

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955 SKIKDA



Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Science biologiques.

Option : Biochimie appliquée.

Intitulé

**Evaluation de l'activité antibactérienne des polyphénols  
extraits de la plante médicinale**

*Artemisia annua L.*

Présenté Par :

MEZRIT SOUMYA

N'KIKACHE RAYANE

NACERI IBTIHEL

OUALI SAMIA.

**Membre de Jury :**

M<sup>me</sup>. Machiaa L

Président

Université du 20 Août 1955 – Skikda.

M<sup>me</sup>. Khadri S

Directeur de mémoire

Université du 20 Août 1955 – Skikda.

M<sup>me</sup>. Mellahi L

Examineur

Université du 20 Août 1955 – Skikda.

Année universitaire 2021/2022



# Remercîment

Avant tout, nous remercions le bon Dieu de nous avoir donnés le courage, la patience et la force pour mener à bien ce travail.

Au terme de ce modeste travail, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à ceux qui nous ont aidé à élaborer ce mémoire, tous ceux qui nous ont influencé tout au long de notre cursus académique.

Tout d'abord nous témoignons toute notre reconnaissance à notre promotrice **Dr. Khadri Sihem** pour son soutien, sa disponibilité, ces précieux conseils. Ses qualités humaines et scientifiques qui sont pour nous un exemple et une référence.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et toutes nos pensées de gratitude à **Dr. Machiaa Laila** qui nous a accompagné de près durant tout ce travail, pour sa disponibilité, pour la confiance qu'elle nous a accordée et les conseils précieux qu'elle nous a prodigués tout au long de la réalisation de ce projet.

Nous tenons à remercier aussi **Dr. Mellahi L** de nous avoir honoré en acceptant de juger notre modeste travail, veuillez trouver ici le témoignage de notre respect le plus profond.

Nous remercierons aussi la doctorante **Menasri Houria** pour leur aide dans notre pratique.

Enfin, Nous remercions tout particulièrement nos proches, surtout ceux qui partagent notre quotidien et qui nous ont soutenus tous au long de ce travail.

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail, à mes parents, à ma source de générosité  
Et de patience tout au long de ma carrière scolaire. Que Dieu vous  
protèges, vous prêtez bonne santé et longue vie.

A ma sœur et mes frères, qui m'ont toujours indiqué  
La bonne voie et qui ont su m'aider.

Aux personnes qui m'ont accompagné durant mon cursus universitaire,  
À mes amies pour ses encouragements Permanents.



***SOUMYA***

# Dédicace

Louange à dieu avant tout....

Louange à dieu qui m'a donné la force, la patience et la volonté pour atteindre ce niveau de connaissance...merci à dieu qui a rendu ma famille fière de moi.

Avec tout l'amour dans mon cœur je dédie ce travail :

A ma très chère mère < **Wahiba** > tu présente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secteur pour mener à bien mes études.

A mon chère père < **Ali** > rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour toi, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mes chères sœurs < **Aya, Basmala et Tasnime** > pour leurs encouragements et leur aide, ma vie n'aurait pas eu de goût sans elles. A mon adorable frère < **Adam** >.

A mon grand-père < **Ali** > et ma grand-mère < **Fedjria** > le bonheur de ma vie que dieu les garde et protège.

Je dédie aussi ce modeste travail à toute ma famille et spécialement mes tantes et mes oncles et leurs enfants.

À mes chères quadri nôme < **Ibtihel, Samia et Soumya** > qui ont partagé avec moi les rires, les larmes et les moments difficiles durant notre parcours universitaire, merci pour l'existence dans ma vie.

A tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université de m'avoir fourni les outils nécessaires à la réussite dans mes études.

A mes amis et mes collègues.

A tous les personnes que n'aurions nommées ici et tous que connues moi.

A tous ceux qui aiment la science



**RAYANE**

# Dédicace

Louange à dieu avant tout...

Louange à dieu qui m'a donné la force, la patience et la volonté pour atteindre ce niveau de connaissance...merci à dieu qui a rendu ma famille fière de moi.

Que ce travail témoigne de mes respects :

A ma mère **Lamia** et mon oncle **Abd el Malek**.

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux, Je prie Allah de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A la mémoire de **ma grand-mère** et ma 2<sup>ème</sup> mère **Souad** qui me sont toujours la plus chère, que dieu le miséricordieux ait pitié de son âme.

A ma chère sœur et mes frères que j'adore : **Sihem, Mohamed, Kamel, Ayoub, Salah**.

Ils ont trouvé ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'il n'est cessé de me porter.

A mes nièces adorées : **Nesma, Safa et Takoua**.

A mon petite neveu **Adem**.

À mes chères quadrinôme < **Rayane, Samia et Soumya** > qui ont partagé avec moi les rires, les larmes et les moments difficiles durant notre parcours universitaire, merci pour l'existence dans ma vie.

A tous mes enseignant du primaire jusqu'à l'université de m'avoir fourni les outils nécessaires à la réussite dans mes études.

A toute ma famille, oncle et tentes, cousines et cousins, petit et grand sans exception, amis et collègues : Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.



***IBTIHEL.***

# Dédicace

Je remercie **Allah** de m'avoir donné la force et le courage pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents :

A ma très chère mère **Zehaira**, qui a sacrifié les plus belles années de sa vie pour me voir un jour réussir et pour son soutien morale et l'encouragement durant toute ma vie et mon parcours scolaire, Aucun mot ne serait exprimer tout mon amour et tout ma gratitude, merci pour ta présence rassurant, j'espère que le bon Dieu la garde.

A mon père **Aziz**, ma source de bonheur. Merci d'avoir toujours été là pour moi, si j'en suis arrivé ici, c'est grâce à votre soutien et à votre amour, j'espère que le bon Dieu la garde.

A l'âme de mon **grand-père** et ma **2<sup>ème</sup> mère**, Allah yarhamhem.

A ma chère sœur **Donia**, pour sa présence, son soutien et tous les moments inoubliables qu'elle a passés de mon côté.

A mes adorables frères : **Seif Eddine et Achraf**, pour leur humour et leur amour. Merci pour votre soutien et ta présence toujours à mes côtés.

A mes chères quadri nôme : **Rayane, Soumya et Ibtihel**, qui ont partagé avec moi les rires, les larmes et les moments difficiles durant notre parcours universitaire, merci pour l'existence dans ma vie.

A mes amis et mes collègues.

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

A tous ceux qui luttent pour réaliser leurs rêves et leurs objectifs, qui défient toutes les circonstances pour réussir.



**SAMIA**

## Résumé

Les plantes médicinales contiennent des composés extrêmement complexes ; de dizaines ; voire de centaines de principes actifs, qui passionnent les scientifiques actuels. Chaque année, les chercheurs spécialisés dans ce domaine étudient, analysent et essayent de comprendre le mode d'action de certaines plantes. La réalisation de beaucoup de découverte en phytothérapie a pour effet l'utilisation massive des plantes médicinales. Dans ce modeste travail nous avons essayés de confirmer scientifiquement les propriétés antibactériennes des trois extraits poly phénoliques : brute, chloroforme et N-hexane obtenus à partir des feuilles de la plante médicinale *Artemisia annua L.*

Le pouvoir antibactérien des extraits a été évalué par trois méthodes ; méthode de diffusion en disque, méthode de dilution en milieu solide et celle de micro dilution en milieu liquide vis-à-vis de quatre espèces bactériennes : *E. coli*, *P.aeruginosa*, *E. faecalis* et *S. aureus*.

D'après les résultats obtenus nos extraits ont montré une activité inhibitrice de croissance bactérienne modérée vis-à-vis de la plupart des souches testées, avec des zones d'inhibitions varient entre 6.5-15 mm. Cependant la souche *E. faecalis* est le plus sensible. Par ailleurs, l'étude a révélé des valeurs de CMI relativement élevées.

**Mots clés :** activité antibactérienne, *Artemisia annua L*, phytothérapie, plante médicinale et Polyphénols.

## **Abstract**

Medicinal plants contain extremely complex compounds; tens; even hundreds of active ingredients, which fascinate current scientists. Each year, researchers specializing in this field study, analyze and try to understand the mode of action of certain plants. The realization of many discoveries in herbal medicine has resulted in the massive use of medicinal plants. In this modest work we have tried to scientifically confirm the antibacterial properties of the three polyphenolic extracts: crude, chloroform and N-hexane obtained from the leaves of the medicinal plant *Artemisia annua*. The antibacterial power of the extracts was evaluated by three methods; disk diffusion method, method of dilution in solid medium and that of micro-dilution in liquid medium with respect to four bacterial species: *E. coli*, *P.aeruginosa*, *E. faecalis* and *S. aureus*.

According to the results obtained, our extracts showed moderate bacterial growth inhibitory activity against most of the strains tested, with inhibition zones varying between 6.5-15 mm. However, strain *E. faecalis* is the most susceptible. Furthermore, the study revealed relatively high MIC values.

**Key words:** antibacterial activity, *Artemisia annua*, phytotherapy, medicinal plant and polyphenols.

## المخلص

تحتوي النباتات الطبية على مركبات معقدة للغاية؛ من بينها العديد من المكونات النشطة التي تبهر العلماء الحاليين. في كل عام، يقوم باحثون متخصصون في هذا المجال بدراسة وتحليل نباتات معينة لمحاولة فهم طريقة عملها. أدى تحقيق العديد من الاكتشافات في طب الأعشاب إلى الاستخدام المكثف للنباتات الطبية. في هذا العمل المتواضع، حاولنا أن نؤكد علمياً الخصائص المضادة للبكتيريا لثلاث مستخلصات لمتعدد الفينول: Brute, chloroforme, n-hexan المستخرجة من أوراق النبات الطبي *Artemisia annua*. حيث تم تقييم القوة المضادة للبكتيريا للمستخلصات بثلاث طرق؛ طريقة انتشار القرص، طريقة التخفيف في الوسط الصلب وطريقة التخفيف الدقيق في الوسط السائل فيما يتعلق بأربعة أنواع من البكتيريا؛ *E. coli* و *P.aeruginosa* و *E. faecalis* و *S. aureus*.

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، أظهرت مستخلصاتنا نشاطاً معتدلاً مثبطاً للنمو البكتيري ضد معظم السلالات المختبرة، مع مناطق تثبيط تتراوح بين (6.5-15) ملم. حيث أن سلالات *E. faecalis* هي الأكثر عرضة للإصابة. كما كشفت الدراسة عن قيم عالية نسبياً لنتائج التركيز الأدنى المثبط للبكتيريا (CMI).

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا، *Artemisia annua*، العلاج بالنباتات، النباتات الطبية ومتعدد الفينول.

# Sommaire

## SOMMAIRE

REMERCIEMENT

DEDICACES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION.....1

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE 01 : PHYTOTERAPIE

1.DEFINITION.....4

2.PLANTES MEDICINALES .....4

3.METABOLITES SECONDAIRES.....6

4.COMPOSES PHENOLIQUES .....6

4.1.DEFINITION.....6

4.2.CLASSIFICATION.....7

4.3.PROPRIETES BIOLOGIQUES .....7

4.4 ACTIVITE ANTI BACTERIENNE .....9

#### CHAPITRE 02: *Artemisia annua L*

1.DESCRPTION .....11

2.CLASSIFICATION .....12

3.COMPOSITION CHIMIQUE .....12

4.PROPRIETES BIOLOGIQUES.....14

---

**PARTIE EXPERIMENTAL**

**CHAPITRE 03 : MATERIELS ET METHODES**

<b>1.MATERIEL .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.MATERIEL VEGETAL ET EXTRAITS POLY PHENOLIQUES.....</b>	<b>17</b>
<b>1.2.SOUCHES BACTERIENNES A TESTER.....</b>	<b>19</b>
<b>1.3. MATERIEL DU LABORATOIRE.....</b>	<b>19</b>
<b>2. METHODES .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. METHODE DE DIFFUSION EN MILIEU SOLIDE .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.1 PREPARATION DE L'INOCULUM .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.2. ENSEMENCEMENT .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.3.LECTURE .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2.METHODE DE DILUTION EN MILIEU SOLIDE.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.1.PREPARATION DE LA GAMME DE CONCENTRATION DES EXTRAITS .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.2.PREPARATION DES BOITES ET ENSEMENCEMENTS .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.3.LECTURE .....</b>	<b>22</b>
<b>2.3.METHODE DE MICRODILUTION EN MILIEU LIQUIDE .....</b>	<b>23</b>

**CHAPITRE 04 : RESULTATS ET DISSCUSSION**

<b>1.METHODE DE DIFFUSION EN DISQUE .....</b>	<b>25</b>
<b>2. CONCENTRATION MINIMAL INHIBITRICE (CMI).....</b>	<b>28</b>
<b>2.1. DETERMINATION DE LA CMI PAR DILUTION EN MILIEU GELOSE .....</b>	<b>28</b>
<b>2.2.DETERMINATION DE LA CMI PAR MICRO DILUTION SUR MICROPLAQUE .....</b>	<b>32</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>40</b>

