

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-
Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle} BELKADI Chaima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie appliquée

THÈME

**La lutte des pathogènes responsables des
intoxications alimentaires par les extraits phénoliques
de la plante Artemisia herba alba**

JURY

Président :	BOUZNEB Lahcen	MCA	U. Mostaganem
Encadreur :	DJIBAOUI Rachid	Professeur	U. Mostaganem
Examineur:	CHADLI Rabah	Professeur	U. Mostaganem

Année universitaire 2020-2021

Dédicace



- ❖ Du profond du mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux me sont chers ;

A ma chère mère :

- ✓ Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous consenti pour mon instruction et mon bien –être.

Je vous remercie pour tout le soutien que me portez depuis mon enfance et j’espère que votre bénédiction m’accompagne toujours.

A la mémoire de mon père : BELKADI Abdellah

- ✓ Ce travail dédié à mon père, décédé trop tôt qui m’a toujours poussé et motivé dans mes études ;

J’espère que du monde qui est sien maintenant, il apprécié cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d’une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme.

Je dédie ce travail à mes sœurs Asma, Khansa, Sara et mon seul frère Hamza.

Remerciement



Je tiens à remercier en premier lieu de m'avoir donné la santé, la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier vivement mon encadreur Monsieur DJIBAOUI Rachid pour tous les efforts qui il a fourni à mon égard et d'encadrer ce modeste travail, je le remercie pour son suivi ses orientations, ses conseils qui m'ont servi de référence.

Je tiens à remercier les membres de JURY d'avoir répandu présent à l'évaluation de ce modeste travail de fin d'études.

Je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à caractériser ce travail.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction 1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 01 .Généralité sur les intoxications alimentaires

1.1.Généralités.....4

1.2.la définition d'intoxication alimentaire4

1.3.symptomes5

1.4.causes.....5

2.1 intoxications alimentaire par Staphylococcus aureus5

2.2.caractéristiques microbiologiques5

2.3.moyens de transmissions6

2.4.traitement.....7

3.1.intoxication alimentaire par Salmonella7

3.2.caractéristiques microbiologiques7

3.3.moyens de transmissions8

3.4.traitement.....8

4.1.intoxication alimentaire par Campylobacter jejuni8

4.2 .caractéristiques microbiologiques8

4.3. moyens de transmission9

4.4.traitement10

5.1.intoxication alimentaire par <i>ESCHERICHIA coli</i> 0157 :H7.....	10
5.2.caractéristiques microbiologique	10
5.3.moyens de transmissions	11
5.4.traitement	12

Chapitre 2. Généralité sur la plante

1.1. <i>Artemisia herba alba</i>	14
1.1.1. Nomenclature.....	14
1.1.2. Description botanique	14
II-1 Composés phénoliques	20
II-1-1 Polyphénols	20
II-1-1-1 Acides phénoliques.....	21
Acides hydroxybenzoïques.....	21
Acides hydroxycinnamiques	21
II-1-1 Les flavonoïdes.....	22
II-1-2 Classification	23
II-2 L'huile essentielle.....	23

Partie II : Etude expérimentale.....

Chapitre 3.matériel et méthode

1. Matériel végétale	30
1.1 La récolte de la plante	30
2.Le séchage de la plante.....	30
2.1. Matériel microbien	30
2.2. Extraction des huiles essentielles.....	30
3.Conservation des huiles essentielles.....	31
3.1..Rendement de l'huile essentielle	31
3.2.Extrait brut éthanolique	32
3.3.Rendements en extraits	33
• Rd (%):Rendement exprimé en %.....	33
4.Dosage des phénols totaux	34
❖ Mode opératoire	34
5. Dosage des flavonoïdes totaux.....	34
❖ Mode opératoire	35

6.Evaluation de l'activité antibactérienne.....	35
Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	35
➤ Repiquage des souches bactériennes	35
➤ Préparation de l'inoculum bactérien.....	35
➤ Ensemencement des bactéries	36
➤ Préparation des extraits.....	36
➤ Dépôts des disques imprégnés des extraits	36
➤ Lecteur des résultats	37
6.1.Détermination de la Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)	38
❖ Mode opératoire	38
6.2.Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide	39
Chapitre 4 Résultats et discussions	Erreur ! Signet non défini.
1. Extraction	41
2. Le rendement.....	41
3. Etude quantitative.....	42
3.1.. Dosage des polyphénols totaux	42
3.2. Dosage des flavonoïdes	43
4.Test de l'aromatogramme	44
4.1 Méthode de dilution en milieu liquide.....	46
4.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	46
4.3.Détermination de Concentration minimale bactéricide	47
Conclusion	49
Références bibliographiques.....	51
Annexes	54

Liste des Tableaux

Tableau 01:Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogènes de *S. aureus*

Tableau 02 :caractéristiques de croissance des *Campylobacterjejuni*

Tableau 03: Caractéristiques de croissance d'E. coli O157 :H7

Tableau 04 : Appellation de la plante d'*Artemisia herba alba* selon les pays et les régions

Tableau 05 : Classification de la plante d'*Artemisia herba alba* (INPI, 2014)

Tableau 06: Principales classes des flavonoïdes

Tableau 07. Rendement des extraits d'*Artemisia herba alba*.

Tableau 08. Dosage des polyphénols totaux.

Tableau09. Dosage des flavonoïdes totaux.

Tableau 10. Diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Tableau 11. CMI des extraits brute d'*Artemisia herba alba*.

Tableau 12. CMB des extraits brute d'*Artemisia herba alba*.

Liste des Figures

Figure 01: Aspect de *S. aureus* suite à une coloration de Gram.

Figure 03 : *salmonella typhi*

Figure 04 : *Salmonella enteritidis*

Figure 05 : *Artemisia herba alba*: (A) la plante au début de la saison de floraison, (B) la plante à la fin de la saison de floraison

Figure 07: Exemples des dérivés d'acides hydroxy benzoïques.

Figure 08: Structure de base des flavonoïdes.

Figure 09: Structure de base des flavanones

Figure 10: structure de base des flavonols.

Fig.11: Quelques monoterpènes

Fig12 : Exemples de composés aromatiques

Figure 13. *Artemisia herba alba*.

Figure 14. Montage d'hydro distillation de type Clevenger.

Figure 15. Schéma représente les étapes de protocole appliqué pour l'extraction éthanolique.

Figure 16. Schéma représente les étapes de protocole appliqué pour l'extraction aqueux.

Figure 17. Préparation de l'inoculum bactérien.

Figure 18. Dépôts des disques imprégnés des extraits.

Figure 19. La méthode de micro-dilutions en milieu liquide(CMI).

Figure 20. Détermination de la concentration Minimale Bactéricide(CMB).

Figure 21. Histogramme représente le rendement des différents extraits d'*Artemisia herba alba*.

Figure22. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Figure 23. Courbes d'étalonnage de la quercétine.

Figure 24. Observation de aspect dans les puits de microplaques.

Résumé

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des différents extraits d'*Artemisia herba alba* : huile, extrait éthanolique . Et l'utilisation de leur huile dans le processus de la lutte contre les pathogènes responsables des intoxications alimentaires . Le rendement d'extraction le plus élevée a été révélé dans l'extrait éthanolique avec une valeur de 15.64%. Ainsi l'étude quantitative a montré une richesse en polyphénol et en flavonoïde des extraits surtout en extrait éthanolique. D'autre part la méthode de l'aromatogramme et celle des dilutions en milieu liquide montre une forte activité antibactérienne des différents extraits vis-à-vis des bactéries *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp.* Les résultats d'analyses microbiologiques effectuées sur les souches testés révèlent l'efficacité de l'huile contre les bactéries .

Mots clés : *Artemisia herba alba*, activité antibactérienne, intoxication alimentaires .les huiles essentiels .les polyphénols

ملخص

الهدف من عملنا هو إظهار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المختلفة من *Artemisia herba alba*: الزيت ، المستخلص الإيثانولي. واستخدام زيتهم في عملية مكافحة مسببات . تم الكشف عن أعلى إنتاجية في المستخلص الإيثانولي بقيمة 15.64% ، وبذلك أظهرت الدراسة الكمية غنية بمستخلصات البوليفينول والفلافونويد لإيثانولي. من ناحية أخرى ، تُظهر طريقة التصوير العطري وطريقة التخفيف في الوسط السائل نشاطاً قوياً مضاداً للبكتيريا *Salmonella E. coli S. aureus* sp. أظهرت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية التي أجريت على السلالات المختبرة فعالية الزيت ضد البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba* ، نشاط مضاد للجراثيم ، تسمم غذائي ، زيوت عطرية ، بوليفينول.

PARTIE I
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction :

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS, 2002), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (**Muthu et al., 2006**). Il est reconnu dans le monde scientifique que les produits d'origines naturelles sont une source importante d'agents thérapeutiques des maladies microbiennes qui font un grand nombre de victimes en termes de taux de mortalité, tel que les composés antimicrobiens excrétés de plantes peuvent inhiber la croissance bactérienne par des mécanismes différents (**Dalal MEHDI et Oumhani SALEM ,2019**)

Il est reconnu dans le monde scientifique que les produits d'origines naturelles sont une source importante d'agents thérapeutiques des maladies microbiennes qui font un grand nombre de victimes en termes de taux de mortalité, tel que les composés antimicrobiens excrétés de plantes peuvent inhiber la croissance bactérienne par des mécanismes différents (**Dalal MEHDI et Oumhani SALEM ,2019**)

L'augmentation du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème de santé qui lié principalement à la prise répétée et massive de ces produits a engendré une perte d'efficacité des antibiotiques

Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste des plantes économiques importantes. Elles offrent une solution d'alternatif aux médicaments, elles contiennent des composants actifs résultants de métabolite secondaire produits à partir de métabolisme des nutriments qui sont utilisés par l'homme dans son

INTRODUCTION

arsenal thérapeutique. Ces composants actifs se distinguent par plusieurs catégories telles que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles et d'autres composées (El kalamouni et al., 2010)

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail qui a pour objectif la recherche de nouvelles substances naturelles d'origine végétale à activité antibactérienne par l'évaluation de l'effet antibactérien des différents extraits d'*Artemisia herba alba* (des huiles essentielles, extrait éthanolique , extrait aqueux) sur des bactéries pathogènes

Le présent travail est structuré autour de quatre chapitre dont les deux premiers chapitres sont consacré à dériver les notions essentielles à la compréhension de notre travail (les principaux informations sur l'espèce étudiée, notions générales sur les huiles essentielles et les polyphénols).et des généralités sur les intoxications alimentaires . Le troisième chapitre décrit la méthodologie adoptée. Le quatrième chapitre consiste à une analyse des résultats obtenus et leur discussion. Enfin le manuscrit se terminera par une conclusion générale.

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LES
INTOXICATIONS
ALIMENTAIRES

1.1-Généralités :

La qualité microbiologique d'un aliment est un critère définissant 'acceptabilité d'un produit, d'un lot d'aliments ou d'un procédé sur la base de l'absence, de la présence ou du nombre de microorganismes et/ou de la quantité de leur toxine/métabolites, par unité(s) de masse, volume, surface ou lot (Afssa, 2008).

