide, technique le plus recommandé pour la détermination des concentrations minimales responsable de l'inhibition des microorganismes (CMI) et les concentrations qui ont une action bactéricide ou fongicide sur les souches (CMB, CMF). Ainsi la technique de la diffusion en milieu gélosé en utilisant des disques imprégnés de produit que l'on veut tester (huiles essentielles, extraits végétaux), cette technique a été évoluée dans le temps (**Rios et al., 1988**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée surtout dans les régions semi arides. Le genre *Artemisia* et ses espèces comme *Artemisia campestris* (communément appelée 'Tgouft') sont parmi les plantes médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle non seulement dans l'Algérie mais en Afrique du nord pour traiter diverses

maladies. Plusieurs études ont montré l'importance de cette espèce à cause qu'elle est dotée de multiples activités au sein du corps humain. Divers parties de la plante ont été utilisées comme hypoglycémiantes, antioxydantes, antitumorales, antidiabétiques, hépatoprotecteurs, néphroprotecteurs, insecticides, antiulcéreux, antivenimeuse, analgésiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, diurétique, pour le traitement de l'obésité et diminuer le taux de cholestérol etc. (Ivanescu *et al.*, 2018; Boudjouref, 2019).

Dans ce contexte, le présent travail entre dans le cadre de la valorisation et connaissance des produits naturels de notre pays. Cette étude est consacrée à la valorisation phytochimique et microbiologique des galles et des fruits d'*Artemisia campestris*.

Notre travail est subdivisé en trois sections :

- ✓ La première section consiste en un aperçu bibliographique sur les plantes médicinales, généralités sur les lipides, le stress oxydatif et ses conséquences.
- ✓ La deuxième section, concerne la partie de matériel utilisé et méthodes expérimentales suivies dans cette étude. Cette section est subdivisée en trois parties :
 - la première partie se débute par l'extraction par l'hexane des lipides à partir des deux organes d'*A. campestris*, puis la détermination des rendements ainsi que la détermination de la quantité de tocophérols existants dans les deux extraits.
 - Dans la deuxième partie, nous avons évalué l'activité antioxydante de ces extraits lipidiques par la méthode du piégeage du radical libre DPPH[•].
 - En conclusion, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antimicrobien de nos extraits, vis-à-vis des souches microbiennes connues pour leur pouvoir pathogène important (cinq souches bactériennes, deux souches de levure).
- ✓ La troisième section a été consacrée à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus. En fin, on finira avec une conclusion et des perspectives à la future génération.

Étude bibliographique

I. Généralités

I.1 Les plantes médicinales

Au cours des siècles, Les premières générations humaines ont accumulé des connaissances sur les plantes sans avoir des bases scientifiques. Actuellement, Les connaissances continuent à se développer dans tous les domaines (**Boussoussa, 2011**). Grâce à une croyance répandue à l'époque « que toute plante soigne », la plupart des espèces végétales ont été utilisé, ligneuses et herbacées, comme médicaments (**Salhi et al., 2010**).

Les plantes dites médicinales sont des espèces botaniques employées, pour guérir certaines affections chez l'Homme en raison qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique (**El-Houiti, 2010**). Ces plantes contiennent un grand nombre de métabolites qui ont des intérêts multiples (en pharmacologie, dans l'industrie alimentaire et en cosmétologie) (**Alain et al., 2018**).

I.2 Les métabolites

Une des originalités majeur des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (**Macheix et al., 2005**), ces substances sont des composés organiques intermédiaires ou issus du métabolisme d'où leur nom « métabolites ».

On distingue deux classes de métabolites : métabolite primaire et métabolite secondaire.

I.2.1. Les métabolites primaires

Ce sont les molécules indispensables à la survie de la cellule, impliqués dans les grandes voies du métabolisme basal de celle-ci, on cite : les glucides; les lipides (qui seront détaillés dans cette étude); les acides aminés (source primaire de construction des protéines) et les acides nucléiques (**El-Kolli, 2017**).

I.2.2. Les métabolites secondaires

Les cellules végétales accumulent fréquemment des composés dites « métabolites secondaire », leur intérêt physiologique n'est pas toujours évident mais l'Homme avait exploité ces molécules dans divers domaines. Ils sont répartis en groupes chimiques : les composés phénoliques, les terpenoïdes et les alcaloïdes (**Macheix et al., 2005**).

II. Les lipides

Les lipides vient de mot grec ‘‘ lipos ‘‘ signifié graisse (Voet D et Voet J G, 2016), ils forment un groupe hétérogène de composés organiques hydrophobes (insolubles dans l'eau). A cause de cette propriété, ces lipides se trouvent dans la plupart du temps compartimentés, comme dans le cas des membranes (lipides dite structurales) ou sous forme de gouttelettes de TG dans les adipocytes (constituent des réserves énergétiques très importantes), ou en association avec des protéines dans le sang (Ferrier, 2017).

Les lipides peuvent être extraite du règne végétal, ces corps gras s'accumulent sous forme de microgouttelettes dans certains tissus dans les graines et les fruits dite « oléagineux » (Jahouach, 2002).

Pour caractériser et quantifier ces composés, il faut disposer des méthodes permettant leur extraction totale sans les altérer (Théodet et Gandemer, 1991), parmi les méthodes diverses, il est rapporté que l'extraction selon Bligh et Dyer (1959) donne un pourcentage de lipides plus élevé. Cette méthode repose sur l'extraction liquide-liquide avec l'utilisation d'un mélange ternaire de solvants (eau/méthanol/chloroforme), la phase chloroformique contient les lipides purifiés et la phase eau-méthanol contient les matières organiques co-extraites (Quemeneur, 1996). Les lipides végétaux renferment deux fractions : fraction saponifiable et fraction insaponifiable (Jahouach, 2002). (Annexe 01)

II.1 Fraction saponifiable

Le terme saponification désigne la méthode qui sert à la production des savons (détergents), en traitant les lipides par une solution alcaline (KOH, NaOH). Pour la réalisation de cette procédure, les lipides doivent être riches en acides gras, que ce soit libre ou estérifiés par d'autres composés.

II.1.1 Les acides gras libres

Les AG sont des composés organiques à base de carbone d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont des molécules peu abondantes sous forme libre dans les matières grasses fraîches, sa structure indique que ce sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe. Ils sont notés $C_n : m$ (où n représente le nombre d'atomes de carbone et m est le nombre de doubles liaisons) (Cuvelier *et al.*, 2004).

A pH physiologique, le groupe carboxyle ($-\text{COOH}$) se trouve ionisé, devenant (COO^-). Ce dernier confère à l'AG son caractère amphipathique (ayant à la fois une région hydrophile et une région hydrophobe) (Ferrier, 2017).

II.1.1.1 Les acides gras saturés

Les AG saturés sont caractérisés par une chaîne carbonée dépourvue de toute double liaison carbone-carbone (Noui., 2013), ils sont classés selon leur nombre pair de carbone allant de 4 jusqu'à 30 (Guenane., 2017).

II.1.1.2 Les acides gras insaturés

Les AG peuvent contenir une ou plusieurs doubles liaisons, Le nombre de cette dernière peut être de 1 à 6 de configuration *cis* ou *trans*. Ils sont souvent classés en séries selon la position de la première double liaison par rapport au groupe méthyle terminal (Noui, 2013). L'insaturation donne aux AG un aspect liquide à température ambiante.

- **Les acides gras mono insaturés AGMI:** ce sont les AG qui présentant une seule insaturation. Généralement la double liaison se situe entre les carbones 9 et 10 (Kandji, 2001).
- **Les acides gras poly insaturés AGPI :** ce sont les AG que présentent dans leur chaînes deux ou plusieurs doubles liaison conjuguées, c'est-à-dire séparée par un groupement méthyle (Kandji, 2001), on peut trouver deux grandes catégories : la série oméga 6 et la série oméga 3 (Noui, 2013). (Figure 1)

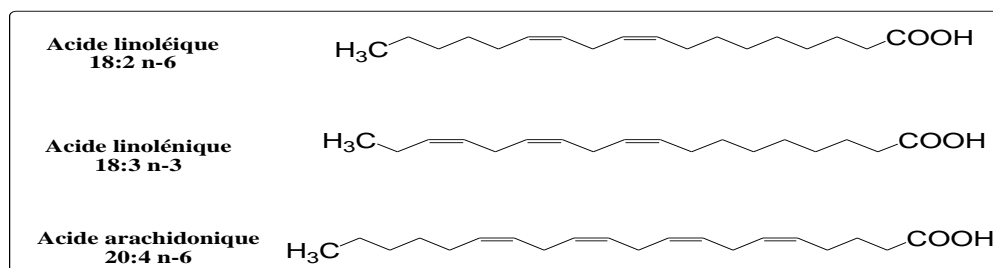


Figure 1 : Structure des principaux AGPI (Kandji, 2001).

II.1.2. Les glycerides

Les glycérides sont des esters des AG et de glycérol (trialcool). On peut distinguer :

- ✓ Les TG qui sont des triples esters d'AG et de glycérol, c'est une molécule très hydrophobe (Cuvelier *et al.*, 2004).
- ✓ L'estérification du glycérol par un ou deux AG conduit à des glycérides partielles: monoglycéride et diglycéride (Jahouach, 2002).

II.2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable représente un pourcentage massique très minime de 1 à 2% (**Jahouach, 2002**).

II.2.1 Les stérols

Les règnes animaux et végétaux sont riches en stérols qui contiennent de 27 à 29 atomes de carbone par molécule (**Huang et Meinschein, 1979**). Les stérols appartiennent à la famille des isoprénoïdes (**Hartmann, 1998**).

Les stérols du monde végétal sont appelés « phytostérols » (**Cuvelier *et al.*, 2004**). Les cellules végétales synthétisent une gamme complexe de mélanges des stérols, les plus dominants sont le sitostérol, le stigmastérol et le 24-méthylcholestérol (**Hartmann, 1998**).

La figure 2 montre la structure de base d'un stérol.

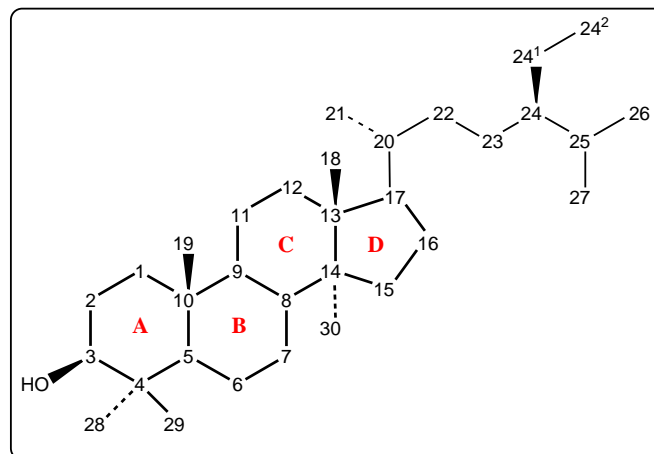


Figure 2 : Structure de base d'un stérol avec numérotation standardisée de carbone selon les recommandations IUPAC-IUB de 1989 (**Hartmann, 1998**).

II.2.2 Les tocophérols

Les tocophérols sont des composés à caractère lipidique synthétisé par les plantes à partir de la tyrosine et la chlorophylle (**Cook-Mills *et al.*, 2010**). La structure de base des tocophérols est présentée par un noyau chromanol avec l'attachement d'une chaîne carbonée latérale saturée de 16 carbones. Il existe dans cette famille 4 substances significatives : l' α -tocophérol (qui est la vitamine E proprement, et qui présente une activité antioxydante), le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol (**Cuvelier *et al.*, 2003**). Ces structures se différencient entre eux en fonction du nombre et de la position des groupes méthyles (-CH₃) attachés au cycle benzène (Figure 3) (**Boudjouref, 2019**).

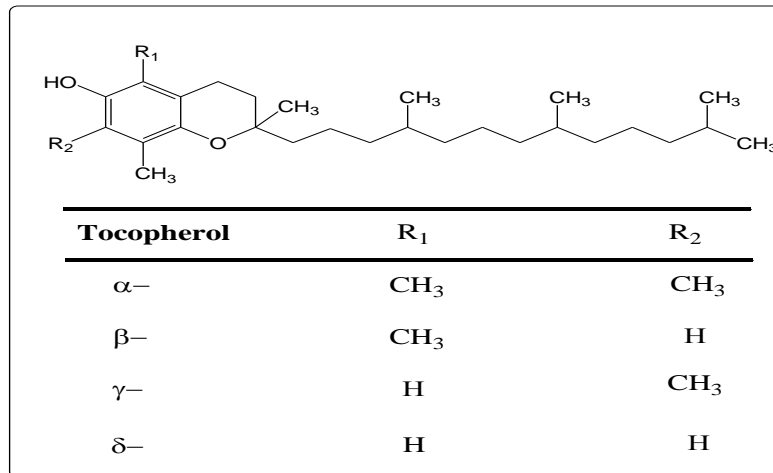


Figure 3 : Structure des tocophérols. Le tableau indique le nombre et la position des groupes méthyle sur le cycle aromatique (Špika *et al.*, 2016).

II.2.3. Les pigments

Les chlorophylles et les caroténoïdes font partie des pigments, qu'ils apparemment jouent le double rôle, donnant une coloration spécifique aux végétaux et contribuent à la capture de l'énergie lumineuse (la photosynthèse) (Schoefs, 2002).

✓ Chlorophylles

Du grec ancien, le mot chlorophylle est composé de $\chi\lambda\omega\rho\acute{o}\varsigma$ "khlôrós" « vert », et φύλλον "phúllon" « feuille », ce nom est créé par Pierre Joseph Pelletier et Joseph Bienaimé Caventou en 1817 (Dictionnaire des francophones). Cette molécule est trouvée intégrée dans des membranes photosynthétiques des chloroplastes (Von Wettstein, 1995). (Figure 4)

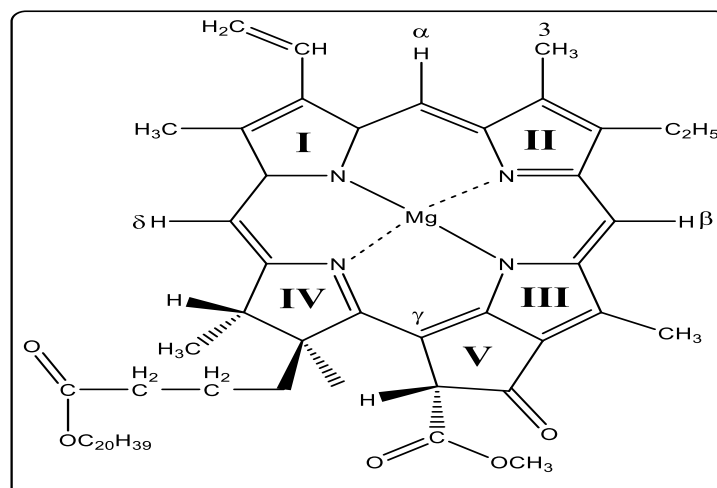


Figure 4 : La structure chimique de la chlorophylle a (Von Wettstein, 1995).

La position 3, est occupée par un groupe méthyle dans la chlorophylle a et un groupe formyle dans la chlorophylle b.

✓ Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments dont la couleur varie du jaune au rouge (**Phan-Thi, 2014**). Ils sont des structures à 40 atomes de carbone. Ils comprennent environ 70 composés présents dans la plupart des végétaux (**Costache *et al.*, 2012**). L'alpha, bêta et gamma carotène, le lycopène, la lutéine et les xanthophylles sont les plus populaires et les plus courants (**Kandji, 2001**). (Figure 5)

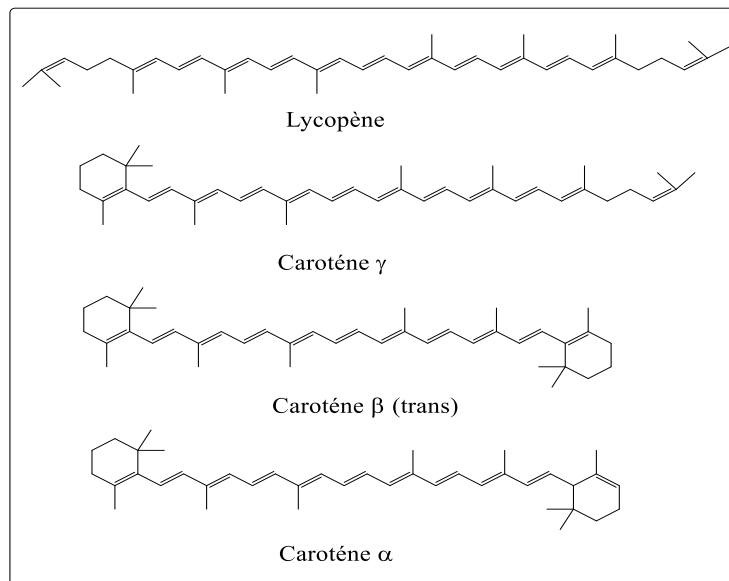


Figure 5 : Structure des caroténoïdes (caroténoïdes rouges) (**Genevois, 1955**).