---

## Liste Des Tableaux

**Tableau 01:** Quelques plantes médicinales utilisées en Algérie et leurs propriétés..... 5

**Tableau 02:** Résultat de la méthode de diffusion en disque sur milieu solide .....25

**Tableau 03:** Résultats des CMI par la méthode de dilution en milieu gélosé solide Mueller-Hinton.....29

**Tableau 04:** Résultats des CMI par la méthode de micro dilution sur la micro plaque des trois extraits des quatre souches bactériennes.....33

---

## Liste Des Figures

<b>Figure 01:</b> Différentes classes des composés phénoliques .....	7
<b>Figure 02:</b> Propriétés biologique des polyphénols.....	8
<b>Figure 03:</b> Structure chimique d'artémisinine. ....	11
<b>Figure 04:</b> <i>Artemisia annua</i> L.....	12
<b>Figure 05:</b> Principaux composés phénoliques d' <i>A. annua</i> .....	13
<b>Figure 06:</b> Méthode d'extraction des polyphénols à partir des feuilles de la plante médicinale <i>Artemisia annua</i> L .....	18
<b>Figure 07:</b> Méthode de diffusion en disques sur milieu solide.....	20
<b>Figure 08:</b> Méthode de dilution en milieu solide.....	22
<b>Figure 09:</b> Méthode de microdilution en milieu liquide.....	23
<b>Figure 10:</b> Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) d' <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 induites par les trois extrais polyphénolique d' <i>A.annua</i> L.....	26
<b>Figure 11:</b> Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 induites par les trois extrais polyphénolique d' <i>A.annua</i> L.....	27
<b>Figure 12:</b> Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC292 12 induites par les trois extrais polyphénolique d' <i>A.annua</i> L.....	27
<b>Figure 13:</b> Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 induites par les trois extrais polyphénolique d' <i>A.annua</i> L.....	28
<b>Figure 14:</b> Valeurs des CMI obtenues pour l'extrait brut d' <i>A. annua</i> L vis-à-vis des quatre souches testées par la méthode de dilution en milieu solide.....	30
<b>Figure 15:</b> Valeurs des CMI obtenues pour l'extrait brut d' <i>A. annua</i> L vis-à-vis des quatre souches testées par la méthode de dilution en milieu solide.....	31
<b>Figure 16:</b> Valeurs des CMI obtenues pour l'extrait brut d' <i>A. annua</i> L vis-à-vis des quatre souches testées par la méthode de dilution en milieu solide.....	32

---

## Liste Des Figures

---

- Figure17:** Valeurs de CMI obtenues pour la souche bactérienne *Escherichia Coli ATCC25922* sur microplaque avec les trois extraits polyphénolique testés .....34
- Figure18:** Microplaque indique la résistance de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus ATCC 25923* vis à vis des trois extraits testés (Absence de CMI).....34
- Figure19:** Valeurs de CMI obtenues pour la souche bactérienne *Enterococcus faecalis ATCC29212* sur microplaque avec les trois extraits polyphénolique testés .....34
- Figure20:** Valeurs de CMI obtenues pour la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* sur microplaque avec les trois extraits polyphénolique testés.. .....34
-

## Liste Des Abréviations

<b><i>A.annua L</i></b>	: <i>Artemisia annua L.</i>
<b>BMH</b>	: Bouillon de Mueller-Hinton
<b>C</b>	: Concentration
<b>CMI</b>	: Concentration minimale inhibitrice.
<b>DO</b>	: Densité optique.
<b><i>E. faecalis</i></b>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
<b><i>E. coli</i></b>	: <i>Escherichia coli</i>
<b>GN</b>	: Gélose nutritif.
<b>MH</b>	: Gélose de Mueller- Hinton.
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b><i>S. aureus</i></b>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>T<sup>-</sup></b>	: Témoin négative
<b>T<sup>+</sup></b>	: Témoin positive
<b>UFC</b>	: Unité formant des colonies.

# **Introduction**

## ***Introduction***

---

La phytothérapie est une science des plantes médicinales, elle vient du mot grec « phuton » Plante et « Thérapie » traitement, signifie traitement par les plantes (**Carillon, 2000**). L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et revêt une importance sanitaire et économique croissante (**O.M.S, 2000**).

Depuis la nuit des temps, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (**Iserin, 2001**). A travers les siècles, les traditions humaines ont se développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**). Pour se soigner, l'homme a longtemps eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions).

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ces composés suscitent un grand intérêt de par leurs nombreux effets bénéfiques pour la sante : prévention et traitement de certains cancers, traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Certains d'entre eux sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia annua L.* est une herbe annuelle utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise pour traiter la fièvre et le paludisme (**Tzeng et al., 2007**). De plus, les extraits d'*A. annua* présentent une variété d'applications biomédicales et pharmaceutiques et leur présence est associée à des propriétés antimicrobiennes, antioxydants et des activités anti-inflammatoires (**Kim et al., 2015 ; Skowrya et al., 2014 ; Tajehmiri et al., 2014**).

Cependant, aujourd'hui, face à l'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques, les recherches se sont dirigées vers la découverte des nouvelles molécules végétales à activité antibactérienne pour résoudre ce grand problème de multi résistance et la fabrication du nouvel médicament.

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés à ce travail qui consiste à mettre en évidence l'éventuel effet antibactérien des polyphénols extraits de la plante médicinale *Artemisia annua L.*

**Partie**

**Bibliographique**

# **Chapitre 01**

## *Phytothérapie*

## 1. Définition

La phytothérapie est une science des plantes médicinales, elle vient du mot grec « phuton », Plante et « Thérapie » : traitement, signifie traitement par les plantes (**Carillon, 2000**), est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales. Elle connaît un engouement croissant. De plus, l'efficacité de certaines plantes médicinales est maintenant scientifiquement prouvée. On peut distinguer deux types de phytothérapie :

- **Une pratique traditionnelle** : parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. C'est une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement, mais totalement oublié dans les pays occidentaux.
- **Une pratique basée** : sur les avancées scientifiques et la recherche des principes actifs des plantes. Cette phytothérapie est assimilée aux médicaments, on parle alors de pharmacognosie (**Anonyme (1)**).

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Bien souvent dans certaines régions rurales (**Benmerab et al., 1982**).

## 2. Plantes médicinales

Depuis des millénaires, toutes les civilisations du monde ont eu recours aux plantes médicinales pour prévenir et guérir les maladies, en effet, elles constituent et restent le moyen le plus utilisé surtout en milieu rural pour résoudre les problèmes de santé humaine et animale, dont on estime à environ 400000 à 500000 le nombre d'espèces végétales sur terre et plus de 200000 espèces médicinales se trouvent dans les pays tropicaux d'Afrique (**Souad et al., 2008**). Encore de nos jours, elles entrent dans la composition de compléments alimentaires, de médicaments et de traitements les plus divers. (**Iserin, 2001**). La phytothérapie utilise les parties aériennes des plantes (feuille, fruit ou fleur) aussi bien que leurs parties souterraines (racine et rhizome), une même plante pouvant comporter une ou plusieurs parties actives (**Anonyme (2)**). En médecine traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches ou séchées et entrent dans des préparations diverses destinées à conserver les principes actifs des plantes tout en évitant leur décomposition. Tableau 01 résume quelques plantes médicinales utilisées en Algérie.

**Tableau 01** : Quelques plantes médicinales utilisées en Algérie et leurs propriétés (Zeghad Nadia, 2009 ;Bammou *et al.*,2015; Iserin,2001; W.H.O,2006 ; Ferreira *et al.*,2009)

Plantes Médicinales	Photos	Nom commun	Partie utilisé	Propriétés thérapeutiques
<b>Chamomile</b> ( <i>Chamaemelum nobile</i> (L.) All)		Babunj	Fleurs, feuilles, plante entière	Antidiabétique ; Anti- inflammatoire ; Hypotensive ; Antibactérienne et Anti-oxydante, Antiprolifératives
<b>Romarin</b> ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )		Aklilaljabal.	Sommités fleuries, Feuille	Antibactériennes, antimutagéniques antioxydants, anti- inflammatoires
<b>L'Inule visqueuse</b> ( <i>Dittrichia viscosa</i> (L) Grente)		Amagraman .	Fleurs, fruites, plante entière	antibactérienne, antifongique, antiviral, anti- inflammatoire, anti-insectes, antihypertenseur
<b>Thym</b> ( <i>Thymus vulgaris</i> )		Zaeter.	Parties aériennes : Les feuilles	Antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes- application locale
<b>Armoise annuelle</b> ( <i>Artemisia annua</i> L)		AL Kaysoum.	Pièces aériennes séchées, Feuilles séchées.	antivirales, anticancéreuse, antioxydants, antipaludiques.

### 3. Métabolites secondaires

Les composés organiques des plantes sont divisés en deux catégories : la première, représente les composés qui existent dans toutes les cellules et jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction des cellules incluant les acides nucléiques, les acides aminés, les oses, et les lipides et connues sous le nom de métabolites primaires.

La deuxième catégorie, sont les métabolites secondaires, qui n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante. Les métabolites secondaires telles que les alcaloïdes, les terpènes et stéroïde, substances phénoliques, constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés anti oxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes (Marref, 2018).

### 4. Composés phénoliques

#### 4.1. Définition

Classiquement considères comme des métabolites secondaires, les composés phénoliques sont présents chez tous les végétaux supérieurs (Macheix, 1996). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, et plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Bien que les polyphénols soient caractérisés chimiquement comme des composés ayant des caractéristiques structurales phénoliques (Rong, 2010), l'expression "composés phénoliques" englobe une gamme considérable de substances qui possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs substituants hydroxyles (Urquiaga *et al.*, 2000).

Les fruits, les légumes, les grains entiers et d'autres types d'aliments et de boissons comme le thé, le chocolat et le vin sont de riches sources de polyphénols. La diversité et la grande distribution des polyphénols dans les plantes ont conduit à différentes façons de catégoriser ces composés naturels (Rong, 2010).

## 4.2. Classification

Les polyphénols ont été classés selon leur source d'origine, leur fonction biologique et leur structure chimique. De plus, la majorité des polyphénols dans les plantes existent sous forme de glycosides avec différentes unités de sucre et de sucres acylés à différentes positions des squelettes de polyphénols (Rong, 2010). La figure 01 représente les différentes classes des composés phénoliques.