Elle est l'affaire de tous ceux qui interviennent depuis leur production jusqu'à leur consommation. Une bonne compréhension des mécanismes de contamination aide au respect des règles de prévention. En effet, il existe plusieurs voies de contamination des aliments par les micro-organismes : les personnes, leurs vêtements, l'air, l'eau et les animaux. Ainsi deux types de contaminations importantes sont à distinguer : la contamination endogène et exogène.

La contamination endogène des denrées alimentaires d'origine animale est causée par les germes commensaux du tube digestif des animaux. Quant à la contamination exogène, les agents microbiens sont apportés dans les denrées initialement saines, au cours des diverses manipulations (préparation des viandes, transport, stockage). Les accidents alimentaires peuvent ainsi être regroupés en infections, toxi-infections, intoxications et intoxications.

En cas d'infection, les micro-organismes vivants présents dans l'aliment provoquent des effets pathologiques variés par leur multiplication dans les entérocytes de l'intestin grêle et du colon. On parle de toxi-infection lorsque l'infection est suivie de la production des toxines protéiques ou glucido-lipido-protéiques. Les germes responsables des toxi-infections sont : *Salmonella sp*, *Clostridium perfringens*, *Shigella sp*, *Vibrioparahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolytica*, *Campylobacter sp*, *Listeria monocytogenes*.

Les intoxications alimentaires se produisent à la suite de l'ingestion des toxines préformées dans l'aliment. Les signes cliniques sont très variés : vomissements, diarrhées et douleurs abdominales. D'autres syndromes d'ordre neurologique, vasculaire et hématologique sont aussi observés. Les principaux agents en cause sont : *Staphylococcus aureus* et *Clostridium botulinum* (Tayou, 2007).

Les intoxications alimentaires interviennent à la suite de la consommation d'aliments contenant des substances toxiques. Les principaux agents sont l'histamine, le mercure, les mycotoxines (aflatoxines), les produits chimiques (additifs, pesticides, antibiotiques, détergents et désinfectants), les sels métalliques tels que le cuivre, le zinc ... (Diallo, 2010).

1.2-Définition d'intoxications alimentaires:

Les intoxications alimentaires résultent de l'ingestion d'aliments contaminés par un micro-organisme nocif ou un pathogène. Les micro-organismes pouvant causer des toxi-infections alimentaires sont les virus, les parasites et les bactéries. Les bactéries sont le plus souvent lises en cause dans les cas d'intoxications alimentaires.

La plupart du temps, l'intoxication alimentaire est provoquée par la consommation de produits contenant des toxines libérées par la croissance des bactéries. **(Faure, E 1999)**

1.3- Symptômes :

L'intoxication alimentaire provoque une inflammation du tractus gastro-intestinal dont les symptômes les plus courants sont des :

- Nausées
- Vomissements
- Douleurs abdominales
- Diarrhées

La principale complication liée à ces symptômes est la déshydratation et les différents troubles que provoquent la perte importante d'eau et d'électrolytes.

Ces symptômes peuvent également être accompagnés de fièvre et de maux de tête. Les infections peuvent parfois atteindre le système nerveux central, et causer des problèmes de langage, des troubles visuels, des difficultés respiratoires et une paralysie des muscles. D'autres bactéries, comme le *Campylobacter* peuvent être à l'origine de méningite, d'infection de l'appareil urinaire et d'arthrite. Dans de rares cas extrêmes l'intoxication alimentaire mène à la paralysie et à la mort. **(Sousa. A 2017).**

1.4- Causes:

Les intoxications alimentaires ont comme cause :

- Employés malades manipulant les aliments
- Aliments souillés par les mouches ou les rongeurs Contamination croisée
- Non-respect de la chaîne de température
- Mauvaises méthodes de préparation
- Aliments infectés par les virus, les parasites et les bactéries Présence de pesticides
- Aliments contenant des "médicaments" comme les animaux traités aux antibiotiques

- Trop grande consommation d'un même aliment
- Infection par l'eau
- Chaleur propice à la prolifération des bactéries
- Diminution de la vigilance des employés ou de nous-même (Roxanne Veilleux. K,2012)

2. Intoxications alimentaires par *staphylococcus aureus* :

- Principales caractéristiques microbiologiques:

La maladie humaine d'origine alimentaire est une intoxication due à l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques (SE), protéines thermorésistantes préformées dans l'aliments, dans lequel *S. aureus* (ou tous autre staphylocoque) producteur de SE a pu se développer et produire sa (ou ses) toxine(s).

S. aureus est une Cocci à coloration de gram positive. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobies facultatif et possède une catalase et une coagulase.

S. aureus, espèce type du genre *staphylococcus*, parfois appelée *staphylocoque doré*, produit de nombreuses toxines dont les SE, produit par certains *S. aureus* (ceux portant les gènes de ces

toxines) et qui sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie. À ce jour 21 sérotypes différents (SEA à SEE, SEG à SEV) ont été décrits. Pour six d'entre-eux seulement, l'implication dans des cas d'intoxications a pu être clairement démontrée : SEA (sérotyle le plus fréquemment détecté lors d'intoxications) à SEE et SEH. Cependant le caractère émétique des toxines de type SEG, SEI, SER, SES et SET ayant été démontré, il conviendrait de les prendre en compte lors de la caractérisation d'épisodes toxiques. (ANSES2011).

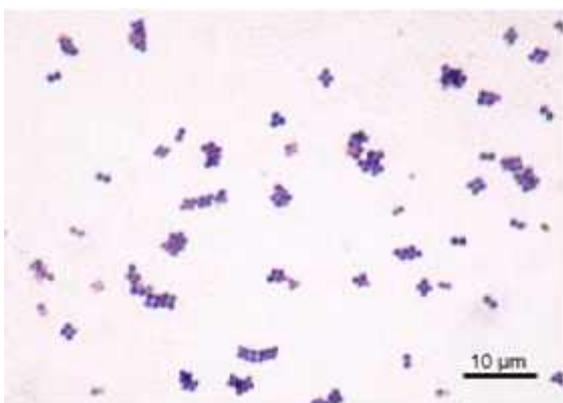


Figure 01: Aspect de *S. aureus* suite à une coloration de Gram.



Figure 02: Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES INTOXICATIONS ALIMENTAIRES

- **Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogènes de *S. aureus*:**

Paramètres	Croissance		Toxines	
	Optimum	Extrêmes	Production optimale	Limites de production
Température (C)	35-41	6-48	34-40	10-45
pH	6-7	4-10	7-8	5-9.6
a ^w	0.99	0.83-0.99	0.99	0.86-0.99
NaCl (%)	0-4	0-20	0-4	0-10
Atmosphère	Aérobie	Aero- Anaérobie	Aérobie	Aéro-anaérobie

Tableau 01: Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogènes de *S. aureus* (Le Loir Y. & Gautier M.2009)

- **Moyens de transmissions:**

Les personnes colonisées par des souches de *S. aureus* courent un risque accru d'être infectées par ces souches. La plupart des cas d'infection nosocomiale sont obtenus par l'exposition aux mains des travailleurs de la santé après avoir été colonisés de manière transitoire par des staphylocoques de leur propre réservoir ou par contact avec un patient infecté. Il existe une transmission alimentaire par des aliments ou ingrédients contaminés par une souche de *S. aureus* produisant des entérotoxines staphylococciques (SE). Il faut également des températures qui permettent la croissance de *S. aureus*. La plupart du temps, la denrée alimentaire.

Les atteint cette température en raison d'une défaillance dans le procédé de réfrigération, ou lors de la fabrication d'un produit avec des températures requises (par exemple, fabrication de fromage). Beaucoup d'aliments différents peuvent être un bon milieu de croissance pour *S. aureus* : le lait et la crème, les pâtisseries à la crème, le beurre, le jambon, les fromages, les saucisses, la viande en conserve, les salades, les plats cuisinés et les sandwiches. (Birembaux J.2017)

- **Caractéristiques d'une intoxication due à l'ingestion d'entérotoxine staphylococciques :**

Les symptômes de l'intoxication alimentaire staphylococcique se manifestent en général soudainement avec des nausées et des vomissements sévères qui apparaissent environ 2 à 8 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. Parmi les autres symptômes peuvent figurer des

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES INTOXICATIONS ALIMENTAIRES

douleurs abdominales proches de crampes, une diarrhée, et parfois de la fièvre et des maux de tête. Des pertes importantes d'eau et d'électrolytes peuvent entraîner une asthénie et une hypotension artérielle importante (choc). Les symptômes durent en général moins de 12 heures, et la guérison est le plus souvent complète.

Parfois, l'intoxication alimentaire à staphylocoque est mortelle, surtout chez les jeunes enfants, les personnes âgées et les patients affaiblis par des maladies chroniques .

- Traitements:

En règle générale, une antibiothérapie adaptée est préconisée pour tenter d'éliminer les staphylocoques dorés. La pénicilline est la substance antibiotique privilégiée, sauf si le patient est infecté par le *Staphylococcus Aureus Résistant à la Méricilline* (SARM). Dans ce cas spécifique, un antibiogramme est pratiqué afin de déterminer l'antibiotique susceptible d'être le plus efficace sur la bactérie. **(Lavent. S 2016)**

3 Intoxications alimentaires par salmonella :

- Principales caractéristiques microbiologiques:

Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ayant plusieurs sérotypes (plus de 1800) dont les deux plus fréquentes dans le cadre des toxi-infections alimentaires sont :

- *Salmonella enteritidis* (surtout dans les œufs) (60 % des intoxications)

- *Salmonella typhimurium* (25%)

Les salmonelles sont des bactéries invasives de la muqueuse intestinale et sont entérotoxigènes, provoquant ainsi un syndrome infectieux et un syndrome diarrhéique. **(Pebret. F, 2003).**

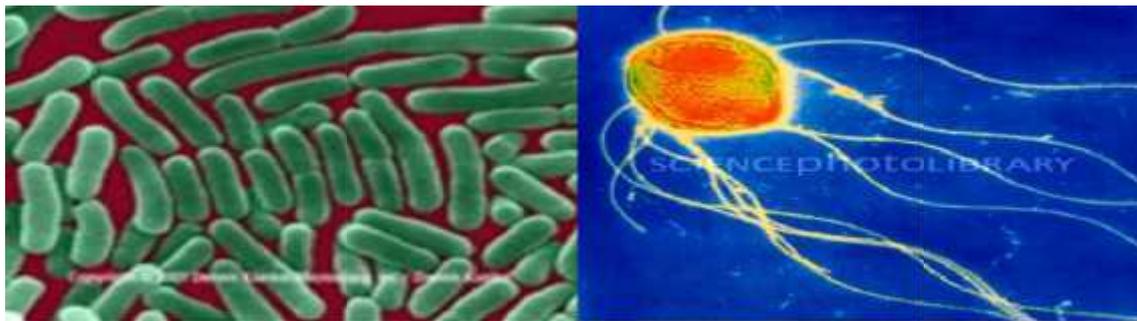


Figure 03 : *salmonella typhi*

Figures 04 : *Salmonella enteritidis*

- Moyens de transmissions :

L'aliment contaminant est mangé cru ou peu cuit. Il s'agit le plus souvent de préparations à base d'œufs, de viandes, de volaille, de laitage, de plats préparés à l'avance et contaminés, puis conservés dans de mauvaises conditions (rupture de la chaîne du froid). Cette dernière condition permet la prolifération de la salmonelle.

