

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université M'Hamed Bougara-Boumerdes
Faculté des sciences
Département de Biologie



MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité: Biotechnologie microbienne

Thème :

Criblage phytochimique, activité antimicrobienne et activité antibiofilm des extraits végétaux récupérés à partir d'*Artemisia campestris* (Linné).

Présenté et réalisé par: *Mlle.* HOCINE Lydia

Mlle. TAKOUCHE Amel

Les membres du jury:

***M me* SAYAH Amna**

Maitre-assistant(UMBB)

Président

***M me* BEHIDJ Nassima**

Professeur (UMBB)

Promoteur

***M lle* BENSOUNA Salma**

Doctorante

Co-promoteur

***M me* KHEMILI Souad**

Professeur (UMBB)

Examineur

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est sans l'aide d'ALLAH qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous remercions nos parents pour leurs soutiens durant notre parcours de formation.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mme Behidj N, Professeur à l'université M'Hamed Bougara-Boumerdes pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé pour permettre réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme Sayah A, maitre-assistant à l'université M'Hamed Bougara-Boumerdes d'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens également mes vifs remerciements à Mme Khemili S, Professeur à l'université M'Hamed Bougara-Boumerdes pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

J'exprime mes remerciements à Melle Bensouna Salma Nadjat Doctorante à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour ces précieux conseils.

Un grand merci à Melle Sihem, ingénieur de laboratoire au niveau du S15 de la Faculté des Sciences pour sa disponibilité et son soutien.

Un immense merci au personnel des laboratoires de microbiologie et de Substances Naturelles du Centre de Recherche et de Développement (SAIDAL) qui nous a été d'une grande aide durant la période de pratique.



Dédicace

À mes chers parents

À mes frères

À toute ma famille

À mes amis et mes collègues

À tous ceux qui aiment la science

Amel TAKOUCHT

Dédicace

A mes chers parents

*A mes frères et ma sœur pour tant de confiance,
de solidarité, et pour leur encouragement.*

*A tous mes amis, pour une sincérité si
merveilleuse.*

*A toute personne, qui m'a aidé à franchir un
horizon dans ma vie....*

Lydia HOCINE

Sommaire**Résumés****Liste des figures****Liste des tableaux****Liste des Abréviations****Introduction1****Chapitre I : Etude bibliographique****I.1 étude botanique**

I.1.1. Généralités sur les Astéraceae.....	3
I.1.2. Présentation du Genre <i>Artemisia</i>	3
I.1.3. Présentation d' <i>Artemisia campestris</i>	3
I.1.4. Noms vernaculaires.....	4
I.1.5. Description botanique.....	4
I.1.6. Systématique	5
I.1.7. Habitat et Distribution	5
I.1.8. Utilisation en médecine traditionnelle.....	5

I.2. Métabolites secondaires

I.2.1. Définition	6
I.2.2. Fonction des métabolites secondaires	6
I.2.3. Classification des métabolites secondaires	6
I.2.4. Les polyphénols	6
I.2.4.1. Flavonoïdes	7
I.2.4.1.1. La structure des flavonoïdes.....	7
I.2.4.1.2. Localisation et distribution	8
I.2.4.1.3. Les principales classes de flavonoïdes	8
I.2.4.1.4. Activités biologiques des flavonoïdes.....	11
a- Activité antioxydant.....	11
b-Activité antibactérienne.....	12
c- Effets antiallergiques	12
d- Autres activités des flavonoïdes.....	13
I.2.4.2. Les tanins.....	13

I.2.4.2.1. Localisation et distribution	13
I.2.4.2.2. Classification	13
a. Tanins galliques ou hydrolysables	13
b. Tanins condensés.....	14
I.2.4.2.3. Utilisation des tanins	15
I.2.4.3. Les quinones	15
I.2.4.4. Anthraquinones	16
I.2.4.5. Terpènes.....	16
I.2.4.6. Coumarines	17
I.2.4.7. Alcaloïdes.....	17
I.2.4.8. Stérols.....	17
I.3. Activités biologiques d'<i>Artemisia campestris</i>	
I.3.1. Activité antimicrobienne	18
I.3.1.1. Activité antibactérienne	18
I.3.1.2. Activité antifongique	20
I.3.1.3. Activité antibiofilm.....	21
I.3.2. Activité antioxydante.....	23
I.3.3. Activité néphroprotectrice.....	23
I.3.4. Activité neuroprotectrice.....	24
I.3.5. Activité de protection Gastro-œsophagien.....	24
I.3.6 : Activité anti-hyperlipidémique.....	24
I.3.7. Activité antidiabétique.....	25
I.3.8. Activité Antihypertenseur.....	25
I.3.9. Activité anti-inflammatoire.....	25
Chapitre II : Matériel et méthodes	
.	
II.1. Objectif	26
II .2. Matériel	
II.2.1. Matériel biologique	
II.2.1.1. Matériel végétal.....	27
II.2.1.2. Les souches microbiennes.....	27
II.2.2. Matériel non biologique.....	28

II.3. Méthodes

II.3.1. Récolte de la matière végétale

II.3.1.1. Zones de récolte de plantes étudiée.....	28
--	----

II.3.2. Conservation et séchage de la plante.....	29
---	----

II.3.3. La poudre végétale (broyage).....	29
---	----

II.3.4. Screening phytochimique.....	30
--------------------------------------	----

II.3.4.1. Préparation de l'infusé	30
---	----

II.3.4.2. L'extrait éthanolique.....	30
--------------------------------------	----

II.3.4.3. Les alcaloïdes.....	30
-------------------------------	----

II.3.4.4. Les tanins.....	31
---------------------------	----

II.3.4.5. Les flavonoïdes.....	31
--------------------------------	----

II.3.4.6. Stérols et tri terpènes.....	31
--	----

II.3.4.7. Les saponosides.....	32
--------------------------------	----

II.3.4.8. Les huiles essentielles.....	32
--	----

II.3.4.9. Les glucosides.....	32
-------------------------------	----

II.3.4.10. Recherche des coumarines.....	32
--	----

II.3.5. Extraction par Soxhlet.....	32
-------------------------------------	----

II.3.5.1. Protocole d'extraction par Soxhlet.....	33
---	----

II.3.5.2. Calculer du rendement.....	34
--------------------------------------	----

II.3.6. Activité antimicrobienne

II.3.6.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	35
---	----

II.3.6.2. Principe.....	35
-------------------------	----

II.3.6.3. Revivification des souches microbiennes.....	35
--	----

II.3.6.4. Préparation de l'inoculum.....	36
--	----

II.3.6.5. Préparation de la première couche.....	36
--	----

II.3.6.6. La préparation de la deuxième couche.....	36
---	----

II.3.6.7. Préparation des extraits.....	37
---	----

II.3.6.8. Préparation des disques.....	37
II.3.6.9. Lecture.....	38
II.3.6.10. Analyse statistique.....	38
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III .1. Rendement de l'extraction	39
III .2. Screening phytochimique des métabolites secondaires.....	40
III .3: Activité antimicrobienne	
III.3.1 : Activité antibactérienne	44
III.3.2: Activité antifongique.....	51
Conclusions et perspectives.....	54
Références bibliographiques	
Annexes	

Résumé

La présente étude est consacrée à l'étude du criblage phytochimique et aux effets antibactérien et antifongique d'*Artemisia campestris* récoltée à Djelfa. *Artemisia campestris* est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracée. Cette espèce connue sous le nom de Tgouft est très répandue dans le sud algérien. L'extrait organique a été obtenu par la méthode de Soxhlet en utilisant comme solvant organique l'éthanol. Le rendement respectif est de 10,75%. Le criblage phytochimique préliminaire réalisé sur cette plante révèle la présence des tanins Simples, cathéchiques et galliques et des flavonoïdes présentés par les flavones, les flavonoides libres. On peut citer aussi les leucoanthocyanes, les cathéchiques et les anthocyanes qui sont majoritairement retrouvés. Remarque la présence des stérols, des tri terpènes, des saponines, des huiles essentielles avec des glycosides et des Coumarines. Il est à noter l'absence totale des flavonones. L'activité antibactérienne d'extrait éthanolique est testée via la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis des souches bactériennes à Gram positif comme *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et Gram négatif tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. L'extrait éthanolique d'*A. campestris* a manifesté un pouvoir antibactérien envers toutes les souches bactériennes testées, mais avec des degrés différents. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 25 à 10mm. Les résultats de l'activité antifongique ont montré que l'extrait est actif sur les deux souches *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*, soit des diamètres de zones d'inhibition allant de 25 à 9 mm.

Mots clés: Asteraceae, *Artemisia campestris*, extrait éthanolique, L'activité antibactérienne, l'activité antifongique, criblage phytochimique.

Abstract

The present study is devoted to the study of phytochemical screening and the antibacterial and antifungal effects of *Artemisia campestris* collected in Djelfa. *Artemisia campestris* is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family. This species known under the name of Tgouft is very widespread in the Algerian south. The organic extract was obtained by the Soxhlet method using ethanol as an organic solvent. The respective yield is 10.75%. The preliminary phytochemical screening carried out on this plant reveals the presence of the Simple, cathechic and gallic tannins and of the flavonoids presented by the flavones, the free flavonoids. Mention may also be made of leucoanthocyanins, catechols and anthocyanins which are mainly found. note the presence of sterols, tri terpenes, saponins, essential oils with glycosides and Coumarins. It should be noted the total absence of flavonones. The antibacterial activity of ethanolic extract is tested via the disk diffusion method against Gram positive bacterial strains such as *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and Gram negative such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* Ethanolic extract of *A. campestris* showed antibacterial power against all bacterial strains tested, but to varying degrees. The diameters of the zones of inhibition vary from 25 to 10mm. The results of the antifungal activity showed that the extract is active on the two strains *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*, ie diameters of zones of inhibition ranging from 25 to 9 mm.

Keywords: Asteraceae, *Artemisia campestris*, ethanolic extract, Antibacterial activity, antifungal activity, phytochemical screening

الملخص

الدراسة الحالية مكرسة لدراسة الفحص الكيميائي النباتي والتأثيرات المضادة للبكتيريا والفطريات *A. campastris* التي تم جمعها من الجلفة. *A. campestris* هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Astraceae تنشر هذا النوع المعروف في جنوب الجزائر ، وقد تم الحصول على المستخلص العضوي بطريقة Soxhlet استخدام الإيثانول كمذيب عضوي. العائد هو 10.75%.