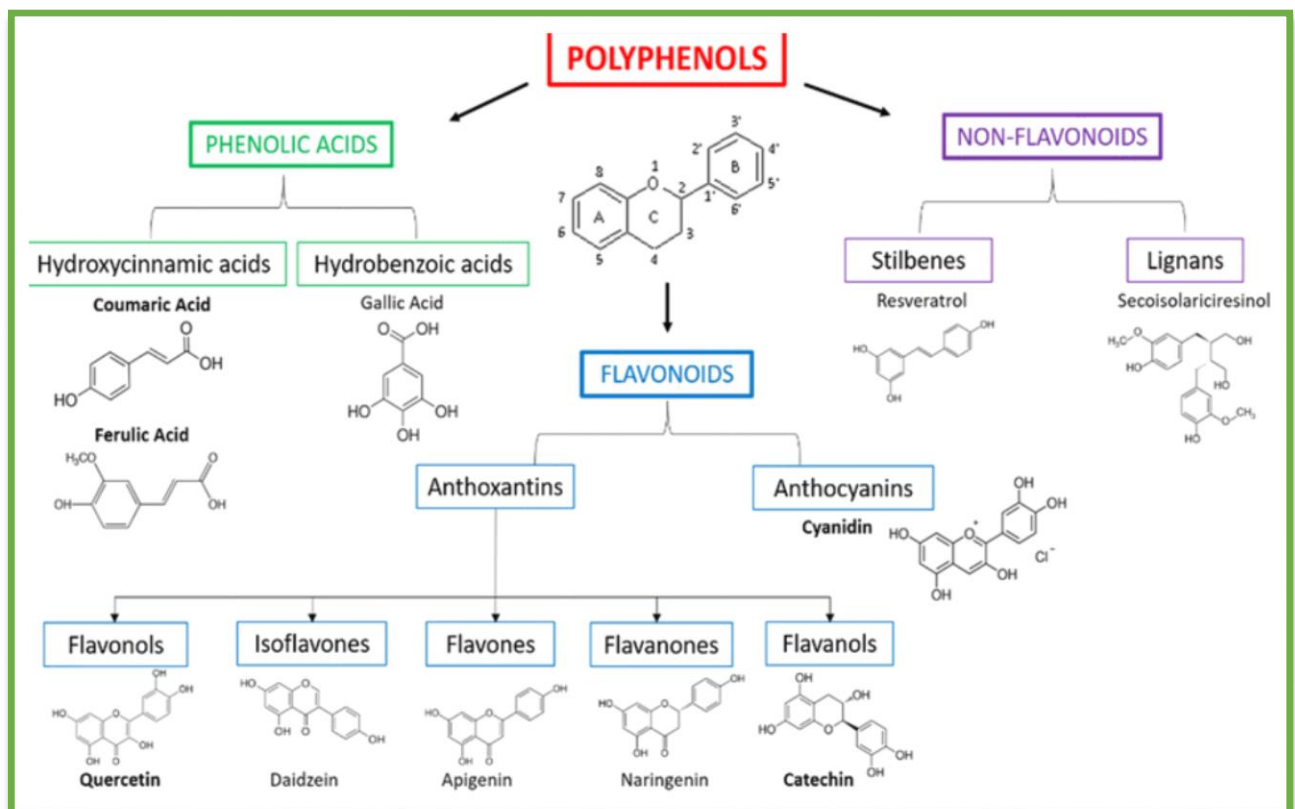


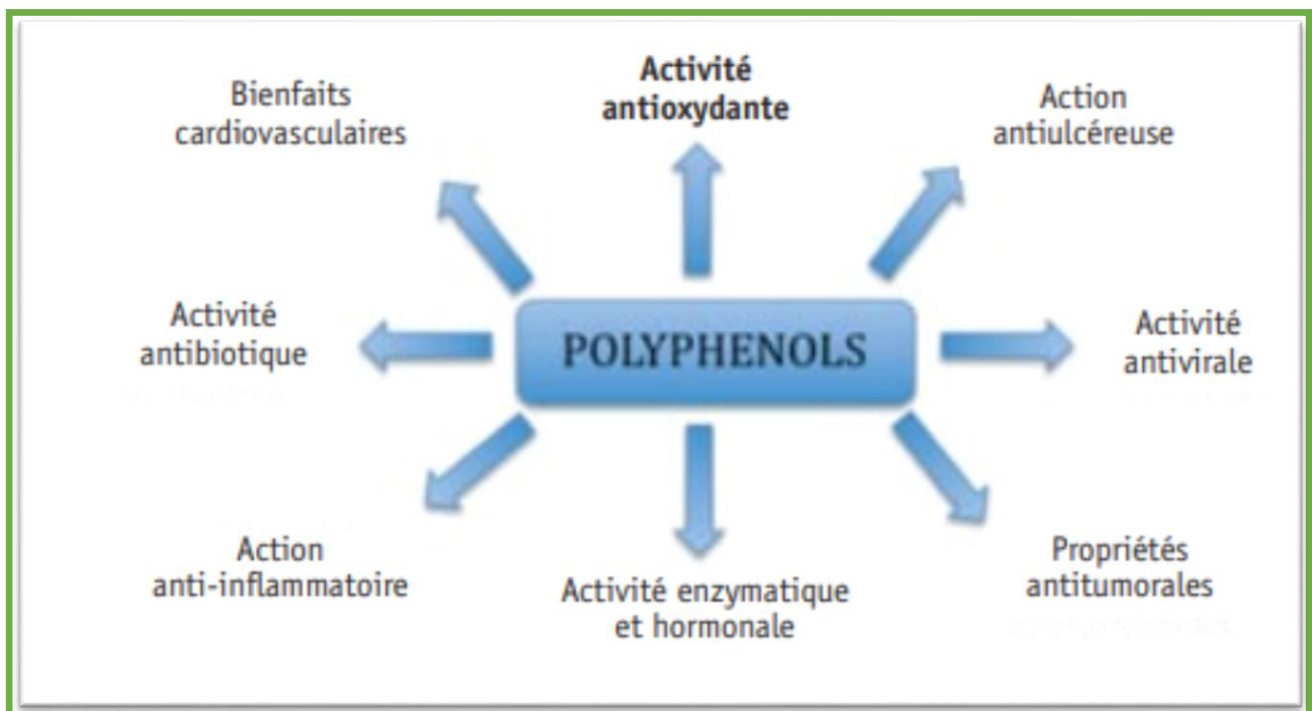
Figure 01 : Différentes classes des composés phénoliques (Beconcini *et al.*, 2019).

## 4.3. Propriétés biologiques

Les polyphénols suscitent un grand intérêt par leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé en effet :

- Des études cliniques ont montré qu'un apport alimentaire riche en (poly) phénols peut réduire le risque de telles maladies chroniques.
- Ils ont montré des activités biologiques *in vivo* et *in vitro* telles que la prévention contre les maladies cardiovasculaires.

- Les polyphénols réduisent la progression de l'athérosclérose en améliorant le profil lipidique en augmentant le HDL, en réduisant le LDL et le cholestérol total.
- Ils ont un effet sur la pression sanguine, la rigidité artérielle, le cholestérol sanguin et l'agrégation plaquettaire.
- Des recherches fondamentales ont suggéré que les principaux mécanismes d'action des polyphénols végétaux agissent sur les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), la protéine kinase 5'-AMP activée (AMPK) et le facteur de transcription NF- $\kappa$ B.
- Les polyphénols sont considérés comme des molécules « signal » qui pourraient stimuler les défenses antioxydantes via l'inhibition des activités enzymatiques pro-oxydantes (Hichr, 2019). La figure02 résume quelques propriétés biologiques des polyphénols.



**Figure02** : Propriétés biologique des polyphénols (Uthurry *et al.*, 2011).

#### **4.4 Activité anti bactérienne**

Les polyphénols sont doués d'activité antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne, cependant, ils sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique, en plus, ils possèdent une capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**Laraba et al., 2016**).

# **Chapitre 02**

*Artemisia annua L*





**Figure04 :** *Artemisia annua L* (Assogba ,2020).

## 2. Classification (Assogba, 2020).

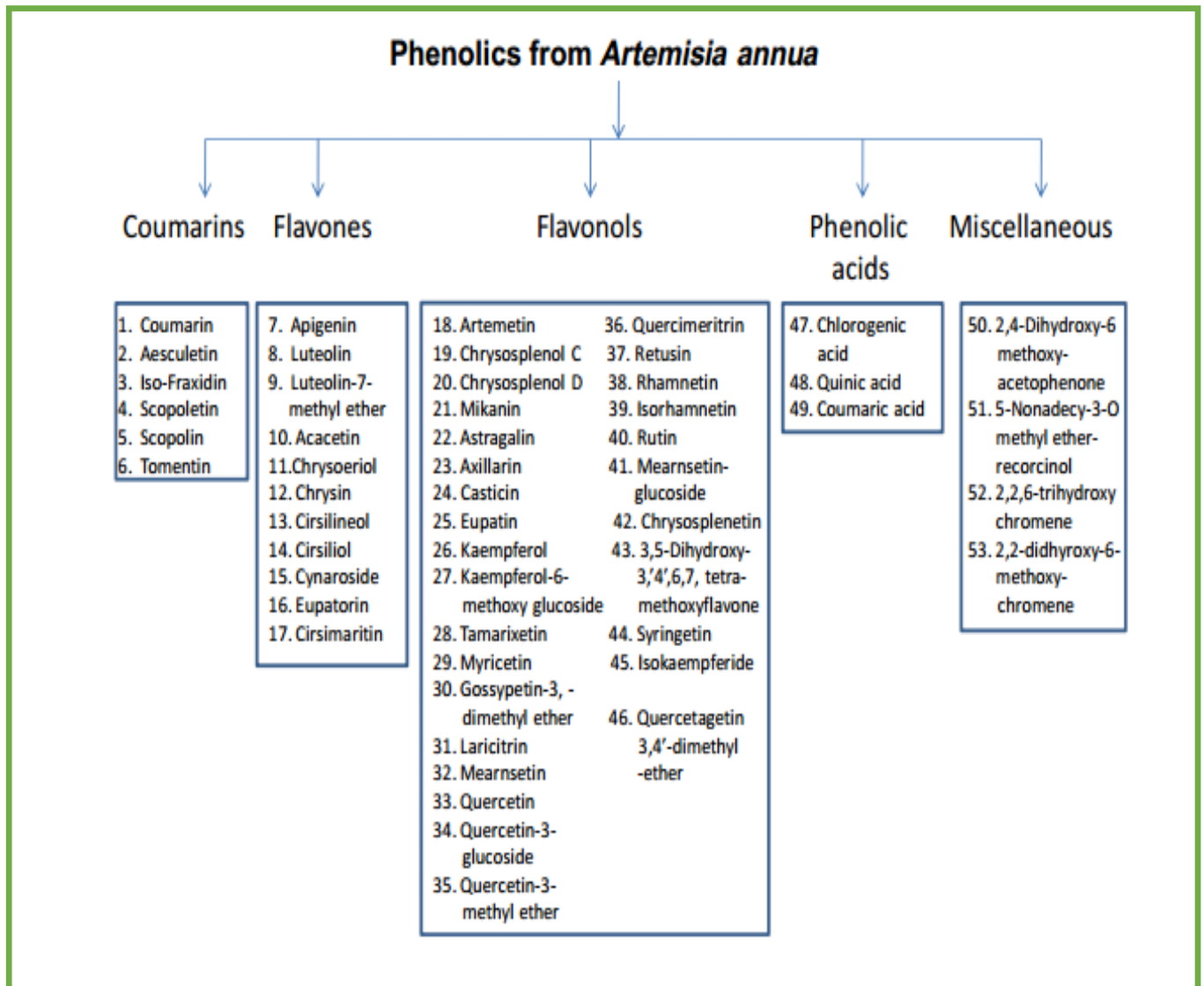
<b>Règne :</b>	Plantae.
<b>Embranchement :</b>	Spermatophyta.
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiosperme.
<b>Classe :</b>	Dicotylédones.
<b>Sous classe :</b>	Astériidae.
<b>Ordre :</b>	Asterales.
<b>Famille :</b>	Asteraceae.
<b>Genre :</b>	Artemisia.
<b>Espèces :</b>	<i>Artemisia annua L.</i>

## 3. Composition chimique

La composition chimique d'*Artemisia annua* se compose de constituants volatils et non volatils. Les composants volatils sont principalement attribuables aux huiles essentielles dont la teneur est de 0,2 à 0,25 %. Les principaux composés, qui représentent environ 70 % des huiles essentielles, semblent être le camphène, le  $\beta$ -camphène, l'isoartémisinie cétone, le 1-camphre, le  $\beta$ -caryophyllène et la  $\beta$ -pinène. En outre, d'autres ingrédients mineurs, tels que l'artémisinie cétone, le 1,8-cinéole, l'hydrate de camphène et le cuminal sont également présents dans les parties volatiles d'*A. annua*.

Les principaux ingrédients non volatils comprennent les terpénoïdes, les flavonoïdes et les coumarines, ainsi que des protéines (comme la  $\beta$ -galactosidase, la  $\beta$ -glucosidase), des stéroïdes (p. ex.,  $\beta$ -sitosterol et stigmasterol).

Les principaux constituants chimiques de l'*A. annua* sont les terpénoïdes, y compris l'artémisinine, l'artémisinine I, l'artémisinine II, l'artémisinine III, l'artémisinine IV, l'artémisinine V, l'acide artéménique, l'artémisinictone, l'artémisinine et l'acide époxyarténinique (W.H.O, 2006). La figure 05 illustre les principaux composés phénoliques d'*A. annua* L.



**Figure 05 :** Principaux composés phénoliques d'*A. annua* L (ferreira *et al.*, 2010).

#### 4. Propriétés biologiques

L'espèce *A. annua L* est très utilisée en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées de multiples propriétés thérapeutiques parmi lesquelles :

- Le traitement des différentes formes de paludisme.
- Cette plante possède également des propriétés antivirales.
- Un effet stimulant immunitaire sur plusieurs infections.
- D'autres études *in vitro* ont mis en évidence une action anticancéreuse de l'artémisinine combinée à du fer sur les cancers du sein et des poumons.
- Son usage traditionnel en Chine ou à Madagascar sert à lutter contre certaines pathologies de peau et contre les parasites intestinaux.
- Des essais cliniques ont démontrés des capacités à traiter la distomatose et la bilharziose.
- Utilisée pour soigner les hémorroïdes, et faire baisser la fièvre.
- Les feuilles d'*Artemisia* utilisées en cataplasme, soulageraient les maux de tête et feraient chuter la fièvre (**Anonyme(3)**).
- Y compris les flavonoïdes C-glycosyl nouvellement déclarés comme un composant possible de l'activité antioxydants et antiviral (**ferrira et al., 2009**).