Salmonella enteritidis s'adapte très bien aux poules qui sont porteuses saines. Elles n'excrètent les bactéries par le cloaque que de façon intermittente. *Salmonella enteritidis* se loge dans les ovaires de la poule et induit la ponte d'œufs contaminés. Cette bactérie peut alors se multiplier aisément dans un produit à base d'œufs, mal cuit ou incorrectement conservé (mayonnaise, œufs en gelée, mousses au chocolat (Pebret. F, 2003)

- Principaux Symptômes:

Après la phase de contamination (contage), survient la phase d'incubation qui dure de 8 à 36 heures.

Puis apparaissent les phases d'invasion et d'état caractérisées par

- La fièvre (38° à 40°).
- Des céphalées, nausées et vomissements.
- Des douleurs abdominales.
- Des diarrhées liquides et fétides.

La clinique dure en moyenne 2 à 3 jours pour ensuite disparaître rapidement.

La fièvre disparaît d'abord, puis la diarrhée en 7 jours.

Le risque majeur d'une salmonellose est la déshydratation extra cellulaire par perte hydrique (sueurs, vomissements répétés et diarrhées) chez le petit enfant et la personne âgée. (Pebret. F,

2003)

- **Traitements:**

Les symptômes disparaissent sans traitement particuliers après 3 à 5 jours, chez les personnes adultes en bonne santé. Pour lutter contre des formes plus graves de salmonellose (induisant une fièvre typhoïde) ou en cas de complications, le médecin peut prescrire un traitement à base d'antibiotiques. (Alain S. 2017).

4. Intoxications alimentaires par *Campylobacter jejuni*:

- Principales caractéristiques microbiologiques:

Campylobacter jejuni (*C. jejuni*) est une bactérie que l'on trouve couramment dans l'intestin des volailles, des bovins, des porcs, des rongeurs, des oiseaux sauvages et des animaux de compagnie, comme les chats et les chiens. On la trouve également dans l'eau de surface non traitée (contaminée par la présence de matières fécales dans l'environnement) et le fumier.

Bactérie à coloration de Gram négative, de forme spiralée ou incurvée,

Pouvant évoluer vers une forme coccoïde, certainement dégénérative. Mésophiles, leur mobilité est importante et caractéristique, grâce à un ou deux flagelles polaires. Le genre *Campylobacter* comporte aujourd'hui une vingtaine d'espèces se développant toutes à 37 °C. Leur croissance est favorisée dans une atmosphère appauvrie en oxygène, enrichie en CO₂.

C. jejuni est le type de *campylobactérie* qui touche le plus souvent l'humain. Quand ils consomment des aliments infectés par *C. jejuni*, les humains peuvent contracter une maladie appelée campylobactériose. Comme pour d'autres maladies d'origine alimentaire, les symptômes de la campylobactériose peuvent s'apparenter à ceux d'une grippe intestinale, mais peuvent aussi entraîner une maladie grave avec des effets persistants. (Afssa. 2004)

- **Caractéristiques de croissance des *Campylobacter jejuni*:**

Croissance		
Paramètres	Optimum	Extrêmes: Inhibition de Croissance
Température(°C)	41,5	30 °C-45 °C
Ph	6.5-7.5	4.9 – 9.0
a ^w	0.997	0.987
NaCl	0.5 %	2 %
O ₂	3-5 %	0 – 15 à 19 %
CO ₂	10	-

Tableau 02 : Caractéristiques de croissance des *Campylobacter jejuni*(ANSES 2011)

- **Moyennes de transmissions:**

La principale voie de transmission de *Campylobacter* à l'Homme est l'alimentation, via des produits contaminés, y compris les eaux de boisson dont le traitement est défaillant. La transmission directe, par un autre individu, un animal (notamment de compagnie) infecté ou une carcasse contaminée, se produirait plus fréquemment pour certaines populations exposées (éleveurs, vétérinaires, ouvriers d'abattoir, égoutiers, etc.). Les toxi-infections alimentaires liées à *Campylobacter* sont souvent corrélées à la consommation d'eau, de lait cru ou de viandes de volailles contaminés.

Les transferts de contamination par la planche à découper ou les couteaux qui ont servi à la manipulation de volailles crues, la consommation de viandes

Insuffisamment cuites (volailles, bovines, porcines), apparaissent comme les principaux facteurs de risques. (Birembaux. J 2017).

- **Caractéristiques de la maladie:**

- Les symptômes de cette maladie apparaissent généralement 2 à 5 jours après l'infection par la bactérie, mais la durée de la période d'incubation peut aller de un à 10 jours.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES INTOXICATIONS ALIMENTAIRES

- Les symptômes cliniques les plus fréquents des infections à *Campylobacter* sont: diarrhée (souvent sanglante), douleurs abdominales, fièvre, céphalées, nausée et/ou vomissements. Les symptômes durent habituellement entre trois et six jours.
- Les décès par campylobactériose sont rares et ne concernent généralement que les très jeunes enfants ou les patients âgés, ou encore les personnes souffrant déjà d'une autre maladie grave comme le sida.
- Des complications telles que bactériémie (présence de bactéries dans le sang), hépatite, pancréatite (infection du foie et du pancréas, respectivement) et fausse-couche ont été rapportées avec divers degrés de fréquence. On peut également observer des complications postinfection: arthrite réactionnelle (inflammation douloureuse des articulations qui peut durer plusieurs mois) et troubles neurologiques comme le syndrome de Guillain-Barré, une forme de paralysie présentant des similitudes avec la poliomyélite et pouvant entraîner des dysfonctionnements respiratoires et neurologiques sévères, dans un petit nombre de cas.

Dans les cas invasifs (lorsque la bactérie envahit les cellules de la muqueuse intestinale et endommage les tissus) ou pour éliminer la bactérie chez les porteurs sains (individus qui hébergent *Campylobacter* dans leur organisme et continuent de l'excréter tout en restant asymptomatiques). (OMS 2018).

5. intoxications alimentaires par *Escherichia coli* 0157 : H7

- Principales caractéristiques microbiologiques:

Bacille à coloration de Gram négative, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative, mesurant de 2 à 4 μm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 μm , *Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie normalement présente parmi la microflore digestive de l'Homme et des animaux à sang chaud. Mais certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes car elles ont acquis des facteurs de virulence. Sur la base des signes cliniques observés chez les malades, les souches d'*E. coli* pathogènes sont regroupées en pathovars (ou pathotypes) parmi lesquels les *E. coli* entérohémorragiques ou EHEC (enterohemorrhagic *E. coli*). (ANSES 2011).

• **Caractéristiques de croissance d'E. Coli O157 : H7 :**

Croissance		
Paramètres	Optimum	Extrêmes
Température (C°)	40	6 45.5
Ph	6-7	4.4 9
Aw	0.995	0.95
NaCl (%)	0	8.5

TABLEAU 03: Caractéristiques de croissance d'E. coli O157 :H7 (ANSES 2011)

• **Moyens de transmission:**

La transmission d'E. coli O157 :H7 survient majoritairement lors de la consommation d'aliments contaminés. Les produits concernés sont généralement la viande crue ou insuffisamment cuite, les produits laitiers au lait cru, et plus rarement les produits végétaux crus. Le réservoir naturel d'E. coli O157 :H7 étant principalement le tube digestif des bovins, la contamination peut également survenir lors de la traite ou l'abattage de ces animaux. Les matières fécales des ruminants présents dans le sol, dans le fumier et dans l'eau (mares, ruisseaux) sont aussi une source possible de contamination.

La transmission interhumaine de ECEH est également possible, mais elle survient plus rarement. Dans la majorité des cas, elle a lieu de l'enfant à l'adulte, par exemple lors de la toilette de nourrisson. (Weill F.X. 2012)

• **Caractéristiques de la maladie:**

- Les symptômes provoqués par ECEH (*E. coli* entérohémorragiques) apparaissent entre 3 et 8 jours après l'infection. Il s'agit de douleurs abdominales et de diarrhées, lesquelles peuvent évoluer vers des formes sanglantes (colites hémorragiques). Des vomissements et de la fièvre peuvent aussi survenir.

- Parallèlement, les toxines produites par ECEH (appelées shiga-toxines en raison de leur ressemblance avec celles produites par *Shigella dysenteriae* ou Bacille de Shiga) détruisent la paroi des vaisseaux sanguins et causent des problèmes de coagulation ainsi que d'hypertension artérielle. Chez 10% des personnes infectées, la dissémination des Shiga-toxines provoque un

syndrome hémolytique et urémique (SHU), mortel dans 3 à 5% des cas. Ce dernier est caractérisé par une atteinte de la fonction rénale et par une baisse de la concentration des cellules sanguines (globules rouges et plaquettes). Un quart des personnes souffrant de SHU développe aussi des complications neurologiques qui peuvent aboutir à un état de coma.

- **Traitements :**

Le traitement symptomatique des diarrhées et des colites à *E. coli entéro hémorragiques* n'a rien de particulier, sinon que l'utilisation des ralentisseurs du transit, qui favoriserait l'apparition du SHU (syndrome hémolytique et urémique), est contre-indiqué. Chez les patients ayant une infection documentée à *E. Coli entérohémorragiques*, et en particulier chez les enfants de moins de cinq ans et les personnes âgées, il est prudent de surveiller pendant la phase diarrhéique la numération formule sanguin et la fonction rénale (urée, créatinine,protéinurie) à la recherche des premiers signes de SHU. Dans ce contexte, l'apparition de schizocytes dans le sang suggère fortement la progression vers le SHU et justifie une hospitalisation en urgence. **(P. Rampal, L. Beaugerie, P. Mateau, G. Corthier 2001)**

CHAPITRE II

PLANTE D'ARMOISE

BLANCHE ARTEMISIA

HERBA ALBA

1. Présentation d'Artemisia herba alba

Connue depuis des millénaires, l'armoise blanche a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av J.C dans les steppes de la Mésopotamie (Joannès, 2001). Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordan Claudio de Asso et del Rio (IPNI). est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un gout amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989 ; Messai, 2011)

2. Etude botanique

2-1- Description

Sous arbrisseau tomenteux blanchâtre, vivace, de couleur verdâtre-argenté, de 30 à 50cm de hauteur avec des tiges ramifiées, rigides et dressées. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes, et à aspect argenté (Quezel et Santa, 1962), divisées en languettes fines, blanches et laineuses. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre. Le fruit est un akène oblong. Cette plante présente une odeur aromatique caractéristique. (Bezzaetal., 2010). Sa croissance végétative a lieu à l'automne où les feuilles sont de grande taille et deviennent plus petites dès la fin de l'hiver au printemps (Akrouit,2004).



Fig 05 : Artemisia herba alba: (A) la plante au début de la saison de floraison, (B) la plante à la fin de la saison de floraison [Messai, 2011]

CHAPITRE II : PLANTE D'ARMOISE BLANCHE ARTEMISIA HERBA ALBA

Les racines se présentent sous forme d'une racine principale, ligneuse et épaisse, bien distincte des racines secondaires et qui s'enfonce dans le sol comme un pivot. La racine pénètre profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifie qu'à cette profondeur (Aidoud, 1983).