يكشف الفحص الكيميائي النباتي الأولي الذي تم إجراؤه على هذا النبات عن وجود العفص البسيط والقشطي والغاليكي والفلافونويدات التي تقدمها مركبات الفلافون والفلافونويد الحرة. يمكن الإشارة أيضاً إلى الليوكوانثوسيانين ، والقسطرة ، والأنثوسيانين التي توجد أساساً. لاحظ وجود ستيروول ، ثلاثي تربين ، صابونين ، زيوت عطرية مع جليكوسيدات وكومارين. وتجدر الإشارة إلى الغياب التام للفلافونونات. يتم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي من خلال طريقة نشر القرص ضد السلالات البكتيرية GRAM positif مثل *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* GRAM négatif مثل *Pseudomonas aeruginosa* و *E. coli*

المستخلص الإيثانولي *A. campestris* الذي أظهر قوة مضادة للبكتيريا ضد جميع السلالات البكتيرية المختبرة ، ولكن بدرجات مختلفة. تختلف أقطار مناطق التثبيط من 25 إلى 10 مم

أظهرت نتائج النشاط المضاد للفطريات أن المستخلص نشط في كلا السلالتين *Candida albicans* و *Saccharomyces cerevisiae* بأقطار مناطق التثبيط تتراوح من 25 إلى 9 مم

الكلمات المفتاحية : المستخلص الإيثانولي ، النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط المضاد للفطريات ، الفحص الكيميائي النباتي *Artemisia campestris* ، Asteraceae

Liste des abréviations

ATB. Antibiotique

AChE : l'acétylcholinestérase sérique

Artemisia campestis : *A. campestis*

ATCC: American type culture collection

CAT : catalase

CIP : Ciprofloxacin

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CZ : Céfazoline

C : Chloramphénicol

DMSO: Diméthyl sulfoxyde

Et *al* : Et autres auteurs

FeCl₃ : Chlorure de fer III

GSH-Px : glutathion peroxydase

HCl : Acide chlorhydrique

H₂SO₄ : Acide sulfurique

I : Intermédiaire

MH: Mueller Hinton agar

NA : Ac. nalidixique

OMS : Organisation mondiale de la sante

K : Kanamycine

R : Résistance

S : Sensibilité

S : Streptomycine

SOD : la superoxydedismutase

TBARS : acide thiobarbiturique

TEC : Tétracycline

Liste des figures

Figure 1: Aspects morphologiques de l'espèce <i>Artemisia campestris</i> L.	4
Figure 2: Structure générale des flavonoïdes.	7
Figure 3: Structure de base des différentes classes des flavonoïdes.....	9
Figure 4: structure générale d'un chalcone.....	10
Figure 5: Piégage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes.....	11
Figure 6: Exemples d'ellagitannins chez une espèce halophyte.....	14
Figure 7: Classification des tanins.....	14
Figure 8: Structure chimique des quinones.....	15
Figure 9: Structure chimique des anthraquinones.....	16
Figure 10: Représentation des principales bactéries impliquées dans les maladies.....	18
Figure11: Etapes de formation du biofilm.....	21
Figure 12: Objectifs généraux de notre étude.....	26
Figure 13: photo d' <i>A.campestris</i> L.....	27
Figure 14: Situation géographique de la wilaya de Djelfa.....	29
Figure 15: Poudre d' <i>A.campestris</i> (Originale).....	30
Figure 16 : Schéma illustrant l'extraction à chaud (L'appareil de Soxhlet).....	34
Figure 17: Montage de l'évaporateur rotatif.....	34
Figure18: Principe de d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : Systématique d' <i>Artemisia campestris</i>	5
Tableau 02 : microorganismes testés.....	28
Tableau 03 : Identité des plantes étudiées.....	29
Tableau 04: les antibiotiques de synthèses.....	37
Tableau 05 : La couleur, l'aspect et le rendement d'extraction de la partie aérienne d' <i>A.campestris</i>	39
Tableau 06: Présente les résultats de screening phytochimique par réaction de coloration/précipitation de plante étudiée.....	40
Tableau 07: Antibiogramme des souches bactériens exprimé par le diamètre d'inhibition en millimètre.....	45
Tableau 08 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait d' <i>A.campestris</i>	47
Tableau 09: Activité antibactérienne des extraits d' <i>A.campestris</i> exprimée en concentration minimale inhibitrice (mg/ml).....	49
Tableau 10 : Les résultats d'évaluation de l'activité antifongique.....	51

Introduction

Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**O.M.S, 2002**). 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**).

Les ressources végétales spontanées constituent jusqu'à ce jour une source d'intérêt primordial pour l'Homme et ses besoins. Elles représentent aussi un phytomédicament appréciable par la population de certains pays du Monde et surtout les pays en voie de développement (**Tabuti et al., 2003**).

En Afrique, la médecine traditionnelle contribue à la satisfaction des besoins en matière de santé de plus de 80% de la population (**Rukangira, 1997**). Ces ressources comptent environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Quyoun., 2003; Benkhniq et al., 2011**).

Le Sahara, le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde, possède dans sa partie Nord, le Sahara septentrional une végétation diffuse et clairsemée (**UNISCO, 1960 ; Ozenda, 1991**).

L'état de la flore spontanée dans cette zone ainsi que les relations entre l'Homme et les espèces végétales, méritent une attention particulière.

Plusieurs plantes sahariennes, fréquemment utilisées dans la pharmacopée traditionnelle se sont vues reconnaître un effet thérapeutique au cours des siècles. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'études phytochimiques et ont abouti à l'isolement et l'identification de principes actifs (**Moussaoui et al., 2010 ; Babaamer et al., 2012 ; Sekkoum et al., 2014**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. 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 campestris*. Cette plante est largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée...etc. Elle a constitué le sujet de plusieurs études qui ont déterminé leurs compositions chimiques (**De Pascual et al., 1984 ; Rauter et al., 1989 ; Joao et al., 1998 ;**

Akrout et al., 2001). Elle est aussi employée pour ses propriétés biologiques comme les études de **Memmi et al., (2007), de Sefi et al., (2010) et Akrout et al., (2011).**

Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche sur les plantes médicinales, nous nous sommes intéressées à l'étude d'*Artemisia campestris*

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres. D'abord le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les métabolites secondaires et leurs activités biologiques. Ensuite, le deuxième chapitre détaille le matériel ainsi que les méthodes utilisées. Le troisième chapitre donne tous les résultats obtenus, ainsi que leurs discussions. Enfin, ce travail est terminé par une conclusion.

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1. Étude botanique

I.1.1. Généralités sur les Astéraceae

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur.

Les Asteraceae anciennement appelées composées appartiennent aux dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 sont endémiques. C'est la famille la plus importante des Angiospermes. Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues, rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes (**Yuan et al., 1992**). Selon **Abad et al., (2012)**, cette famille est l'une des plus grandes familles des Astéracées. Elle englobe environ 1000 genres et plus de 20000 espèces. Parmi ces genres, on a *Artemisia*, *Santolina*, *Centaurea*, *Chrysanthemum*...etc (**Dob et Benabdelkadar, 2006**)

Cette famille présente des caractères morphologiques divers. On a des herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues (**Junich et al., 1994**). Bien que généralement, il s'agit de plantes herbacées à feuilles isolées. L'aspect de l'appareil végétatif est trop variable pour caractériser les Asteraceae sur ce seul critère. En revanche, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques à savoir le capitule.

I.1.2. Présentation du Genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* regroupe plusieurs petites herbes et arbustes (**Abad et al., 2012**). Il comprend un grand nombre d'espèces. Il est à noter qu'environ 400 espèces se trouvent dans la partie nord du globe (**Salido et al., 2004**).

En Algérie, environ onze espèces d'*Artemisia* peuvent être trouvées (**Quezel et Santa, 1962 ; Boukhalkhal et al., 2018**). Selon **Tutin et al. (1976)**, le genre peut être divisé en deux sections, *Artemisia* et *Dracunculus*. Historiquement, ce genre est connu pour sa richesse en composés biologiquement actifs. Ainsi, les recherches phytochimiques ont prouvé que ce genre contient principalement les monoterpènes et sesquiterpène (**Tange et al., 2000; Houari et Ferchichi, 2009; Akrouit et al., 2010**).

I.1.3. Présentation d'*Artemisia campestris*

A. campestris est un arbuste permanent à peine aromatique (**Chalchat et al., 2003**). D'après **Tutin et al. (1976)**, c'est une espèce polymorphe et qui peut se trouver avec six sous-espèces distinguées par des données morphologiques et caryologiques. On a *Artemisia campestris* ssp. *Campestris* L., ssp. *Glutinosa* (Gay ex Besser) Batt., ssp. *maritima* Arcangeli, ssp. *borealis* (Pallas) Hall et Clements. (**Dib et al., 2017**)

I.1.4. Noms vernaculaires

En Algérie, *Artemisia campestris* est connue souvent sous le nom « Dgouft » (Dob et al., 2005). Elle est aussi appelée « Alala », « Tadjok » (Quezel et Santa, 1962). Son nom en Anglais est « Field wormwood » (Juteau et al., 2002).

I.1.5. Description botanique

Artemisia campestris L. (Figure1) est un sous- arbrisseau vivace, pouvant atteindre 30-150 cm de hauteur, avec des tiges ramifiées et ascendantes formant une panicule. Aussi, elles sont habituellement brunes à rouge et elles ont une forme lignifiée dans la partie inférieure et pubescente au sommet (Quézelet Santa, 1962; Chalchat et al., 2003). Les feuilles sont vertes, soyeuses quand elles sont jeunes, souvent glabrescentes à maturité. Ainsi, les feuilles basales sont 2-3 pinnatiséquées, pétiolées ou même auriculées. Tandis que, les supérieures sont les plus simples (Quézeletsanta, 1962; Chalchat et al., 2003). La plante a une inflorescence composée. La capitule est ovoïde et hétérogame. En outre, elle contient 8 à 12 fleurs, organisées sur un réceptacle convexe et glabre, et entourée de bractées organisées en plusieurs rangs. Les fleurs de rayon sont femelles, pistillées et fertiles. Tandis que, les fleurs de disque sont stériles et fonctionnellement mâles avec des ovaires avortés réduits (Quézel et Santa, 1962 ; Ouyahya, 1990). Les fleurs mâles sont tubulaires, jaunâtres, dépourvues de calice, avec 5 pétales fusionnées et 5 étamines fusionnées, avec la présence de sacs sécrétoires sur les lobes de la corolle des fleurs en disque (Minami et al., 2010). Le fruit est akène ovoïde dépourvu de pappus (Kreitschitz et Vallés, 2007).