# **Partie**

# **Expérimentale**

# **Chapitre 03**

*Matériels et Méthodes*

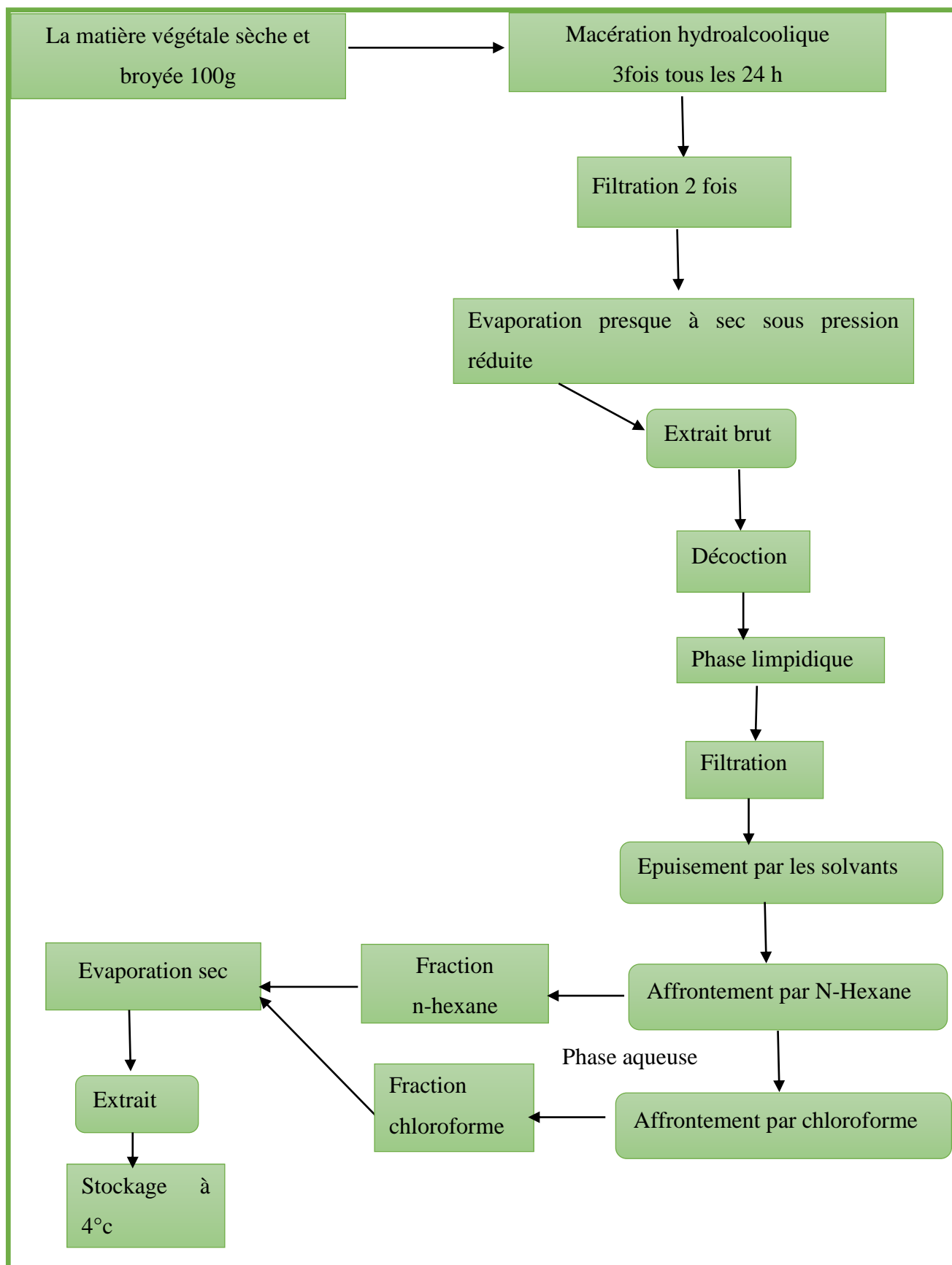
Notre travail a été effectué au niveau des laboratoires de microbiologie et biochimie, département de technologie de l'université 20 aout 1955 Skikda, dont l'objectif est de déterminer l'activité antibactérienne de quelques extraits des polyphénols de la plante médicinale *Artemisia annua L.*, pour cela, nous avons évalué in vitro l'influence de nos extraits sur la croissance de quatre espèces bactériennes par deux méthodes :

- La méthode de diffusion en disque ; par la détermination des diamètres des zones d'inhibition de la croissance (qualitative).
- La méthode de dilution ; par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (quantitative) dont on a appliqué deux techniques : celle de dilution en milieu solide et celle de micro dilution en milieu liquide.

## **1. Matériel**

### **1.1. Matériel végétal et extraits poly phénoliques**

Notre travail a porté sur trois extraits poly phénoliques obtenus à partir des feuilles de la plante médicinale *Artemisia annua L.* L'extraction a été faite dans le cadre d'une thèse de doctorat et les trois extraits ; brute, n-hexane et chloroforme que nous ont été fournis pris à l'utilisation pour tester directement in vitro leurs pouvoir antibactérien. Ils ont été conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation. La figure 06 représente un petit aperçu sur le protocole d'extraction suivi par la doctorante **Menasri, H , (2022)**.



**Figure 06 :** Méthode d'extraction des polyphénols à partir des feuilles de la plante médicinale *Artemisia annua L.*

## 1.2. Souches bactériennes à tester

L'activité antibactérienne des quatre extraits poly phénoliques d'*Artemisia annua L* a été réalisée sur quatre espèces bactériennes : *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 à Gram négatif et *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC292 12 à Gram positif. Ces souches de référence nous ont été fournies pures et identifiées par le laboratoire de Microbiologie et Biochimie Appliquées, département de Biochimie, Université Badji Mokhtar Annaba. Elles ont été conservées à 5 C° dans des tubes stériles contenant 10 ml de gélose nutritive incliné.

## 1.3. Matériel du laboratoire

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cités au fur et à mesure de leur utilisation.

## 2. Méthodes

### 2.1. Méthode de diffusion en milieu solide

Elle consiste à ensemencer en surface d'un milieu solide la souche à tester, puis à déposer des disques de papier wattman comprenant un extrait végétal à une certaine concentration ce qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance de cet extrait.

#### 2.1.1 Préparation de l'inoculum

##### ▪ Préparation de pré culture

Afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées, ensemencer chaque espèce bactérienne sur la gélose nutritive préparée précédemment, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24h.

##### ▪ Préparation de la suspension bactérienne

Nous avons prélevé 3 à 5 colonies bien isolées à l'aide d'un écouvillon et sont mises en suspension dans 5ml de l'eau physiologique stérile préparée précédemment, puis ajuster au standard à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm, La Do obtenu doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ce qui correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  UFC/ml selon Mc Ferland (CA-SFM, 2013).

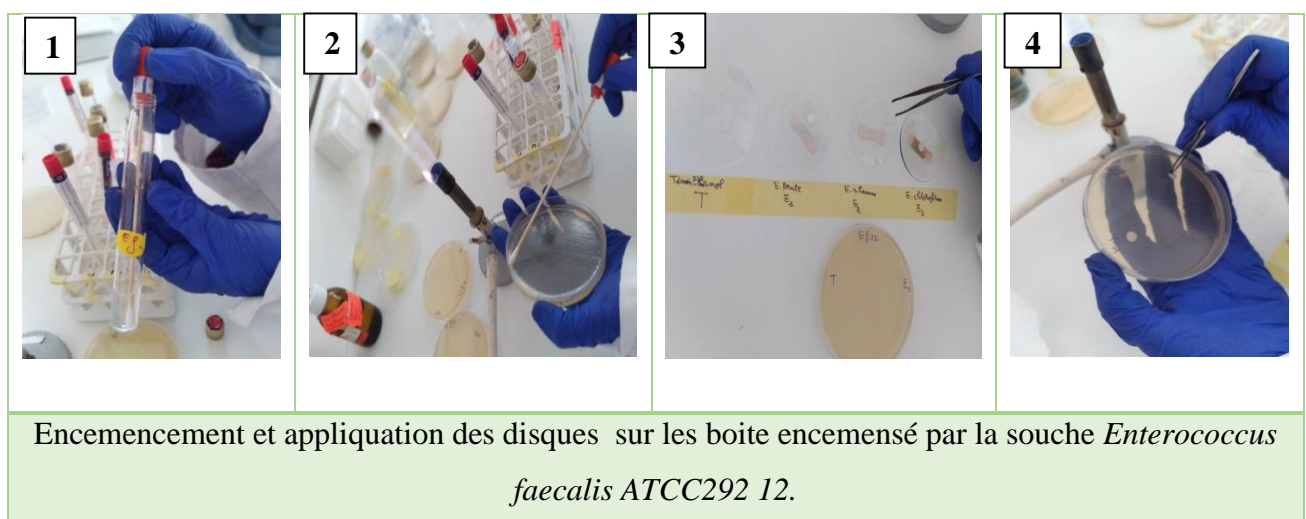
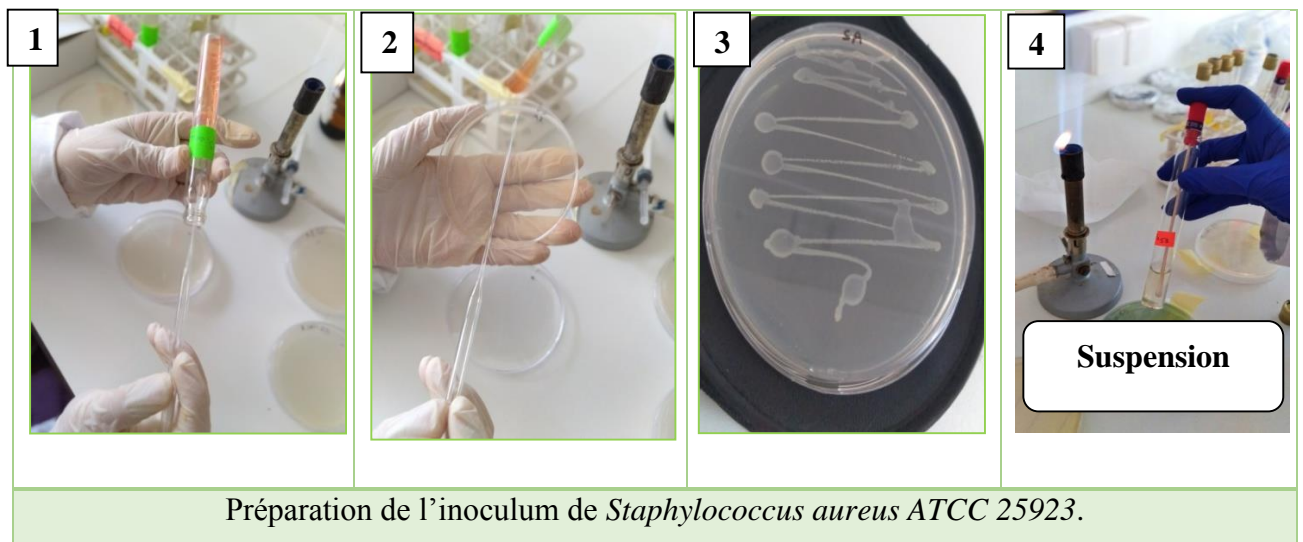
#### 2.1.2. Ensemencement

Un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, réaliser l'ensemencement sur les biotes de pétri préalablement coulée avec la gélose de Mueller-Hinton, réaliser des stries parallèles et serrées, répéter l'opération deux fois entourant la boîte 60° après chaque application.

- Des disques stériles de papier wattman 6mm de diamètre imprégné de 10 µl de chaque extrait à tester dissout dans l'éthanol à 60% sont placés à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose. Des disques témoins imbibés dans l'éthanol dilué à 60% ont été réalisés.
- Les boîtes de Pétri ont été laissées sur la paillasse au moins 15 min pour un pré diffusion des extraits avant d'être incubées à 37°C pendant 18 h (Djenane *et al.*, 2012).

### 2.1.3. Lecture

Pour chaque disque. On mesure à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition autour de disque où aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu (en mm) (Gulluce *et al.*, 2007). La figure 07 représente la méthode de diffusion en disques sur milieu solide.



**Figure07** : Méthode de diffusion en disques sur milieu solide (Original).

## **2.2. Méthode de dilution en milieu solide**

La méthode de dilution est utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des agents antimicrobiens (EUCAST, 2003). Elle consiste à incorporer l'extrait à une concentration finale donnée dans du milieu de culture gélosé (Mueller- Hinton) de façon à établir une gamme de concentration de l'extrait permettant de déterminer la plus petite concentration qui inhibe la croissance bactérienne (CMI).