2-2- Appellation

Il existe différentes nominations de l'armoise blanche selon les pays et les régions, qu'on a rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Appellation de la plante d'*Artemisia herba alba* selon les pays et les régions

Nom vernaculaire	Chih
Nom français	Armoiseherbe blanche
Nom anglais	Wormwood
Nom latin	<i>Artemisia herba alba</i>
Nom amazigh	Izerg
Au maroc	Kaisoum
Famille	Composées
Constituants	Thuyone- Cinéol- mphre
Parties utilisées	Les parties aériennes

Tableau 05 : Classification de la plante d'*Artemisia herba alba* (INPI, 2014)

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

2-3. Distribution et habitat :

- Habitat

- Local: Les Hauts plateaux et le Sahara septentrional
- Régional : Afrique du Nord
- Mondial: Espagne, Afrique du Nord et Asie occidentale

L'*Artemisia herba alba* est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affectionne les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplements importants dans les zones désertiques(**kaouane A et chabane ,2018**)C'est une plante steppique des régions irano-touraniennes, prédominante dans les steppes d'Espagne ainsi que dans le désert de Sinai

CHAPITRE II : PLANTE D'ARMOISE BLANCHE ARTEMISIA HERBA ALBA

En Algérie, l'*Artemisia herba alba* connue sous le nom de « Chih » ou encore semen-contrade barbarie, couvre près de six millions d'hectares dans les steppes, elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés (**kaouane A et chabane ,2018**)

Ecologie de la plante

L'armoise blanche présente une vaste répartition géographique couvrant, en Algérie, environ 4 millions d'hectares ; Arbrisseau méditerranéen qui abonde au Moyen-Orient, dans le Sud Algérien et au Maroc sur des sables profonds (**Boullard,2001**).

L'*Artemisia herba alba* existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'à saharien .Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver chaud à frais.

Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés (**Boullard,2001**).

Elle se développe dans les steppes argileuses ou les précipitations sont de l'ordre de 200mm/an. Son développement est lié à la nature du sol. En effet il faut qu'il soit peu perméable, tassé et colmaté (**Boullard,2001**).

Accompagnée de l'alfa « *Stipa tenacissima* », elle couvre souvent de très grandes superficies dans les hauts plateaux. Sa présence est plus fréquente en bordures des Oueds dans les dayas (Dépression de la steppe à sol imperméable qui sont des secteurs plus au moins humides) Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification (**Pouget, 1989 ; Ayad et al., 2013**).

Usage de la plante

Les applications biologiques et pharmacologiques des espèces de la famille des Asteraceae sont le résultat de leur importance dans la médecine traditionnelle et le fruit de plusieurs études chimiques et pharmacologiques.

La majorité des applications biologiques et thérapeutiques des espèces de la famille des Asteraceae concernent des effets antimicrobiens, antifongique,...etc.

✓ **Usage phyto-thérapeutique**

L'armoise blanche est une véritable panacée. Recommandé dans les troubles gastriques, le décocté des parties aériennes sont efficaces dans les cas de ballonnement intestinaux, de pyrosis, d'aérophagie et de constipation, soit essentiellement en cas des maladies du tractus digestif.

Depuis longtemps, l'*Artemisia herba alba* a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins (**MEHIMMEDETSI et RABIA ,2018**)

CHAPITRE II : PLANTE D'ARMOISE BLANCHE ARTEMISIA HERBA ALBA

Elle est employée par les bédouins de Néguev en Palestine pour soulager les maux gastro-intestinaux (MEHIMMEDETSI et RABIA ,2018)

En Irak également, l'armoise préparée avec le thé constitue l'une des formes d'automédication contre le diabète .

Les tunisiens l'utilise aussi comme un traitement antidiabétique. Elle est conseillée pour les affections du foie; le décocté de feuilles est bu à jeun suivi d'un verre de l'huile (Bouraoui, 2003).

Artemisia herba alba est utilisée comme anti diarrhée, contre les crampes abdominales, et pour curatif des blessures externes Elle est utilisé contre le diabète et l'ictère. Elle est recommandée pour des désordres neurologiques (Salah et al .,2005)

✓ Usage alimentaire

En alimentation, l'*Artemisia herba alba* est considéré comme l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café. Néanmoins, son usage dans l'industrie alimentaire reste très limité à cause de la toxicité de la bêta thujone dont le taux ne doit pas dépasser 5mg/kg (Salah et al .,2005)

3- Les métabolites secondaires d'*Artemisia herba alba*

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophe, qui sont divisés principalement en trois familles : les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007) .

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolé à partir d'*Artemisia herba alba* Asso, dont les sesquiterpènes lactones (Mohamed et al., 2010) , les flavonoïdes (Kundanet Anupam ,2011), les tanins (Mohamed et al., 2010) et en monoterpène, triterpènes pentacycliques , santonines, coumarines que l'analyse phytochimique de son l'huile essentielles a révélé (Kundanet Anupam ,2011) et tanins (Mohamed et al.,2010).

II-1 Composés phénoliques

L'acide chlorogénique a été isolé à partie d'*Artemisia herba-alba*, au cours d'une enquête réalisée sur 49 espèces de plantes médicinales. marocaines (Mouhajiret al., 2001). Dans une autre enquête sur les principes actifs antiulcérogènes d'*Artemisia herba-alba*, huit polyphénols et composants connexes ont été isolés (Kim et al., 2004).

II-1-1 Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc.

(Bruneton, 1999 ; Lugasiet *al.*,2003).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasiet *al.*,2003).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (Charif et Louizini ,2016) Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

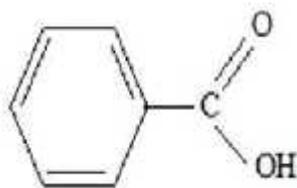
II-1-1-1 Acides phénoliques

Ils appartiennent à deux groupes, acides hydroxy benzoïques ou acides hydroxycinnamiques (Bernalet *al.*,2010).

- **Acides hydroxybenzoïques**

Dérivés de l'acide benzoïque avec une formule de base de type (C₆-C₁), existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structure complexes comme certains tanins (Bernalet *al.*,2010).

Acide benzoïque



Acide p-hydroxybenzoïque

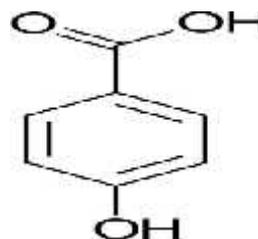
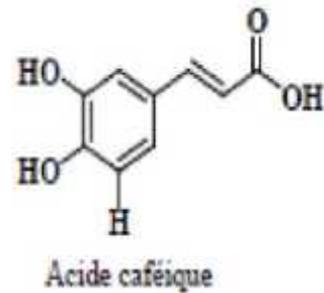
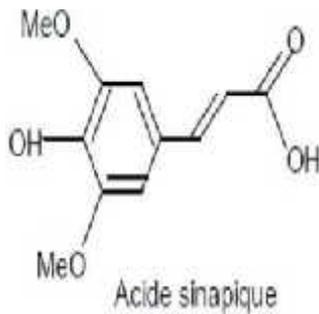


Figure 07: Exemples des dérivés d'acides hydroxybenzoïques.

- **Acides hydroxycinnamiques**

Dérive de l'acide cinnamique dont la structure de base (C₆-C₃). Les molécules de bas de la série hydroxycinnamiques sont l'acide *p*-coumarique et ses isomères (acides *o*-*etm*coumarique) et les acides caféique, férulique et sinapique. Ces acides sont rarement présent à l'état libre et existent généralement sous forme d'ester (avec le glucose, l'acide quinique, l'acide tartrique ...) ou de glycosides (Pascale et Veronique, 2006).



II-1-1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques naturels (*Seyoumet al., 2006*), ils contribuent à la pigmentation des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Certains d'entre eux sont synthétisés par la plante afin de lutter contre divers parasitoses (*Messai, 2011*). On en dénombre près de 6400 structures identifiées (*Harborne et Williams., 2000*).

Tous les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane (*Skergetet al., 2005*). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (*Dacosta, 2003*).

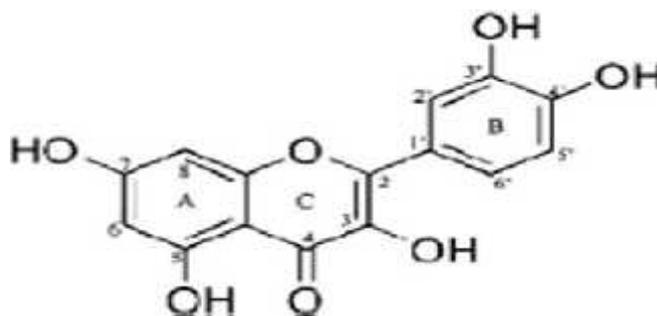


Figure 08: Structure de base des flavonoïdes.

II-1-2-1 Classification

Les flavonoïdes sont subdivisés en classes dont les plus importants sont : flavones, isoflavandiol, flavonols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanins.

Les flavonoïdes détectés dans l'armoise blanche montrent une diversité structurale, allant des flavonoïdes communs : flavones glycosides et flavonols jusqu'aux flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituels. Les flavonoïdes glycosides comprennent les *O-glycosides* tels que quercitine-3-glucoside et des flavones *C-glycosides* qui sont rares dans le genre *Artemisia* et l'ensemble des astéracées. En Egypte, un total de huit flavonoïdes *O-* et *C-glycosides* ont été isolés et identifiés à partir d'*Artemisia herba-alba*. Au Liban, l'étude des parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* a conduit à l'isolement de deux flavonoïdes : l'hispiduline et le cirsiléole (Salah et Jäger, 2005).

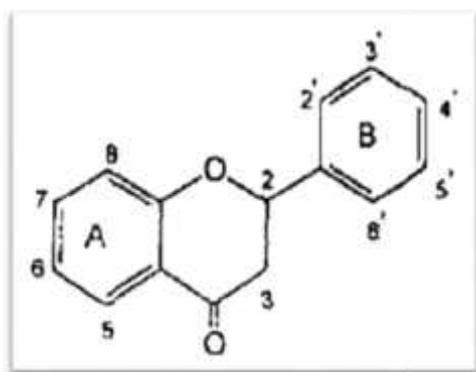


Figure 09: Structure de base des flavanones flavonols.

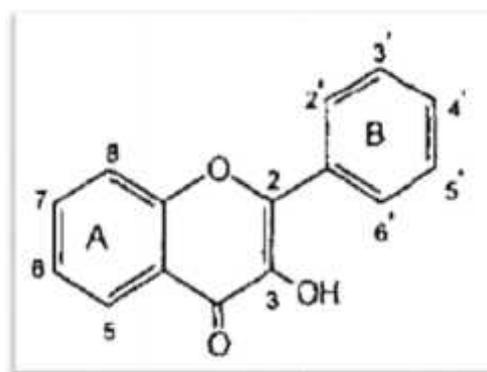


Figure 10: structure de base des flavonols.

II-2 L'huile essentielle

La définition retenue, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la Commission de la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Afnor, 1986 ; Afssaps, 2008).

Les huiles essentielles sont des mélanges liquides très complexes, elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance d'une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (**Boutayeb, 2013**).

Les principaux composés chimiques des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures. En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes .

Le groupe des terpénoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. IL existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, esters et autres...) (**Rahili, 2002 ; El Kambouche,2003**).

- **L esterpénoïdes :**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$ dont le "x" est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et "n" peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc) (**Piochon, 2008**).