III. Le stress oxydatif

III.1. Définition

L'incapacité du corps à se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO), conduisent à des dégâts potentiel structuraux et fonctionnels s'ils sont non contrôlés. (**Bensakhria, 2018**). En 1991, Sies a défini ce processus sous le concept de stress oxydatif. (**Defraigne et Pincemail, 2008**). Il est traduit aussi par l'augmentation des oxydants et la diminution des anti-oxydants, ce déséquilibre est le responsable majeur de l'altération de biomolécules (ADN, glucides, protéines, lipides) (**Boussoussa, 2010**). Il affecte un tissu, un type cellulaire en particulier, mais non pas la totalité de l'organisme (**Favier, 2003**).

III.2. Origine

Les sources de stress oxydant sont multiples (endogènes et exogènes). Celles-ci sont résumées dans le tableau suivant:

Tableau 1 : Sources de stress oxydant endogènes et exogènes (Haleng *et al.*, 2007).

Mode de vie
Tabagisme ; Faible consommation en fruits et légumes ; Alcool ; Médicaments ; Pilule contraceptive ; Exposition au soleil et Exercice intense ou mal géré.
Environnement
Pollution ; Ozone ; Amiante ; Radiations ; Contacts avec des substances cancérogènes.
Mécanismes biochimiques
Xanthine-oxydase (ischémie-reperfusion) ; Inflammation ; Altération de la fonction endothéliale ; Surcharge en fer ; Oxydation de l'hémoglobine ; Altérations mitochondriales ; Biosynthèse des prostaglandines ; Interventions chirurgicales (Circulation extra-corporelle, transplantations).

III.3. Conséquences de stress oxydant

III.3.1. Oxydation des lipides

L'oxydation des lipides débute par une phase d'initiation qui se manifeste par l'arrachement d'un H⁺ sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des AGPI. Le radical lipidique formé réagit avec une molécule d'O₂ pour former un radical peroxy (ROO•). Ensuite vient la phase de propagation, le (ROO•) est très réactif pour arracher un H⁺ d'un autre AGPI. Ces réactions en chaîne radicalaire entraînent une altération de la fluidité membranaire qui conduit à la mort cellulaire (Haleng *et al.*, 2007).

III.3.2. Oxydation des protéines

Les altérations oxydatives des protéines résultent par l'attaque des deux cibles : les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine) et aromatiques (tyrosine, tryptophane). (Sjöberg, 2013).

Les protéines oxydées par les ERO deviennent thermolabiles, ces changements des propriétés provoquent les altérations suivantes:

- Des inhibitions enzymatiques;
- Perte de spécificité ligand-récepteur;
- Dénaturation des épitopes antigéniques;
- Perturbations métaboliques... (Bensakhira, 2018).

III.3.3. Oxydation de l'ADN

Les ERO réagissent avec tous les constituants de l'ADN. Ils peuvent dégrader les bases puriques et pyrimidiques et même les squelettes de désoxyribose entraînant l'arrêt des cellules, l'induction de la transcription, l'induction de voies de transduction du signal, des erreurs de réplication et une instabilité génomique (Valko *et al.*, 2006).

III.4. Système de défense contre le stress oxydatif (les antioxydants)

Halliwell (1999) a défini les antioxydants comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Il en existe 2 systèmes de défense, par des enzymes et/ou par d'autres constituants qui peuvent être apportés par l'alimentation (Pastre, 2005)

Tableau 2 : Systèmes de défense contre le stress oxydatif (Haleng, 2007; Bensakhira, 2019).

Systèmes enzymatiques	Systèmes non enzymatiques
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Superoxyde dismutase ▪ Catalase ▪ Système Glutathion peroxydase / Glutathion réductase ▪ Thiorédoxine peroxydases 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glutathion ▪ Les protéines-thiols ▪ Protéines transporteuses ▪ Vitamine E ▪ Vitamine C ▪ Les caroténoïdes ▪ L'acide urique ▪ La bilirubine ▪ Le Coenzyme Q10 ▪ Les polyphénols ▪ Les oligoéléments (Cu, Zn et Se)

III.5. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

ERO sont des molécules électrophiles contiennent de l'oxygène, ils sont très réactives chimiquement, leur durée de vie est de quelques nanosecondes. Ils sont produites dans des cas physiologiques, ils ne sont pas néfastes participant dans la défense immunitaire contre les agents infectieux, comme des messagers secondaires dans les cascades de signalisation intracellulaire. Les EOR peuvent être aussi pathogènes en fonction de leur concentration, ils vont attaquer toutes molécules présentant un excès d'électrons (Beaumont, 2015; Ken Jones, 2007; Bensakhria, 2018).

Les EOR sont subdivisées en deux types (radicalaire, non radicalaire), représentées dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Métabolites radicalaires et non radicalaires de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002).

Nom	Symbole
Radicaux d'oxygène	
Oxygène (bi-radical)	$O_2^{\cdot\cdot}$
Ion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$
Hydroxyle	OH^{\cdot}
Peroxyle	ROO^{\cdot}
Alcoxyle	RO^{\cdot}
Oxyde nitrique	NO^{\cdot}
Dérivés oxygénés non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
(Peroxyde organique)	$ROOH$
Acide hypochloreux	$HOCl$
Ozone	O_3
Aldéhydes	$HCOR$
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	$ONOOH$

Les espèces radicalaires sont caractérisées par la présence d'électrons de valence non appariés dans l'orbitale la plus externe de l'oxygène, comme le montre la figure 6.

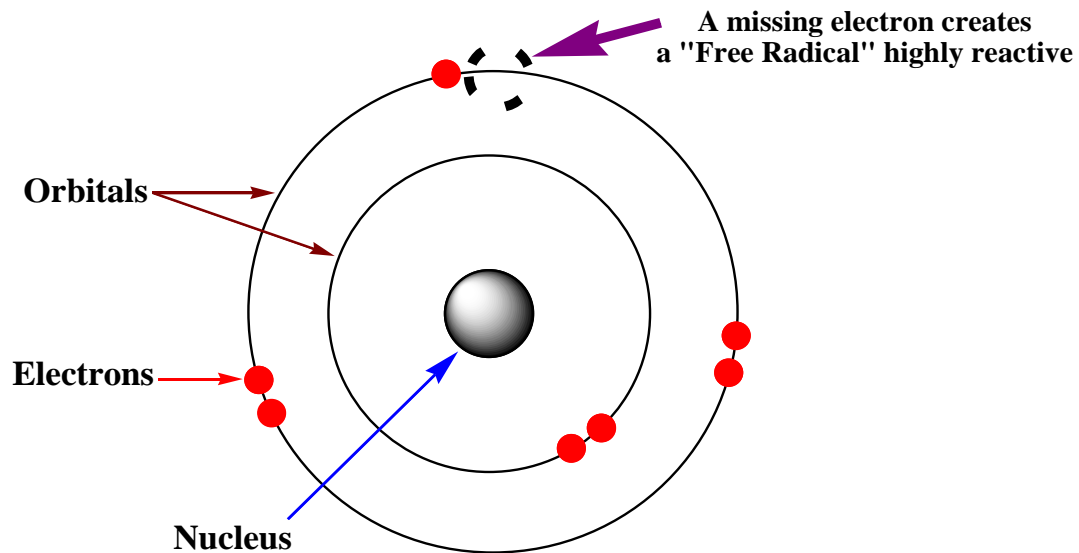


Figure 6 : Schéma illustrant l'orbitale externe d'un ERO radicalaire.

III.5.1. Source des radicaux

Les ERO ont de multiples origines, elles sont représentées dans la figure ci-dessous:

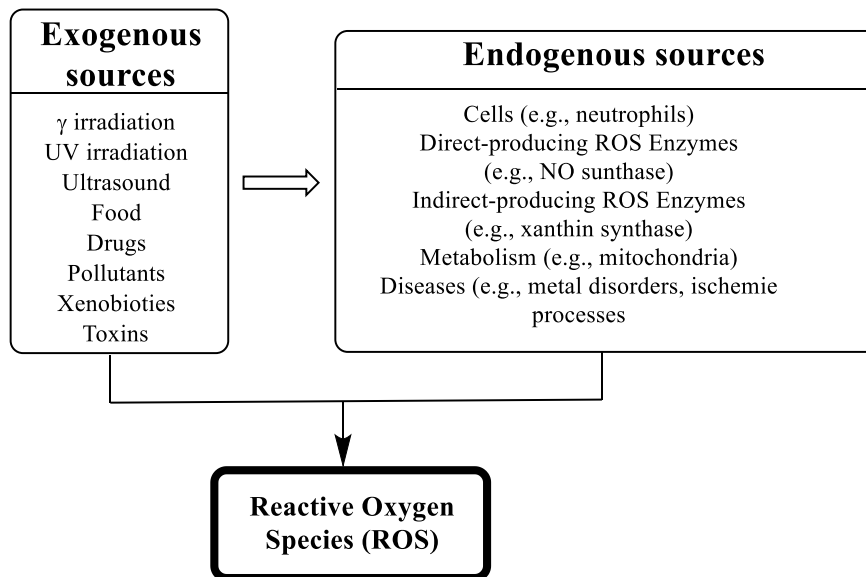


Figure 7 : Les sources endogènes et exogènes des ERO (Kohen et Nyska, 2002).

IV. Les infections microbiennes

Les agents pathogènes chez l'homme sont variés : virus, bactéries, champignons etc. Ils peuvent être responsables de maladies plus ou moins graves. On cite quelques bactéries et levure utilisés dans notre étude.

IV.1. Les souches bactériennes

➤ *Staphylococcus aureus*

Cette bactérie est une coque immobile, à coloration de Gram positive, espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré. Elle est un commensal de la peau et des muqueuses de l'Homme. Des toxines ou encore des enzymes seront sécrétés après l'invasion de *S. aureus* responsables de déclin du système immunitaire de l'hôte infecté. Cette espèce présente une importante résistance aux antibiotiques usuels. Elle occupe une grande importance en pathologie humaine (ANSES 2011; Vincenot *et al.*, 2008).

➤ *Escherichia coli*

Il s'agit de l'espèce-type de la famille des Enterobacteriaceae, caractérisée par des bacilles à coloration Gram négatif. En 1885, le pédiatre allemand Théodore ESCHERICH est

le premier qui a isolé et décrit ce genre d'où son nom. C'est une bactérie commensale du tube digestif de l'Homme et l'animal, son existence est tout à fait normale. Certaines souches de cette espèce peuvent acquérir un pouvoir entéropathogène intrinsèque, ou elles peuvent être agent de contamination extrinsèque (Cohen et Karib, 2006).

➤ *Klebsiella pneumonia*

Klebsiella pneumoniae fait membre de la famille des entérobactéries, c'est une bactérie en forme de bâtonnet, à Gram négatif, une souche qui est pathogène et opportuniste, se trouve dans la bouche, la peau et les intestins, ainsi qu'en milieu hospitalier. Elle affecte principalement les personnes immunodéprimées (Li et al., 2014). L'infection par ce germe provoque un large éventail de maladies, notamment la pneumonie, des infections urinaires et des septicémies (Bengoechea et Sa Pessoa, 2019).

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie en forme de bâtonnet de coloration Gram négatif, mobile parce qu'elle est monoflagellée. La plupart des souches de cette espèce produisent un pigment spécifique « la pyocyanine » de couleur bleu verdâtre remarquable lors de culture (Wu et al., 2015). C'est un microorganisme pathogène opportuniste responsable des infections nosocomiales: pneumonie, infections urinaires, infections des plaies chirurgicales et septicémies (Barbieri et Sun, 2004).

➤ *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica est une entérobactérie, coccobacille, connue pour la première fois, par McIver et Pike aux États-Unis en 1934. Après coloration de Gram, cette espèce apparaît comme des petits bacilles de couleur rose (Gram négatif) (Bottone, 1997; Savin et Carniela, 2008). Les symptômes les plus fréquemment rencontrés lors de l'infection par *Yersinia* sont des diarrhées, de la fièvre et des douleurs abdominales (Savin et Carniela, 2008).

IV.2. La levure

➤ *Candida albicans*

Il s'agit d'un champignon unicellulaire, appartenant à la famille des Saccharomycetaceae (Levure). *C. albicans* se trouve à l'état naturel dans les muqueuses digestives et vaginales dont son existence reste inconnue. Dans certains cas, et quand le

système immunitaire de l'individu est défaillant, elle devient pathogène causant un problème majeur de santé publique. L'infection par ce germe s'appelle « candidose » pouvant affecter plusieurs organes et dont la morbidité et la mortalité sont importantes chez les patients immunodéprimés (**Polain, 2012**).

Matériels et méthodes

V. Matériels biologiques

V.1. Matériels végétales (*Artemisia campestris*)

Le nom *Artemisia* vient du mot grec « Artemis » qui représente la Diane romaine, l'homonyme des reines grecques Artemisia I et II, ce genre a été classifié par Carl Linnaeus en 1753 (Site web: **02**).

Les espèces appartenant au genre *Artemisia* sont des petites herbes et arbustes (**Metoui et al., 2017**), issues de la famille des Astéracées (**Dob et al., 2005**). Ce genre hétérogène est le plus étudié, il contient presque 500 espèces (**Boudjouef, 2019**), 11 entre eux ont été découvertes en Algérie, parmi lesquels *A.campestris* (**Bakchiche et al., 2018**).

A.campestris est nommé localement comme T'gouft en Arab et armoise rouge en Français (**Dob et al., 2005**). (Figure 8)



Figure 8 : Photo d'*Artemisia campestris*.
(Site web : **03**)

V.1.1. Echantillonnage et période de collecte d'*A. campestris*

Les parties étudiées d'armoise rouge (galle et fruits) ont été collectées au mois d'octobre par Tahri (2021) à Aflou, région de Laghouat à une altitude de 1102 mètre. Les deux organes végétaux sont nettoyés pour se débarrasser des impuretés, après ils sont étalés sur papier et séché à température ambiante, dans une pièce aérée, à l'abri de l'humidité et de la lumière. L'étape de séchage dure environ une ou deux semaines dépendant de l'organe utilisé et aux conditions climatiques. Les échantillons obtenus sont conservés dans des sacs en papier jusqu'au moment de l'extraction.



Figure 9 : Photo représentative des galles (à gauche) et des fruits (à droite) d'armoise rouge.

V.1.2. Description botanique

L'armoise rouge est une plante aromatique vivace, herbacée, hermaphrodite, buissonnante, avec hauteur de 30 à 50 cm. Les tiges sont ligneuses, à la base striée. Elle est généralement rougeâtre, très ramifiées, constituant une panicule plus au moins ample. Les feuilles de cette plante sont altérées, entière ou profondément découpées en lanières plus ou moins nombreuses et plus ou moins étroites, non charnues, plus au moins soyeuses dans leur jeunesse. Les fleurs sont toutes tubuleuses, les périphériques sont femelles à corolle peu visible, les autres sont mâles. C'est une plante à floraison de mai à septembre avec une odeur camphrée (Gast, 1989 et Gherib, 2009). (Figure 10)

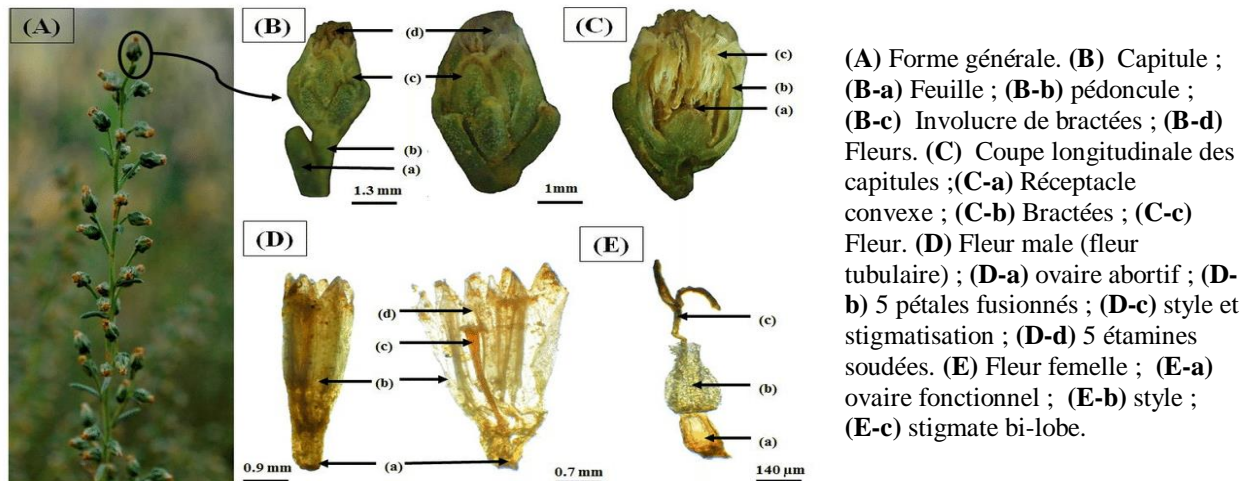


Figure 10 : Caractéristiques morphologiques d'*A. campestris* L (Dib *et al.*, 2017).

Les espèces d'*Artemisia* peuvent présenter des gonflements anormaux du tissu végétal, ces excroissances sont provoquées par des insectes ou des champignons, c'est ce qu'on les appelle « galls » (Figure 11). La plante dans ce cas devienne un hôte (Sifi, 2010).