### **2.2.1. Préparation de la gamme de concentration des extraits**

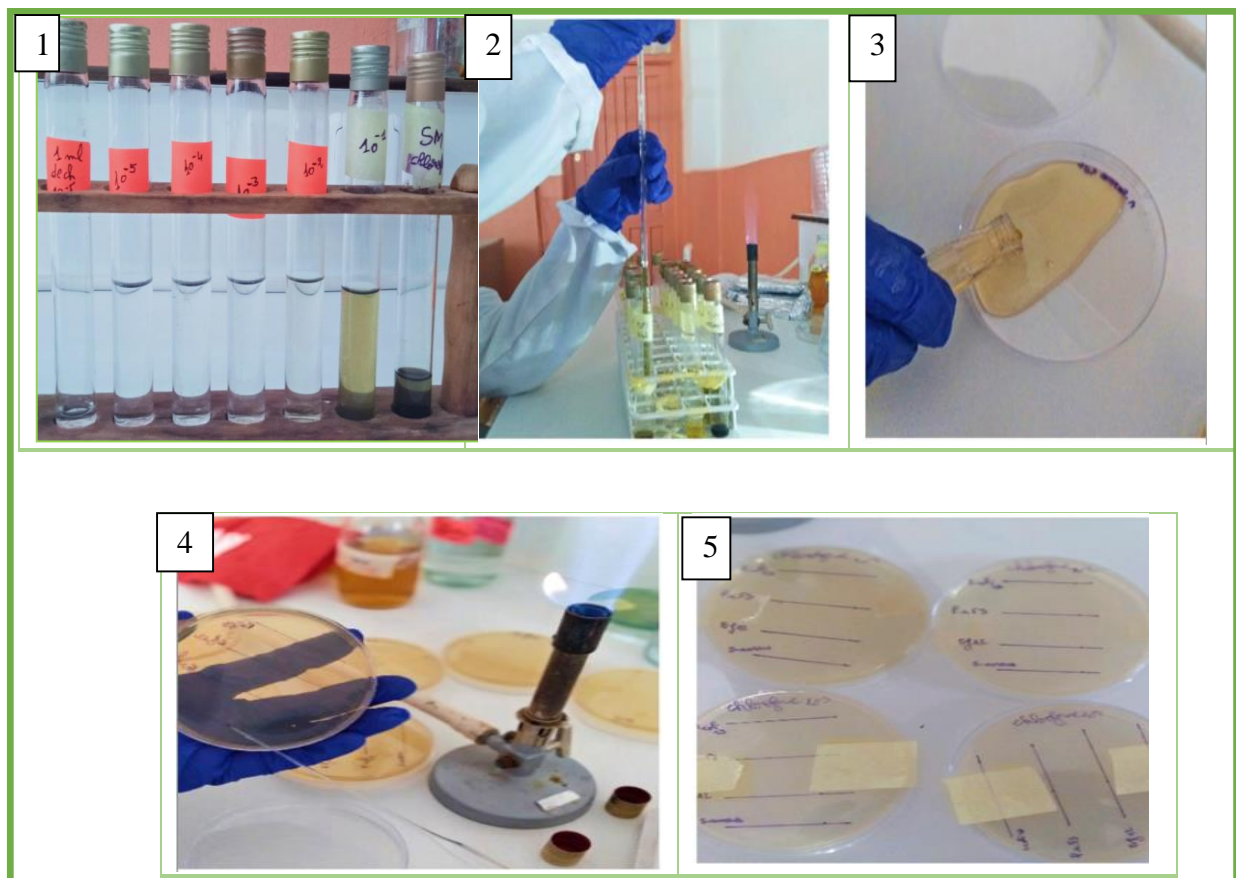
Une gamme de concentration a été réalisée à partir de la solution mère de chaque extrait dissout dans l'éthanol à 60% ; l'extrait brute (13.8mg/ml), le n-hexane (6.4mg/ml) et le chloroforme (5.8mg/ml) suite à des dilutions successives à raison de 1/10.

### **2.2.2. Préparation des boîtes et ensemencements**

- Dans un tube stérile a été mis 16 ml de milieu de MH en surfusion, incorporée 2 ml de chaque dilution, Homogénéiser et couler en boîte de Pétri.
- Après solidification du milieu, l'ensemencement a été faite par stries à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Un tube témoin a été réalisé contient 16 ml de MH et 2ml de l'éthanol dilué à 60%.
- Incuber pendant 24 heures à 37°C.

### 2.2.3. Lecture

Il s'agit de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter une croissance visible ou une absence de croissance visible. La CMI (concentration minimale inhibitrice) correspond à la plus petite concentration en extrait inhibant la croissance macroscopique visible d'une souche donnée dans le standard de mesure (Perrin, 2018). La figure 08 illustre les différentes étapes de la méthode de dilution en milieu solide.



**Figure08** : Méthode de dilution en milieu solide (Original).

### 2.3. Méthode de microdilution en milieu liquide

La détermination de la CMI est réalisée par la technique de microdilution en milieu liquide, en utilisant une microplaque stérile de 96 puits ( $8 \times 12$  puits). Une gamme de concentration allant de 1 à  $10^{-10}$  mg/ml d'éthanol à 60%.

- Déposer  $5\mu\text{l}$  de l'extrait et  $95\mu\text{l}$  du Bouillon Mueller Hinton (BMH) stérile dans le puits 1. Ensuite déposer  $50\mu\text{l}$  de (BMH) stérile dans le puits 2 à 10.
- Une série de dilution au facteur  $\frac{1}{2}$  a été réalisée dans le BMH à partir de la solution mère du puits 1, par le transfert de  $50\mu\text{l}$  de puits en puits jusqu'au puits 10 (le  $50\mu\text{l}$  du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu du puits.
- Enfin, déposer  $50\mu\text{l}$  de l'inoculum préalablement dilué au  $1/100$  dans chaque puits.
- La 11<sup>ème</sup> colonne qui contient  $96\mu\text{l}$  de l'inoculum et  $4\mu\text{l}$  l'éthanol sert de témoin positif.
- La 12<sup>ème</sup> colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu Mueller Hinton ( $100\mu\text{l}$ ) sert de témoin négatif.
- Chaque deux différents échantillons de bactéries ont été espacés par deux lignes de puits vides.
- La micro plaque est incubée à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24h. La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'extrait à laquelle aucune trouble n'est observé (Eloff, 1998). La figure 09 montrée la méthode de microdilution en milieu liquide.

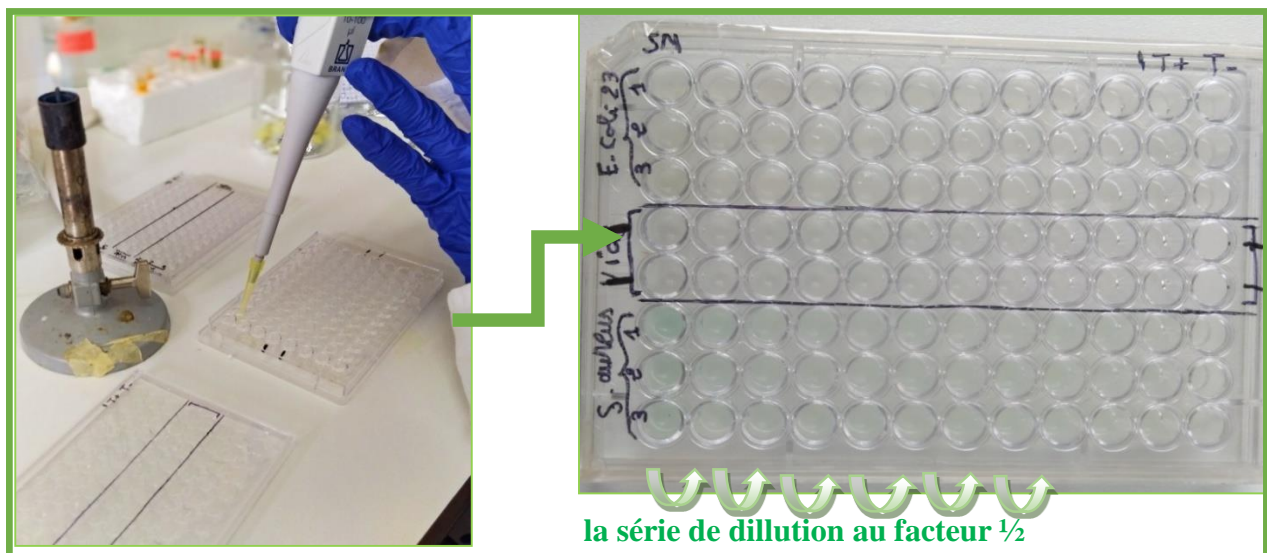


Figure09: Méthode de microdilution en milieu liquide (Original).

# **Chapitre 04**

## ***Résultats et discussion***

L'activité antimicrobienne des polyphénols extraits de la plante médicinale *Artemisia annua* L a été effectuée sur 4 souches bactériennes de références ; deux à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853) et deux souche à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Enterococcus faecalis* ATCC292 12) par trois méthode : la méthode de diffusion en disque et celle de dilution sur un milieu gélosé solide Mueller-Hinton et la microdilution dans un bouillon Mueller-Hinton .

### 1. Méthode de diffusion en disque

La technique de diffusion en disques, qui est basée sur la mesure des diamètres d'inhibitions autour d'un disque qui contient 10µl de chaque extrait nous a permis d'évaluer qualitativement le pouvoir antibactérien des polyphénols vis-à-vis de quatre souches bactériennes. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau (02).

**Tableau 02 :** Résultat de la méthode de diffusion en disque sur milieu solide.

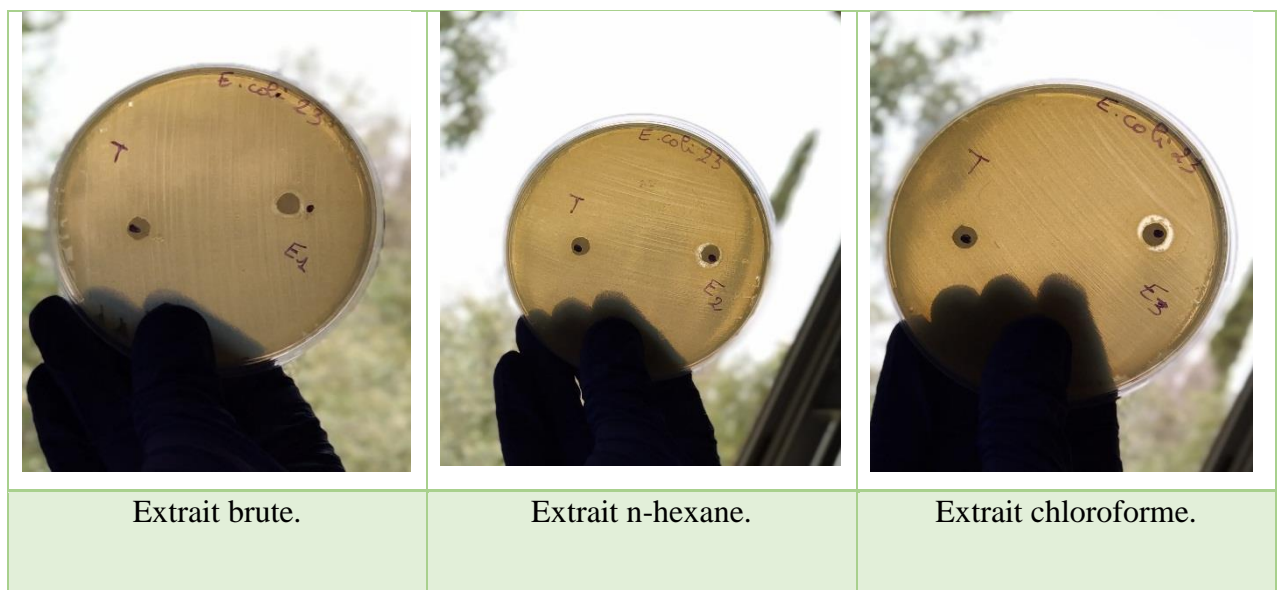
Souches Bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	Extrait brute	Extrait n-hexane	Extrait chloroforme	Ethanol (témoin)
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	8	11	12	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	—	6.5	—	—
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC292 12	9	9	15	—
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	—	7	8	—

— : Absence d'une zone d'inhibition.

Les résultats obtenus ont montrés que les trois extraits d'*Artemisia annua L* possèdent une activité antibactérienne contre les souches bactériennes testées, cependant, le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre, en effet, pour l'extrait brut les zones d'inhibition enregistrés sont de 8 et 9 mm de diamètre, l'extrait n- hexane placé en 2<sup>ème</sup> position avec des zones allant de 6.5 à 11 mm de diamètre, les meilleurs diamètres d'inhibition ont été enregistrés pour l'extrait chloroforme entre 8 et 15 mm.

L'éthanol à 60% n'a produit aucun effet vis-à-vis de toutes les souches testées.