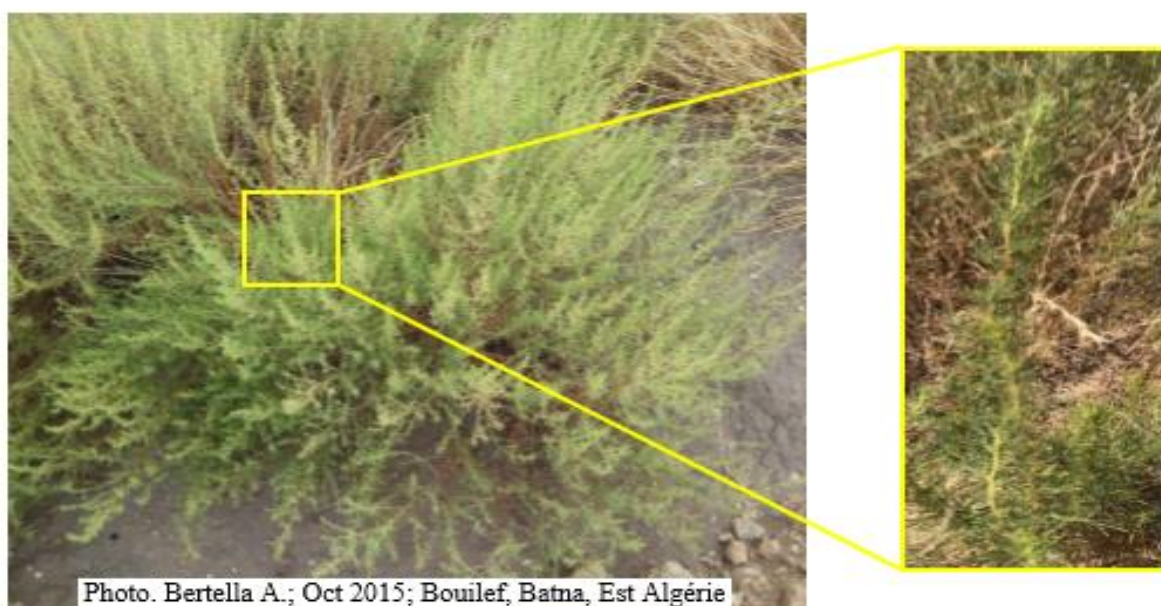


Fig. 1: Aspects morphologiques de l'espèce *Artemisia campestris* L.

I.1.6. Systématique

D'après **Quezel et Santa, (1962) et Dupont (2004)**, la classification d'*Artemisia campestris* L. dans la systématique est la suivante

Tableau 1: Systématique d'*Artemisia campestris*.

Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Asteridées
Ordre	Asterales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia campestris</i> L.

I.1.7. Habitat et Distribution

Géographiquement, *Artemisia campestris* L. prédomine dans les régions arides des pays d'Afrique du Nord (**Noumi et al., 2010**) comme le Maroc (**Fakckich et Elachaoui, 2014**), l'Algérie (**Rebbas et Bounar, 2014**), la Tunisie (**Kawada et al., 2012 ; Saadaoui et al., 2014**) et la Libye (**El-Mokasabi, 2014**). Elle pousse dans les prairies sèches et riches en bases dans une grande partie de l'Europe centrale et méridionale (**Pirini Chrisoula et al., 2014**). Elle est considérée comme une plante rudérale, dans les terres sèches et perturbées du sud de l'Espagne (**Salinas et Guirado, 2002**). Elle accompagne la végétation dominante des prairies xérophiles en République Tchèque (**Novak et Konvicka, 2006**) et pousse sur des sols graveleux près des rivières Tammaro et Calore en Italie (**Guarino et al., 2008**). Tandis qu'au Japon, elle pousse à l'état sauvage le long des côtés des îles Ryukyu (**Minami et al., 2010**). Elle représente l'indigène interdite qui persiste dans les sites de référence des dunes restaurées dans le grand lac en Amérique de Nord (**Emery et Rudgers, 2010**).

I.1.8. Utilisation en médecine traditionnelle

Artemisia campestris L. Possède de nombreuses propriétés pharmacologiques qui couvrent un large éventail d'utilisations notamment en tant qu'antioxydant, antifongique, insecticide, antibactérien, antimutagène, antitumoral, anthelminthique, antihypertenseur (**Dib et al., 2017a**), antivenin, anti-inflammatoire et antirhumatismale (**Akrout et al., 2001**). Dans la

médecine populaire arabe, *A. campestris* L. a été utilisé aussi comme fébrifuge, vermifuge, anticancéreux, contre les troubles digestifs, l'ulcère gastrique et les douleurs menstruelles (**Do et al., 2005; Djeridane et al., 2007**). L'infusion, la macération et la décoction des feuilles et des fleurs d'*A. campestris* L. étaient souvent les modes de préparation pour l'administration orale (**Sefi et al., 2010**).

I.2. Métabolites secondaires

I.2.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles à savoir les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002; Abderrazak et Joël, 2007**).

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité. Il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique (**Vermerris, 2006**).

I.2.2. Fonction des métabolites secondaires

Ils ont des fonctions très différentes, par exemple la protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores et l'attraction des pollinisateurs. Ils participent aussi à des réponses allélopathiques à savoir la compétition entre les plantes pour la germination et la croissance. Ainsi, ils possèdent des molécules très utiles pour l'Homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, et drogues. (**Swain 1973**)

I.2.3. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans le processus de croissance et de développement. Mais, ils remplissent d'autres fonctions toutes aussi importantes pour la plante. On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux

On peut identifier les composés azotés tels que les alcaloïdes, comme les bétalaïnes, les acides aminés non protéinogènes. On peut noter les composés phénoliques à savoir les polyphénols, les flavonoïdes et les stilbènes et enfin, les terpénoïdes contenues dans les huiles essentielles. (**Harborne, 1983**).

I.2.4. Les polyphénols

Les polyphénols sont des composés organiques ayant la caractéristique d'avoir un groupement aromatique porteur de plusieurs fonctions hydroxyles. Les substances phénoliques ont tendance à être solubles dans l'eau. Ils sont le plus souvent combinés avec des sucres et ils sont généralement situés dans la vacuole des cellules végétales (**Harborne, 1967**).

Ils jouent un rôle d'antioxydants naturels qui leur confèrent un intérêt médicinal pour le traitement de certaines maladies telles que, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et certains cancers (**Dufresne et Farnworth., 2001**). Parmi les classes de polyphénols, on compte principalement les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins.

I.2.4.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (**Bruneton, 2015**).

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (**Stöckigt et al., 2002**) et leur nombre ne cesse d'accroître.

I.2.4.1.1. La structure des flavonoïdes

De Rijke et al., (2006) notent que les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure en C6-C3-C6 du diphenylpropaneles trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B formant généralement un hétérocycle oxygéné C (Figure 2)

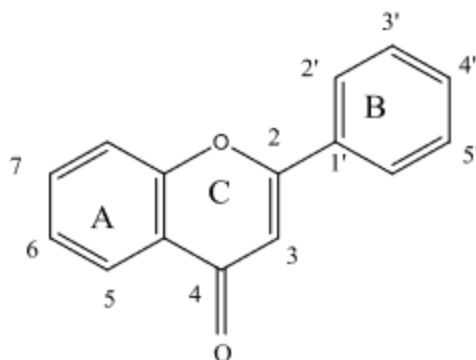


Fig.2: Structure générale des flavonoïdes. (**Di Carlo et al., 1999**).

La numérotation des carbones vise à expliquer la dénomination de la structure C6-C3-C6. De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre. Dans ce cas, ils sont dits aglycones. On les distingue aussi sous forme de C- ou O-glycosides. A ce niveau, ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose et l'arabinose. Ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (**Dacosta, 2003**). Les flavonoïdes sont subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont les flavones, les isoflavandiol, les flavanols, les flavandiols, les aurones, les chalcones et les anthocyanins (**Effendi et al., 2008**).

I.2.4.1.2. Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal et ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (**Medic et al., 2003**).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (**Bruneton, 1999**).

I.2.4.1.3. Les principales classes de flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement distribués dans les plantes sous forme de 9 classes principales à savoir les flavones, les flavonols, les flavonones, les flavononols, les flavanols, les anthocyanidines, les isoflavones, les neoflavone et les chalcones. Toutefois, certaines classes sont plus majoritairement distribuées telles que les flavanols, les flavones et les chalcones (Figure 3). Tandis que, les isoflavones et les autres classes sont minoritaires (**Harborne, 1967**).