Figure 11 : Photo illustre les galls d'*A. campestris* (Prise par Tahri, 2021).

V.1.3. Systématique

Tableau 4 : Classification botanique de la plante *A. campestris* (Boudjouref, 2019).

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous Tribu	Artemisiinae
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia campestris</i>

V.1.4. Répartition géographique

L'origine d'*A. campestris* est de l'Asie, elle repartie spontanément dans les différentes régions semi arides et le bassin méditerranéen du l'hémisphère nord de la terre (Boudjouref, 2011). Cette espèce a une distribution inégale, elle est présente dans toute l'Europe, à l'exception des zones arctiques et de la plupart des îles : Baléares, corse, sicile, crête, Irlande, Islande, spitzberg, aussi en sibérie (Berrouane, 2014).

A. campestris pousse en abondance dans les régions arides et semi-arides d'Afrique du nord comme le Maroc, l'Algérie et la Tunisie. (Dib et Elalaoui-Faris, 2019). En Algérie *A. campestris* est rarement trouvée dans la région présaharienne, absente au Sahara septentrional ; elle est plus rare dans la Tefedest et au Tassili mais assez répandue au Hoggar. Cette espèce est caractérisée par une très forte odeur qui embaume les lieux et se reconnaît parfois à plusieurs kilomètres. (Gast, 1989). On peut noter que deux sous-espèces prédominent en Algérie, ce sont *Artemisia campestris* L.subsp.eu-campestris et *Artemisia campestris* L.subsp.glutinosa (Dib et Elalaoui-Faris, 2019).

V.1.5. Utilisation de la plante

Les parties aériennes d'*A. campestris* sont utilisées dans le traitement de diverses pathologies tel que les brûlures, la diarrhée, les morsures de serpent, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastro-entérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, l'ulcère de l'estomac la fièvre et la toux (**Ben Sassi et al., 2007**). Cette plante est utilisée pour traiter les troubles digestives, et les douleurs menstruelles. Elle est notamment utilisée dans le traitement de diabète (**Boudjouref, 2019**).

Le raison de l'utilisation d'*A. campestris* dans le domaine médicale, c'est leurs odeurs ou saveurs caractéristiques due à la présence des monoterpènes, et des sesquiterpènes. Traditionnellement, les anciens ont utilisé le T'gouft comme produit détergent, elle remplace l'eau de javel (**Saihi, 2011**).

V.1.6. Etude antérieures des activités biologiques d'*Artemisia campestris*

D'après les travaux antérieurs, l'espèce d'*A. campestris* possède de nombreuses activités biologiques en plus de leurs utilisations traditionnelles. On cite les plus étudiées par les chercheurs (activité antioxydante et antimicrobienne) :

➤ **Activité antioxydante**

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*A. campestris* faite *in vitro* par Aniya et al (2000) par la méthode de DPPH a montré que l'extrait possède une importante activité antioxydante.

L'étude de l'activité de différents extraits d'*A. campestris* (huile essentielle, extrait aqueux et extrait éthanolique à 50%) en utilisant trois méthodes (DPPH, ABTS et β -carotène) a montré que l'extrait aqueux de cette plante a une forte activité par rapport aux autres extraits (**Akrout et al., 2011**).

➤ **Activité antimicrobienne**

Les extraits méthanoliques d'*A. campestris* ont montré une grande sensibilité contre l'espèce *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram-positif), alors que l'*Escherichia coli* (bactérie Gram-négative) est plus résistant (**Naili et al., 2010**).

Vingt-trois plantes médicinales dont *A. campestris* ont été sélectionnées pour une étude de l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion sur gélose. L'activité a été effectuée contre 14 bactéries (Gram-positif et Gram-négatif). D'après les résultats,

l'extrait d'acétone a montré une action inhibitrice contre les bactéries de genre *Staphylococcus*. Alors que l'extrait méthanolique montrait une faible action inhibitrice contre les bactéries de même genre (**Ben Sassi et al., 2007**).

En 2007 Yun *et al* ont évalué l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'Armoise rouge. Ils ont rapporté que cet extrait élimine les champignons mycorhizes en empêchant leur croissance sur les racines des plantes hôtes.

V.2. Les souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude ont été fournies par le laboratoire régional vétérinaire de Laghouat et de Tlemcen. Ces souches sont choisies parce qu'elles sont connues pour leur forte antibiorésistance, et forte pathogénicité (**El Mostaphi et al., 2018**). Le tableau 5 indique toutes ces souches avec leurs références. (Annexe 02)

Tableau 5 : Référence des souches microbiennes testées.

	Nom scientifique		Référence
Bactéries	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70603
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610
Levures	<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231
	<i>Candida albicans</i>		ATCC 26790

VI. Produits chimiques et équipements de laboratoire (Annexe 03)

VII. Méthodes expérimentales

L'organigramme ci-dessous explique l'ensemble du travail que nous avons suivi dans cette étude.

Nous avons procédé à l'extraction des lipides du matériel végétal collecté, séché à l'abri de la lumière puis broyés. Par la suite, nous avons testé deux activités:

- l'activité antioxydante par le test DPPH, ce test est réalisé au niveau du laboratoire de recherche, Université de Laghouat.
- l'activité antimicrobienne testée au niveau du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, département de biologie, Université de Laghouat.

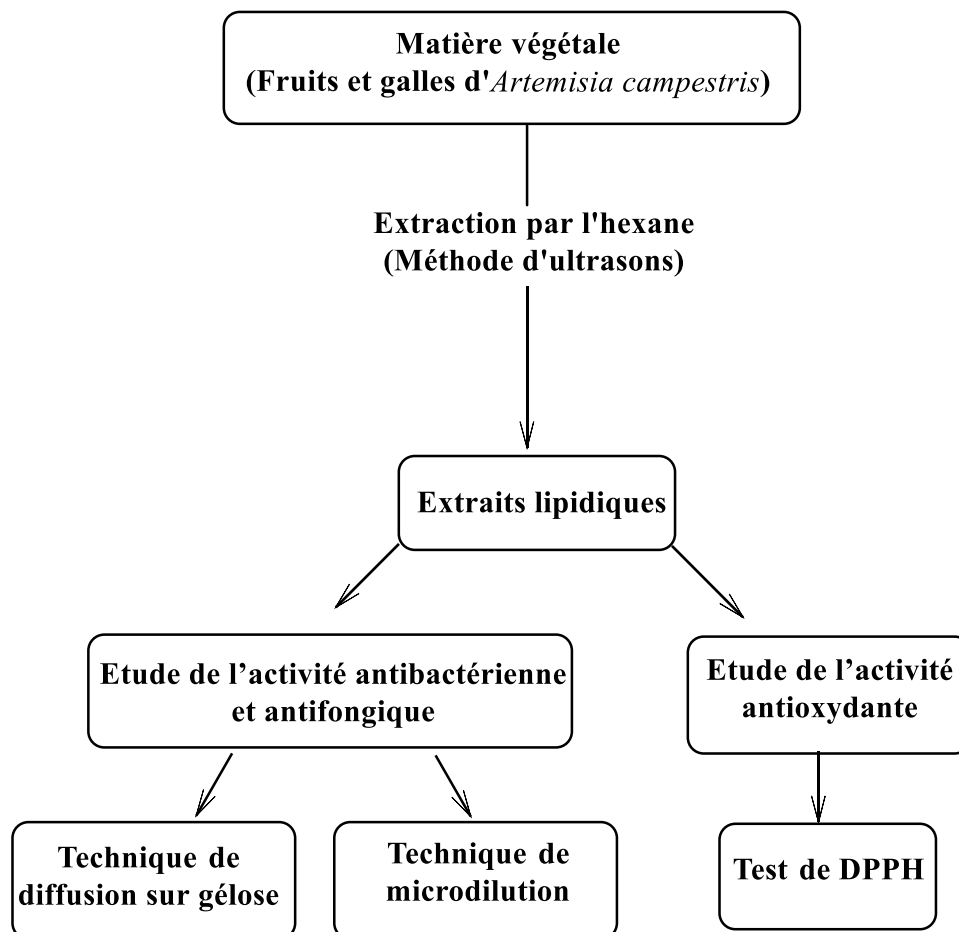


Figure 12 : Organigramme des principales étapes suivies dans notre travail.

VIII. Extraction des lipides

L'extraction des lipides a été réalisée à partir des fruits et des galles d'*A. campestris*. Les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mixeur. Dans des flacons de 250 ml, une quantité d'hexane est ajoutée à la matière végétale broyée (dans notre cas 25 g de fruits et 20 g des galles). Les deux flacons sont mis dans un bain à ultrason à 35°C pendant 30 min.

Les extraits obtenus ont été filtrés, après l'épuisement total de la plante. L'hexane est ensuite évaporé sous pression réduite à l'aide d'un Rotavapeur. Les résidus secs sont solubilisés dans un volume d'hexane et récupérés dans des flacons en verre. Afin de sécher les extraits, nous avons placé ces flacons dans une étuve à 40°C pendant 48 h.

Nos échantillons sont conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation afin d'éviter toute oxydation lors de l'analyse. Ce protocole est effectué par notre encadrant **Nebeg H (2022)**.

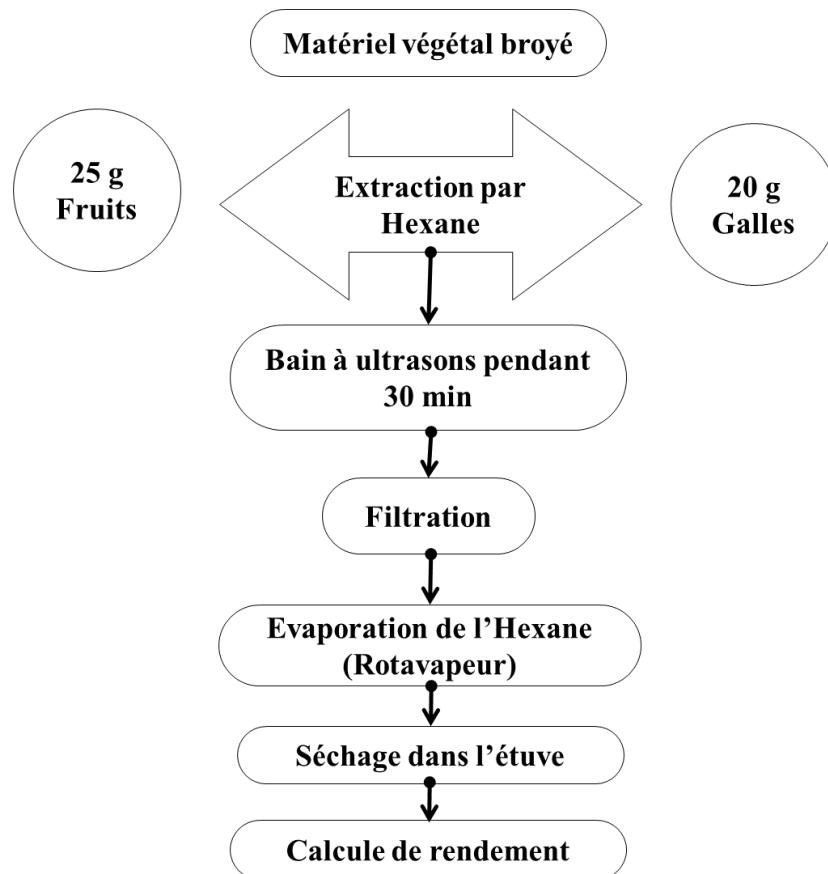


Figure 13 : Protocole de l'extraction des lipides des galles et des fruits d'*A. campestris*.

VIII.1. Détermination du rendement

Le rendement est défini par le pourcentage de la masse de l'extrait déterminée après évaporation de solvant par rapport à la masse initiale de la plante.

Les flacons qui contiennent les échantillons ont été pesé vides et après évaporation de l'hexane pour but de déterminé la masse de l'extrait.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{masse de résidu sec}}{\text{masse de matière végétale}} \times 100$$

IX. Analyses quantitative des extraits

IX.1. Dosage spectrophotométrique des tocophérols totaux

IX.1.1. Principe

En 1938, Emmerie et Engel ont adopté une méthode colorimétrique pour le dosage des tocophérols totaux. C'est une réaction d'oxydoréduction, les tocophérols en tant que donneur d'électrons vont réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) qui en présence d'orthophénanthroline forme un complexe rouge-orangé stable, son absorbance maximal s'effectue à 510 nm. (Figure 14)

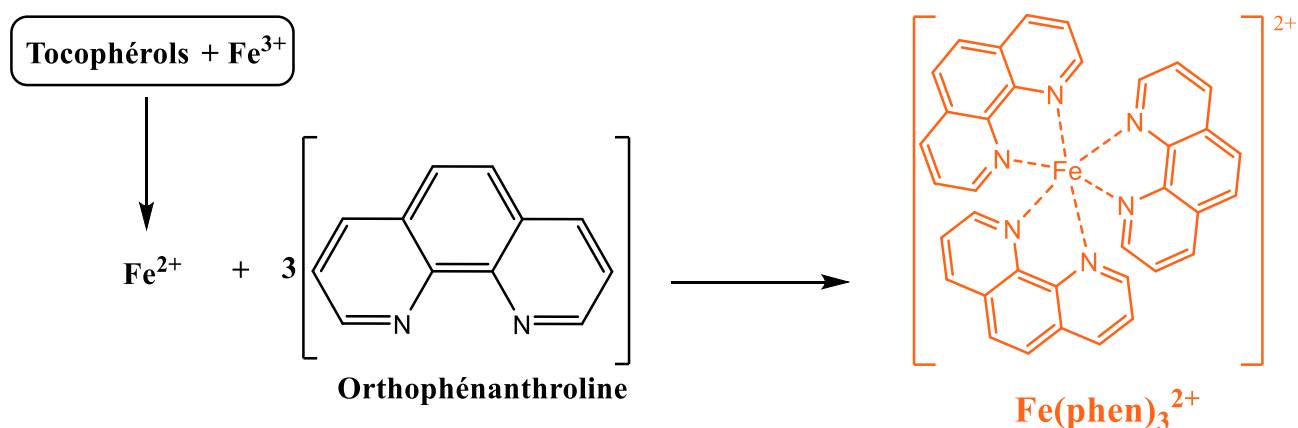


Figure 14 : La réaction de tocophérol avec Fe^{3+} suivie de la réaction de Fe^{2+} avec phénanthroline.

IX.1.2. Le mode opératoire

Une série des dilutions sont préparées à partir d'une solution mère de la vitamine E dans l'éthanol, ensuite, un ml de chaque dilution, est ajouté à 1 ml de réactif phénanthroline (0,4% dans l'éthanol) et 0.5 ml FeCl₃ (0,12% dans l'éthanol). Après 5 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm contre un blanc qui contient 1 ml d'éthanol, 1 ml de réactif phénanthroline et 0,5 ml de FeCl₃. Cela nous a permis de tracer une droite d'étalonnage de vitamine E, qui relie l'absorbance à la concentration de tocophérol exprimée en g/l.

Ce protocole est répété trois fois pour une même dilution, et le contenu en tocophérols totaux dans l'extrait huileux d'*A. campestris* est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de vitamine E par 100 grammes de lipide.

X. Evaluation du pouvoir antioxydant

X.1. Principe du test de DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre, coloré et remarquablement stable, découverte en 1922 par Goldschmidt et Renn. Il a été généralement utilisé pour l'évaluation de la capacité antioxydante des extraits naturels des plantes (Foti, 2015).

Lorsqu'une solution de DPPH[•] est mélangée avec une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, donnant lieu à la forme réduite (l'hydrazine DPPH-H). Cela provoque un changement de la couleur de la solution du violet au jaune pâle (Figure 15). Cette réaction peut donc mesurable par spectrophotomètre à 517 nm (Blois, 1958; Molyneux, 2004; Foti, 2015).

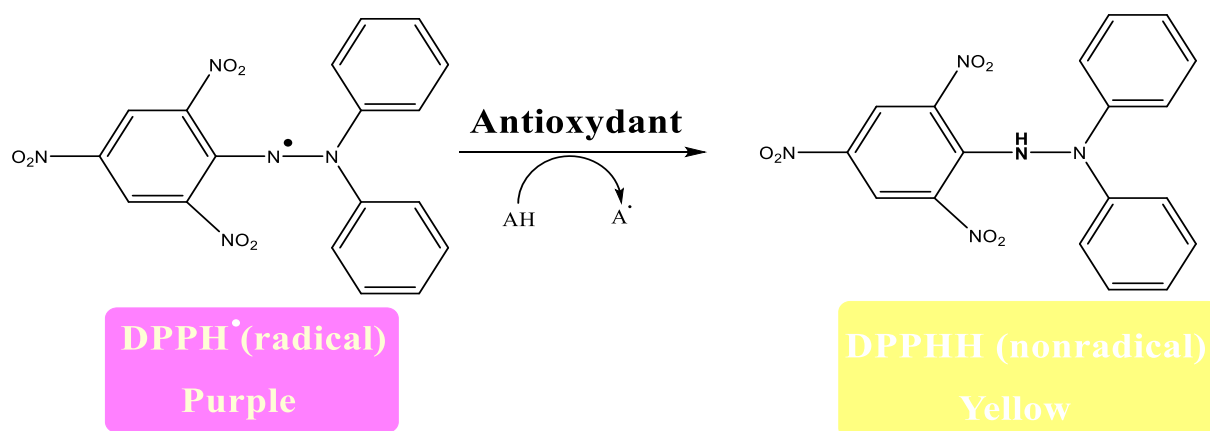


Figure 15 : Réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.