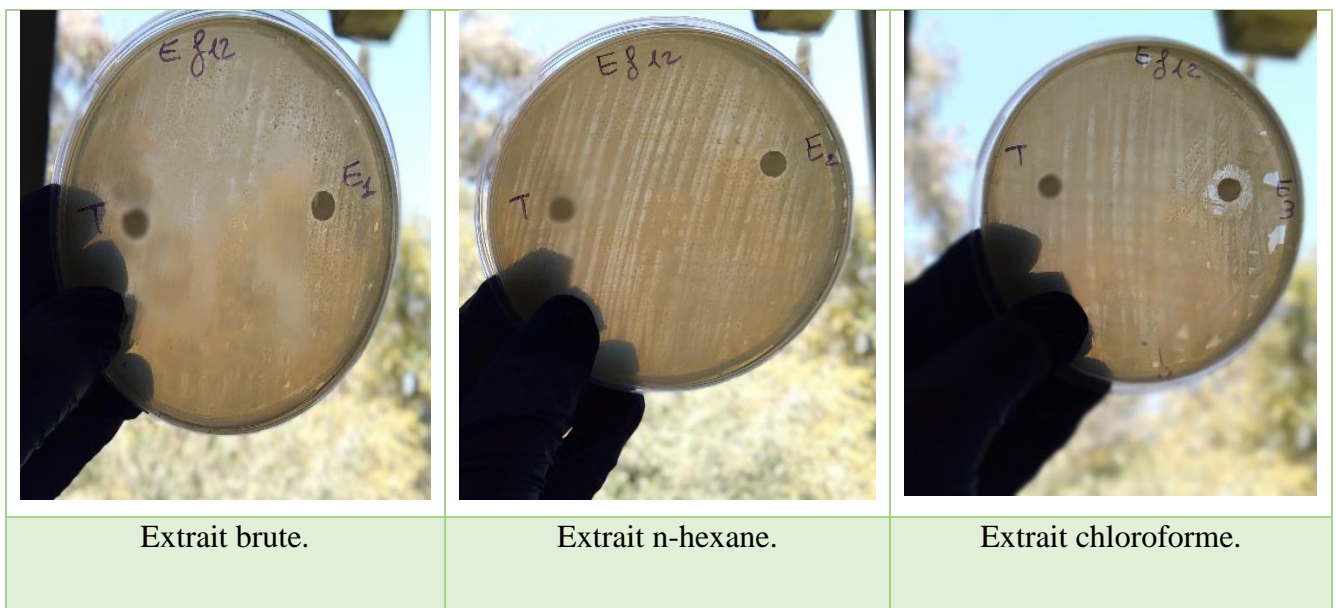
La méthode des disques est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à tester. Dans le cas des solutions avec une basse activité, une grande concentration ou volume est nécessaire ; néanmoins la capacité des disques est limitée. C'est pourquoi certains extraits exhibent des zones d'inhibition incomplètes qui peuvent être attribuées à une résistance par déficience de dose d'extrait (**Gülçin et al., 2004**). Les figures (10, 11,12 et 13) représentent les zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes induites par les trois extraits polyphénolique d'*A.annua L*.



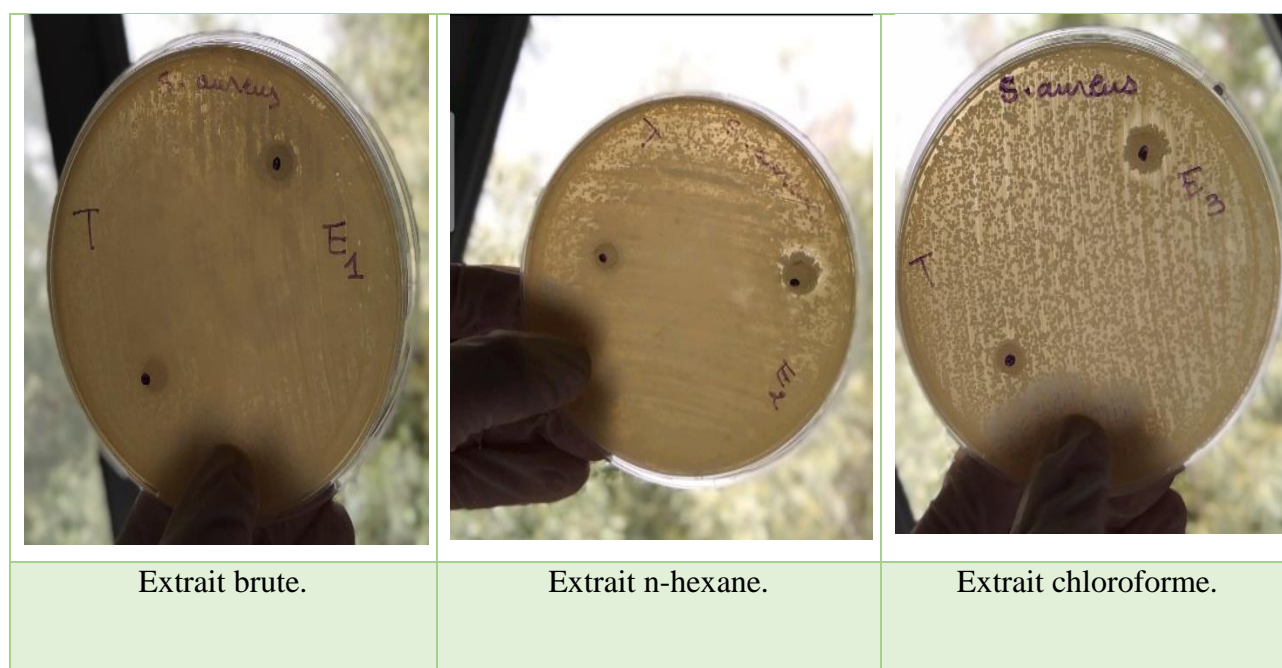
**Figure10** : Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) d'*Escherichia coli* ATCC25922 induites par les trois extraits polyphénolique d'*A. annua L* (**Original**).



**Figure11** : Photos représentatives des zones d’inhibition (mm) de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 induites par les trois extrais polyphénolique d’*A.annua L* (Original).



**Figure12** : Photos représentatives des zones d’inhibition (mm) de *Enterococcus faecalis* ATCC29212 induites par les trois extrais polyphénolique d’*A.annua L* (Original).



**Figure13** : Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 induites par les trois extrais polyphénolique d'*A.annua L* (**Original**).

## 2. Concentration minimal inhibitrice (CMI)

### 2.1. Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits d'*A. annua L* vis-à-vis des souches étudiées sont présentés dans le tableau (03) et les figure (14 ,15 et 16).

Tableau 03 : Résultats des CMI par la méthode de dilution en milieu gélosé solide Mueller-Hinton.

Souche / Extrait (mg/ml)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 292 12.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.
<b>EXTRAIT BRUTE</b>				
Solution mère (13,8mg/ml)	○ -	○ -	○ -	○ -
Dilution 10 <sup>-1</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-2</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-3</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-4</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-5</sup>	+	+	+	+
<b>EXTRAIT N-HEXANE</b>				
Solution mère (6,4mg/ml)	○ -	○ -	+	○ -
Dilution 10 <sup>-1</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-2</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-3</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-4</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-5</sup>	+	+	+	+
<b>EXTRAIT CHLOROFORME</b>				
Solution mère (5,8mg/ml)	○ -	+	+	○ -
Dilution 10 <sup>-1</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-2</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-3</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-4</sup>	+	+	+	+
Dilution 10 <sup>-5</sup>	+	+	+	+
Éthanol	+	+	+	+

○ - : CMI.

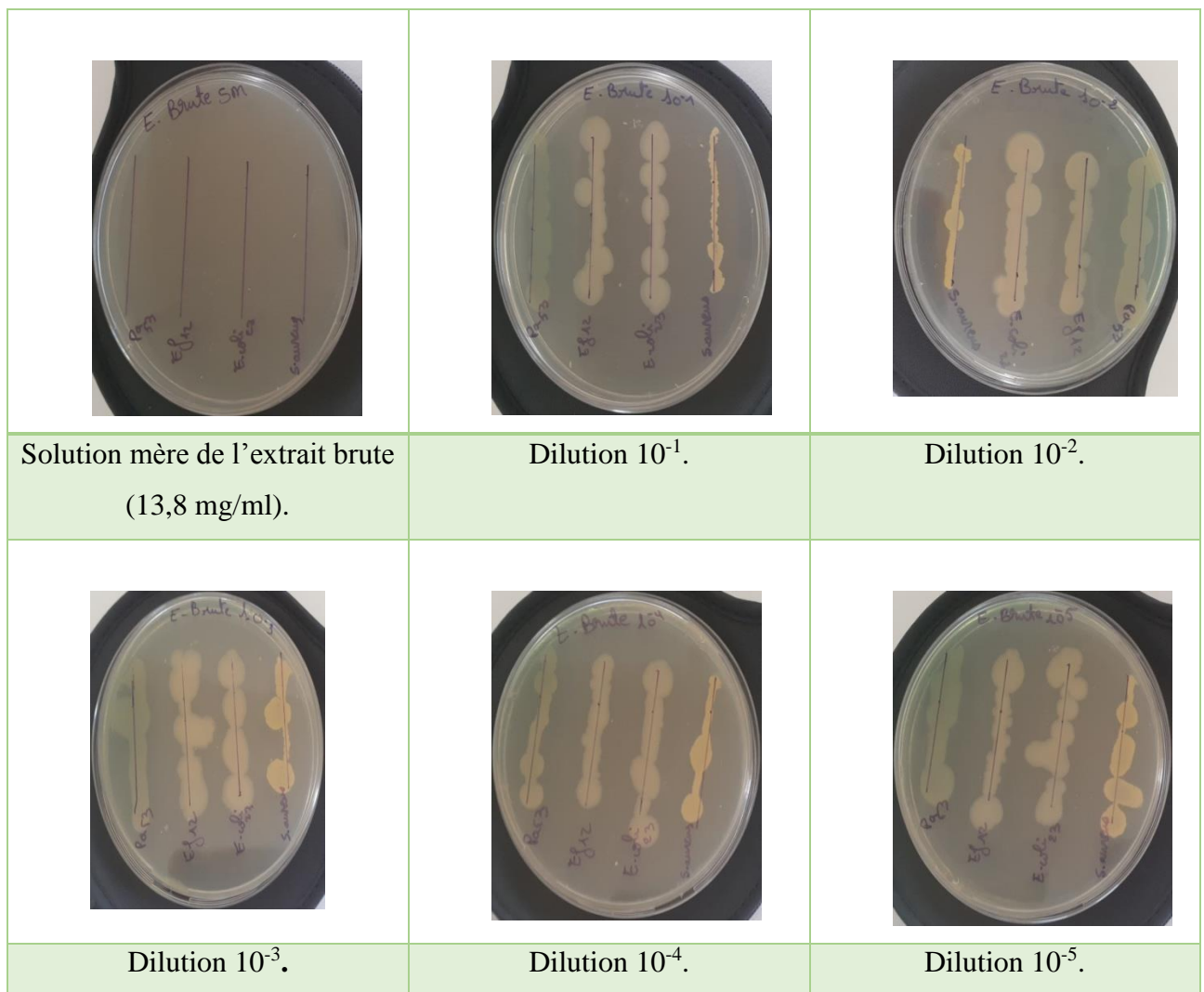
- : Sensible

+ : Résistante.

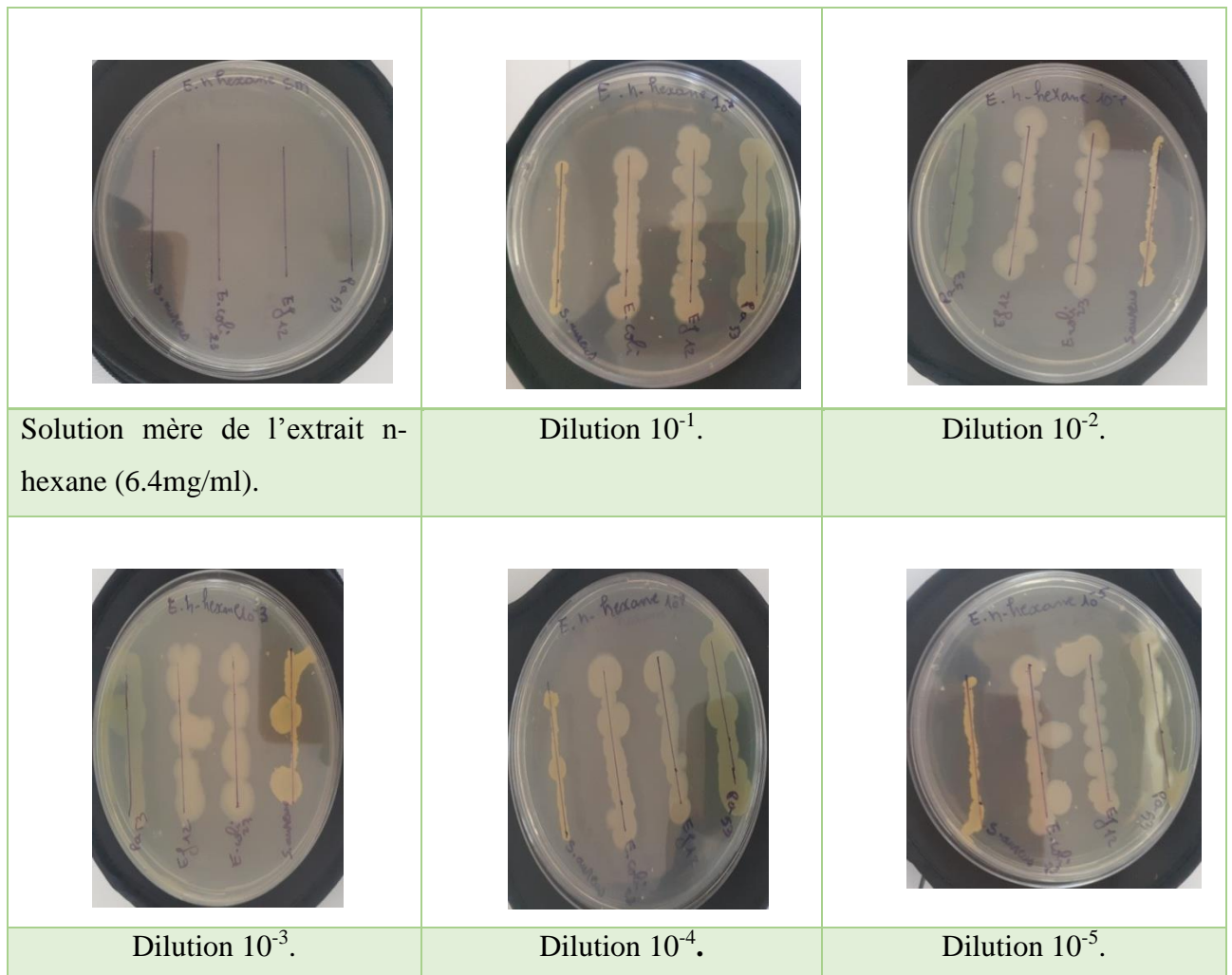
Pour les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  toutes les souches ont poussé, alors que pour la solution mère des 3 extraits les souches, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sont inhibées, ce qui indique que la CMI de ces dernières souches est la concentration de la solution mère de l'extrait brute, l'n-hexane et chloroforme ; 13.8mg/ml, 6.4mg/ml, 5.8mg/ml respectivement.

La souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a poussé où la solution mère de l'extrait n-hexane, chloroforme et peut résister jusqu'à une concentration de solution mère de l'extrait brute 13.8mg/ml là où il y a une inhibition totale de celle-ci.

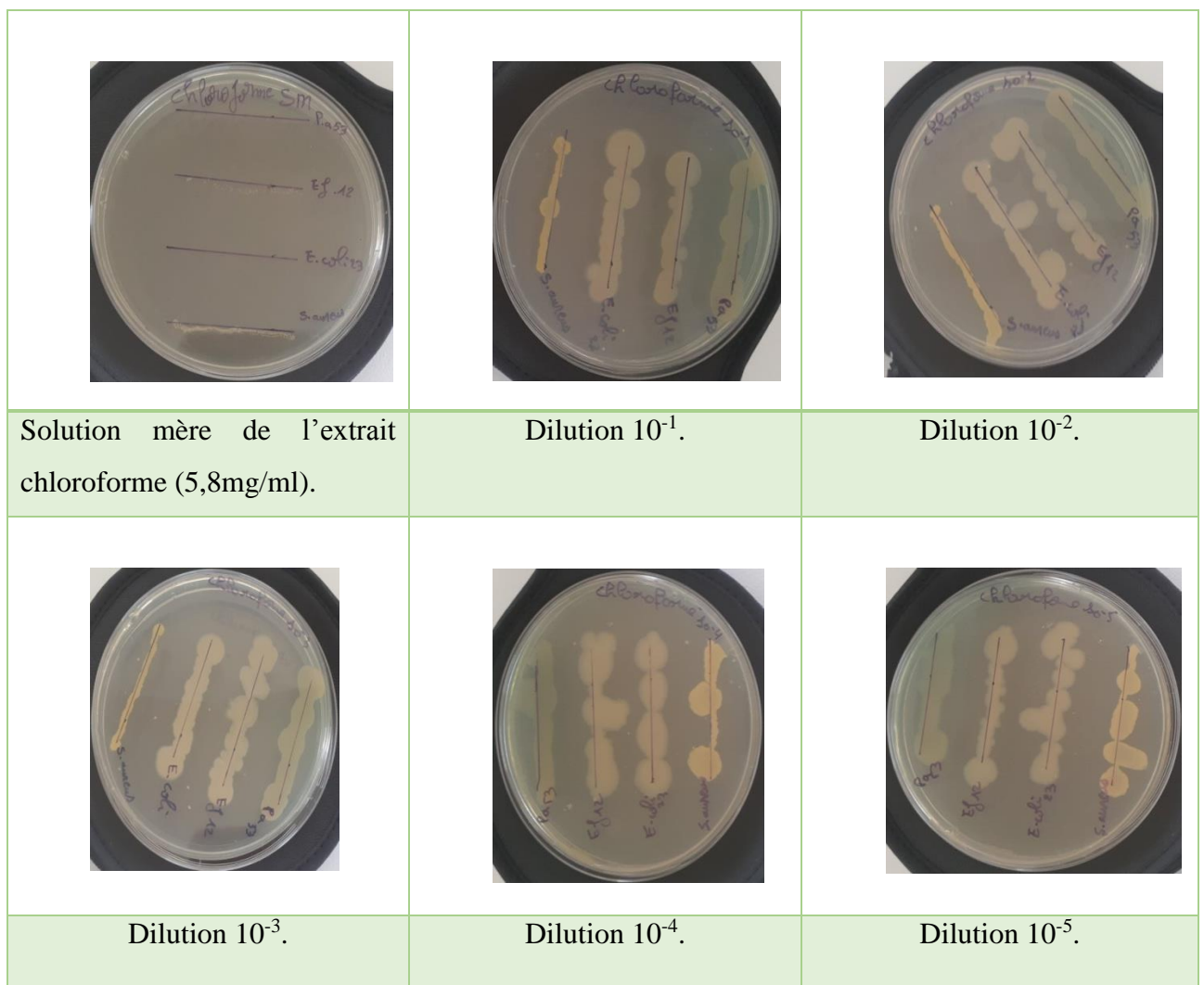
La souche *Enterococcus faecalis* ATCC 292 12 a poussé où la solution mère de l'extrait chloroforme et résister jusqu'à une concentration de solution mère de l'extrait brute et de l'extrait n-hexane où il y a une inhibition de sa croissance.



**Figure 14 :** Valeurs des CMI obtenues pour l'extrait brut d'*A. annua* L vis-à-vis des quatre souches testées par la méthode de dilution en milieu solide (**Original**).



**Figure 15 :** Valeurs des CMI obtenues pour l'extrait n-hexane d'*A. annua* L vis-à-vis des quatre souches testées par la méthode de dilution en milieu solide (**Original**).



**Figure 16 :** Valeurs des CMI obtenues pour l'extrait chloroforme d'*A. annua L* vis-à-vis des quatre souches testées par la méthode de dilution en milieu solide (**Original**).

### 2.2.Détermination de la CMI par micro dilution sur microplaque

L'activité antibactérienne des trois extraits a été réalisée par la technique quantitative de microdilution en milieu liquide sur microplaque stérile (96 puits). Après d'incubation de 24 heures des microplaques on note soit un aspect clair dans certains puits qui correspond à l'absence d'une croissance bactérienne soit une trouble (dépôt) qui indique la présence d'une croissance, ce qui permet de déterminer la plus petite concentration d'extrait qui inhibent la croissance bactérienne (CMI). L'ensemble de concentrations minimales inhibitrices obtenues sont regroupée dans le tableau (04) et les figures (17 ,18 ,19 et 20).

**Tableau 04 :** Résultats des CMI par la méthode de micro dilution sur la micro plaque des trois extraits des quatre souches bactériennes.

Souche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Extrait C=1mg/ml
	SM	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	T <sup>+</sup>	T <sup>-</sup>	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait brute
	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait n-hexane
	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait Chloroforme
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait brute
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait n-hexane
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait Chloroforme
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait brute
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait n-hexane
	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait Chloroforme
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait brute
	-	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait n-hexane
	-	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">-</span>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait Chloroforme

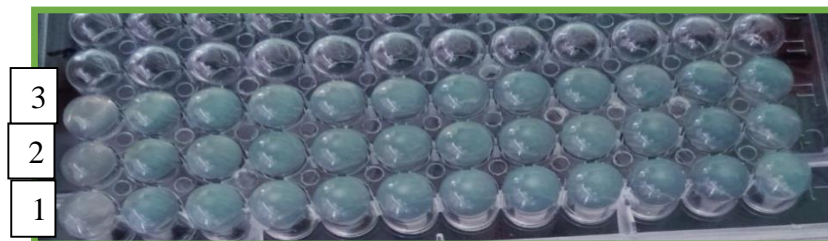
- : CMI.

+

T<sup>+</sup> : Témoin positive. T<sup>-</sup> : Témoin négative.



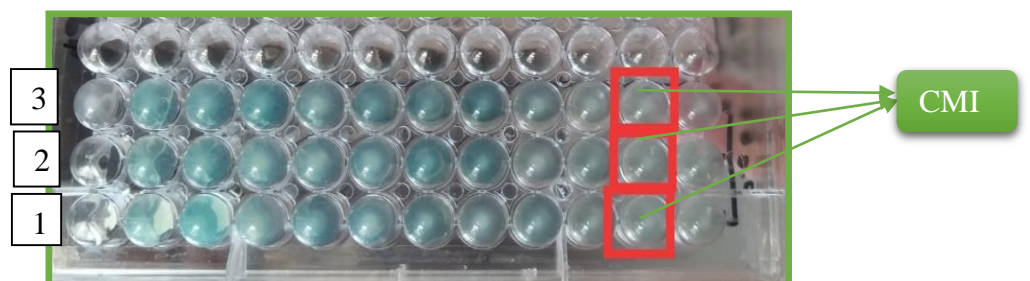
**Figure 17 :** Valeurs de CMI obtenues pour la souche bactérienne *Escherichia coli* ATCC 25922 sur microplaque avec les trois extraits poly phénolique testés (**Original**).



**Figure 18 :** Microplaque indique la résistance de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 vis à vis des trois extraits testés (Absence de CMI) (**Original**).



**Figure 19 :** Valeurs de CMI obtenues pour la souche bactérienne *Enterococcus faecalis* ATCC 292 12 sur microplaque avec les trois extraits poly phénolique testés (**Original**).



**Figure 20 :** Valeurs de CMI obtenues pour la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sur microplaque avec les trois extraits poly phénolique testés (**Original**).

1 : extrait brute.

2 : extrait de n-hexane.

3 : extrait de chloroforme.

Les résultats obtenus montrent que nos extraits poly phénoliques ont un pouvoir inhibiteur de la croissance bactérienne contre les trois souches ; *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* avec des CMI variant entre (1mg/ml et  $10^{-1}$ mg/ml) toutefois, une résistance a été noté pour la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des trois extraits testés ainsi que la souche *Enterococcus faecalis* pour l'extrait chloroformique.

D'après les résultats obtenus on constate que les trois extraits poly phénoliques brute, n hexane et chloroforme de la plante médicinale *Artemisia annua L* sont doués d'un pouvoir antibactérien considérable vis à vis des trois espèces bactérienne testées avec des valeurs de CMI variant en fonction de la nature d'extrait et l'espèce bactérienne testées, toutefois, la fraction chloroformique demeure la moins active dont elle n'a pas montré une action inhibitrice de la croissance bactérienne vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* d'autre part, cette dernière s'est révélée la plus résistante dont elle n'a montré aucune sensibilité pour ces extraits, en effet, l'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend d'une part, de la nature des bactéries Gram+ ou Gram- (**Basli et al., 2012**). Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace. Le lipopolysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes. Les bactéries à Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des poids moléculaires à 50KD (**Kheyar et al., 2014**). D'autre part, le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques et de leurs propriétés physico-chimiques, de ce fait, l'activité antibactérienne des composés phénoliques, résulte de leur capacité à traverser la membrane cellulaire des bactéries et s'accumuler à des concentrations intracellulaires appropriées et à interagir ainsi avec les cibles intracellulaires (**Kaur et Singh, 2008 ; Lacombe et al., 2010**) et membranaires, ceci grâce à leur caractère lipophile (**Castillo-Juárez et al., 2007 ; Lacombe et al., 2010**), les hydroxyles libres des composés phénoliques agissent comme des ligands pour le fer, indiquant leur incorporation dans les cellules à travers la membrane externe par le biais du système de transport du fer (**Watanabe et al., 1987**). Les composés phénoliques causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassium, une réduction des réserves de l'ATP intracellulaire, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires (**Kheyar et al., 2014**).

Des Travaux qui ont été faite sur le même genre que notre plante **Boudjouref (2011)** sur *Artemisia compestris L* et **Bali (2019)** sur *Artemisia herba alba asso* ont montré que des extraits varies de ces deux plantes possèdent un bon pouvoir antibactérienne sur plusieurs espèces bactériennes testées où les valeurs de CMI obtenues varient et dépendent des souches testées en montrant à chaque fois la capacité de *Staphylococcus aureus* à résister l'action inhibitrice de certains type d'extrais ce qui concorde avec nos résultats.