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et les polyterpènes (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (**Charif et Louizini ,2016**)

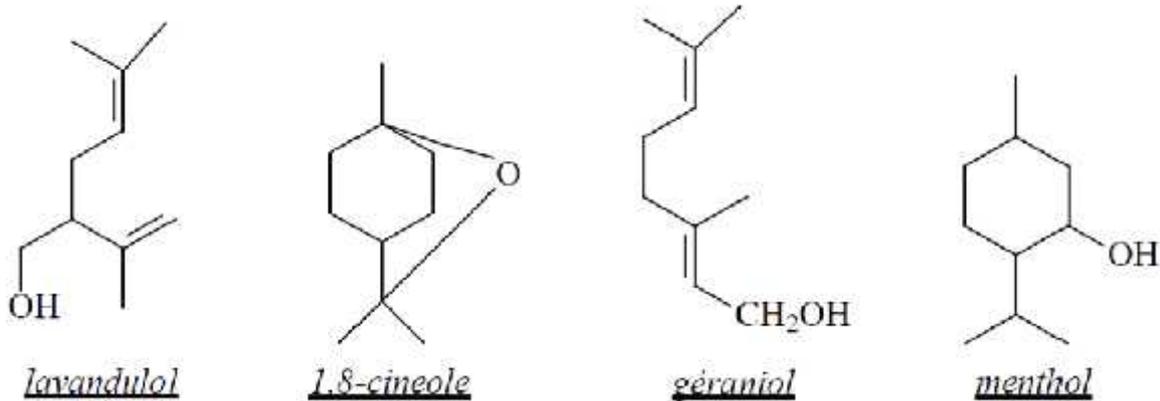


Fig.11: Quelques monoterpènes

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol ;

Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles (Teisseire, 1991).

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol,

l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc(Teisseire, 1991).

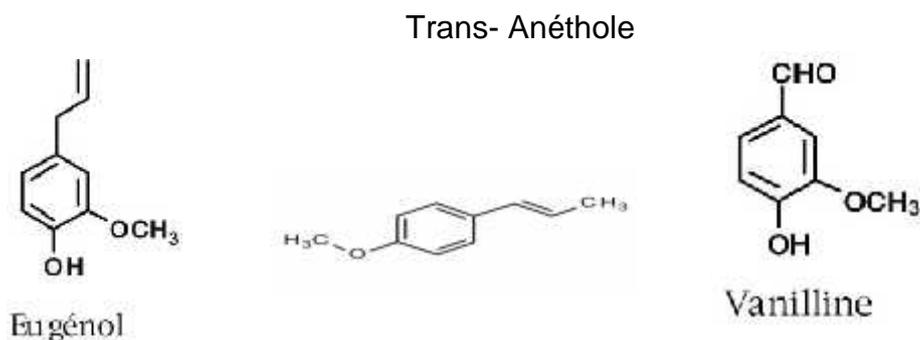


Fig12 : Exemples de composés aromatiques

Applications

Depuis quelques années, l'utilisation des huiles essentielles a connu un grand essor et ce grâce à leurs propriétés. L'application des huiles essentielles s'est diversifiée en plusieurs domaines.

En agro-alimentaire

Différentes espèces médicinales sont utilisées comme épices pour aromatiser et augmenter la durée de vie des aliments. En effet, ces espèces contiennent des huiles essentielles dotées d'activités antimicrobiennes intéressantes et peuvent servir d'agents de conservation alimentaires (Mohammadi, 2006).

- En médecine

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux).

En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. Certaines plantes sont utilisées pour le traitement des troubles nerveux et des troubles liés au stress telles que *Angélica archangélica* et *Valériana officinalis* (Charif et Louizini, 2016)

D'autres, telles que l'Aunée officinale (*Inulahelenium*), Origan (*OriganumVulgare*) et l'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) ont prouvé leur efficacité dans le traitement des problèmes respiratoires et les bronchites (Charif et Louizini, 2016)

Les plantes aromatiques et médicinales ont une valeur thérapeutique importante et l'intérêt de ces plantes ne cesse de grandir. Exemple : *Foeniculumvulgare* est utilisée pour le remède des douleurs abdominales et les graines de cette espèce sont utilisées pour la production d'un médicament pour soigner les troubles digestifs (Charif et Louizini, 2016)

Les huiles essentielles possèdent également des propriétés insecticides et insectifuges : c'est le cas de l'huile essentielle de *Cymbopogonschoenanthus*, un biopesticide efficace contre *collasobruchus maculatus* F., prédateur de niébé.

L'huile essentielle de Bétulalenta (*betulaaleghaniensis*), composée de 98,5% de salicylate de méthyle naturel est très recherchée par son excellente activité antirhumatismale (Viaud, 1993).

Certaines huiles sont recherchées pour leurs propriétés particulières. C'est le cas de :

CHAPITRE II : PLANTE D'ARMOISE BLANCHE ARTEMISIA HERBA ALBA

- L'huile de cyprès, connue pour ses exceptionnelles qualités comme tonique de la circulation veineuse;
- L'huile essentielle de *Artemisiadracunculus*, connue pour ses propriétés, antispasmodiques, antivirales et anti-allergiques;
- L'huile essentielle de romarin, régénérateur hépatique et draineur de la bile. Elle est utilisée en cas d'affections hépatiques et biliaires. Elle est aussi cicatrisante, bactéricide, utilisée aussi pour les soins de la peau et l'eczéma;

PARTIE II

ETUDE

EXPERIMENTALE

CHAPITRE III

MATERIEL ET

METHODE

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

En raison de la pandémie qui a touché le monde entier et qui est causée par le Coronavirus Covid 19. Et en respect des règles de distanciation sociale toujours en vigueur et en considération de l'intérêt général nous présentons dans ce mémoire de fin d'études une interprétation d'un protocole expérimentale réalisé par (Dalal m et Oumhani s,(2019))

1. Matériel végétale

1.1 La récolte de la plante

La plante d'*Artemisia herba alba* été récolté au mois de janvier 2019,



1.2. Le séchage de la plante

La partie aériennes de l'espèce *Artemisia herba alba* été séchées à l'air, à l'abri de la lumière, pendant 15 jours puis conservées dans des sacs propres en papier jusqu'à au moment de l'extraction.

2.1.Matériel microbien

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne des extraits font partie de genres de microorganismes, sont des souches référentielles (ATCC), il s'agit de: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Escherichia coli* (ATCC 25922), et *Salmonella sp.*

2.2.Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir de la partie aériennes d'*Artemisia herba alba* à été réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type clevenger (Ismaili *et al.*, 2014).

Après avoir pesé 100 g de matière végétale sèche est mises dans un ballon en verre pyrex, additionnées de 1000 ml d'eau distillé, l'ensemble est porté à l'ébullition dans un chauffe- ballon pendant 3 heures à température 100°C le vapeur chargée de substances volatiles traversent le réfrigérant et se condensent.

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

Après condensation, on a récupéré dans une ampoule à décanter, laissé le mélange au repos quelque minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse en fin, l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sera récupérée dans un flacon propre et stérile.



Figure 14. Montage d'hydro distillation de type Clevenger.

3. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont conservées dans un flacon en verre fermé dans un réfrigérateur (4°C) à l'abri de la lumière.

3.1. Rendement de l'huile essentielle

Selon la norme Afnor (1986), le rendement en huile essentielle (Rd), est

$$Rd = \frac{M'}{M} \cdot 100$$

- **Rd** : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).
- **M'**: Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).
- **M**: Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

Préparation des extraits d'*Artemisia herba alba*

3.1.1. Extrait brut éthanolique

Dans ce travail nous avons tenté d'extraire les composés phénoliques totaux. C'est une extraction solide-liquide le principe consiste à dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur en utilisant un solvant. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion (Ribereau- Gayon, 1968). On a utilisé l'éthanol comme solvant.

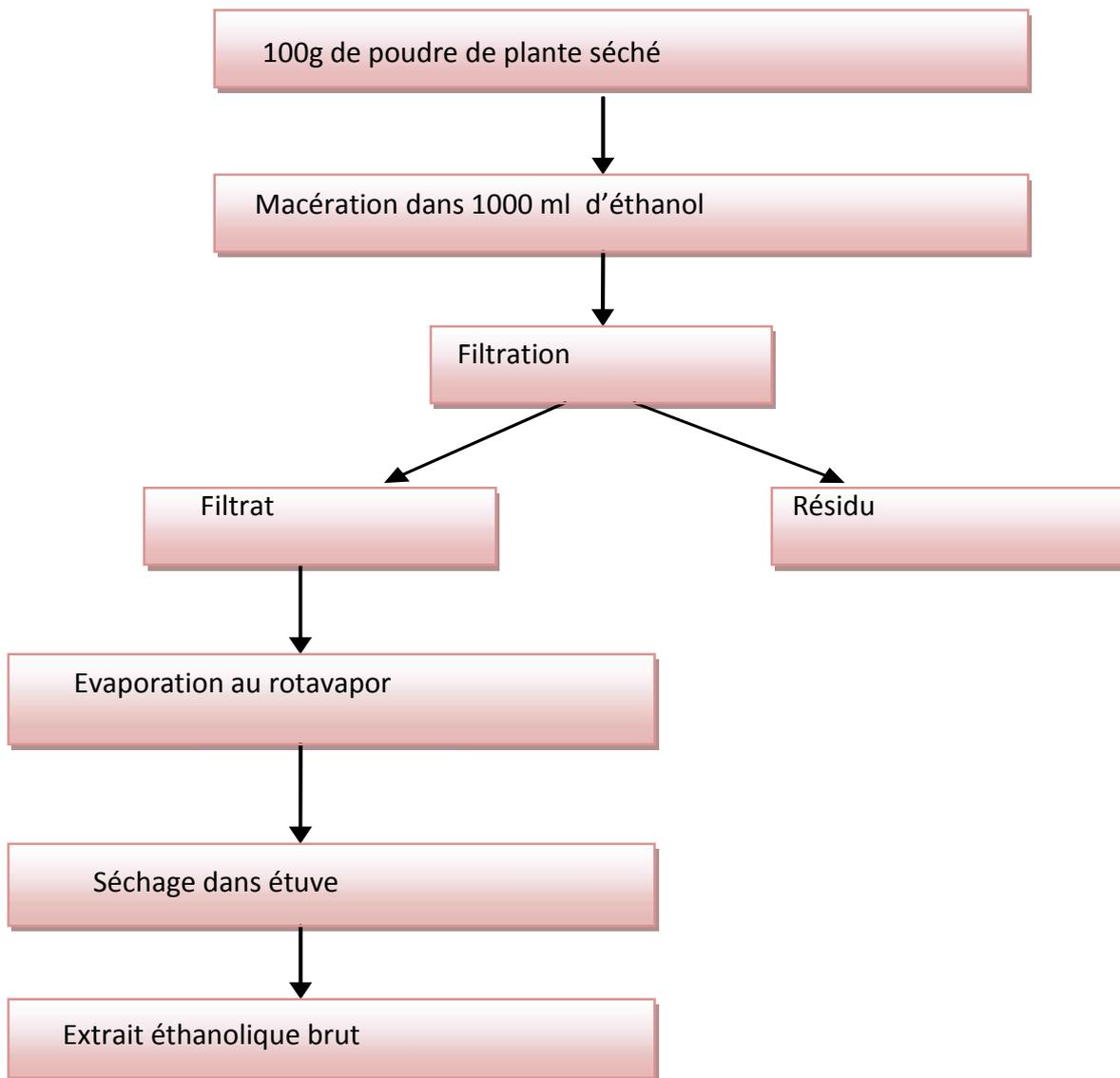


Figure 15. Schéma représente les étapes de protocole appliqué pour l'extraction éthanolique.