X.2. Le mode opératoire

La vitamine E commerciale (de 5 mg/l à 40 mg/l) a été utilisée comme antioxydant de référence pour tracer la courbe d'étalonnage qui représente le pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration de l'antioxydant en mg/l. Une quantité de 0,5 ml d'une solution de DPPH préparé dans l'éthanol de concentration 250 µM a été ajoutée à 0,5 ml de chaque dilution. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, les absorbances sont lus à 517 nm contre un blanc (0,5 ml de DPPH + 0,5 ml d'éthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre SHIMADZU 1800. Ce protocole est répété trois fois pour une même dilution pour les deux parties de plante. L'activité antioxydante a été exprimée en équivalent de vit E (VEEAC).

Le pourcentage d'inhibition PI % est calculé suivant l'équation :

$$I (\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbance de l'extrait avec DPPH}}{\text{Absorbance de DPPH sans extrait}} \right) \times 100$$

XI. Etude de l'activité antimicrobienne

Parmi les principaux buts de notre étude, l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongiques des extraits lipidiques des galles et fruits d'*A. campestris*.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par deux méthodes :

- ✓ La méthode de diffusion sur milieu solide;
- ✓ La méthode de diffusion en milieu liquide.

XI.1. Préparation des milieux de culture

Les souches microbiennes ont besoin pour s'accroître d'un milieu nutritif riche en éléments indispensables (Saihi, 2011), les propriétés et la préparation des milieux utilisés durant notre étude sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Propriétés et préparation des milieux de culture.

Milieu de culture	Propriétés	Préparation
Mueller- Hinton	Solide MH	38 g → 1L d'eau distillée
	Bouillon MHB	21 g → 1L d'eau distillée
Sabouraud	Solide SB	65 g → 1L d'eau distillée
	Bouillon SBB	28 g → 1L d'eau distillée

Les milieux préparés sont versés dans des flacons puis stérilisés dans un autoclave semi-automatique à 120°C pendant 20 min.

XI.2. Ajustement de l'inoculum

L'inoculum autrement dit les suspensions microbiennes (bactérienne et fongique) doivent être préparées à partir d'une culture jeune (des souches repiquées tous les 24 heures).

Cette suspension se prépare à partir d'un prélèvement de quelques colonies microbiennes de la surface des boîtes de petriensemencées préalablement à l'aide d'un écouvillon, puis dissoutes dans des tubes stériles contenant de l'eau physiologique stérile (0,9%). La DO de la suspension doit être ajusté entre 0,08 et 0,10 lus à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre SHIMADZO 1800. Le nombre des cellules dans la suspension bactérienne est environ 10^8 UFC/ml, la suspension fongique est environ 10^7 UFC/ml (**Hammer, 1999**).

XI.3. Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne

XI.3.1. Technique de diffusion sur milieu solide (diffusion sur disque)

La méthode de diffusion sur disque est utilisée dans notre étude, vue sa simplicité et son efficacité de tester la sensibilité des micro-organismes vis-à-vis les extraits des végétaux (**Selka et al., 2016**).

Un disque stérile imbibé de l'extrait est déposé sur un tapis bactérien ou fongique pour but d'estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes soumis au contact du produit bioactif. L'effet de ce dernier est déterminé par la mesure du diamètre d'une zone d'inhibition en millimètre, comparée à celles produites par un antibiogramme chargé des disques d'ATB ou ATF standard (Annexe 04), on peut déduire que :

- ✓ La souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante (**Selka et al., 2016**).

- ✓ Les extraits seront qualifiés de faibles, moyens ou forts contre les souches testées

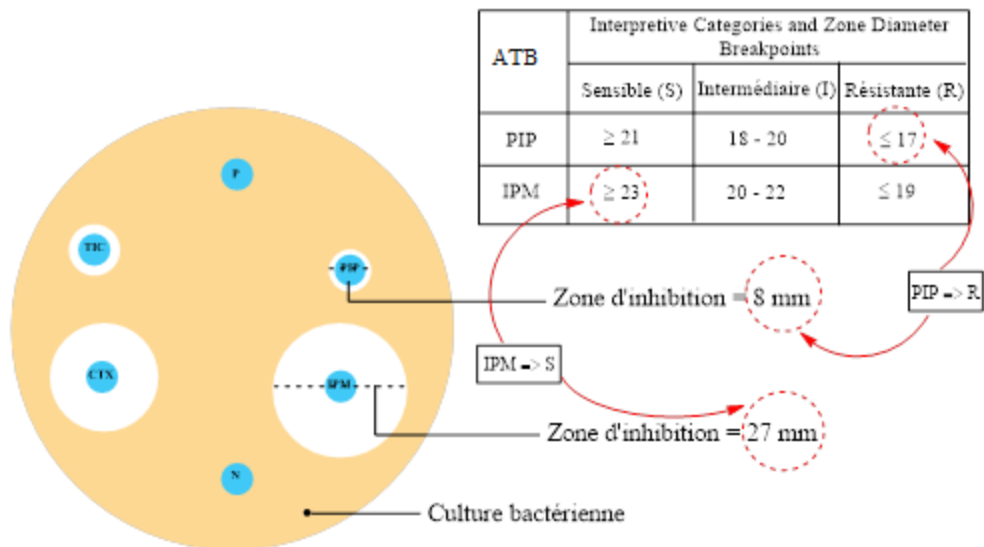


Figure 16 : Lecture d'antibiogramme.

(Site web : 01)

XI.3.1.1. Le mode opératoire

La première étape : Les milieux de culture solides (MH/SB) ont été coulés sur des boîtes de Petri stérile. Pour éviter la confusion, les boîtes coulées doivent être étiquetées (la souche, la concentration de l'extrait et la date d'ensemencement).

La deuxième étape : Chaque souche ajustée a été ensemencée dans un milieu approprié (MH pour les bactéries et SB pour la levure).

L'ensemencement des souches a été réalisé par la méthode d'écouvillonnage sur la totalité de la surface du milieu de culture, en effectuant des striées de haut en bas. Cette opération est répétée quatre fois en tournant la boîte de 90°.

La troisième étape : des disques de 5 mm de diamètre (découpés à partir d'un papier filtre) ont été déposés sur la surface des milieux ensemencés à l'aide d'une pince stérile, en réalisant trois essais par concentration.

Pour chaque extrait (galles et fruits), nous avons préalablement préparé dans le DMSO différentes concentrations ($C_0 = 12,5 \text{ mg/ml}, 1/2, 1/5$). Ensuite 10 μl d'extrait a été ajouté sur les disques par une micropipette. (Figure 17)

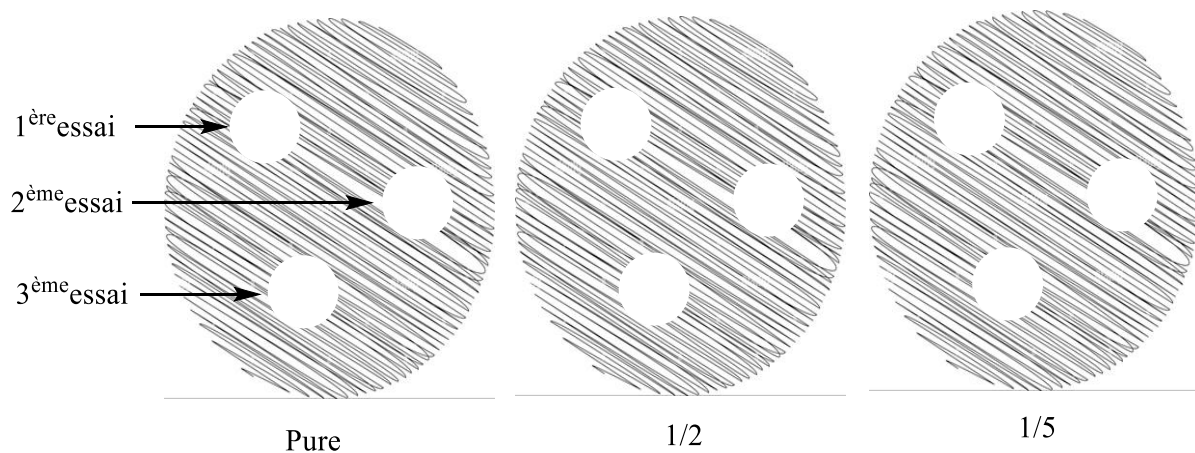


Figure 17 : Schéma expliquant le dépôt des disques imbibés d'extrait sur les milieux gélosés.

Les disques des antibiotiques ont été déposés dans des boîtes mises à part à celles qui contiennent de l'extrait (contrôle positif). Également, la solution de DMSO a été utilisée comme contrôle négatif pour toutes les souches.

Les résultats apparaissent après 24 h d'incubation dans l'étuve bactériologique à 37°C. Les diamètres d'inhibition ont été mesurés en utilisant un pied à coulisse.

XI.3.2. Technique de diffusion sur milieu liquide

La méthode de microdilution en milieu liquide est une technique qui permet l'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits de plantes médicinales, afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale bactéricide pour toutes les souches bactériennes (CMB) (Rios *et al.*, 1988), et la concentration minimale fongicide (CMF) pour les souches de candida (Sautour *et al.*, 1999).

La CMI est la concentration la plus faible des extraits qui inhibe la croissance des microorganismes testés. Tandis que la CMB ou CMF représente la concentration des échantillons qui tue irréversiblement les souches ou bien donne de 0 à 1% de survie microbienne (Rios *et al.*, 1988 ; Canillac et Mourey, 2001).

XI.3.2.1. Le mode opératoire

Afin de déterminer avec précision la CMI des micro-organismes testés, des microplaques de 96 puits ont été utilisés (Figure 18).

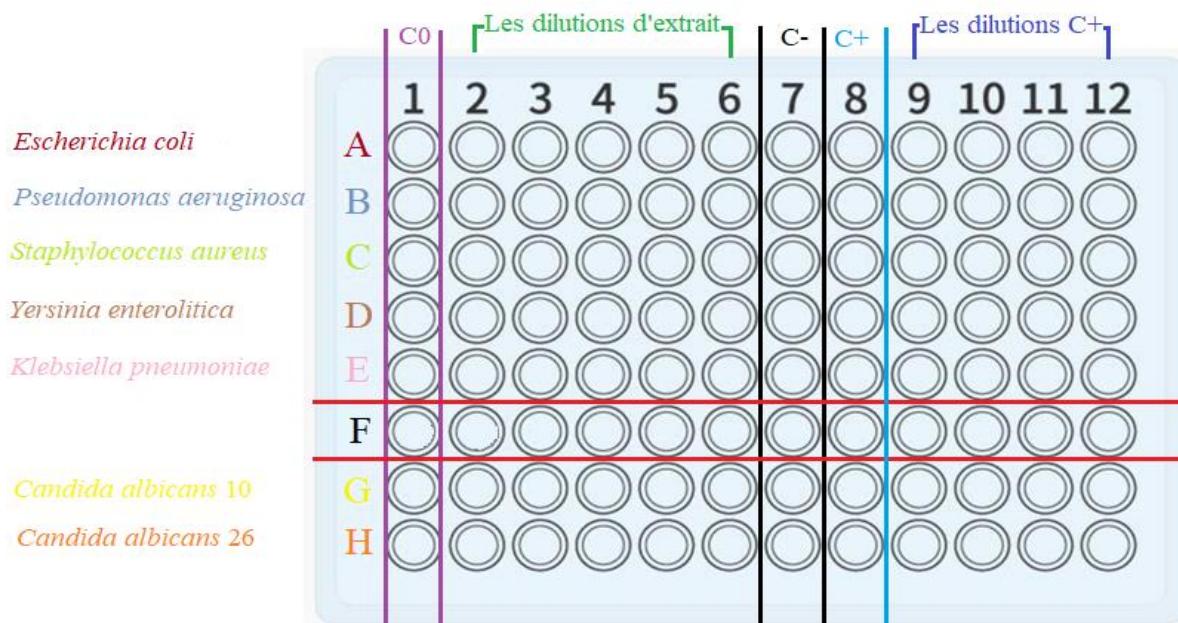


Figure 18 : Schéma représentatif d'une microplaque de 96 puits.

Nous avons préparé préalablement, une solution mère en faisant dissoudre notre extrait lipidique dans une solution de DMSO pure, pour obtenir une concentration de 12,5 mg/ml (C₀).

La première étape : 100 µl de milieu de culture liquide approprié (MHB pour les bactéries et SBB pour la levure) ont été versé dans tous les puits de la plaque, sauf la rangée F qui sert comme une région de séparation entre les souches bactériennes et fongique.

La deuxième étape : 100 µl de la solution mère de concentration 12,5 mg/ml a été ajouté dans les puits de la première colonne de A à E pour les souches bactériennes, G et H pour la souche fongique. Puis une série de dilution successive (de 6,25 à 0,195 mg/ml) a été faite de la colonne 1 à 6 en utilisant le milieu de culture liquide comme diluant. Afin de garder un volume fixe de 100 µl dans chaque puits, l'excédent dans la dernière concentration (100 µl a été jeté).

Les colonnes de 8 à 12 des rangées de A à E, G et H ont été réservées pour le contrôle positif (Antibiotique pour les bactéries et antifongique pour la levure).

100 µl d'antibiotique est ajouté dans les puits de la colonne 8 (de rangée A à E) et 100 µl d'antifongique dans les rangée H et G, puis diluée en série jusqu'à les puits de la colonne 12 (on jette 100 µl du dernier puits).

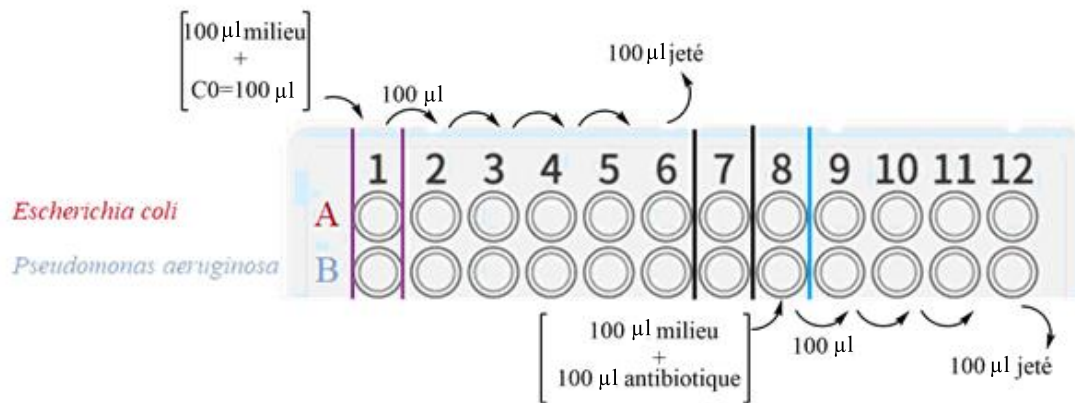


Figure 19 : Schéma représentatif de la série des dilutions.

La troisième étape : 100 µl de suspensions microbiennes ajustées avec 10^8 UFC/ml ont été ajoutés dans tous les puits chargés préalablement. Le volume total de chaque puits étant 200 µl.

Les puits de la colonne 7 des rangées de A à E, G et H servent de témoin négatif, Ils contiennent 100 µl de milieux de culture liquide avec 100 µl de suspension microbienne sans extrait.

La quatrième étape : La microplaque de culture a été incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

La cinquième étape : après 24 h à 37°C, on a ajouté 40 µl de la solution d'iodonitrotétrazolium chlorure de concentration 0,2 mg/ml à chaque puits. On attend 5 à 30 min, temps pour lequel l'INT réagit avec les cellules microbiennes.

L'INT sert de révélateur pour la viabilité des cellules microbiennes. Il est un réactif coloré, agissant comme un accepteur d'électrons (Figure 20). La couleur jaune du tétrazolium est réduite par des micro-organismes viables, et dans ce cas elle se transforme en couleur rose/violette. S'il y a aucun changement de couleur, cela indique une inhibition de la croissance microbienne (Mfengwana et Mashele, 2016).

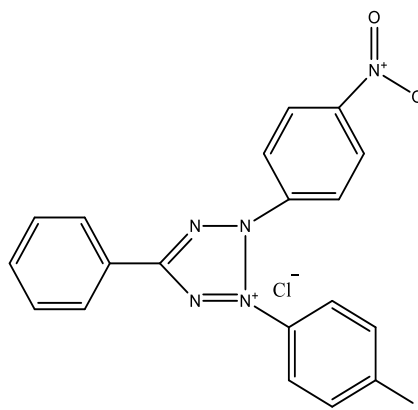


Figure 20 : Photo originale et la structure chimique d'INT.

Les résultats peuvent être interprétés à l'œil nu, mais la distinction entre CMI et CMB ou CMF a été déterminée après repiquage sur un milieu gélosé vierge, les suspensions microbiennes existant dans les puits ayant une coloration jaune.