Pour la détermination quantitative de l'activité antibactérienne, la méthode de micro dilution du bouillon est plus appropriée par ce qu'elle a donné des CMI plus faibles que la méthode de dilution par gélose, ceci peut-être s'expliquer par le fait que l'extrait végétal a des polarités des composés naturels différentes qui peuvent affecter la diffusion sur le milieu de culture solide, ainsi que des composés qui sont plus volatils sur un milieu solide qu'un milieu liquide où ils deviennent plus stables.

# **Conclusion**

## Conclusion

---

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Elles constituent la ressource naturelle capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. La recherche des molécules bioactives dans les extraits de plantes va mener à leur utilisation comme alternative des molécules de synthèse.

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

L'activité antimicrobienne des trois extraits polyphénolique ; l'extrait brute, l'extrait n-hexane, l'extrait de chloroforme de la plante médicinale *Artemisia annua L* a été déterminée sur quatre souches bactériennes ; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 292 12 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, par la techniques de diffusions en disque, la technique de dilution en milieu solide et la technique de microdilution sur microplaque dont les résultats ont montré :

- Qualitativement des zones d'inhibitions avec des diamètres varient entre [6.5- 15 mm],
- Les trois extraits ont un pouvoir inhibiteur de la croissance bactérienne modéré vis-à-vis des quatre souches testées, toutefois, la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 s'est révélée la plus résistante.
- L'activité inhibitrice des extraits varie d'une espèce à une autre, cette différence de sensibilité peut être expliquée par la différence dans la composition et la nature de la paroi bactérienne qui constitue souvent la partie cible des extraits pour l'inhibition de la croissance bactérienne.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antimicrobiennes des extraits de cette plante.

# **Références**

# **Bibliographique**

## Références Bibliographique

---

- Anonyme (1) :** La phytothérapie (la page consulte le 22/02/22). <http://soins.herbes.plantes.free.fr/>
- Anonyme (2) :** Audery (page consulte le 22/02/22).<https://www.gralon.net/articles/sante-et-beaute/medecine-douce/article-la-phytotherapie-429.htm>.
- Anonyme(3):**Journal des femme (page consulte 20/03/2022).  
<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2712441-artemisia-annua-utilisation-bienfaits-posologie/>.
- Assogba,M.(2020) :** Usage traditionnel d'*artemisia annua* :internet et limites dans le traitement du paludisme. Thèse pour le diplôme d'états de docteur en pharmacie. Université de Picardie jules verne. UFR de pharmacie.
- Bali, S. (2019).** Etude comparative entre deux méthodes d'extraction des huiles essentielles d'*Atemisia herba alba asso*, et evaluation de leur activité antimicrobienne. Mémoire de master en biochimie appliqué.
- Bammou, M.; Daoudi, A. ; Sellam, K . ; ElRhaffari, L . ; Ibjibjen, J. and Nassiri, L.( 2015 )."** Étude Ethnobotanique des Astéracées dans la Région Meknès-Tafilalet (Maroc) [Ethnobotanical Survey of Asteraceae Familyused in Meknes-Tafilalet Region (Morocco)]". International Journal of Innovation and Applied Studies, ISSN 2028-9324, Vol. 13 No. 4 Dec. 2015, pp. 789-815.
- Basli, A.; Chibane, M.; Madani,K. et Oukil, N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf.
- Beconcini, D.; Felice, F.; Fabiano, A.; Sarmiento, B.; Zambito Y. and Di Stefano, R. (2020).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Cherry Extract: Nanosystems-Based Strategies to Improve Endothelial Function and Intestinal Absorption. [www.mdpi.com/journal/foods](http://www.mdpi.com/journal/foods).
- Benmerab, K. et Abed, L. (1982).** Quelques aspects de la pharmacopée traditionnelle algérienne. Le pharmacien du Maghreb, spécial n°2.
- Boudjouref, M.(2011).**Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artimesia comepestris* L. Memoire pour l'obtention du diplôme de magister en biochimie.
- Carrillon, E. (2000).** La photothérapie face à l'évolution médical. Recherche et l'évaluation relative à la médecine traditionnelle.
- CA-SFM, 2013**CA-SFM. 2013. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
- Castillo-Juárez, I.;Rivero-Cruz, F.; Celis, H. et Romero, I. (2007).** Anti-Helicobacter pyloriactivity of anacardic acids from *Amphipterygiumad stringens*. Journal of Ethnopharmacology, 114: 72–77.

## Références Bibliographique

---

- Djenane, D. ;Aider, M. ;Yanguela, J. ;Idir, L. ;Gomez, D. et Ronacalés, P.(2012).** Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula and Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli*O157:H7and *S.aureus* during storage at abuse refrigeration temperature.
- Eloff, J.N. (1998).** Une méthode sensible et rapide sur microplaque pour déterminer la concentration minimale inhibitrice d'extraits de plantes pour les bactéries. *Planta Medica*, 64, 711-713.
- EUCAST. (2003).** Determination of minimum inhibitory concentrations (MICS) of antibacterial agents by broth dilution. European committee for antimicrobial susceptibility testing (Eucast) of the European society of clinical microbiology and infectious Diseases (ESCMID).<https://doi.ORG/10.1046/j1469-0691.2003.00790.X>.
- Ferreira, J. and Janick, J. (2009).** Annual Wormwood (*Artemisia annua* L.).(2009).Disponible sur: [www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/artemisia.pdf](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/artemisia.pdf).
- Ferreira, J.F.S.; Luthria, D.L.; Sasaki, T. and Heyerick, A. (2010).** Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with *Artemisinin* against Malaria and Cancer. *Molecules* .15, 5(May 2010), 3135–3170.DOI:<https://doi.org/10.3390/molecules15053135>.
- Gülçin, I.; Uğuz, M. T.; Oktay, M.; Beydemir, S. et Küfrevioğlu, O. I. (2004).** Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turk J AgricFor*, 28: 25-33.
- Gulluce, M.; Sahin, F.; Sokmen, M.; Ozer, H.; Daferera, D.; Sokmen, A.; Polissiou, M.; Adiguzel, A. et Ozkan, H.(2007).**Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Menthalongifolia* L. *ssp. longifolia*. *Food Chemistry* ; 103 : 1449–1456.
- Hichr, I. (2019).** Optimisation de l'extraction des polyphénols sans pesticides ainsi que leurs caractérisations dans les extraits d'oignon jaune et rouge. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme du doctorat d'université LAVAL.
- Iserin, P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales .Ed Larousse. <https://www.conservation-nature.fr/phytotherapie/plantes-medicinales/>.
- Kaur, G. et Singh, R. P. (2008).** Antibacterial and membrane damaging activity of *Livistonachinensis* fruit extract. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2429–2434.
- Kheyar, N.;Meridja, D.et Belhamel, K. (2014).**Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inulaviscosa*, *Salviaofficinalis* et *Laurusnobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products* 2:1(2014)18-26.
- Kim, W.-S. ; Choi, W.J. ; Lee, S. ; Kim, W.J. ; Lee, D.C. ; Sohn, U.D. ; Shin, H.-S. and Kim, W.,(2015).** Anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial effects of artemisinin extracts from *Artemisia annua* L. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 19, 21–27.
- Koffi, N. ; Beugré, K. ; Guédé, N. ; Dossahoua, T. et Laurent, A. (2009).** Screening Phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. Vol. 6, N°2.pp1 – 15.

## Références Bibliographique

---

**Lacombe, A.; Wu, V. C. H.; Tyler, S. et Edwards, K. (2010).** Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanin, and organic acids, against *Escherichia coli O157:H7*. International Journal of Food Microbiology, 139: 102–107.

**Laraba, M.; Serrat, A.; Ouassaa, G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie de Université des Frères Mentouri Constantine.

**Macheix, J.J.(1996).** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin duXX<sup>ème</sup>siècle.Actabotanicagallica143(6),473-479.

**Mahmoudi, S. ; Khali, M et Mahmoudi, N. (2013)** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynarascolymus l.*).Nature& technologie. b- sciences agronomiques et biologiques, N° 09 : 35-40.

**Marref, S.E. (2018).** Contribution à l'étude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de la plante *Gladiolus segetum* in vivo et in vitro. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme du doctorat d'Université Mustafa à Ben Boulaid –Batna 2

**Nkhili, E. (2009).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad Marrakech.

**Organisation mondial de la santé (2000).** Principe méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relative à la médecine traditionnelle.

**Perrin, J.F. (2018).** Antibiotiques : effet bactériostatique, mesure de CMI, CMI de différentes souches vis à vis de l'ampicilline « méthode standard de dilution en milieu gélosé ».

**Rong, T. (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. [www.mdpi.com/journal/nutrients](http://www.mdpi.com/journal/nutrients).

**Sanner, A. (2008).** L'Artémisinine et ses dérivés. Apports de la médecine traditionnelle chinoise dans la lutte contre le paludisme chimiorésistant et perspectives contemporaines. Université de Lorraine, Faculté de médecine de Nancy. Disponible sur [http://docnum.univlorraine.fr/public/SCDMED\\_T\\_2008\\_SANNER\\_ALEXANDRE.pdf](http://docnum.univlorraine.fr/public/SCDMED_T_2008_SANNER_ALEXANDRE.pdf)

**Skowrya, M.; Gallego, M.; Segovia, F. and Almajano, M. (2014).** Antioxidant properties of *Artemisia annua* extracts in model food emulsions. Antioxidants 3, 116–128.

**Sofowera A. (2010)** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris : 384.

**Souad, S. ; Mohamed, F. ; Lahcen, Z. et Allal, D. (2008).** Etudes floristique et ethnobotaniques des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). Laboratoire de Botanique et de Protection des Plantes. Faculté des Sciences. Université Ibn Tofail Kenitra.

**Tajehmiri, A.; Issapour, F.; Moslem, M.N.(2014).**In vitro antimicrobial activity of *Artemisia annua* leaf extracts against pathogenic bacteria. Adv. Stud. Biol. 6,93–97.

**Tyihák ,E.; Móricz ,Á .M. and Ott, P.G. (2007).** Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography in Phytochemistry .CRC Press.

## Références Bibliographique

---

**Tzeng, T.C.; Lin, Y.L.; Jong, T.T. and Chang, C.M.J. (2007).** Ethanol modified super critical fluids extraction of scopoletin and artemisinin from *Artemisia annua L.* *Sep.Purif. Technol.* 56, 18–24.

**URQUIAGA, I. and LEIGHTON, F. (2000).** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Article in Biological Research. January 2000.

**Uthurry, C.A.; Hevia,D. and Gomez-Cordoves, C. (2011).** Role of honey polyphenols in health. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 3(4): 141-159.<http://www.ibra.org.uk/articles/Role-of-honey-polyphenols-in-health>.

**Watanabe, N.A. ; Nagasu, T. ; Katsu, K. et Kitoh, K. (1987).** A new Cephalosporin, Is Incorporated into Escherichia coli Cells via the ton B-Dependent Iron Transport System. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 497-504.

**World Health Organization. (2006).** WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua L.* Disponible sur: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9241594438/en/>.

**Zeghad,N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique : thymus vulgaris, romarinus officinalis et évaluation de leur activité antibactérienne mémoire en vue de l'obtention du diplôme magister(Ecole doctoral)d'université mentouri constantine.

## Résumé

Les plantes médicinales contiennent des composés extrêmement complexes ; de dizaines ; voire de centaines de principes actifs, qui passionnent les scientifiques actuels. Chaque année, les chercheurs spécialisés dans ce domaine étudient, analysent et essayent de comprendre le mode d'action de certaines plantes. La réalisation de beaucoup de découverte en phytothérapie a pour effet l'utilisation massive des plantes médicinales. Dans ce modeste travail nous avons essayés de confirmer scientifiquement les propriétés antibactériennes des trois extraits poly phénoliques : brute, chloroforme et N-hexane obtenus à partir des feuilles de la plante médicinale *Artemisia annua L.*

Le pouvoir antibactérien des extraits a été évalué par trois méthodes ; méthode de diffusion en disque, méthode de dilution en milieu solide et celle de micro dilution en milieu liquide vis-à-vis de quatre espèces bactériennes ; *E. coli*, *P.aeruginosa*, *E. faecalis* et *S. aureus*.

D'après les résultats obtenus nos extraits ont montré une activité inhibitrice de croissance bactérienne modérée vis-à-vis de la plupart des souches testées, avec des zones d'inhibitions variant entre 6.5-15 mm. Cependant la souche *E. faecalis* est la plus sensible. Par ailleurs, l'étude a révélé des valeurs de CMI relativement élevées.

**Mots clés :** activité antibactérienne, *Artemisia annua L.*, phytothérapie, plante médicinale et Polyphénols.