3.2. Extrait aqueux

Préparation des extraits aqueux selon la méthode de (Ghedadba et al., 2014). Une macération aqueuse a également été effectuée sur 100 g de poudre avec 1000 ml d'eau distillée et placés sous agitation pendant 24 h après filtration l'extrait a été lyophilisé

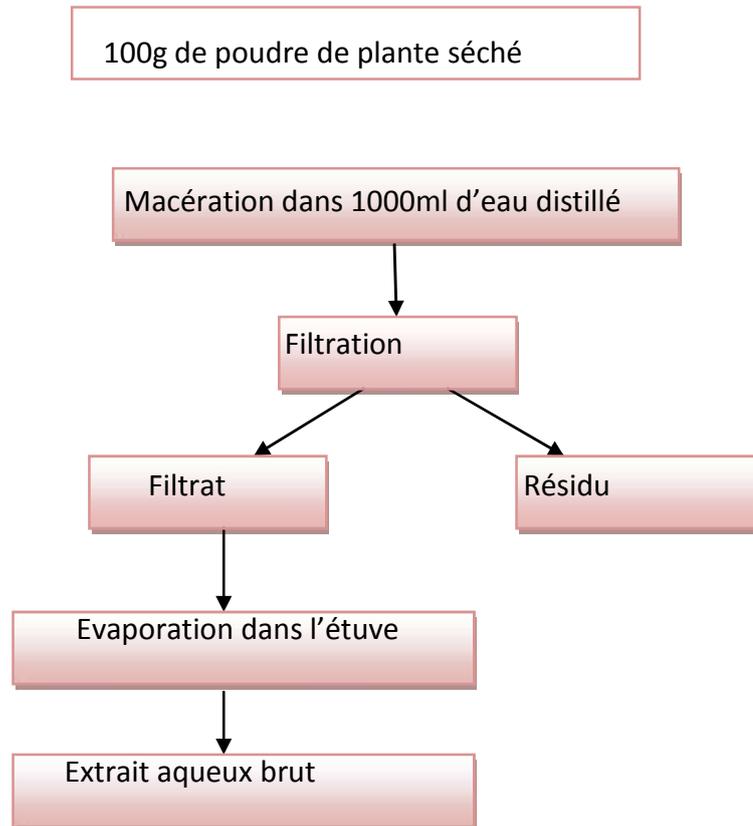


Figure 16. Schéma représente les étapes de protocole appliqué pour l'extraction aqueux.

3.3. Rendements en extraits On a déterminé le rendement (Rd) des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant:

$$Rd (\%) = M/M' \times 100.$$

- **Rd (%)**: Rendement exprimé en %.
- **M**: Masse en grammes de l'extrait sec résultats.
- **M'**: masse de la matière végétale à traiter.

- **Etude quantitative des métabolites des extraits d'*Artemisia herba alba***

4. Dosage des phénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode Singleton et Rossi (1965).

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) du réactif de folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue (Talbi *et al.*, 2015).

❖ Mode opératoire

Un volume de 200 μ l pour chaque extrait de plante est introduit dans des tubes à essais, le mélange (1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois) après 4 minute 800 μ l de carbonate de sodium à 7.5 % est additionné (voire annexe 3). Le mélange est agité et laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 2 heures. Un témoin est préparé dans les mêmes conditions. L'absorbance est mesurée à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée (0-250 μ g/ml).

5. Dosage des flavonoïdes totaux

❖ Principe

La quantification des flavonoïdes dans l'extrait a été effectuée par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) adaptée par Bahorun *et al.* (1996).

En présence d' $AlCl_3$, les flavonoïdes, absorbance à 430nm, concentration (μ g/ml). dihydroxylés sur les noyaux A ou B et les groupements hydroxyles libres en position C-3 et C-5 ou le groupement cétonique en position C-4, sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre absorbe dans le visible à 430nm.

❖ Mode opératoire

1 ml de chaque extrait est ajouté 1ml de solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2% dans chaque solvant (éthanol et l'eau distillé) (voir annexe 4). Un témoin est préparé dans les mêmes conditions. Dix minutes après le début de la réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une gamme étalon est établie séparément avec la quercitrine (0-40 μ g/ml) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait.

6. Evaluation de l'activité antibactérienne

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antibactérienne des huiles essentielles et des extraits.

- La méthode de diffusion sur disque en milieu gélosée.
- La méthode de micro-dilutions en milieu liquide (CMI et CMB).

Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

La méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien dans le milieu solide dans une boîte de pétri, avec les disques qui sont dans chaque extrait au contact de produit avec le microorganisme.

➤ Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive, puis incubées à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies bactériennes jeunes et isolées servant à préparer l'inoculum.

- **Préparation de l'inoculum bactérien**
- L'inoculum a été préparé en prélevant des colonies bactériennes bien isolées et identiques dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile la densité de l'inoculum a été ajustée à 0,5 Mc Farland (correspond à environ 1,5 X 10⁸ UFC / ml).
- 0,5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 à 625 nm (ce qui correspond à environ 10⁸ UFC/ml) (Casfm, 2018) .
- (voir figure 17)



Figure 17. Préparation de l'inoculum bactérien.

➤ **Ensemencement des bactéries**

Les bactéries ont étéensemencées en utilisant la méthode d'écouvillonnage un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger au maximum l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées l'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et en le passant sur la périphérie de la gélose MH.

➤ **Préparation des extraits**

L'huile essentielle, l'extrait éthanolique et aqueux ont été préparée en utilisant le DMSO 10% qui est inerte sur l'activité bactérienne une concentration de 100mg/ml de chaque extrait permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne.

➤ **Dépôts des disques imprégnés des extraits**

Après ensemencement, des disques de diffusion (papier Wathman N°1 stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 15 min) sont déposés à la surface des boîtes ensemencées à l'aide d'une pince stérile, ces disques sont injectés par 20ul des extraits (**Gulluce *et al.*, 2003**).

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

Deux témoins ont été réalisés : un disque de gentamicine (10 μ g) sert comme contrôle positive et un disque imprégné par le DMSO 10% sert comme un contrôle négatif (voir figure 18).



Figure 18. Dépôts des disques imprégnés des extraits.

Tous les tests ont été répétés trois fois pour calculer les moyennes et les erreurs standards à la moyenne.

Les boîtes sont maintenues à la température du laboratoire pendant 30 mn afin de permettre la pré-diffusion ensuite, elles sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

➤ Lecteur des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches en mm (**ponce *et al.*, 2003**) :

- **Non sensible (-) ou résistante** : diamètre < 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- **Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** : diamètre > 20 mm.

6.1. Détermination de la Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

Principe La micro-dilution est généralement effectuée dans des plaques de 96 puits à fond arrondi. Les suspensions bactériennes ont été diluées avec du bouillon et distribuées dans ces plaques (Kahlmeter et Turnidge, 2012).

❖ Mode opératoire

Une solution mère de l'huile essentielle d'extrait éthanolique et aqueux a été préparée dans le DMSO à 10%, puis des dilutions en série de ont été faites dans la microplaque de 96 puits. 100 μ l de DMSO 10% a été déposé dans tous les puits, 90 μ l de bouillon Mueller Hinton ont été incorporé puisensemencé par 10 μ l de l'inoculum bactérien standardisé. Le volume final dans chaque puits était de 200 μ l.

La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à $1/2 - 1/4 - 1/8 - 1/16 - 1/32 - 1/64 - 1/128 - 1/256 - 1/512$. Tous les essais sont répétés trois fois. Un contrôle positif contenant 10 μ l d'inoculum et 190 μ l de Bouillon Muller Hinton, et un témoin négatif contenant 100 μ l d'huile essentielle ou d'extrait éthanolique ou aqueux dissoute dans du DMSO à 10% et 100 μ l de bouillon Muller Hinton sans inoculum (voir figure 19).

Les plaques ont été recouvertes et incubées à 37 °C pendant 24 heures.

La CMI a été définie comme la concentration minimale d'extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance visible a l'œil nu



Figure 19. La méthode de micro-dilutions en milieu liquide(CMI).

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

6.2. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide

La CMB a été déterminée en prélevant 100 μ l de chaque suspension dans les puits sans croissance visible et en ensemençant de la gélose MH. L'incubation s'est faite à 37 °C pendant 48 heures au bout desquelles on a procédé au comptage des colonies (voir figure 20)

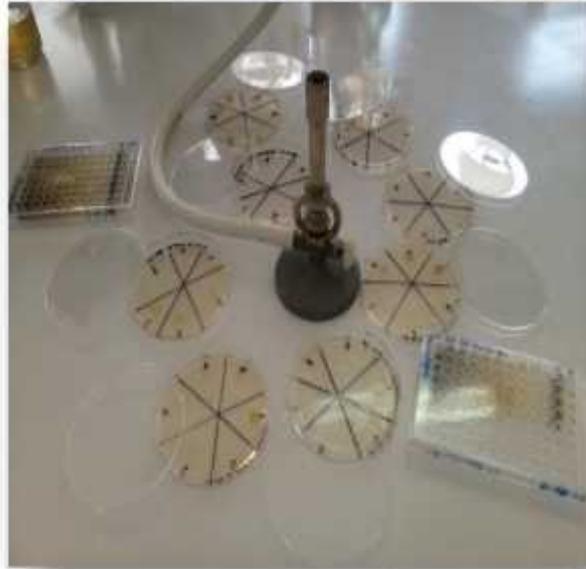


Figure 20. Détermination de la concentration Minimale Bactéricide(CMB).

CHAPITRE IV
RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1.Extraction

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a été obtenue par hydrodistillation. C'est un liquide visqueux, jaunâtre à forte odeur.

L'extrait éthanolique obtenus est de couleur verdâtre foncé à la différence de celui de l'extrait aqueux qui est de couleur brunâtre claire.

2.Le rendement

Le rendement des extraits d'*Artemisia herba alba* sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 07. Rendement des extraits d'*Artemisia herba alba*.

Les valeurs exprimé la moyenne \pm SD (n = 3).

La plante	Rendement en %		
	extrait éthanolique	extrait aqueux	huile essentielle
<i>Artemisia herba helba</i>	15.64% \pm 0.01	12.54% \pm 0.02	1.23% \pm 0.00

Les valeurs exprimé la moyenne \pm SD (n = 3).

Dans notre travail le plus faible rendement est présentée par l'huile essentielle par rapport les deux extraits avec une valeur de 1.23%.

Le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques par la méthode de macération est l'éthanol avec un rendement de 15.64%, tandis que l'eau distillée s'avère être faible avec rendement de 12.54%.