Résultats et discussion

XII. Résultats et discussion

Nous nous sommes intéressées à travers cette étude aux lipides extraite partir des fruits et des galles de l'espèce d'armoise rouge. L'objectif visé est de connaître les activités antioxydante et antimicrobienne dotées par ces extraits, en étudiant l'activité antioxydante par le test de DPPH ainsi l'activité antimicrobienne contre diverses bactéries et levure sélectionnées pour leur pouvoir nocif.

Nous avons effectué des comparaisons pour chaque paramètre entre les échantillons (galles et fruits), nos extraits lipidiques avec d'autres extraits lipidique de la même espèce, genre ou familles.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne et son écart type. L'analyse des résultats a été effectuée à l'aide de Microsoft Office Excel 2010.

XII.1. La teneur en lipide

Le procédé d'extraction se fait par la méthode de sonication en utilisant un solvant organique volatil (Hexane) nous a permet d'obtenir deux extraits bruts, huileux des galles et des fruits d'*A. campestris* de la région d'Aflou. L'odeur de ces extraits est agréable, l'aspect et la couleur sont montrés dans la figure 21 et le tableau 7

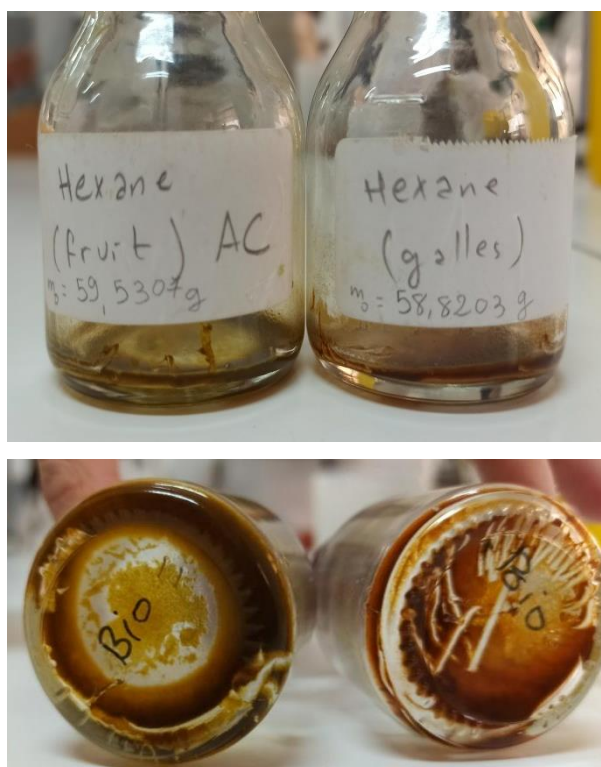


Figure 21 : Aspect des extraits lipidiques des fruits (à gauche) et des galles (à droite) d'*A.campestris*.

Tableau 7 : Aspect et couleur de différents extraits d'*A. campestris*.

Extrait lipidique	Aspect	Couleur
Fruits	Graisseux	Vert foncé
Galles	Graisseux	Brune

La teneur en lipides exprimée en pourcentage en fonction de l'organe utilisée est illustrée dans l'histogramme de la figure suivante :

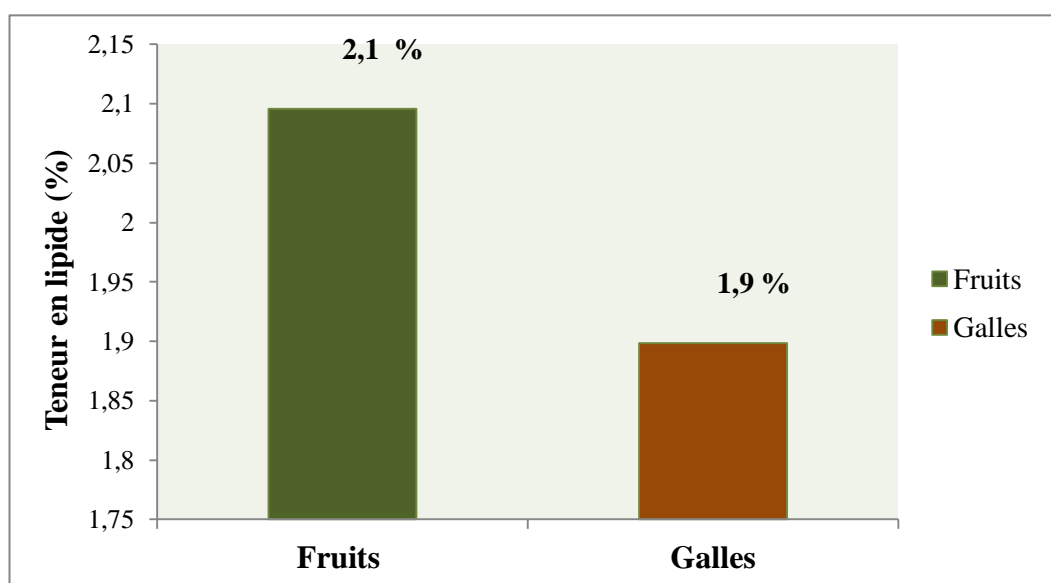


Figure 22 : Comparaison de teneur en lipides entre les galles et les fruits d'*A. campestris*.

Nous constatant que les rendements en lipide bruts des fruits et des galles (2,1% et 1,9% respectivement) sont pratiquement proches, mais nous pouvons dire que le meilleur rendement est celle obtenu par les fruits, et ce peut être dû au fait que les fruits sont considérés comme des organes de réserve (riche en lipide).

Ben Sassi *et al* (2007) ont extrait les lipides des parties aériennes d'*A. campestris* collectées de la région de Tunisie en 2004, la méthode utilisée consiste à macérer la plante dans l'hexane pendant 48 h. La teneur en lipides était égale à 5,1 % supérieure à celle obtenue dans notre étude, cela est dû à la région de collecte, ainsi à la durée prolongée capable d'épuiser la plante de la substance à extraire.

L'extrait avec du chloroforme des matières végétales a montré la présence des stéroïdes, des triterpénoïdes et des lipides (Gupta *et al.*, 2003). En 2011, Boudjouref a extrait

les lipides de la partie aérienne de la même espèce mais collectée en 2009 dans la région de Boussaâda, en réalisant une macération dans le chloroforme, sous agitation pendant 4 à 5 h. La teneur obtenue était égale à 3,4% relativement supérieure à celle obtenue à partir des galles et des fruits d'armoise rouge utilisé dans notre étude. La différence de la méthode et le choix du solvant explique cette différence des rendements.

Nous pouvons conclure que la teneur en lipide varie en fonction de l'espèce végétale choisi, les parties de la plante utilisées, la région de collecte, ainsi que la durée et le solvant d'extraction.

XII.2. Dosage de tocophérols totaux

La courbe d'étalonnage du standard (la vitamine E) a été tracé en utilisant la méthode de quantification du complexe Fe^{2+} -phénanthroline obtenu après la réduction de Fe^{3+} par ce standard. La teneur en tocophérols totaux pour les extraits hexanique d'*A. campestris* a été déterminée à partir de cette courbe illustrée dans la figure ci-dessous :

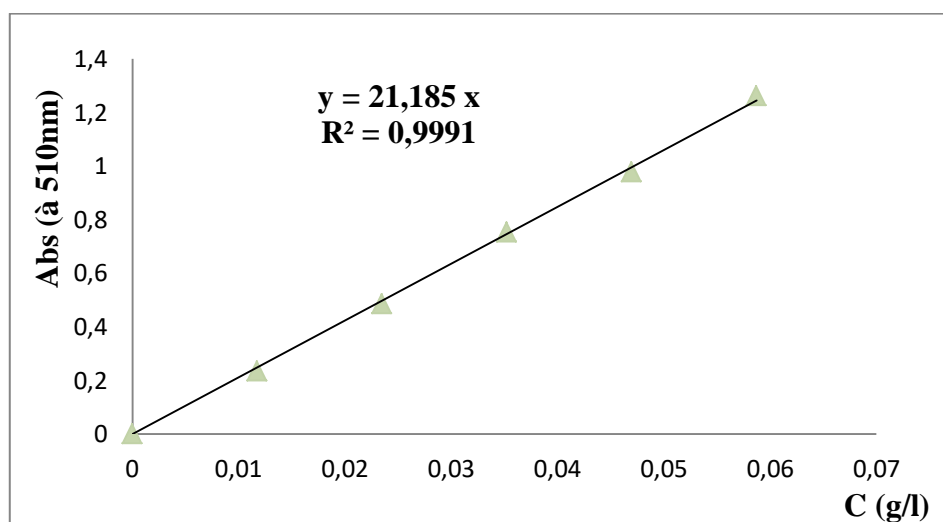


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la vit E.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de vit E par 100 grammes d'huile (mg Eq Vit E/100 g d'huile). (Tableau 8 et figure 24)

Tableau 8 : Quantités des tocophérols des huiles d'*A. campestris* (Fruits/Galles).

Extrait	Teneur en tocophérols (mg Eq Vit E/100g d'huile)
Fruits	686,59 \mp 24,27
Galles	1725,28 \mp 56,74

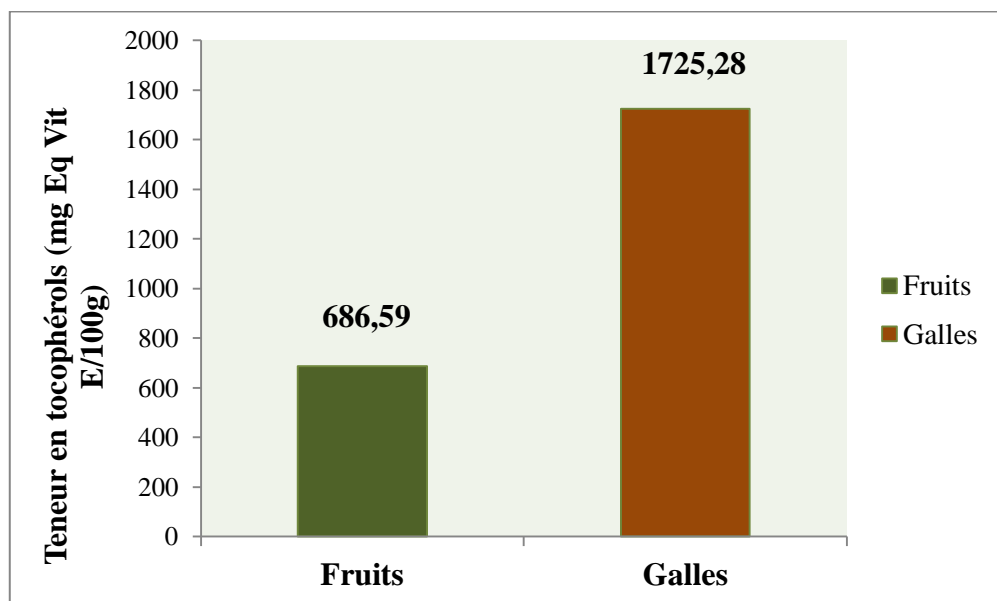


Figure 24 : Comparaison du taux de tocophérols totaux des lipides extraits à partir des fruits et des galles d'*A. campestris*.

A la lumière des résultats de la quantification des tocophérols totaux regroupés dans le tableau et la figure ci-dessus. Nous remarquons que la plus petite valeur a été enregistrée pour les fruits (686,59 \mp 24,27 mg Eq Vit E/100g), malgré sa richesse en lipides. Par contre la plus grande valeur a été enregistrée pour les galles (1725,28 \mp 56,74 mg Eq Vit E/100g). Nous pouvons conclure que les galles de cette plante peuvent être une source en tocophérols vue la quantité importante obtenue.

A notre connaissance, il n'existe pas de travaux publiés sur le dosage des tocophérols des différentes parties d'armoise rouge.

XII.3. Evaluation du pouvoir antioxydant par le test de DPPH

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits lipidique a été déterminée par un test de routine, simple et rapide, en utilisant la solution éthanolique de DPPH. Cette méthode est basée sur la diminution de la couleur du radical en présence de l'extrait en parallèle l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

La courbe d'étalonnage qui représente le pourcentage d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration de l'antioxydant standard (vit E) exprimée en mg/l est illustrée dans la figure suivante :

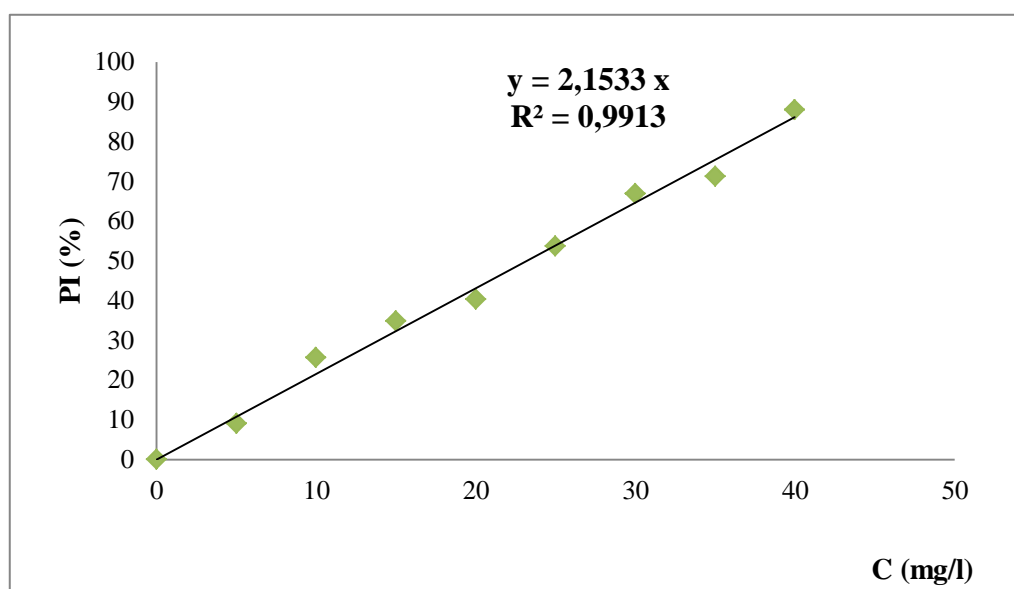


Figure 25 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition PI% en fonction de la concentration en antioxydants standards (Vit E).

Les résultats de l'activité antioxydante sont exprimés par VEEAC (mg/g d'huile), qui est définie comme la quantité en mg du vit E possédant la même activité antioxydante que 1 g d'huile. (Tableau 9 et figure 26).

Tableau 9 : Valeurs de VEEAC des extraits lipidiques d'*A. campestris*.

Extrait	VEEAC (mg /g d'huile)	Interprétation
Fruits	34,96 ± 0,66	1g d'extrait a une activité antioxydante équivalente à 34,96 mg de vitamine E
Galles	10,99 ± 0,28	1g d'extrait a une activité antioxydante équivalente à 10,99 mg de vitamine E

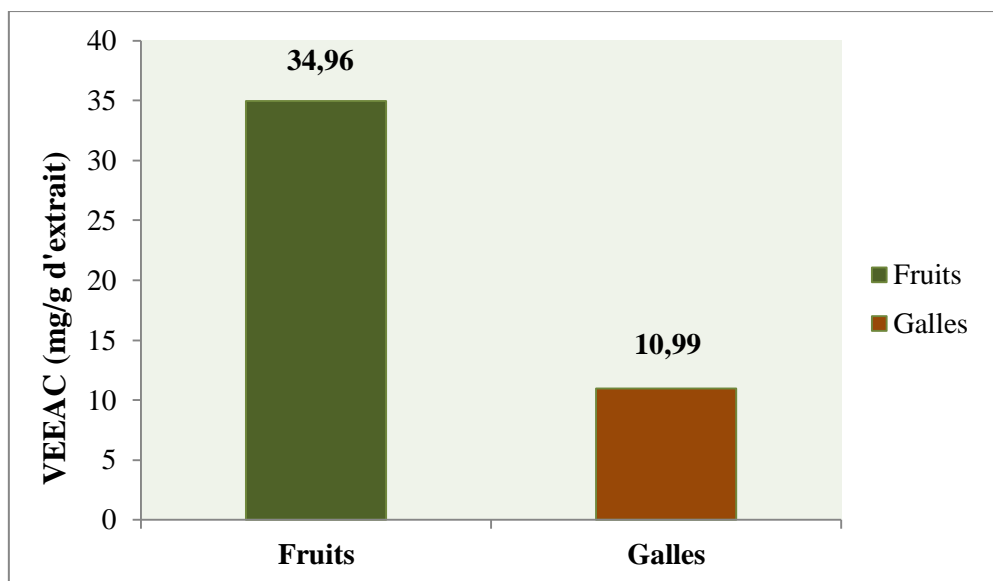


Figure 26 : Comparaison du VEEAC entre les fruits et les galles d'*A. campestris*.