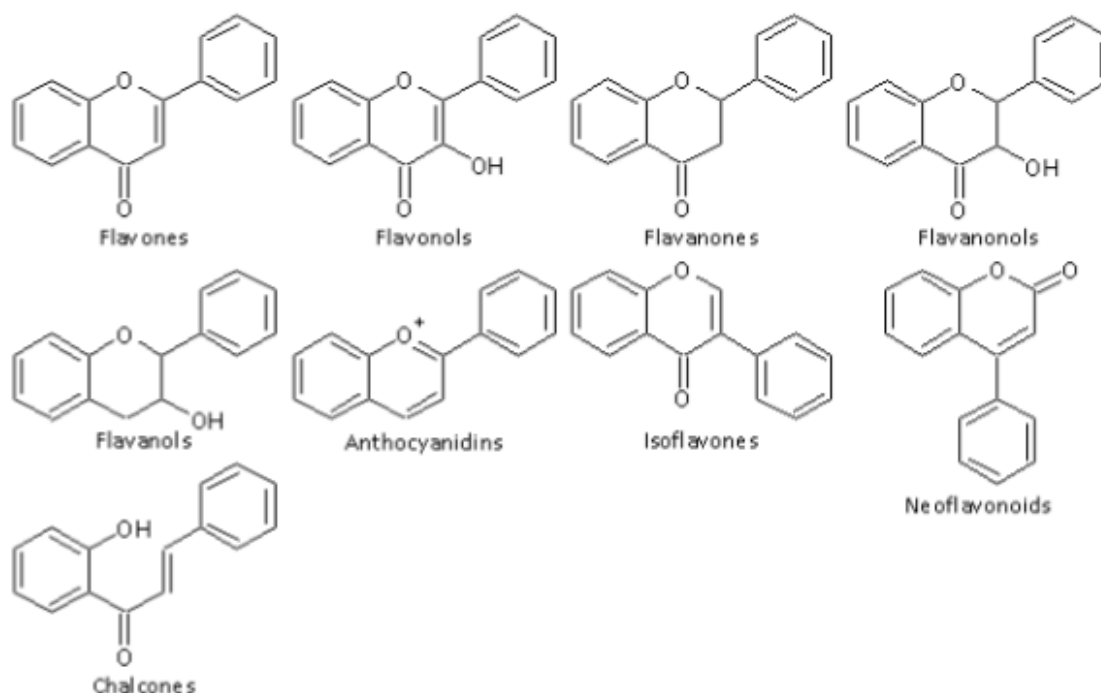


Fig. 3 : Structure de base des différentes classes des flavonoïdes (Nijveldt et al., 2001)

a. Flavonoïdes au sens strict

Flavones ou flavonols, il s'agit des composés les plus nombreux de ce groupe. Dans ces molécules, le cycle A est dans 90% des cas substitué à deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés, l'un d'entre eux peut être engagé dans une liaison hétérosidique (Bruneton, 2015).

Le cycle B est substitué dans 80% des cas en C4'. Les substituants sont des groupes –OH ou –OCH₃ (Bruneton, 2015). Les flavones et les flavonols, ainsi que leurs hétérosides sont universels. Mais certains schémas de substitution sont spécifiques à certaines familles.

Flavanones et dihydroflavonols, ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2,3 et par la présence de centres d'asymétrie (Bruneton, 2015). Chez les flavanones naturelles, le C2 est de configuration 2S. Alors que les dihydroflavonols sont de configuration 2R, 3R, le phényle et l'hydroxyle étant en position trans.

b. Chalcones, aurones

Les chalcones dépourvues de l'hétérocycle central sont caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné, cétonique, α , β -insaturé (Ferrazzano et al., 2011). Si les substitutions sur le noyau A sont souvent identiques à celles des autres flavonoïdes, le noyau B est fréquemment monosubstitué ou non substitué. Les aurones sont caractérisées par une structure

de 2 benzylidènocoumaranone (**Bruneton, 2015**). la figure4 présente la structure générale d'un chalcone

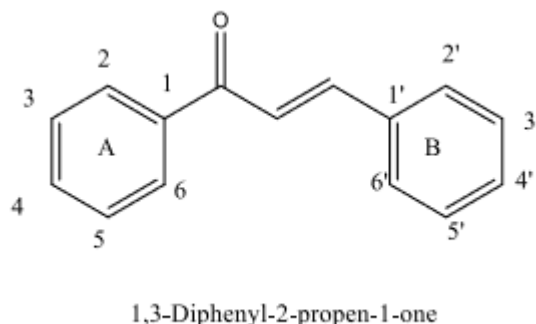


Fig.4 : structure générale d'un chalcone (**Nijveldt et al., 2001**)

c. Les autres flavonoïdes

c.1. Anthocyanosides

Ce sont les pigments les plus répandus chez les plantes vasculaires (**Castañeda et al., 2009**). Ils sont responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits (**Wu et al., 2006**). Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavylium » généralement glucosylé en position C3. Les génines sont alors dits anthocyanidols et les hétérosides appelés anthocyanosides (**Souquet et al., 2000**). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, et par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule (**Castañeda et al., 2009**).

Dérivés flavaniques, les flavan-3-ols peuvent avoir deux origines selon l'épimère en 3. Les (2S, 3S) -flavan-3-ols (comme la (+)-catéchine) proviennent de la réduction d'un précurseur flavan-3,4-diol par une leucoanthocyanidol réductase. Alors que, les (2R,3R) -flavan-3-ols sont issus de la réduction d'anthocyanidols par une anthocyanidol réductase. Ces flavan-3-ols représentent l'élément structural de base des tanins condensés (**Bruneton, 2015**).

c.2. Isoflavonoïdes

Ces composés sont moins répandus taxonomiquement que les précédents et se retrouvent principalement chez les Fabacées où ils sont très actifs en tant que phytoalexines synthétisés par exemple en réponse à une attaque par un pathogène (**Ferrazzano et al., 2011**). Cette spécificité est probablement due à la présence dans cette famille de l'enzyme responsable du réarrangement du 2-phénylchromone (flavone) au 3-phénylchromone (isoflavone). Parmi tous

les isoflavonoïdes répertoriés dans le règne végétal, la catégorie la plus largement représentée est celle des isoflavones non glycosylées.

Les isoflavones glycosylées quant à elles, existent mais elles sont plus rares (O-glycosylées et exceptionnellement C-glycosylées) (Bruneton, 2015).

I.2.4.1.4. Activités biologiques des flavonoïdes

a-Activité antioxydante

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques. Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels (Fuhrman et al., 1995).

L'action antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres (Figure 5). Mais, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell, 1994; Cotellet, 2001).

À cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R^*), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyde, par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy (Fl-o) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure stable (Jovanovic et al., 1994).

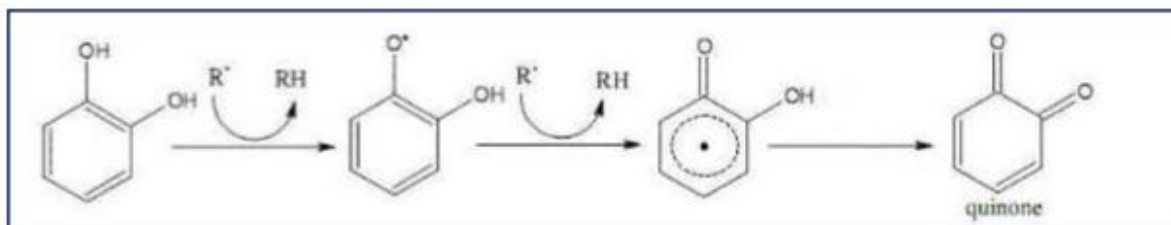
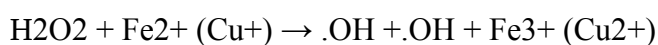


Fig.5: Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes (Marfak., 2003).

Les flavonoïdes sont aussi considérés comme de bons chélateurs d'ions métalliques (Brown, 1998 ; Dacosta, 2003), comme les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^+) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Mais, ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante:



b- Activité antibactérienne

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations photochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne (**Tim et al., 2005**). Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens (**Harborne et Williams., 2000**).

De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des flavonoïdes. (**Iniesta et al., 1990; Iinuma et al., 1994; Haraguchiet al., 1998**). De même, ces propriétés détectées chez la propolis sont attribuées à leur teneur élevée en flavonoïdes, en particulier le galangin et le pinocembrin (**Tim et al., 2005**).

L'activité antifongique des flavonoïdes est aussi établie. Ainsi, une étude faite sur *Dianthuscaryophyllus* a montré l'efficacité de flavonoïde glycoside, sur des souches fongiques (**Galeotti et al., 2008**).

Un nouveau flavanoneprénylé isolé à partir de l'arbuste *Eysenhardtia texana*, et un flavane 7hydroxy-3,4- méthylendioxyflavane isolé à partir des fruits de *Terminia liabellerica* montrent une activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* (**Valsaraj et al., 1997; Wachter et al., 1999**).

Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhiber une activité contre *Aspergillus flavus* (**Zheng et al., 1996**). Le Galangin est un flavonol, qui se trouve généralement dans des échantillons de propolis a montré une activité inhibitrice contre *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (**Afolayan et Meyer, 1997**).

Récemment des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV, empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte (**Mahmoud et al., 1993**).

Le mécanisme d'action de polyphénols est sans doute très complexe, parmi les hypothèses avancées on a l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, et l'inhibition du métabolisme microbien (**Mila et Scalbert, 1994**)

c- Effets antiallergiques

Les effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺ dépendante. En outre, ces deux dernières sont responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. **Di Carlo (1999)** a étudié les effets

antiallergiques de la quercétine. Il a trouvé que ce flavonoïde exerce ses effets, en inactivant l'enzyme ATPase Ca^{2+} -dépendante. De même, l'action de la quercétine est supérieure à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament antihistaminique.

d- Autres activités des flavonoïdes

À côté des activités citées précédemment, les flavonoïdes possèdent d'autres activités:

Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Middleton et Elliott, 1996**). Ils sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (**Mookerjee et al., 1986; Namgoong et al., 1994**).

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (**Chaudhry, 1983**). **Ong et Khoo (2000)** ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques.

I.2.4.2. Les tanins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Aguilera et al., 2008**). Ce sont des composés phénoliques ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da et qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Sur le plan structural, on distingue les tanins hydrolysables comme les esters d'acide phénolique et des tanins condensés plutôt des polymères de polyhydroxyflavan-3-ols (**Fogliani, 2002**).

I.2.4.2.1. Localisation et distribution

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal. Mais, ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les Conifères, les Fagacées et les Rosacées (**Ghestem et al., 2001**).

Ils peuvent exister dans divers organes comme l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Ree, 2001**).

I.2.4.2.2. Classification

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique. A cet effet, on a Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

a. Tanins galliques ou hydrolysables

Ce sont des esters de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique, associés à un polyol (habituellement le glucose) (**Clifford, 2000**). Ils sont divisés en ellagitannins et en gallotannins. Ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique. Ils s'hydrolysent aussi sous l'action enzymatique (**Conrad et al., 1998**). La figure 6 présente des exemples d'ellagitannins chez les halophytes.