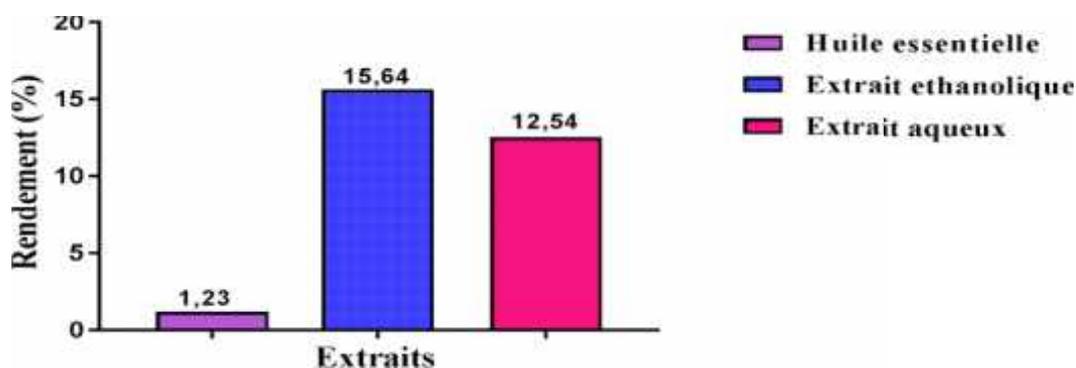


Figure 21. Histogramme représente le rendement des différents

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles. Il est plus élevé que celui de *Menthe* (0.72%) et de *Thymus* (0.65%) (**Ismaili et al., 2016**).

En comparaison avec d'autres travaux de recherche ce taux considéré plus élevé à celui de l'huile essentielle extraite de la même espèce, récoltée dans la chaîne montagneuse des Matmata en Tunisie (0.65%) (**Akrout, 2004**).

Au Maroc, corrélativement à une étude antérieure faite, notre rendement est égal à celui obtenus de la région de Guerçif du mois de juin (1.23 %) toutefois supérieur aux rendements obtenus de mois septembre (0,56%), du mois de Mars (0,86 %) de la même plante (**Ghanmi et al., 2010**).

Les résultats du rendement de l'extrait éthanolique sont inférieur au résultat obtenu par Chaabna (2014) avec un rendement de (27.47%), et du Awad *et al.* (2009) avec un rendement de (34.8%) obtenu après une percolation de la poudre de la partie aérienne dans l'éthanol.

Ces variations peuvent être dues à des facteurs abiotiques, tels que le climat spécifique des régions, d'origine des échantillons, des facteurs géographiques comme l'altitude, le type de sol et la saison des cueillettes (**Ismaili et al., 2016**).

3. Etude quantitative

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAC/mg Ps).

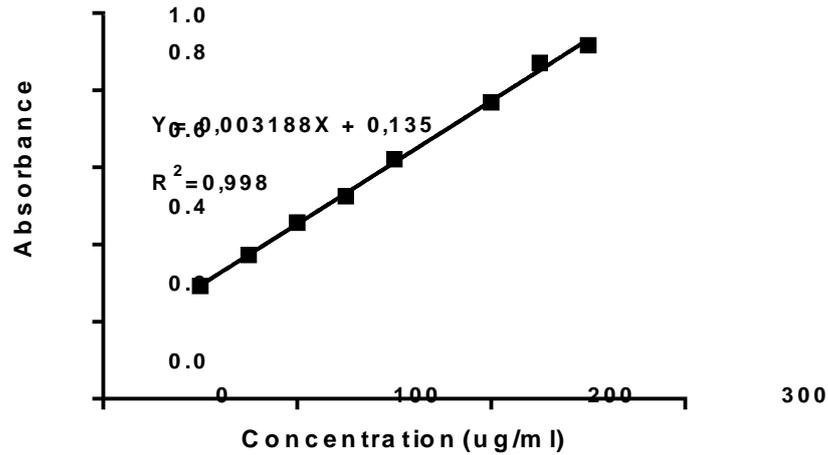


Figure 22. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

À partir de la courbe d'étalonnage, les concentrations des polyphénols totaux sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 08. Dosage des polyphénols totaux.

Extraits	Polyphénols
Ethanolique	143,25±0,09
Aqueux	6,58±0,005

Dans ce travail le contenu en polyphénols totaux montre que l'extrait éthanoliques représente l'extrait la plus riche avec (143.25 mg EQ/g Ps) alors que l'extrait aqueux représente une faible teneur en polyphénole (6.58 mg EQ/g Ps).

Pour l'extrait éthanolique de l'armoise blanche la quantité de polyphénol est inférieure à celle trouvée par Boudjelal (2012) (25.34 ± 0.69 mg EQ/g Ps).

3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EQ/mg Ps).

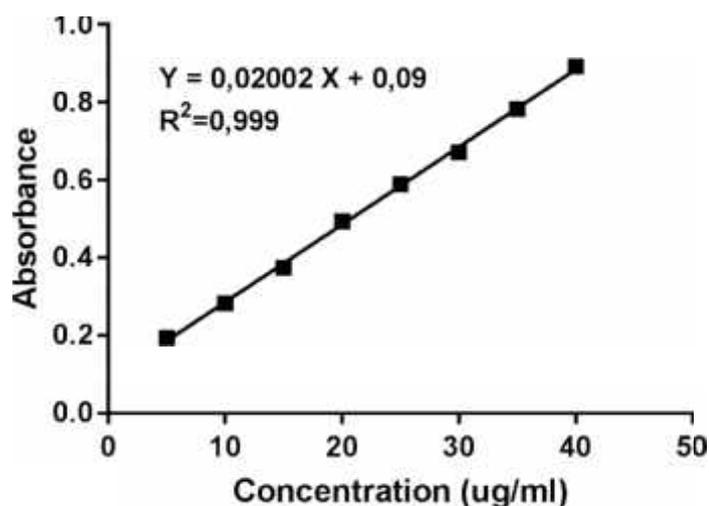


Figure 23. Courbes d'étalonnage de la quercétine.

À partir de la courbe d'étalonnage, les concentrations des flavonoïdes sont comme la suite :

Tableau 09. Dosage des flavonoïdes totaux.

Extraits	Flavonoïdes
Ethanolique	16,77±0,02
Aqueux	5,54±0,11

D'après ces résultats on remarque que l'extrait éthanolique l'extrait la plus riche en flavonoïdes avec 16.77 mg EQ/mg Ps et par contre l'extrait aqueux représente une faible teneur avec 5.54 mg EQ/mg Ps. Pour l'extrait éthanolique de l'armoise blanche la quantité de flavonoïdes est inférieure celle trouvée par Younsi *et al.* (2016) avec valeur de 13.96 ± 0.07 mg EQ/mg. Le teneur des extraits phénoliques et flavonoïdes totaux d'*Artemisia herba-alba* varient en fonction de la complexité de ces composés, la variété des plantes (différentes familles), la différence de la période et la région de récolte et les conditions géographiques, des facteurs environnementaux, du solvant d'extraction et de la méthode d'analyse utilisée (Younsi *et al.*, 2016).

4.1. Etude du pouvoir antimicrobien des extraits d'*Artemisia herba alba*

4.1.1. Test de l'aromatogramme

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli* et les *staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella sp.*

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus pour déterminer l'activité antibactérienne (aromatogramme) des extraits sont présentés dans les tableaux suivant :

Tableau 10. Diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Zone d'inhibition (mm)				
Souches	Huile	Extrait éthanoliq ue	Extrait aqueux	Gentamycin e
<i>S. aureus</i>	16,48±0,1 1	20,31±0,4 9	14,47±0,00	33,37±0,59
<i>E. coli</i>	13,90±0,7 6	19,56±0 ,09	/	26,47±1,09
<i>Salmonella sp</i>	13,94±0,5 1	/	/	27,66±2,22

Tableau 11. Sensibilités des souches bactériennes de l'huile essentielle d'*Artemisia herbaalba*.

Sensibilité (+/-)				
Les souches	Hui le	Extrait éthanoliq ue	Extrait aqueux	Gentamyci ne
<i>S. aureus</i>	++	+++	+	+++
<i>E. coli</i>	+	+	-	+++
<i>Salmonella sp</i>	+	-	-	+++

D'après les résultats du tableau , les bactéries étudiées est extrêmement sensible pour le contrôle positif (gentamycine).

Les résultats obtenu montrent que l'huile d'armoise blanche a un effet sur les bactéries *S. aureus* et *E. coli*, *Salmonella sp* d'autre part, Nous avons remarqué que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* est l'extrait le plus actif sur les bactéries *S. aureus* et *E. coli*. Bien que l'extrait aqueux ait un effet sur la bactérie *S. aureus* seulement.

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* à un effet important sur *E.coli* et *Salmonella sp*, qui sont inhibé avec des diamètres allant de 13.90 mm et de 13.94 mm respectivement. La bactérie *S. aureus* présente une zone d'inhibition de 16.48 mm, elle est très sensible à cette huile.

Cette activité antibactérienne spécifique des huiles essentielles pourrait être expliquée par les composants bioactifs des HE (effet synergique entre les composants). Ils agissent en particulier au niveau de la membrane et du cytoplasme, et dans certains cas, modifient complètement la morphologie des cellules (**Bouyahya et al., 2017**).

Les résultats obtenus des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* on révélé que les souches bactériennes à Gram négatif n'ont montré aucune zone d'inhibition ce qui est traduit par la résistance des souches à l'action des extraits. Alors que la bactérie *S. aureus* Gram+ sensible à cet extrait avec une zone de 14.47 mm.

Par contre les bactéries *S. aureus* et *E.coli* sont sensible vis-à-vis à les extraits éthanoliques de plantes testés avec un diamètre de 20,31 mm et 19,56 mm respectivement.

La différence de sensibilités aux extraits peut être attribuée à la nature chimique des extraits brute testés et en fonction de la souche bactérienne (**Kheyar et al., 2014**).

4.1.2. Méthode de dilution en milieu liquide

4.1.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Après la période d'incubation, on a remarqué l'apparition d'un aspect claire dans les puits de microplaques indique l'inhibition de la croissance bactérienne, et les autres puits montre un aspect trouble indique la croissance bactérienne.



Figure 24. Observation de aspect dans les puits de microplaques.

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats en CMI sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 11. CMI des extraits brute d'*Artemisia herba alba*.

Souches	CMI (mg/ml)		
	Huile	Extrait éthanolique	Extrait aqueux
<i>S. aureus</i>	25	50	100
<i>B E. coli</i>	12,5	50	100
<i>Salmonella sp</i>	6,25	/	/

Les extraits d'*Artemisia herba alba* sont révélés actifs envers les souches bactériennes testées mais avec des degrés différents ce qui s'est traduit par la différence des CMI.

On remarque un effet importante d'huile d'*Artemisia herba alba* sur les souches pathogènes étudiée, nous nous sommes inscrits la CMI 25 mg/ml ,12.5 mg/ml, 6.25 mg/ml pour *S. aureus* et *E. coli* et *salmonella.sp* respectivement.

Goudjil *et al.* (2015) ont étudié l'activité antimicrobienne d'l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*. Ils ont utilisé plusieurs souches dont *staphylocoques*, *Escherichia coli* et *salmonella* les résultats de CMI obtenus dans cette étude sont 0.16 mg/ml, 0.83 mg/ml et 0.25 mg/ml respectivement ces résultats sont inférieurs à nos résultats.