Concernant l'expression de l'activité anti radicalaire par le VEEAC, on déduit que plus les valeurs de VEEAC sont grandes plus l'extrait est un antioxydant puissant. Dans ces extraits et selon les résultats mentionnés dans la figure et tableau précédents. Nous remarquons que l'huile des fruits est le plus puissant, son capacité antiradicalaire est important ($34,96 \pm 0,66$ mg/g d'extrait). Dans le deuxième ordre vient l'extrait des galles avec une valeur de VEEAC égale à $10,99 \pm 0,28$ mg/g d'extrait, inférieur à celle des fruits.

A partir de la courbe d'étalonnage, nous avons calculé la concentration du vit E équivalent à la concentration de l'extrait possédant la même valeur de PI (%), et le rapport entre la concentration de l'extrait (C_E) et la concentration équivalente de la vitamine E (C_{VE}) représente une autre forme d'expression pour l'activité antioxydante. On considère que plus ce rapport est petite plus l'activité antioxydante est grande.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antioxydante des lipides des fruits d'*A.campestris* est plus forte avec une valeur de rapport (28,60), alors que l'extrait des galles est beaucoup moins actif due au rapport élevé (91,02). En autre terme, l'extrait des fruits qui est le plus puissant est presque 28 fois moins actif que la vit E. Tandis que l'extrait des galles est presque 91 fois moins actif. Nous concluons que l'huile des galles possède une activité anti radicalaire trois fois moins que celle des fruits.

XII.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits lipidique d'*A. campestris*

XII.4.1. Les résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode des disques

Nous avons utilisé la méthode de Vincent pour déterminer la sensibilité des cinq souches bactériennes et les deux souches de levures vis-à-vis de nos extraits lipidique d'*A.campestris*.

Des disques de papier de 5 mm de diamètre imbibés avec 10 µl d'extrait (pure, 1/2, 1/5) sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension microbienne ajustée, trois disques par boîte ont été déposés pour la même concentration. Après l'incubation pendant 18 à 24 h, des zones transparentes apparaissent autour les disques représentant une inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries et levure) provoquée par le pouvoir antimicrobien de nos extraits.

Les diamètres des zones d'inhibitions exprimés en millimètres au tour des disques pour les trois concentrations des extraits (galles et fruits) sont mesurés et illustrés dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 10 : Diamètres moyens en (mm) des zones d'inhibition des cultures microbiennes incubés avec des extraits d'*A. campestris* de différentes concentrations.

Les souches	Diamètres des zones d'inhibition en (mm)					
	Extrait des fruits			Extrait des galles		
	Pure	Dilution 1/2	Dilution 1/5	Pure	Dilution 1/2	Dilution 1/5
<i>E. coli</i>	8,0±1,7	7,6±0,5	0	8,0±1	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i>	0	0	0	9,33±2,08	8,33±2,51	6,0±0
<i>Y.enterocolitica</i>	15,33±2,08	15,33±2,08	9,0±1,7	12,33±1,5	12,0±1	11,66±0,5
<i>K. pneumoniae</i>	12,66±1,5	8,33±1,5	6,0±0	15,33±2,08	10,66±1,5	8,0±1
<i>C. albicans</i> 10	14,33±0,5	13,33±2,08	12,0±2	15,0±0,6	15,0±1,33	14,0±0,6
<i>C. albicans</i> 26	13,0±1	12,0±0,5	11,33±2	16,33±2,08	13,66±0,5	13,0±1

± SD (écart-type [standard deviation])

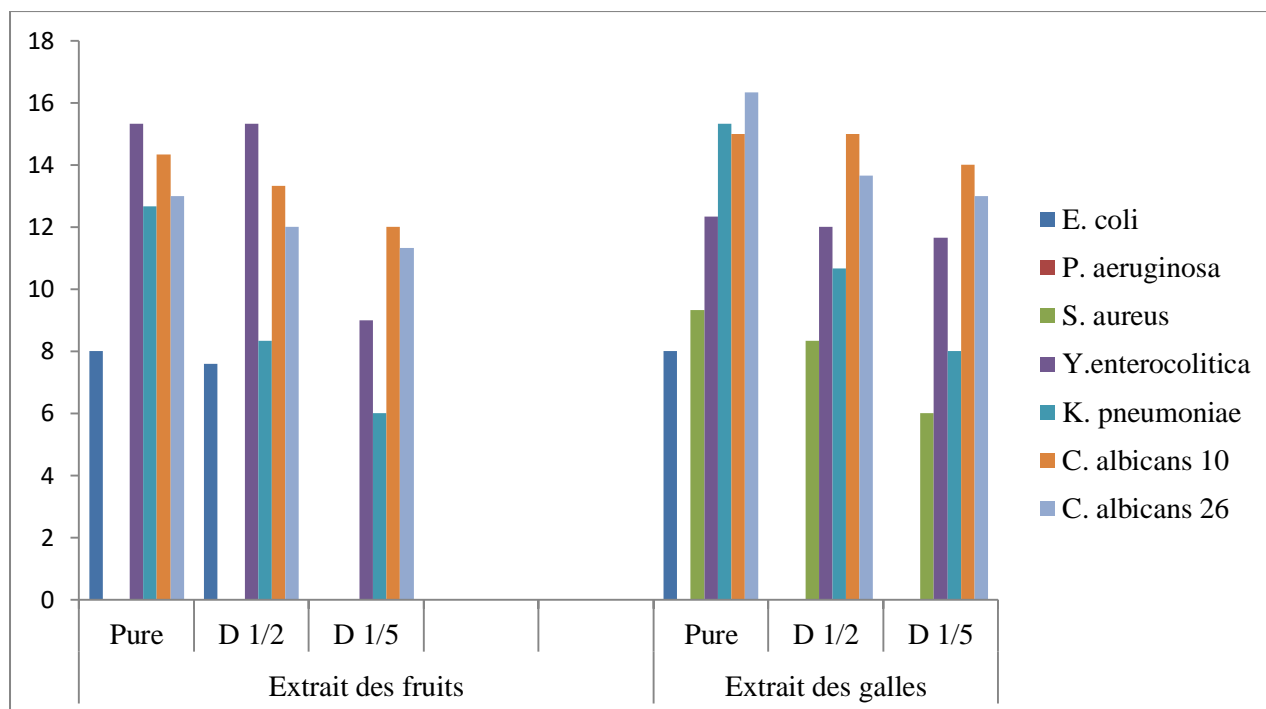


Figure 27 : les diamètres des zones d'inhibition obtenus suite à l'effet des deux extraits d'*A. campestris* sur les sept souches microbiennes.

Les résultats expérimentaux de l'effet antimicrobien par la méthode de Vincent des deux extraits lipidiques (galles et fruits) d'*A. campestris* montrent une large variation des diamètres de zones d'inhibition, allant de 0 à 16,33 mm pour les extraits des galles et de 0 à 15,33 mm pour les extraits des fruits. Les souches étudiées n'ont pas le même comportement vis-à-vis nos extraits.

Pour *P. aeruginosa*, nous avons noté une résistance aux trois concentrations (Pure, 1/2, 1/3) pour les deux extraits (Fruits/Galles).

La bactérie à Gram positif (*S. aureus*) présente une sensibilité modérée aux trois concentrations de l'extrait des galles, par contre elle possède une résistance aux extraits des fruits.

La concentration pure de l'extrait des fruits donne un diamètre plus élevé avec *Y. enterocolitica*, suivie de : *C. albicans 10*, *C. albicans 26*, *K. pneumoniae* et *E. coli*. Dans le cas d'extrait des galles avec la même concentration, le diamètre le plus élevé a été obtenue chez *C. albicans 26* suivie de : *K. pneumoniae*, *C. albicans 10*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus* et dernièrement *E. coli*.

La dilution 1/2 de l'extrait des fruits nous révèle le même ordre décroissant des diamètres mesurés lors de la concentration pure pour les mêmes souches. Tandis que l'extrait

des galls nous donne un ordre différent pour les souches testées, nous avons enregistré que la zone d'inhibition la plus élevée est obtenue par *C. albicans* 10 alors que *E. coli* a montré une résistance.

Par ailleurs, la dilution $\frac{1}{5}$ des deux extraits donne le même ordre décroissant des zones d'inhibitions mesurées pour les souches testées (*C. albicans* 10, *C. albicans* 26, *Y. enterocolitica*, *K. pneumoniae*). D'autre part, l'effet des deux extraits est nul sur *E. coli*.

D'après l'ensemble des résultats obtenus, la comparaison des deux extraits d'*A. campestris* nous permet de déduire que les deux souches de levures sont les plus sensibles avec des zones d'inhibition remarquable (Figure 28, 29, 30 et 31).



Figure 28 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance de *C. albicans* (10) avec le témoin positif (ATF).



Figure 29 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galls sur la croissance de *C. albicans* (10) avec le témoin positif (ATF).



Figure 30 : Photo illustrant l'Effet de l'extrait des fruits sur la croissance de *C. albicans* (26) avec le témoin positif (ATF).



Figure 31 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galles sur la croissance de *C. albicans* (26) avec le témoin positif (ATF).

Les effets des deux extraits sur les souches bactériennes sont illustrés dans les annexes 06 et 07.

Ben Sassi et ses collaborateurs (2007), ont remarqué que l'extrait lipidique d'*A.campestris* collecté de la région de Tunisie n'a pas une action inhibitrice sur les souches suivantes : *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *K. pneumoniae*.

XII.4.2. Les résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de dilution en milieu liquide

La détermination des CMI et des CMB (pour des bactéries) ou CMF (pour les levures) nous permet d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits végétaux. Nous avons adopté la méthode de dilution en milieu liquide en utilisant une microplaque de 96 puits. La CMI sera déterminée, à partir d'une gamme de concentrations d'extrait. (Tableau 11)

Tableau 11 : Les dilutions des extraits et leurs positions dans la microplaque.

	C ₀	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration mg/ml	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20
Position (puits)		01	02	03	04	05	06

La méthode de dilution en milieu liquide a été réalisée sur toutes les souches microbiennes. La figure ci-dessous montre les microplaquesensemencées après l’ajout du révélateur INT. Les positions de chaque souche dans cette microplaque ont été illustrées dans la figure 18 dans la partie de matériels et méthodes.



(A) L’extrait des Fruits d’*A. campestris*.

(B) L’extrait des galles d’*A. campestris*.

Figure 32 : photo illustrant les microplaquesensemencées utilisé pour la détermination de CMI après l’ajout du révélateur INT.

Le tableau ci-dessous regroupe les concentrations minimales inhibitrices de nos extraits.

Tableau 12: CMI des extraits lipidiques des galles et des fruits d’*Artemisia campestris*.

Souches	Concentration en mg/ml	
	Extrait des fruits	Extrait des galles
<i>E. coli</i>	1,56	1,56
<i>P. aeruginosa</i>	3,13	3,13
<i>S. aureus</i>	1,56	1,56
<i>Y. enterocolitica</i>	1,56	3,13
<i>K. pneumoniae</i>	3,13	3,13
<i>C. albicans</i> 10	0,39	0,20
<i>C. albicans</i> 26	0,78	0,20

L'histogramme suivant montre une comparaison entre les CMI des deux extraits.

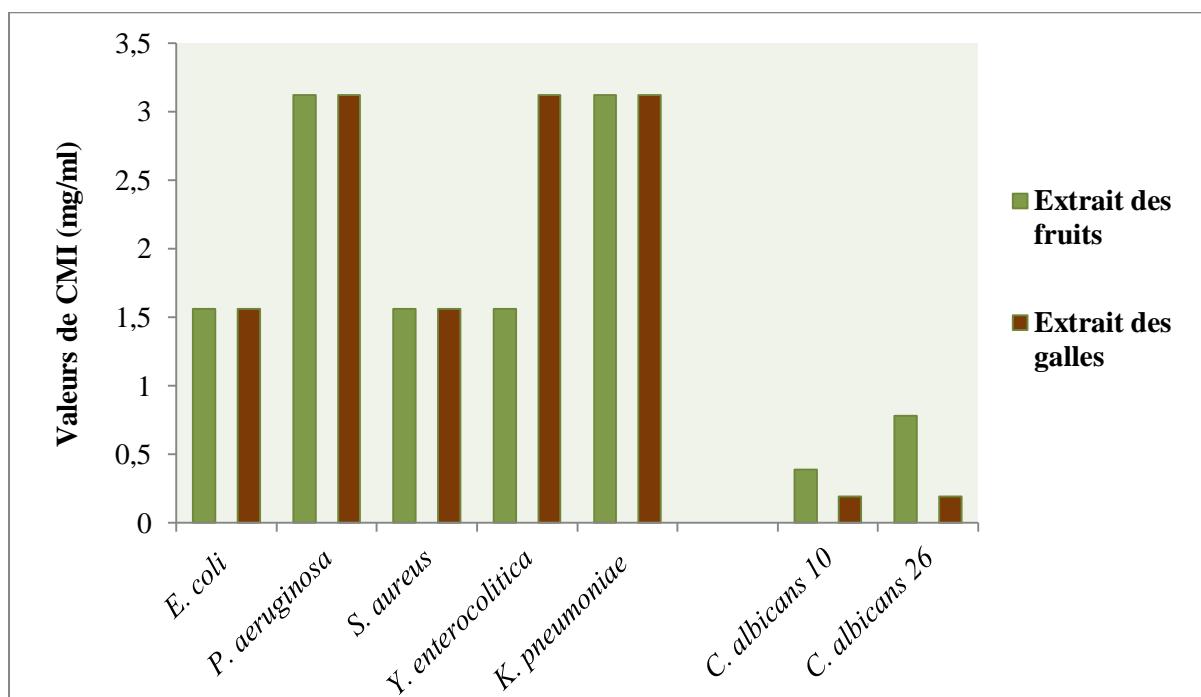


Figure 33 : Comparaison des valeurs de CMI entre les extraits des galles et des fruits d'*A. campestris*.

Nous avons remarqué que les CMI des deux extraits lipidiques d'*Artemisia campestris* sur les souches bactériennes testées, se rangent entre 1,56 et 3,13 mg/ml. Ainsi celles des souches de levure se rangent entre 0,20 et 0,78 mg/ml.

Pour les deux extraits, la même valeur de CMI a été enregistrée pour les souches *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *K. pneumoniae*. Mais pour *Y. enterocolitica*, la valeur de CMI se diffère d'un extrait à l'autre. Nous remarquons que l'extrait de fruits présente une CMI=1,56 mg/ml d'où une sensibilité modérée.

Les souches de *Candida* sont avérées les plus sensibles aux extraits d'*A. campestris* car les valeurs de CMI sont plus faibles par rapport aux bactéries. En d'autres termes, les souches bactériennes testées résistent à nos extraits d'où le faible effet de ces derniers.

L'extrait des galles possède le même effet pour les deux souches de levure, il est fort par rapport à l'extrait des fruits. Mais ce dernier a une efficacité importante sur *C. albicans 10* et moins efficace sur *C. albicans 26*.

Les différentes valeurs de CMI observées peuvent s'expliquer par la présence de composés actifs à propriété antibactérienne dans nos extraits. Ces valeurs dépendent généralement de deux facteurs : la nature de l'extrait et la souche microbienne.

Plus les valeurs de CMI sont petites, plus les microorganismes sont sensibles et l'extrait dans ce cas est efficace, il peut être un choix thérapeutique. En revanche, plus les valeurs de CMI sont élevées, les microorganismes sont résistants, alors l'extrait est considéré comme faible.

Les valeurs de CMB sont supérieures à 6,25 mg/ml pour la majorité de nos souches bactériennes. De même pour la CMF

Les rapports CMB/CMI et CMF/CMI d'une substance antimicrobienne permet de savoir la nature de nos extraits en terme bactéricides ou bactériostatique, fongicide ou fongistatique. Si ce rapport est inférieur ou égal à quatre (≤ 4) l'extrait est qualifié de substance bactéricide ou fongicide et s'il est supérieur à quatre (> 4), alors l'extrait est dit bactériostatique ou fongistatique (LA, *et al.*, 2008).

La totalité des résultats mentionnent que les deux extraits sont dotés d'un pouvoir bactéricide sur les espèces bactériennes étudiées (le rapport CMB/CMI inférieur à 4). Par contre ils sont dotés d'un pouvoir fongistatique sur les espèces de levure (le rapport CMF/CMI supérieur à 4)

Les valeurs des deux rapports sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Rapport CMB/CMI et CMF/CMI.

Souches	Concentration en mg/ml	
	CMB/CMI	
	Extrait des fruits	Extrait des galles
<i>E. coli</i>	4	4
<i>P.aeruginosa</i>	2	2
<i>S. aureus</i>	4	4
<i>Y. enterocolitica</i>	4	2
<i>K. pneumoniae</i>	2	2
	CMF/CMI	
<i>C. albicans 10</i>	16	32
<i>C. albicans 26</i>	8	32

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes aromatiques et médicinales occupent une importante place dans le monde entier. L'humanité est à la recherche de solutions de rechange naturelles aux substances chimiques, qui deviennent agressives pour l'organisme. Le monde végétal constitue une source inépuisable de substances bioactives dans divers domaines en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture.

Le présent travail est consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des lipides extraits d'*Artemisia campestris* récoltée dans la région d'Aflou (Laghouat) en Octobre 2021. L'extrait lipidique des deux organes (galles et fruits) de cette plante a été obtenu par les ondes ultrasons et l'hexane comme solvant pendant 30 min jusqu'à l'épuisement, les rendements lipidiques sont relativement proches, alors que la teneur en tocophérols des deux extraits était différente, les galles étant riche en tocophérol par rapport aux fruits.