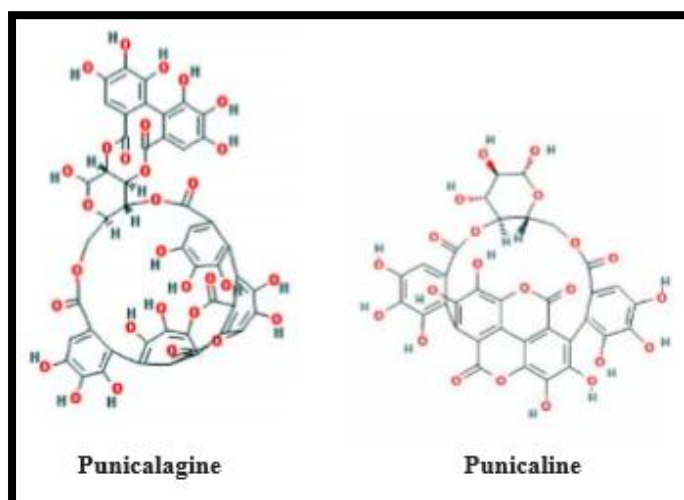


Fig.6: Exemples d'ellagitanins chez une espèce halophyte (Ksouri et al., 2012).

b. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent l'épicatéchine et la catéchine (Khanbabaea et Ree., 2001). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables. Leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (Paris et Hurabielle., 1981). La figure 7 présente la classification des tanins.

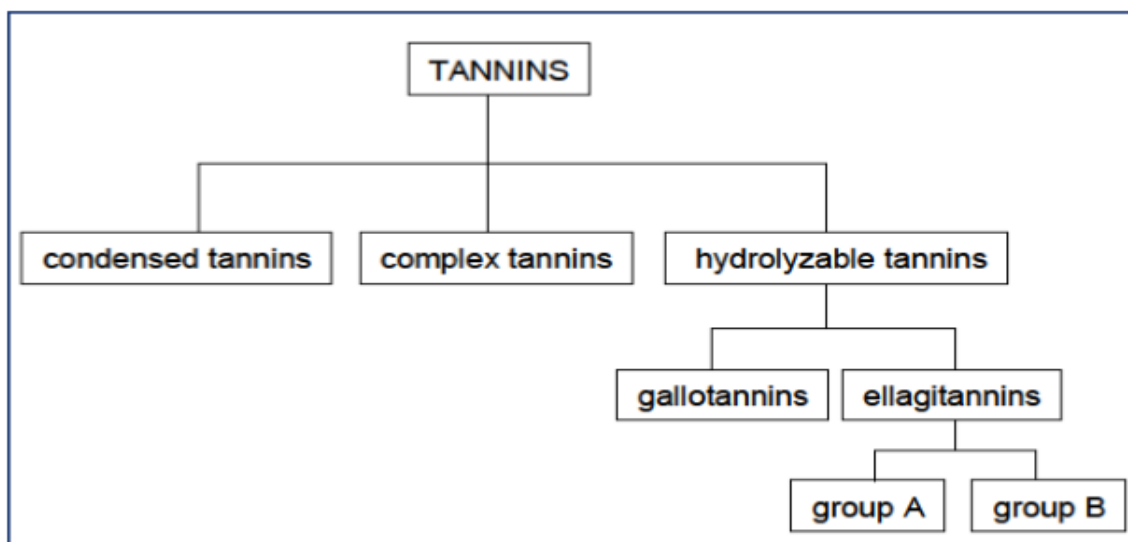


Fig.7: Classification des tanins (Wilfred et Ralph, 2006).

I.2.4.2.3. Utilisation des tanins

a) - En pharmacie

Grâce à leurs astringentes, les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et des hémorroïdes (**Paris et Hurabielle, 1981**).

b) - Dans l'industrie

Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans celle des vernis et peintures (**Paris et Hurabielle, 1981**).

On utilise les tannins pour fixer la couleur et pour former des encres par des combinaisons avec les sels ferriques. Ils jouent le rôle d'une colle à papier (**Rahantanirina., 2014**).

I.2.4.3. Les quinones

Cétones aromatiques provenant de l'oxydation de diphénoles. Les quinones constituent un groupe de substances biologiquement très actives. Beaucoup sont antimicrobiennes, c'est à dire antibiotiques naturels agissant surtout sur les grams +, ce sont aussi des fongicides, parfois des vermifuges. La vitamine K1 (méthyl2-naphtoquinone) est abondante dans la Luzerne, on trouve également dans ce groupe des plantes tinctoriales. Enfin, la majorité des anthraquinones est apéritive, mais aussi purgative, agissant directement sur la musculature lisse au niveau du côlon et entravant la résorption de l'eau. En présence d'une base (NaOH ou KOH) les quinones donnent une coloration caractéristique allant de rouge orange au violet pourpre (**Bruneton, 2009**). La figure 8 présente la structure chimique des quinones.

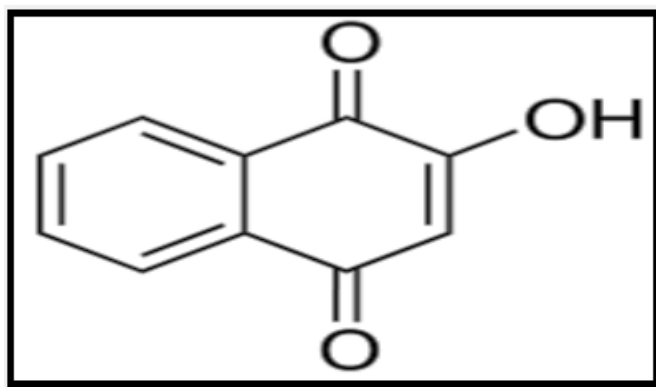


Fig.8: Structure chimique des quinones (<https://www.drugbank.com>)

I.2.4.4. Anthraquinones

L'anthraquinone est une molécule dérivée de l'anthracène. Elle appartient aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. L'anthraquinone existe dans les plantes, les champignons et les insectes. On peut la trouver dans les racines, les tiges vertes et les graines. L'anthraquinone fait partie des quinones naturelles. Il s'agit d'une substance oxygénée engendrée par l'oxydation des composés aromatiques (**Gérard, 2015**). La figure 9 présente la structure chimique des anthraquinones.

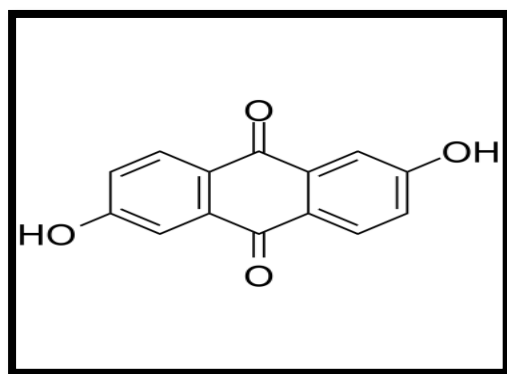


Fig.9: Structure chimique des anthraquinones. (<https://www.drugbank.com>)

I.2.4.5. Terpènes

Communément appelées essences ou huiles essentielles, les terpènes sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes, volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau, soit une densité de 0,75 à 0,98. Si, de nombreuses plantes renferment des essences, une centaine de plantes seulement en contiennent des quantités notables. Elles appartiennent pour la plupart aux Conifères, aux Labiées, aux Lauracées, aux Myrtacées, aux Umbellifères, aux Rutacées. Selon le cas, les huiles essentielles sont extraites des fleurs, des semences, des feuilles, des fruits, des racines, des écorces ou du bois. On appelle térpenoïdes ou isoprénoides des composés issus de condensation de base de 5 carbones de type isoprène. Dans les plantes, on les trouve dans les feuilles, les tiges, les fleurs et les racines. Les térpenoïdes sont utilisés selon leurs qualités aromatiques. En thérapeutique, ils jouent le rôle d'antioxydant, d'antibactériens, d'antinéoplasique (**Malecky., 2005**).

I.2.4.6. Coumarines

La coumarine est un composé naturel organique aromatique. Elle est classée en deux groupes à savoir la coumarine simple et la coumarine complexe. Elle est soluble dans l'alcool, les solvants organiques ou les solvants chlorés. Ainsi, elle est utilisée en parfumerie, dans les produits cosmétiques et on l'utilise dans la formulation des peintures, des insecticides, le caoutchouc et les matières plastiques.

En thérapeutique, elle joue un rôle d'anti-inflammatoire qui stimule la microphagie et le drainage lymphatique. Elle a également une action dans le lymphoedème (**Mpondo et al., 2015**).

I.2.4.7. Alcaloïdes

Les alcaloïdes dont 5500 sont connus, comprennent la plus grande classe unique de substances végétales secondaires. Les alcaloïdes sont un groupe de composés chimiques d'origine naturelle contenant au minimum un atome d'azote, habituellement en combinaison comme faisant partie d'un système cyclique. Les alcaloïdes sont produits par une grande variété d'organismes, y compris les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. Ils peuvent être purifiés à partir d'extraits bruts de ces organismes par extraction acido-basique.

Les alcaloïdes possèdent un large éventail d'activités pharmacologiques parmi lesquelles, l'activité antipaludique, l'activité antiasthmatique et l'activité anticancéreux (**Kittakoop et al., 2013**), l'activité cholinomimétique (**Russo et al., 2013**), l'activité vasodilatateur, l'activité anti-arythmique, l'activité analgésique, l'activité antibactérien et l'activité anti-hyperglycémiques (**Qiu et al., 2014**). Certains alcaloïdes trouvent leur usage dans la médecine traditionnelle ou moderne, ou servent de précurseurs pour l'élaboration de médicaments.

D'autres alcaloïdes possèdent des activités très connues stimulantes, comme la cocaïne, la caféine, la nicotine. Certains sont utilisés en tant que drogues récréatives. Les alcaloïdes agissent sur plusieurs systèmes métaboliques chez l'Homme et les animaux

I.2.4.8. Stérols

Alcools à noyaux cyclopentoperhydrophénanthrénique, On les trouve chez les végétaux, sous forme d'esters comme les stérides, ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides. On a les stérols libres comme l'ergostérol de l'Ergot de seigle et de la levure de bière. Aussi, on peut noter les hétérosides (Digitales, Scilles) et les stéroïdes (Dioscoréa, Agave ...). Il est à mentionner que les monocotylédones semblent plus riches en stérols que les dicotylédones. On les trouve dans la fraction lipidique que l'on peut extraire des végétaux par les solvants

organiques non polaires. Ainsi, l'ergostérol est la provitamine D2 et le sitostérol des céréales sont employés contre l'artériosclérose et le stigmastérol. A ce niveau, ils servent de matière première pour la synthèse des corticostéroïdes (Jean, 1998).