Les deux extraits (aqueux et éthanolique) possèdent la même CMI pour les souches *S. aureus*, *E. coli* avec une valeur de 50 mg/ml et 100 mg/ml respectivement ces résultats sont supérieur de la CMI de l'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia Campestris* qui déterminé par boudjouref (2011) qu'il obtient pour la souche *Escherichia coli* la CMI 0.5 mg/ml et de 1.8 mg/ml pour *S. aureus*.

4.1.2.2. Détermination de Concentration minimale bactéricide

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 12. CMB des extraits brute d'*Artemisia herba alba*.

Les souches	CMB (mg/ml)		
	Huile	Extrait éthanolique	Extrait aqueux
<i>S. aureus</i>	50	50	/
<i>E. coli</i>	25	100	/
<i>Salmonella sp</i>	25	/	/

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'effet bactéricide de l'huile d'armoise a été observé avec les trois souches testé avec 50 mg/ml pour *S. aureus* et 25 mg/ml pour *salmonella.sp* et *E.coli*.

Nos résultats de CMB de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* dépassent les résultats obtenu par Mighri *et al.*(2010) qui ont déterminé la CMB des composants chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*. thujone a montré une CMB de 5 mg /ml et 2.5 mg /ml contre *S. aureus* et *E.coli* respectivement. Cependant thujone a présenté une CMB de 2.5 mg /ml pour les deux bactéries. En revanche le mélange entre les deux composants (thujone - thujone) a montré une CMB de 1.5 mg /ml et 1.25 mg /ml contre *S. aureus* et *E.coli* respectivement. Le mélange (cineole-camphor- thujone - thujone) a révélé une CMB de 1.25 mg/ml pour *S. aureus* et 0.625 mg/ml pour *E.coli*.

L'extrait éthanolique a été montrés actifs contre *S. aureus* et *E.coli* avec une CMB de 50mg/ml et 100mg/ml respectivement.

Aucun effet bactéricide de l'extrait aqueux sur toutes les bactéries testé.

Les valeurs de la CMB et CMI confirment l'activité antibactérienne des extraits d'*Artemisia herba alba* observée vis-à-vis de ces souches testé.

CONCLUSION

Conclusion :

Nous rappelons que les objectifs de notre étude sont la valorisation de feuille d'*Artemisia herba alba* par l'utilisation ces extraits (huile, éthanolique, aqueux) comme agent antibactérien. Au cours de notre travail, nous avons pu dégager les conclusions suivantes :

Les résultats de l'étude d'extraction montrent que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par macération dans l'éthanol.

L'étude quantitative a révélé que cette plante est riche en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait éthanolique.

Pour l'activité antibactérienne *in vitro*, la méthode de l'aromatogramme et la méthode de dilution en bouillon nous avons permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et l'extrait éthanolique et aqueux d'*Artemisia herba alba* vis-à-vis des bactéries. Ce pouvoir diffère d'un extrait à l'autre.

Tandis que l'extrait aqueux il n'avait d'effet bactéricide contre les bactéries testé

On constate que les extraits phénoliques de la plante *Artemisia herba alba* sont bénéfiques Et efficaces contre les agents pathogènes qui causent différents types des intoxications alimentaires

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Afssaps.** Recommandations relatifs aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé , 2008.
- **TAYOU FILS M .(2007)** .Etude de l'hygiène dans la restauration commerciale moderne à Dakar thèse de doctorat :Médecine vétérinaire :Dakar ;faculté de médecine ,de pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar ,N°26(113 pages)
- **DIONE A. ,(2000)**,contribution à l'étude de la qualité bactériologique de quelques denrées alimentaire d'origine animale commercialisées sur le marché Dakarois .Thèse de doctorat :Médecine vétérinaire :Dakar ;Faculté de Médecine et de pharmacie de Dakar N°30(149 pages)
- **Ghast .M et Martine . G (2015)** :Réinventer son alimentation en 300 recettes ,paru le 8 avril 2015 :Edition du Chêne pages 8-18 (384 pages) .
- **Faure .E (1999)** :Les intoxications alimentaires ,caducee.net,(en ligne)le décembre 1999,disponible sur :
 - <https://www.caducee.net/Dossiers> spécialisés /nutrition/intoxication-alimentaire .asp
- **Sousa .A(2017)** : Intoxications alimentaires :causes et symptômes ,Doctissimo nutrition (en ligne) le 08 septembre2017 :disponible sur :
 - https://www.doctissimo.fr/html/nutrition/mag_2004/mag0514/nu_7745_intoxication
- **Roxane veilleux .K(2012)** :intoxication (toxi-infection)alimentaire : causes, symptômes et traitement ,maigrir sans faim (en ligne) le 23 aout 2012 ,disponible sur
 - <https://maigrirsansfaim.com/intoxication-toxi-infection-alimentaire-causes-symptomes-et-traitement/>
- **ANSES(2011)** :agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement ,travail(en ligne) .disponible sur : www.anses.fr/
- **Le loir Y.& Gautier M.(2009)**,staphylococcus aureus ,collection : Monographies de microbiologie, paru le 12/2009 Edition technique & Doc Lavoisier. Page 82-104(279 pages)
- **Birembaux J.(2017)** :conseils à l'officine :prévention des infections alimentaires chez les populations à risques .Thèse de doctorat : pharmacie ,Lille France ,Faculté des sciences pharmaceutiques et Biologiques de Lille N°38,page 17 (37 pages)
- Lavent .S(2016) :Staphylocoque doré ,une vilaine bactérie ,femme actuelle ,(en ligne) le 04/05/2016 :disponible sur :
 - <https://www.femmeactuelle.fr/santé/santé-pratique/staphylocoque-dore-23972>
- **Sousa .A (2017)** :Salmonellose et grossesse :gare aux salmonelles, Doctissimo grossesse ,(enligne)le 02/08/2017 :disponible sur
 - https://www.doctissimo.fr/html/nutrition/securite/nu_4283_oeufs_lait_intox.htm
- **OMS(2018)** :organisation mondiale de la santé (en ligne) le 23/01/2018 :
 - <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>
- **Lahmame S et OMARI A** : Intoxication Alimentaires d'origine bactérienne (2018)
- **Nabli Ma.** Essai de synthèse sur la végétation et la phytoécologie tunisiennes.Tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis), 1989 ; 186-188 p.
- **Akrout A., H El-Janil., S Amouri & M Neffati .** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisia campestris L,Artemisia herba alba Asso & thymus capitatus Hoff and Link Growing wild in the southern of Tunisia. Rec Res Sci Tech, 2010; 2: 29-39.
- **Akrout, Ahmed.** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des régions arides. 2004, p 289-292.
- **Messai L.** Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'Est algérien (Artemisia herba alba). Thèse de Doctorat. Université de Constantine,2011.
- **Mighri H., H Hajlaoui., A Akrouit., H Najjaa., M Neffati.** Antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia herba-alba essential oil cultivated in Tunisian arid zone. C R Chim. 2010; 13: 380–386.
- **Aidoud A .** Contribution à l'étude des écosystèmes steppiques du sud 3 ème cycle. Université des sciences et technologie Houari Boumediene. Alger, 1983.
- **Aidoud.A.** Les écosystèmes Armoise blanche (Artemisia herba

- alba Asso). II: Phytomasse et productivité primaire. Biocénoses, 1989 ; 1-2 : 70-90.
- **Ayad N., Djennane A., Ayache H., et Hellal B.** Contribution à l'étude de L'implantation de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* » dans la steppe du Sud de Tlemcen. Revue Ecologie- Environnement. 2013.
 - **Bouraoui N., Lafi B.** Plantes médicinales dans les traitements traditionnels (fréquence d'utilisation, formes de préparation et pathologies traitées).Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine. Ecole supérieure des sciences et techniques de la santé. Tunis, 2003.
 - **Boutayeb Abdelilah.** Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales. Thèse de licence.Université Ibn Tofail.2013.
 - **Boullard B.** Plantes médicinales du monde. Réalités et croyances.Dictionnaire. Edition ESTEM. 2001 ; Pp. 129-131
 - **Friedman J., Yaniz Z., Dagni A.,** Pale witch D. A preliminary classification of the healing potential and medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among bedouins in the negev desert. Israel. J. Ethnopharmacol. 1986; 16 (2-3): 275-87
 - **Hassania K., Bencheqroun Mohamed .,** Ghanmi Badr., Satrani Abderrahman ., Aafi et Abdelaziz Chaouch. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc ,2012.
 - **Mahmoudi S., Khali M., et Mahmoudi N.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). Nature et Technologie. 2013 ; 09 : 35-40.
 - **Messai L.**Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'Est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat. Université de Constantine,2011.
 - **Mighri H., H Hajlaoui., A Akrouit.,** H Najjaa., M Neffati. Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. C R Chim. 2010; 13: 380–386.
 - **Viaud H.** Les huiles essentielles, qualité distillation. GNOMA. Revue électronique. 1993.
 - **Messai L. 2011.** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'Est algérien(*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat, Constantine. p 95.
 - **Kheyar N., Meridja D., & Belhamel K. 2014.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Natural Product 2 (1) 18-26.
 - **Goudjil, M. B., Ladjel, S., Bencheikh, S. E., Zighmi, S., & Hamada, D. 2015.** Chemical compound profile, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the *Artemisia herba-alba* of Southern Algeria. Int. J. Biol. Chemistry 9 : 70-78.
 - **Abdel-Hamied A. A., Nassa A.G.,El-Badry N.2009.** Investigations on antioxidant and antibacterial activities of some natural extracts. World Dairy Food Sci. 4:1-7.
 - **Dalal M et Oumhani S :** Etude de l'activité antibactérienne d '*Artemisia herba alba* de la région (El-kantara) en vue de son utilisation comme bioconservateur dans le lait cru de vache,(2019).

Annexes

Annexe 1 Polyphénols

Solutions de

travail

- Folin-Ciocalteu dilué

1ml du réactif dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter au trait de jauge avec l'eau distillée.

- Na_2CO_3 à 7.5%

7.5 g dans 100 ml d'eau distillée.

- Solution

d'extrait à 1

mg/ml 5mg

dans 5 ml

d'éthanol.

- L'acide gallique

2.5 mg dans 10ml d'éthanol.

Annexe 2

Solutions de travail

(AlCl_3) à 2%*

2 g dans 100ml d'eau distillée.

- Solution

d'extrait à 1

mg/ml 5mg dans

5 ml d'éthanol.

- la quercitrine

3 mg dans 10ml d'éthanol.

Annexe 3 principales matériels et produits utilisés :

Matériels et appareillages	Milieux de culture	Solvants et réactif utilisés
<p> Autoclave Rotavapor Burette à robinet Étuve Agitateur plaque-chauffante Vortex Réfrigérateur Bec bunsen Tubes à essai Boîtes de Pétri Ecouvillons Micropipettes Disques Papiers Wattman Burette à robinet Pipettes pasteur Anses de platine Pince Instrument pied à coulisse Spatule Becher-Celvenger Erlenmeyer Papier filtre pH-mètre Spectrophotométrie- </p>	<p> BMH Gélose nutritif (GN)PCA Gélose MH </p>	<p> Eau distillé Eau physiologique DMSO 10% Éthanol Folin- Cioalceu chlorure d'aluminium (AlCl3) la solution de la soude à 0.1N phénol phtaléine 1 % </p>