L'activité antioxydante des deux extraits d'*Artemisia campestris* (galles et fruits) a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH, la capacité antiradicalaire est élevée dans l'extrait des fruits, par contre elle est faible pour l'extrait des galles.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes (*E.coli*, *Y.enterocolitica*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*) et deux levures de *C. albicans*, selon la méthode de diffusion sur disque. Les résultats indiquent que les deux extraits possèdent une activité modérée pour : *E. coli*, *S. aureus* et l'extrait de fruit a un effet sur la souche de *Y. enterocolitic*, le reste des bactéries sont résistantes. Les concentrations minimales inhibitrices des deux extraits sont basses pour les souches de candida. Elles se sont révélées plus sensibles vis-à-vis nos extraits que les bactéries.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'un premier pas dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, des études supplémentaires *in vivo* seront nécessaires, après l'isolement et l'identification des différentes molécules responsables des activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) dotée par ces extraits lipidique de cette plante. Ce qui permet de valoriser les plantes médicinales présentes dans le sud d'Algérie.

*Références
bibliographiques*

A

1. **Akrout, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C.** (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.
2. **Alain, K. Y., Cokou, A. D. P., Diane, B., Reine, B. S., Alain, A. G., Felicien, A., & Dominique, S. C. K.** (2018). Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante à usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23(4), 441-450.
3. **Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M.** (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 21(2), 143-152.
4. **Aniya, Y., Shimabukuro, M., Shimoji, M., Kohatsu, M., Gyamfi, M. A., Miyagi, C., & Egashira, T.** (2000). Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(3), 309-312.
5. **ANSES** (2011). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques.

B

6. **Bakchiche, B., Gherib, A., Bronze, M. R., & Ghareeb, M. A.** (2019). Identification, quantification, and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Artemisia campestris* from Algeria. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 234.
7. **Barbieri, J. T., & Sun, J.** (2004). *Pseudomonas aeruginosa* exos and exot. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 79-92.
8. **Beaumont, S.** (2015). Biochimie UE1.
9. **Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., & Aouni, M.** (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical biology*, 45(5), 421-428.
10. **Bengoechea, J. A., & Sa Pessoa, J.** (2019). *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences. *FEMS microbiology reviews*, 43(2), 123-144.
11. **Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., & Douira, A.** (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta botánica barcinonensia*, 191-216.

12. **Bensakhria, A.** (2018). "Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif
13. **Berrouane, n. e. h.** (2014). etude de l'effet protecteur de l'extrait d'*Artemisia campestris* sur le stress oxydant induit chez le rat par le tétrachlorure de carbone (CCL₄). Département de Technologie alimentaire. Ecole Nationale supérieur Agronomique El-Harrach - Alger: 148.
14. **Blois, M. S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199-1200.
15. **Bottone, E. J.** (1997). *Yersinia enterocolitica*: the charisma continues. *Clinical microbiology reviews*, *10*(2), 257-276.
16. **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*, *7*(2), 61-66.
17. **Boudjouref, M.** (2019). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris*. Département de biochimie, Université Ferhat Abbas Sétif 1: 120
18. **Boussoussa, H.** (2011). Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhanterium adpressum*. Département de biologie, Université AMAR TELIDJI – LAGHOUAT: 119.

C

19. **Canillac, N., & Mourey, A.** (2001). Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, *18*(3), 261-268.
20. **Cohen, N., & Karib, H.** (2006). Risque hygiénique lié à la présence des *Escherichia coli* dans les viandes et les produits carnés: Un réel problème de santé publique. *Les technologies de laboratoire*, *1*(1).
21. **Cook-Mills, J., & A McCary, C.** (2010). Isoforms of vitamin E differentially regulate inflammation. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, *10*(4), 348-366.
22. **Costache MA, Campeanu G, Neata G.** (2012). Studies concerning the extraction of chlorophyll and total carotenoids from vegetables. *Romanian Biotechnological Letters*, *17*(5):7702-7708.
23. **Cuvelier, C., Cabaraux, J. F., Dufrasne, I., Hornick, J. L., & Istasse, L.** (2004). Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. In *Annales de Médecine*

Vétérinaire (Vol. 148, No. 3, pp. 133-140). Annales Medecine Veterinaire.

24. **Cuvelier, C., Dotreppe, O., & Istasse, L.** (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 315-324.

D

25. **Defraigne, J. O., & Pincemail, J.** (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
26. **Dib, I., & El Alaoui-Faris, F. E.** (2019). *Artemisia campestris* L.: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1884-1906.
27. **Dib, I., Angenot, L., Mihamou, A., Ziyat, A., and Tits, M.** (2017). *Artemisia campestris* L. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review. *J. Herb. Med.* 7, 1-10.
28. **Dob, T., Dahmane, D., Berramdane, T., and Chelghoum, C.** (2005). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia campestris*. L. from Algeria. *Pharm. Biol.*, 43(6), 512-514. Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.

E

29. **El Mostaphi, A., El Hartiti, H., Barrahi, M., & Ouhssine, M.** (2018). Antimicrobial Activity of the Essential Oil of an Endemic Plant in Morocco, *Impatiens balsamina*. *J Clin Toxicol*, 8(381), 2161-0495.
30. **El-Houiti, F.** (2010). Composition chimique, activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum*. Département de biologie, Université AMAR TELIDJI – LAGHOUAT: 118.
31. **El-Kolli M,** (2017). Structure et activite des substances naturelles : principes et applications. Cours.Univ Ferhat Abbas.Sétif.
32. **Emmerie, A., & Engel, C.** (1938). Colorimetric determination of α -tocopherol (vitamin E). *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 57(12), 1351-1355.

F

33. **Favier, A.** (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
34. **Favier, A.** (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
35. **Ferrier.** (2017). *Biochemistry* (Seventh edition.). Wolters Kluwer.
36. **Foti, M. C.** (2015). Use and Abuse of the DPPH• Radical. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(40), 8765-8776.

G

37. **Gast, M.** (1989). Armoise. Encyclopédie berbère, (6), 905-908.
38. **Genevois, L.** (1955, January). Biosynthèse des pigments des fruits et légumes. In *Annales de la nutrition et de l'alimentation* (pp. A295-A321). Centre national de la recherche scientifique.
39. **Gherib M.** (2009) Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp. sahariensis; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Cou. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid — Tlemcen.p 1-7.
40. **Guenane, H.** (2017).Activité biologique des extraits lipidiques des fruits du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). Thèse de doctorat. Département de biochimie. Université Kasdi Merbah-Ouergla: 257.
41. **Gupta, M., Mazumdar, U. K., Sivakumar, T., Vamsi, M. L. M., Karki, S. S., Sambathkumar, R., & Manikandan, L.** (2003). Evaluation of anti-inflammatory activity of chloroform extract of *Bryonia laciniata* in experimental animal models. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(9), 1342-1344.

H

42. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P.** (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
43. **Halliwell, B.** (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am. J .Med.*, 91(3), S14-S22.
44. **Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V.** (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.
45. **Hanh Phan-Thi.** Utilisation des caroténoïdes naturels de *Momordica cochinchinensis* (gac) comme composés santé : extraction et bioactivité en fonction de l'origine et du procédé. Ingénierie des aliments. Université de Bourgogne, 2014. Français. ffNNT : 2014 DIJOS087ff. fftel-01668508
46. **Hartmann, Marie-Andrée.** (1998). Plant sterols and the membrane environment. *Trends in plant science*, vol. 3, no 5, p. 170-175.
47. **Huang, W., et Meinschein, W. G.** Sterols as ecological indicators. *Geochimica et cosmochimica acta*, 1979, vol. 43, no 5, p. 739-745.

I

48. **Ivanescu, B., Lungu, C., Vlase, L., Gheldiu, A. M., Grigorescu, C., & Corciova, A.** (2018). Bioactive compounds from *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*. *dementia*, 2, 3.

J

49. **Jahouache, W.** *Décoloration des Huiles végétales Sur des Argiles: Etude de la stabilité Physico-chimiques des huiles décolorées*. 2002. Thèse de doctorat. Thèse de Doctorat, Université de Sfax.

K

50. **Kandji, N. A.** (2001). Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal. *Docteur en pharmacie Université Cheik Anta Diop de Dakar*, P68.
51. **Ken Jones,.** (2007). Aloe vera in the management of oxidative stress.
52. **Kohen, R., & Nyska, A.** (2002). Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.

L

53. **LA, M. J., LOUKOU, Y., & GUEDE-GUINA, F.** (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli* Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin de la société royale des sciences de Liège*.
54. **Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S.** (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.
55. **Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., & Zhou, D.** (2014). *Molecular pathogenesis of Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiology*, 9(9), 1071–1081.

M

56. **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
57. **Metoui, R., Bouajila, J., Znati, M., Cazaux, S., Neffati, M., & Akrouf, A.** (2017). Bioactive flavones isolated from Tunisian *Artemisia campestris* L. Leaves. *Cellular*

and Molecular Biology, 63(11), 86-91.

58. **Mfengwana, P. M. A. H., & Mashele, S. S.** (2016). Antimicrobial Activity Screening of *Philenoptera violacea* (Klotzsch) schrire and *Xanthocercis zambesiaca* (Baker) Dumaz-Le-Grand.
59. **Molyneux, P.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

N

60. **Naili, M. B., Alhazeer, R. O., Saleh, N. A., & Al-Najjar, A. Y.** (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, 3(2), 79-84.
61. **Noui, A.** (2013). *Identification de la fraction insaponifiable (stérols, tocophérols, polyphénols,...) de l'huile d'argan (Argania spinosa (L.) Skeels)* (Doctoral dissertation, Université de Chlef-Hassiba Benbouali).

P

62. **Pastre, J.** (2005). *Interet de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques.*
63. **Phan, T. H.** (2014). *Utilisation des caroténoïdes naturels de Momordica cochinchinensis (gac) comme composés santé: extraction et bioactivité en fonction de l'origine et du procédé* (Doctoral dissertation, Dijon).
64. **Poulain, D.** (2013). *Candida albicans, plasticité et pathogénie.* *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(450), 37-46.

Q

65. **Quemeneur, M.** (1996). *Analyse des lipides en tant que cofacteurs des contaminants organiques dans les organismes marins.*

R

66. **Rios, J. L., Recio, M. C., & Villar, A.** (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149.

S

67. **Saihi, R.** (2011). *Etude phytochimique extraction des produits actifs de la plante Artemisia campestris de la région de Djelfa: Mise en évidence de l'activité biologique* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
68. **Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., & Douira, A.** (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31,

133.

69. **Sautour, M., Mathieu, G., Delcourt, A., Divies, C., & Bensoussan, M.** (1999). Action de la chlorhexidine sur l'expression de la virulence de *Candida albicans*. *Cryptogamie Mycologie*, 20(3), 179-188.
70. **Savin, C., & Carniela, E.** (2008). Les diarrhées d'origine bactérienne le cas de *Yersinia enterocolitica*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2008(400), 49-58.
71. **Schoefs, B.** (2002). Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. *Trends in food science & technology*, 13(11), 361-371.
72. **Selka, M. A., Chenafa, A., Achouri, M. Y., Aoued, L., Tareb, S., Nouredine, M. A., & Toumi, H.** (2016). Activité antimicrobienne et antioxydante des feuilles de *Vitis vinifera* L. *Phytothérapie*, 14(6), 363-369.
73. **Sifi, I.** (2010). Galles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.): Composition Chimique en Huiles Essentielles, Activités Antimicrobienne et Antioxydante. Mémoire de magister. Département de biologie, Université AMAR TELIDJI – LAGHOUAT: 111.
74. **Sjöberg, B.** (2013). *Oxydation des protéines par les espèces réactives de l'oxygène: l'importance de l'environnement protéique* (Doctoral dissertation, Université de Franche-Comté).
75. **Špika, M. J., Kraljić, K., & Škevin, D.** (2016). Tocopherols: Chemical structure, bioactivity, and variability in Croatian virgin olive oils. *Products from Olive Tree*, 317.

T

76. **Théodet, C., & Gandemer, G.** (1991). Comparaison de cinq méthodes pour extraire les lipides du lactosérum et de ses dérivés. *Le Lait*, 71(1), 41-54.

V

77. **Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M.** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
78. **Vincenot, F., Saleh, M., & Prévost, G.** (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*, 2008(407), 61-69.
79. **Voet, Donald, and Judith G. Voet.** 2006. *Biochemistry*. New York: J. Wiley & Sons
80. **Von Wettstein, D., Gough, S., & Kannangara, C. G.** (1995). Chlorophyll

biosynthesis. *The plant cell*, 7(7), 1039.

W

81. **Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S.** (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular medical microbiology* (pp. 753-767). Academic Press.

Y

82. **Yun, K. W., Maun, A., & Kim, J. H.** (2007). Effects of the aqueous extract from *Artemisia campestris* ssp. caudata on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand dune grasses. *Journal of Plant Biology*, 50(3), 358-361.

Site web

1. <http://microbiologie-clinique.com/antibiogramme.html>
2. [https://stringfixer.com/fr/Artemisia_\(genus\)](https://stringfixer.com/fr/Artemisia_(genus))
3. https://www.infoflora.ch/assets/db_doc/taxa_images/2012/06/20/20120620012023-009cd6c0.jpg

Annexes

Annexe 01

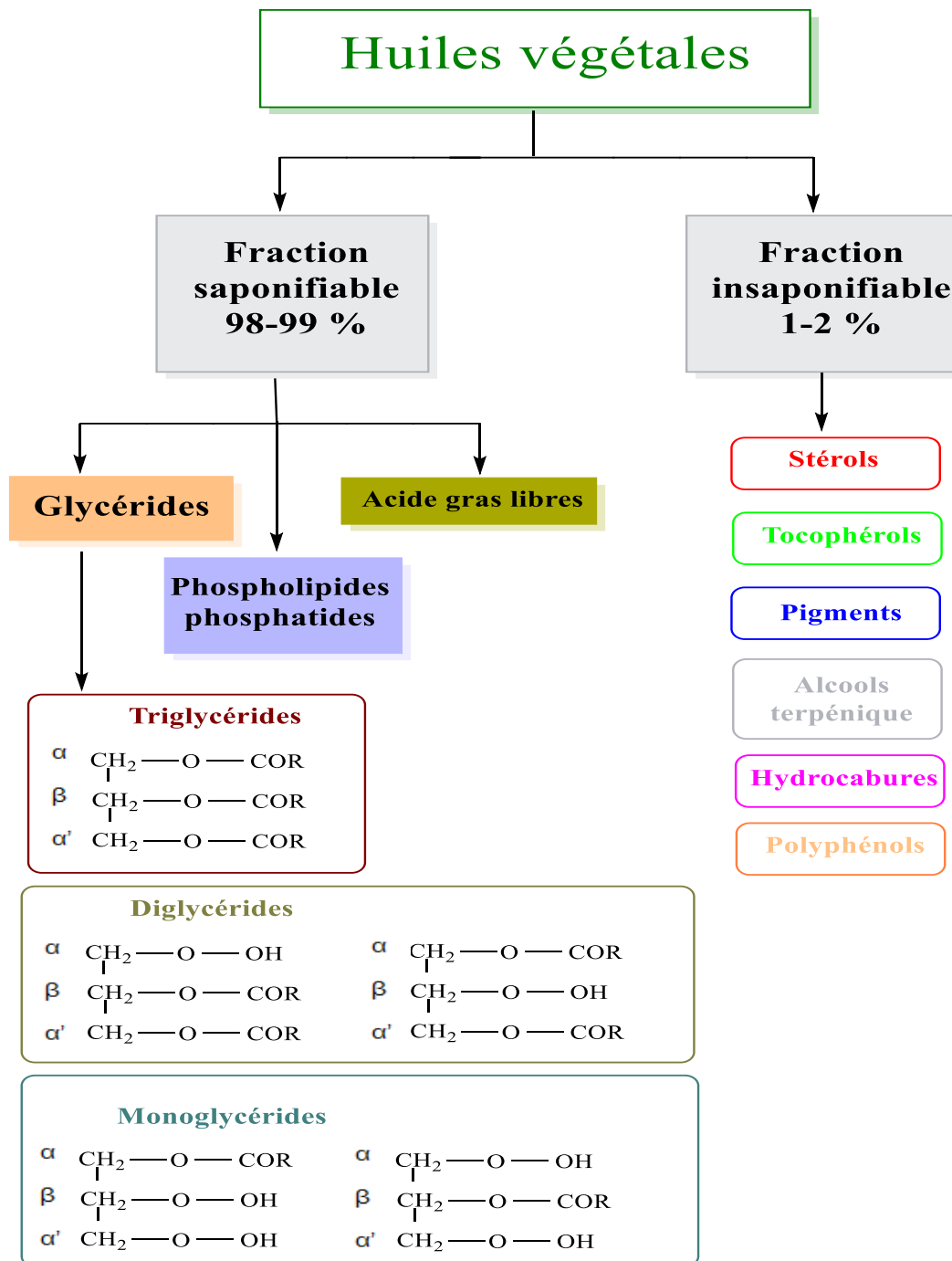


Figure 1 : Constituants des huiles végétales (Jahouach, 2002).