I.3. Activités biologiques d'*Artemisia campestris*

En plus de son utilisation traditionnelle *A. campestris* possède de nombreuses propriétés biologiques parmi lesquelles on cite:

I.3.1. Activité Antimicrobienne

I.3.1.1. Activité antibactérienne

I.3.1.1.1. Généralités

Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires, microscopiques, procaryotes et ubiquitaires, vivant individuellement ou en communautés complexes (biofilms) (O'toole et al., 2000). Les bactéries présentent des formes variées à savoir coques, bacilles, spiralées, incurvées. En outre, on les trouve isolées, en chainettes, en tétrades, en grappes...etc. Il a été calculé que 1036 bactéries colonisent le corps humain, ce qui fait que il y'a dix fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines dans le corps humain (Todar, 2018). La plupart de ces bactéries sont inoffensives ou bénéfiques pour l'organisme. Cependant, certaines peuvent devenir saprophytes et causent des pathologies plus ou moins dangereuses. De nombreuses espèces bactériennes sont à origine de nombreuses maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la peste, l'anthrax, la tuberculose, pneumonies...etc (Figure 10).

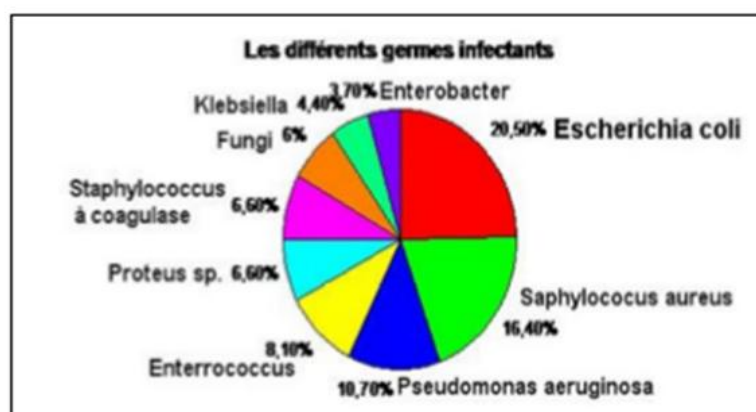


Fig. 10: Représentation des principales bactéries impliquées dans les maladies infectieuses (Botterel et al., 2004).

I.3.1.1.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides (annexe 3).

La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'Agar. Il s'agit d'un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C Auteurs (**Nauciel et Vildé, 2005**).

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement. Ainsi, leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, qu'on appelle colonie. Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe. L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (**Nauciel et Vildé, 2005**).

I.3.1.1.3. Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons).

Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Elghozi et Duval., 1992**).

I.3.1.1.3.1. Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques. Elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière est la plus fréquemment rencontrée.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont les bêtalactamines (Pénicilline et Céphalosporines), les aminosides (Streptomycine, Gentamycine; Chloramphénicol et Thiamphénicol), les cyclines (Tétracyclines, Doxycycline), les acrolides et les apparentés (Erythromycine, Oléandomycine) (**Cohen et Jacquot., 2001**).

I.3.1.1.4. Activité antimicrobienne des extraits de plante

L'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris* a exercé une activité antibactérienne uniquement contre les bactéries à Gram positif sans aucun effet antagoniste contre les espèces bactériennes à Gram négatif. Les concentrations minimales inhibitrices contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella*

typhimurium étaient respectivement de 12,5, 250, 500 et 250 µg / ml (**Benouham et al., 2002**).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*A. compestris* a été testée contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Staphylococcus aureus*. La meilleure activité antibactérienne a été observée avec *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition respectivement de 23 mm et 20 mm (**Djidel et Khennouf., 2014**).

I.3.1.2. Activité Antifongique

I.3.1.2.1. Champignons

Les champignons sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires, dépourvus de chlorophylle. Ils sont constitués d'un thalle unicellulaire (comme pour certaines levures) ou pluricellulaire (mycélium) comme la plupart des micromycètes ou des macromycètes. C'est le thalle ou le filament mycélien qui assure la nutrition. Celle-ci se fait par absorption et non par phagocytose. Les champignons sont des organismes hétérotrophes, vivants principalement en saprophyte aux dépens de matières organiques en décomposition (**Lyatim, 2008**). Ce sont des microorganismes appartenant au domaine des Eukarya et se divisent en levures et moisissures.

I.3.1.2.2. Activité Antifongique des extraits d'*A. campestris*

Les huiles essentielles et leurs composants présentent également une activité contre les champignons, activité qui est de mieux en mieux décrite. Un large éventail de pathogènes fongique humains animaux et agricoles ont montrés une importante sensibilité aux huiles essentielle in vitro, ce qui accroît l'intérêt pour leur application thérapeutique ou industrielle. Parmi les pathogènes humains et animaux ciblé, les levures de genre *Candida* et les dermatophytes comme *Epidermatophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton* qui sont attiré le plus grand intérêt (**Hammer et al., 1996 ; Hammer et al., 1999 ; Yu et al., 2004 ; Preuss et al., 2005**). Aussi un effet antifongique important contre les champignons responsables de la détérioration des aliments a été démontré notamment sur plusieurs espèces d'*Aspergillus*, *Microsporum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces* et *Candida* (**Cosentino et al., 2003 ; Holley et al., 2005**).

I.3.1.3. Activité antibiofilm

I.3.1.3.1. Généralité

Les maladies infectieuses ne sont pas causées seulement par des bactéries ou champignons isolées, mais aussi par des germes vivants en communautés, c'est le biofilm. La formation d'un biofilm représente un changement radical de mode de vie des microorganismes qui le constituent. Le passage d'un mode de vie planctonique, individuel, à un mode de vie communautaire et sessile. Il s'agit d'un processus dynamique et complexe. Il est caractérisé par une modification de l'expression génétique et par un changement de phénotypes des micro-organismes concernés (**Grasteau, 2011**). On peut définir trois propriétés communes à tous les biofilms (**Goller et Romeo, 2008**).

Les cellules constituant le biofilm sont reliées entre elles par une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques.

Le développement d'un biofilm est sous l'influence de signaux extracellulaires (environnementaux) et cellulaires (notion de quorum sensing).

Le biofilm protège les bactéries qui le constituent de l'action des agents antimicrobiens, des défenses immunitaires de l'hôte et d'éventuels prédateurs.

I.3.1.3.2. Etapes de formation d'un biofilm

En général, les *Pseudomonas* font partie des microorganismes les plus souvent utilisés pour démontrer les 5 étapes de formation du biofilm (Figure 11).

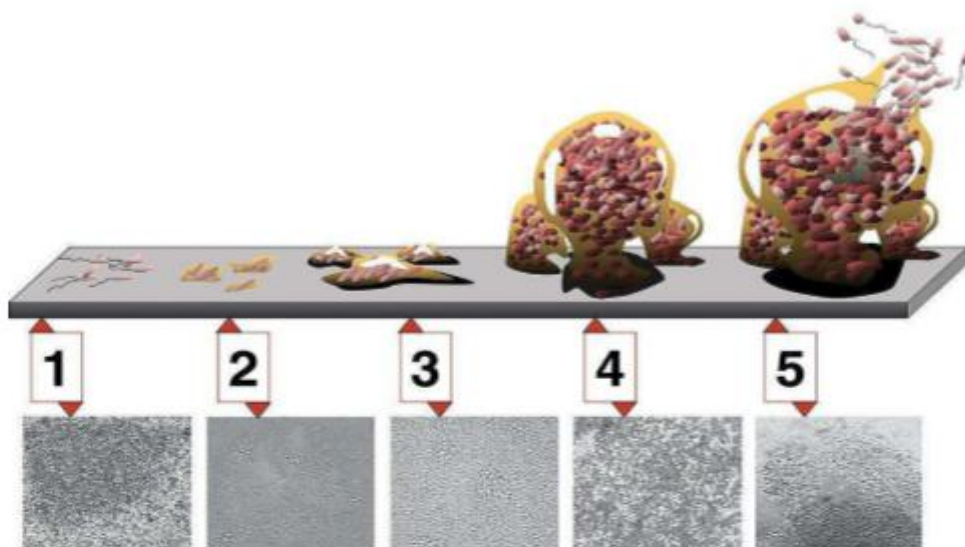


Fig. 11: Les différentes étapes de la formation d'un biofilm. A chaque étape correspond une image de développement d'un biofilm de *P. aeruginosa*, (1) transport et attachement, (2) adhésion, (3) début de croissance microbienne, (4) maturation de biofilm, (5) détachement microbienne. (**Monroe, 2007**).

I.3.1.3.3. Activité antibiofilm des extraits des plantes

Les infections des voies urinaires (IVU) sont considérées comme l'infection bactérienne la plus courante chez les patients porteurs d'un cathéter vésical chronique à demeure, représentant environ 150 millions de cas par an dans le monde (**Jacobsen, 2008**)

Escherichia coli est le principal facteur des infections urinaires communautaires (70% à 95%) et une grande partie des infections urinaires nosocomiales (50%), y compris la cystite, la pyélonéphrite, la prostatite et la bactériurie asymptomatique (**Foxman, 2003**). *E. coli* uropathogène (UPEC) est couramment isolé des biofilms formés à la fois sur la surface interne et externe du cathéter urinaire (**Nicolle, 2005**).

Il existe un besoin de nouvelles stratégies pour empêcher le biofilm UPEC sur les cathéters urinaires. Les plantes ont de nombreuses stratégies chimiques pour protéger des infections microbiennes et différents produits d'origine végétale sont bien connus pour leurs activités antimicrobiennes (**Dixon, 2001**). Les produits phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux courants et peuvent présenter un large éventail d'effets biologiques, notamment antimicrobiens, anti-inflammatoires et action anticarcinogène (**Russell et Duthie, 2011**).

Les acides phénoliques sont un groupe de composés phénoliques biosynthétisés par la voie shikimate et comprennent deux classes à savoir les dérivés de l'acide benzoïque (acide gallique) et les dérivés de l'acide cinnamique, tels que l'acide p-coumarique (p-CA) et l'acide férulique (FA) (respectivement dix). Le p-CA est présent en grande quantité dans de nombreux légumes, fruits et graminées (**Mussatto et al., 2007**). L'AF est également un composé phénolique commun présent dans les céréales et estérifié en hémicelluloses dans la paroi cellulaire. Tandis que le trans-cinnamaldéhyde (TC) est le principal composant de l'huile de cannelle (**Burt, 2004**). Bien que l'effet antibiofilm du TC sur l'UPEC est rapporté plus tôt (**Amalaradjou et al., 2010**). L'efficacité de l'ep-CA et de la FA contre le biofilm UPEC formé sur les cathéters urinaires n'a pas été déterminée. Le but de cette étude était d'étudier TC, p-CA, et FA comme antimicrobiens alternatifs dans la prévention et l'inactivation du biofilm UPEC sur les cathéters urinaires.