Annexe 02

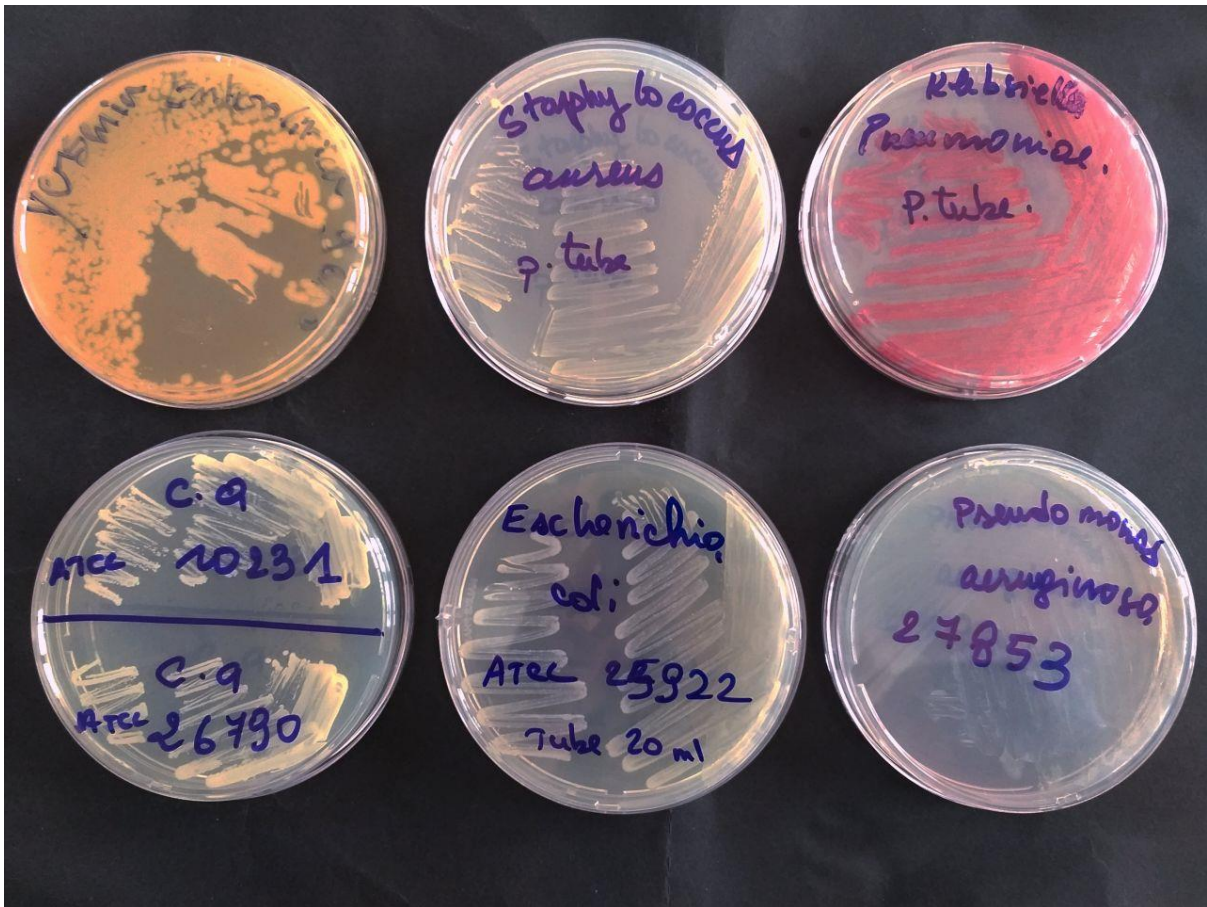


Figure 2 : Photo des souches microbiennes utilisées dans notre étude.

Annexe 03

Tableau 1 : Equipements et matériels de laboratoire.

Agitateur magnétique	Ecouvillon	Papier filtre
Aoutoclave	Entonnoir	Parafilm
Appareil de sonication (Raypa)	Erlenmeyer	Pied à coulisse
Appareil rotavapeur	Etiquettes	Pince
Balance	Etuve	Pipette pasteur
Ballon	Fiole jaugée	Pissette
Barreau magnétique	Flacon	Plaque chauffant
Bec bunsen	Micropipette	Les embouts de micropipette (bleue/jaune)
Bicher	Mixeur	Portoirs
Boites pétrie	Mortier et pilon	Spatule
Bouchons	Papier aluminium	Spectrophotomètre SHIMADZU 1800
Cuvette	Papier cellophane	Tube a essaie

Tableau 2 : Les produits chimiques utilisés.

DMSO	Ethanol	Vitamine E
DPPH	$FeCl_3$	Sabouraud dextrose agar/ Sabouraud broth
Eau distillée	Hexane	Mueller Hinton agar/ Mueller Hinton broth
Eau physiologique	Phénanthroline	Iodonitrotétrazolium (INT)

Annexe 04

Tableau 3 : Antibiotique et antifongique utilisé pour chaque souche et son diamètre de zone d'inhibition

Souches	ATB/ATF	Diamètre (mm)
<i>E. coli</i>	GEN 10	22
<i>P. aeruginosa</i>	AK 30	33
<i>S. aureus</i>	AK 30	20
<i>Y. enterocolitica</i>	DXT 30	22
<i>K. pneumoniae</i>	DXT 30	22
<i>C. albicans</i> 10	Amphotéricine B	15
<i>C. albicans</i> 26		20

Annexe 05

Tableau 4 : Les antibiotiques et les antifongiques utilisés dans cette étude.

Les antibiotiques «disques»		
Antibiotique	Code	Charge du disque (µg)
Gentamicine	GEN	10
Amikacine	AK	30
Doxycycline	DXT	30
Les antibiotiques «médicaments»		
Céphalosporin 1g : poudre pour solution injectable.		
Les antifongiques		
MYTRICINE 10% (Amphotéricine B): solution buvable.		

Annexe 06

E. coli

Figure 3 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance d'*E. coli* avec le témoin positif (GEN 10 µg).

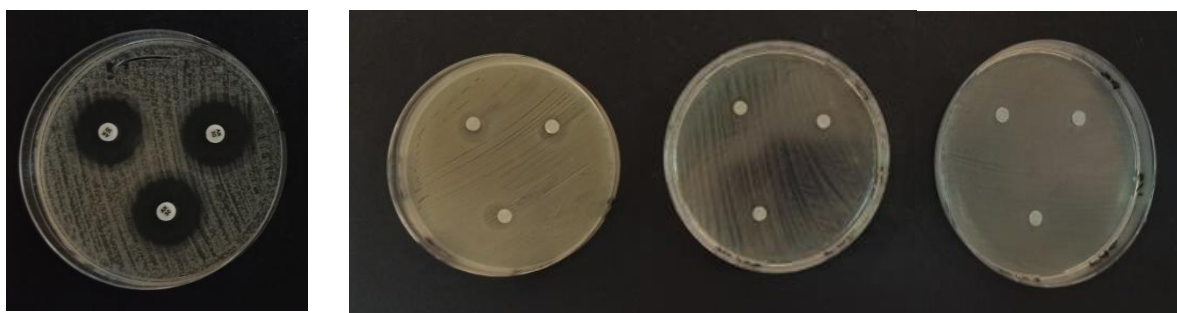
P. aeruginosa

Figure 4 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance d'*P. aeruginosa* avec le témoin positif (AK 30 µg).

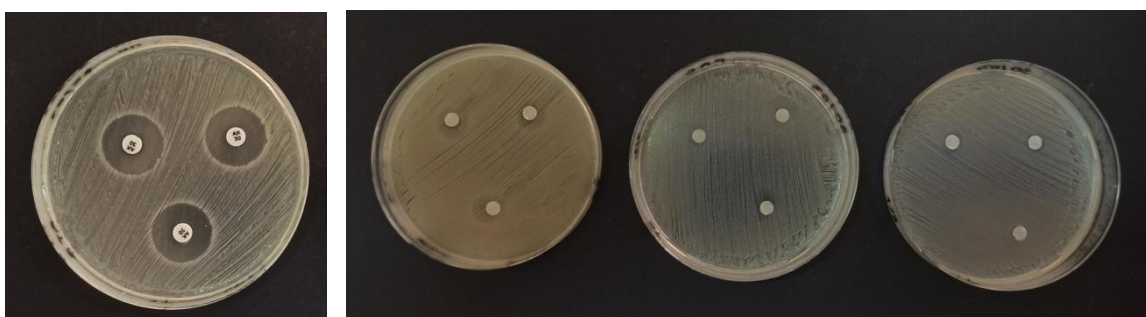
S. aureus

Figure 5 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance d'*S. aureus* avec et le témoin positif (AK 30 µg).

Y. enterocolitica

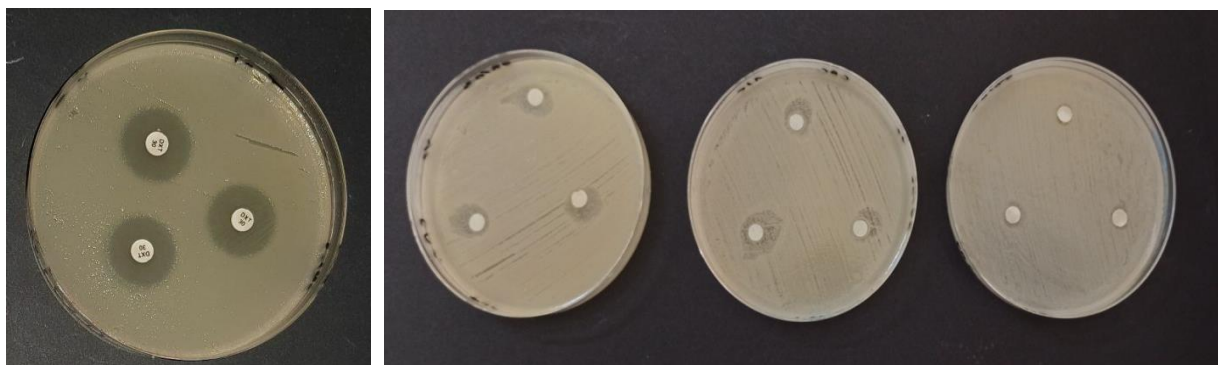


Figure 6 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance d'*Y. enterocolitica* avec le témoin positif (DXT 30 µg).

K. pneumoniae



Figure 7 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des fruits sur la croissance d'*K. pneumoniae* avec le témoin positif (DXT 30 µg).

Annexe 07

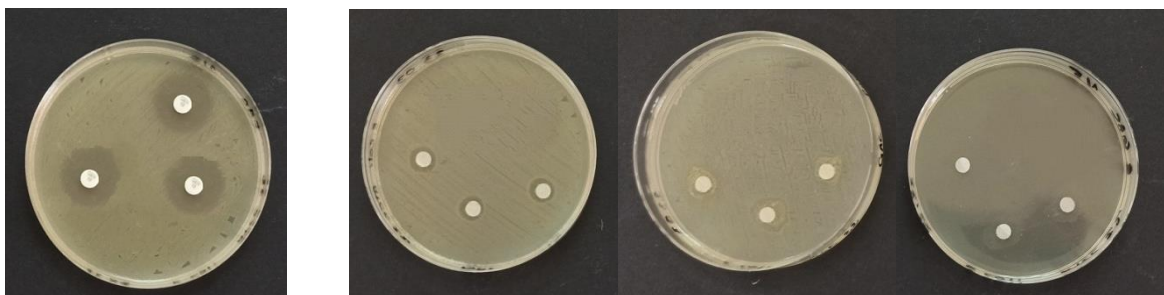
E. coli

Figure 8 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galls sur la croissance d'*E.coli* avec le témoin positif (GEN 10 µg).

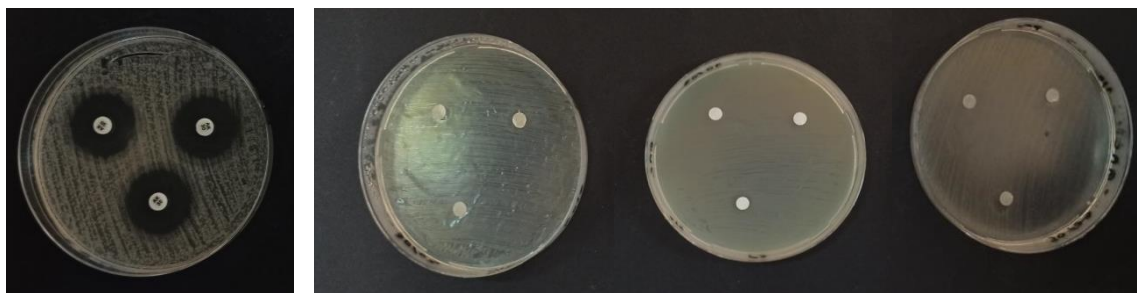
P. aeruginosa

Figure 9 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galls sur la croissance d'*P. aeruginosa* avec le témoin positif (AK 30 µg).

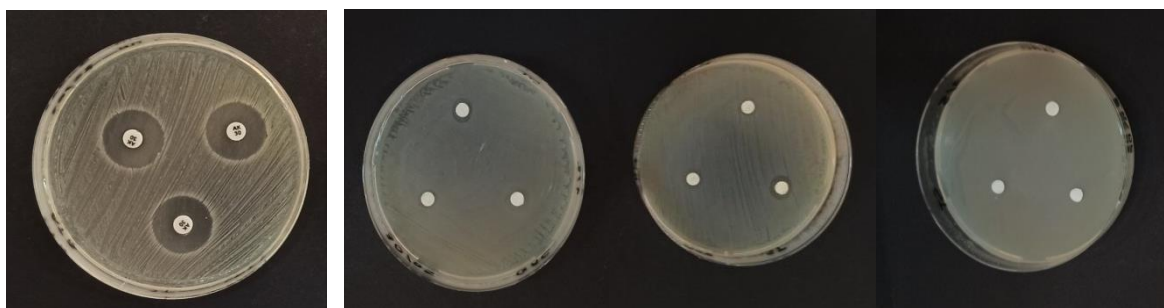
S. aureus

Figure 10 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galls sur la croissance d'*S. aureus* avec et le témoin positif (AK 30 µg).

Y. enterocolitica

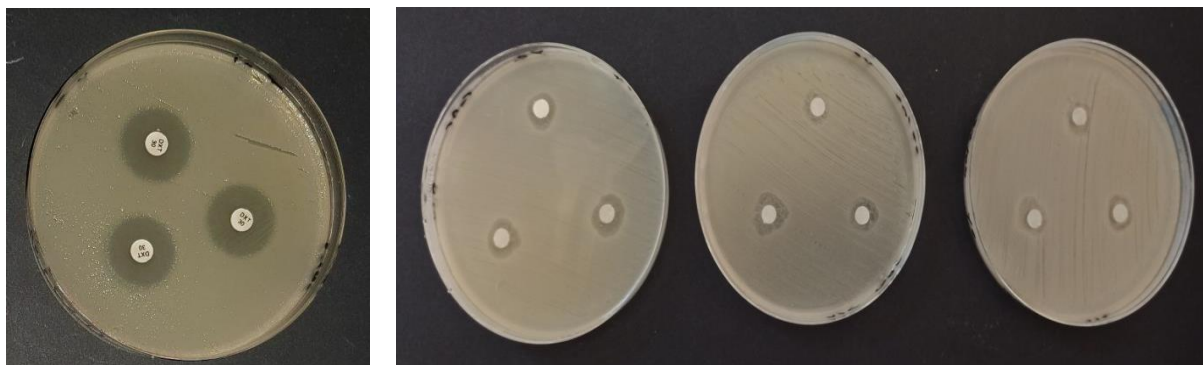


Figure 11 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galles sur la croissance d'*Y. enterocolitica* avec le témoin positif (DXT 30 µg).

K. pneumoniae

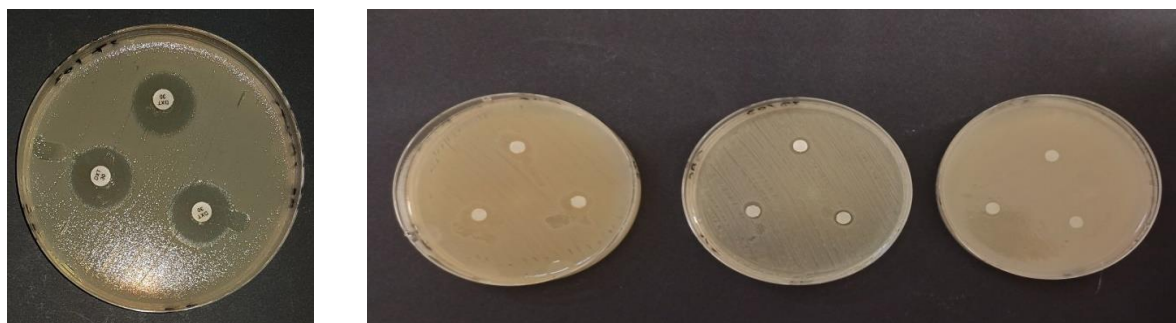


Figure 12 : Photo illustrant l'effet de l'extrait des galles sur la croissance d'*K. pneumoniae* avec le témoin positif (DXT 30 µg).