Les résultats ont révélé que le TC et deux acides phénoliques avaient une action préventive sur la formation de biofilm sur une surface interne de cathéter urinaire. Le TC à toutes les concentrations empêchait efficacement le biofilm d'*E. Coli*. Tandis que l'activité préventive des acides phénoliques dépend de la concentration.

L'activité préventive efficace du p-CA n'a pas été observée à la concentration la plus faible. Alors que l'AF a bloqué la formation d'*E. Coli* uniquement à la concentration la plus élevée.

Parmi les agents antimicrobiens appliqués, le TC avait le potentiel le plus élevé de réduire le nombre de cellules d'*E. Coli* dans le biofilm et d'éliminer complètement le biofilm du fragment de cathéter urinaire. D'autre part, le p-CA et l'AF ont été efficaces pour réduire le biofilm formé par *E. coli*. Mais, l'élimination totale du biofilm n'a pas été observée. Différentes activités des composés phytochimiques évalués peuvent résulter de leurs différentes structures chimiques. La présence d'un groupe CHO dans TC détermine sa forte activité antibiofilm.

D'autre part, le p-CA et la FA sont des acides carboxyliques avec un groupe OH libre. L'activité antibiofilm de ces acides était similaire mais inférieure à celle de la TC. Cette étude a démontré le potentiel des molécules d'origine végétale pour prévenir et contrôler le biofilm UPEC sur un cathéter urinaire.

Le TC est le composant principal de l'huile de la cannelle, c'est un produit antimicrobien efficace pour prévenir et inactiver le biofilm sur les cathéters. p-CA et FA. Ces composés ont montré le potentiel de prévenir le biofilm d'*E.coli* et semblent être prometteurs comme agents antibactériens qui peuvent être utilisés comme revêtements de surface de cathéter ou comme ingrédients dans des solutions de verrouillage de cathéter pour prévenir les infections urinaires. Cependant, la recherche sur les effets cytotoxiques de ces composés phytochimiques sur les cellules épithéliales de la vessie humaine aux concentrations testées est nécessaire (**Borges et al., 2013**).

I.3.2. Activité antioxydante

L'extrait aqueux d'*A. campestris* a été étudié de manière approfondie pour son effet antioxydant in vivo. Il a été démontré que les rats soumis au stress oxydatif induit par l'extrait de foie de poisson-globe *Lagocephalus*, puis nourris avec l'extrait aqueux d'*A. Campestris* à la dose de 5 mg / ml, ont révélé un effet antioxydant considérable. Cet effet s'est traduit par l'inhibition de la peroxydation des lipides et de l'inhibition de la substance réactive à l'acide thiobarbiturique (TBARS), suivie par une amélioration des activités enzymatiques antioxydantes comme la catalase (CAT), la superoxydedismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GSH-Px), dans le rein, le foie et le cerveau **Saoudi et al., (2010)**, **Sefi et al., (2010)**, **Sefi et al., (2011)**, **Sefi et al., (2012)** et **Sefi et al., (2013)** ont rapporté que l'administration orale de l'extrait aqueux, à des doses comprises entre 100 et 400 mg / kg à des rats souffrant de stress oxydatif gastrique induit par la prise d'aspirine, réduit la lipoperoxydation gastrique et le niveau d'hydrogène peroxydase, en plus de l'estomac abandonné, par le biais éventuellement de l'amélioration de l'activité antioxydante de la SOD.

I.3.3. Activité néphroprotectrice

Une étude menée par **Barkat, et al. (2015)** a montré que l'administration conjointe du pesticide méthidathion et de l'extrait aqueux de *A. campestris* à 5 g / l, torats pendant quatre semaines, protège la fonction rénale (**Barkat et al., 2015**). Les rats co-traités avec l'huile essentielle d'*A.campestris*, par voie intrapéritonéale, à 200 mg / kg de poids corporel recevaient pendant deux semaines de la deltaméthrine. Cette prise a montré une réduction significative de la créatinine, de l'urée et de l'acide urique. De plus, la régénération de l'altération du gaz a été rétablie et l'augmentation de la moyenne du volume glomérulaire, en plus de l'indice de fibrose interstitielle a été atténuée lors de l'administration concomitante d'huile essentielle et de deltaméthrine (**Saoudi et al., 2017**)

I.3.4. Activité neuroprotectrice

L'administration concomitante quotidienne de l'huile essentielle d'*A.campestris* à raison de 200 mg / kg de poids corporel) et de la deltaméthrine, pendant deux semaines, a entraîné une diminution significative du produit de peroxydation lipidique, expliquée par la suppression des niveaux cérébraux de la MDA. La vacuolisation sévère et la nécrose neuronale résultent du traitement par la deltaméthrine. Le co-traitement avec des rats pendant deux semaines a provoqué une augmentation de l'acétylcholinestérase sérique (AChE). A Cet effet, selon **Saoudi et al., (2017)** et **Dib et al., (2019)**, ces substances naturelles peuvent être considérées comme ayant des propriétés neuroprotectrices contre l'effet de toxicité induit par l'inhibition de la synthèse de l'AChE, principalement causée par la deltaméthrine (**Szegletes et al., 1995**). Paradoxalement, une autre étude a rapporté l'efficacité de l'huile essentielle d'*A. campestris*, en tant qu'inhibiteur de cette enzyme. En fait, l'inhibition de l'AChE peut être explorée pharmacologiquement pour traiter certaines maladies neurodégénératives, principalement comme l'Alzheimer et la démence. Par conséquent, l'effet inhibiteur de l'activité AChE de l'huile essentielle dosé in vitro a montré l'effet anti-acétylcholinestérase le plus élevé (**Colovic et al., 2013**).

I.3.5. Activité de protection Gastro-œsophagien

L'extrait aqueux d'*A. campestris* à la dose 400 mg/ kg a un effet protecteur considérable sur les rats souffrants de lésions gastriques induites par l'aspirine. En effet, l'effet préventif de

l'extrait aqueux contre l'installation de la gastrique a dépassé celui de la famotidine standard à (20 mg / kg) et a été révélé par 13,66 mm² de réduction de l'indice d'ulcère, et par un pourcentage de 78% de protection contre les blessures (**Sebai et al., 2014**)

I.3.6. Activité anti-hyperlipidémique

L'effet antihyperlipidémiant d'*A. campestris* a été exploré dans de nombreux modèles expérimentaux. Pour les rats présentant une hyperlipidémie induite par l'alloxane. Le traitement de 21 jours avec l'extrait aqueux à 200 mg / kg a réduit les taux de cholestérol total et de triglycérides avec une diminution concomitante des taux sériques de lipoprotéine-cholestérol (LDL) de basse densité (**Sefi et al., 2010**).

I.3.7. Activité antidiabétique

Des études antérieures sur l'activité antidiabétique ont rapporté un effet antidiabétique de 200 mg/ kg, i.p. de l'extrait aqueux d'*A. campestris*, une fois administré par le diabéticratsalloxane. Cet effet a été évalué après 21 jours de traitement, par la réduction du sérumglucose (147 mg / dl), simultanément à une augmentation du taux d'inséruminuline (30%), en plus de l'adaptation de 63% du taux de glucose après 2 heures de test de tolérance au glucose (**Sefi et al., 2010; Sefi et al., 2012**).

I.3.8. Activité Antihypertenseur

Le traitement oral avec l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A. campestris* administrées par voie intraveineuse ont provoqué un effet hypotenseur sur les rats (**Dib et al., 2017a**).

I.3.9. Activité anti-inflammatoire

L'administration de l'huile essentielle d'*A. campestris*, à la fois injectée par voie sous-cutanée avec le venin ophidien *Cerastes cerastes* sur la patte droite a neutralisé l'effet inflammatoire dû à l'envenimation, et donc la réduction de l'effet œdémateux sur la patte (**Jaoudi et al., 2016**). L'extrait aqueux d'*A. campestris* a inversé l'effet inflammatoire causé par l'injection sous-cutanée de l'additif alimentaire carraghénane. Cette action anti-inflammatoire a été exprimée en réduisant le volume de l'œdème, en diminuant le nombre de cellules inflammatoires et en restaurant les tissus endommagés par l'œdème (**Ghilissi et al., 2016**).

Chapitre II :
Matériel et méthodes

II.1. Objectif

Plusieurs travaux scientifiques ont révélé diverses activités biologiques intéressantes des espèces de la famille des Astéracées, c'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail.

L'extraction a eu lieu au niveau du laboratoire des Substances Naturelles au niveau du Centre de Recherche et de Développement CRD-SAIDAL. Tandis que, l'étude de l'effet antimicrobien a eu lieu durant la période s'étalant du mois de juin au début du mois de juillet 2021 au niveau du laboratoire S15 de la Faculté des Sciences.

Le protocole expérimental est donné dans la figure 12.

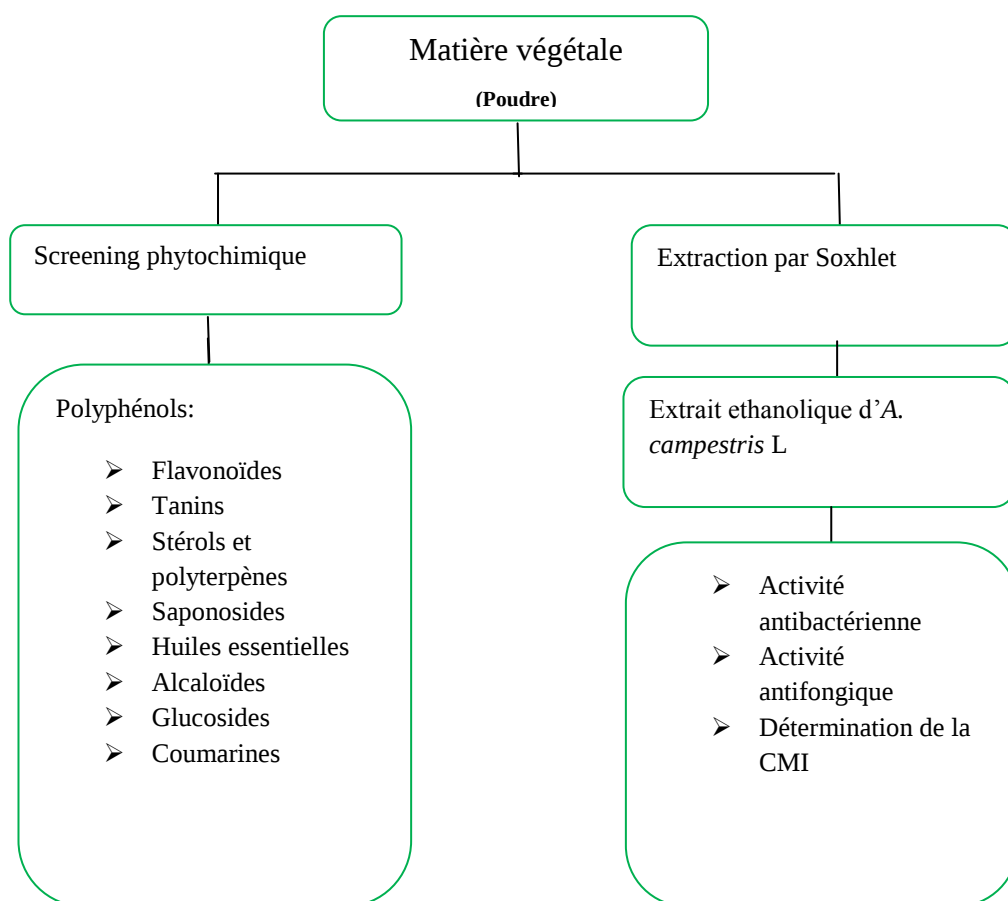


Fig.12: Objectifs généraux de notre étude.

II .2. Matériel

II.2.1. Matériel biologique

II.2.1.1. Matériel végétal

La recherche bibliographique entreprise a permis de cibler une espèce végétale appartenant à la famille des Asteraceae qui est riche en composés phénoliques. Les critères de choix du matériel végétal reposent sur la disponibilité de cette plante en Algérie et sur leur usage en pharmacopée traditionnelle locale. *A. campestris* L (Figure 13) pousse à l'état spontané dans la steppe et le Sahara Algérien.



Fig.13 : *Artemisia campestris* L

(<https://www.asturnatura.com/fotografia/flora/artemisia-campestris-3/7749.html>)

II.2.1.2. les souches microbiennes

Les microbes utilisés sont composés de sept souches de référence (Annexe 1) fournies dans leur milieu de conservation (GN) par le Centre de Recherche et de Développement (CRD-SAIDAL). Ces microorganismes sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 2: microorganismes testés

Microorganismes testés		Souches	Références
Bactéries	Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	Gram+	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
	Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
	Gram-	<i>Eschérichia coli</i>	ATCC 8739
Levure	/	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
Champignon	/	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763

II.2.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé pour réaliser cette étude est composé d'une verrerie, d'un équipement et d'un appareillage. Il comprend aussi un ensemble de réactifs et des produits chimiques. Il est représenté dans l'annexe 2.

II.3. Méthodes

Le présent travail a été réalisé en deux étapes. On a une première sur le terrain et une seconde au niveau de laboratoire.

II.3.1. Récolte de la matière végétale

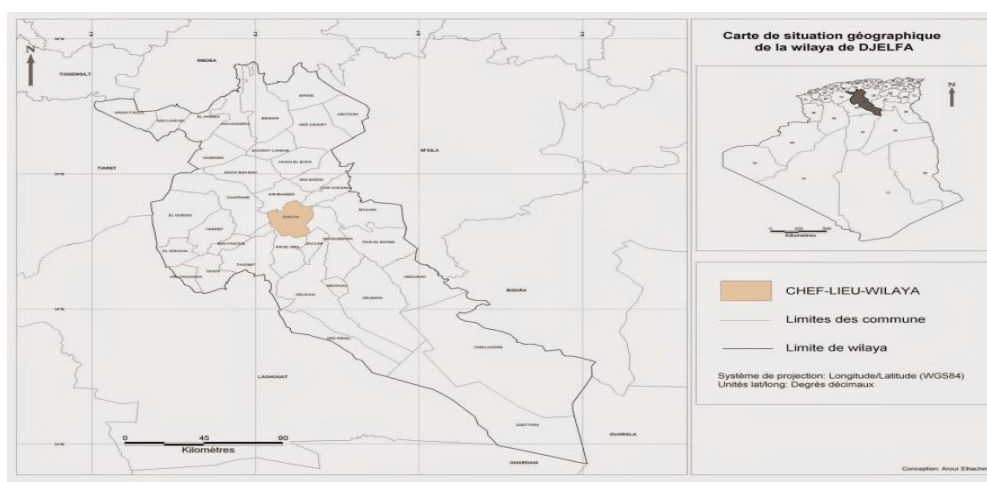
II.3.1.1. Zones de récolte de plantes étudiée

Les parties aériennes d'*A. campestris* (Tiges et feuilles) ont été récolté durant le mois de Mai 2021 à Boucedraïa qui se trouve au sud d'Ain Oussara située au nord de Djelfa. La zone d'étude est située entre les chaînons de l'atlas tellien les plus méridionaux et ceux de l'atlas saharien les plus septentrionaux. Ses coordonnées sont une latitude Nord de 35° 26' 56'' et une longitude Est de 2° 55' 16'' (Figure 14).

L'identité des plantes est présentée dans le tableau suivant.

Tableau 3 : Identité des plantes étudiées

Nom scientifique	Nom commun	Famille botanique	Provenance	Partie de la plante utilisée	Stade de développement	Matière extraite
<i>A.campestris.</i> L	-Armoise rouge -Armoise champêtre	Asteraae	-Djelfa	- Feuilles -Tiges	Avant floraison	-Extrait ethanologique

**Fig.14:** Situation géographique de la wilaya de Djelfa.

II.3.2. Conservation et séchage de la plante

La plante a été séchée à l'air libre à température ambiante entre 20 et 25°C dans un endroit sombre pendant au moins 20 jours jusqu'à la déshydratation totale.

II.3.3. La poudre végétale (broyage)

La plante est broyée à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine (Figure 15), afin de préparer les extraits qui feront l'objet de cette étude. La poudre récupérée est tamisée et conservée dans des bocaux en verre opaque.



Fig.15: Poudre d'*A. campestris* (Originale).

II.3.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants chez *A. campestris*, soit une analyse qualitative des réactions de coloration/précipitation.

II.3.4.1. Préparation de l'infusé à 5%

5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 ml d'eau bouillante et laisser infuser 15 à 30 minutes. Cet infusé est utilisé pour la caractérisation des tanins et des flavonoïdes (**Awor et Samseny, 2003**).

II.3.4.2. L'extrait ethanolique

1 g de poudre et 20 ml d'éthanol sont introduits dans un tube à essai et laisser macérer pendant 24 heures. Cet extrait est utilisé ensuite pour la caractérisation des stérols et tri terpènes (**Awor et Samseny, 2003**).

II.3.4.3. Les alcaloïdes

Introduire 10 g de poudre végétale sèche dans un Erlenmeyer, à laquelle 50ml de H_2SO_4 dilué au 1/10 avec de l'eau distillée est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h.

Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées. L'apparition d'un précipité rouge-orangé révèle la présence d'alcaloïdes (**Sandrine, 2005**).

II.3.4.4. Les tanins

La détection des tanins a été faite par l'ajout dans un tube à essai de 5 ml d'infusé à 5%, et 1 ml de la solution aqueuse de FeCl_3 dilué à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny; à 30 ml d'infusé à 5%, 15 ml du réactif de Stiasny est ajouté soit 10ml du formol à 30% + 5 ml HCl concentré. La solution est ensuite chauffée au bain-Marie à 90°C. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Pour la caractérisation des tanins galliques, on a filtré la solution précédente qu'on a saturée avec une solution d'acétate de sodium et à laquelle on a ajouté quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (**Awor et Samseny, 2003**).

II.3.4.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été identifiés par la réaction de la cyanidine. 5 ml d'infusé à 5% est mis dans un tube avec 5 ml d'alcool chlorhydrique soit de l'alcool à 95°, de l'eau distillée et de l'acide chlorhydrique à volumes égaux. Puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool iso amylique sont ajoutés. L'apparition d'une coloration rose-orangée (Flavones) ou rose-violacée (Flavonones) ou rouge (Flavonols) au niveau du surnagent d'alcool iso amylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). La réaction de la cyanidine est effectuée une autre fois mais sans l'ajout de magnésium avec un chauffage de quelques minutes au bain Marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brun-rouge. Les anthocyanes ont été identifiés comme suit. Dans 5 ml d'infusé à 5%, 5 ml de H_2SO_4 sont ajoutés, puis 5 ml de NH_4OH sont versés. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacée en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanes (**Awor et Samseny, 2003**).

II.3.4.6. Stérols et tri terpènes

Les Stérols et terpènes ont été identifiés par la réaction de Liebermann-Burchard. Dans une capsule, 10 ml de l'extrait éthérique est évaporé à sec, le résidu est dissous dans 1 ml

d'anhydride acétique, puis dans 1 ml de chloroforme et à recueillir dans deux tubes à essai dont l'un servira de référence. 1 à 2 ml d'acide chlorhydrique concentré est ajouté au fond du tube à essai sans agiter. A la zone de contact des deux liquides, il y'a formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet. Ainsi, la couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence des stérols et de tri terpènes (**Awor et Samseny, 2003**).

II.3.4.7. Les saponosides

Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, on met 10ml du décocté à 1% préparé dans chaque tube. Le volume est ajusté dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Ensuite, laisser reposer les tubes pendant 15 minutes. Ensuite, la hauteur de la mousse est mesurée dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse I_m (**Awor et Samseny, 2003**).

$$I_m = 1000/N^\circ \text{ du tube}$$

Avec n = numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1cm.

II.3.4.8. Les huiles essentielles

10 ml de l'extrait au dichlorométhane à 1% ont été évaporés à sec. Le résidu est ensuite dissous dans 3 ml d'éthanol. La solution ainsi obtenue est à nouveau évaporée à sec. La sensation d'une odeur parfumée indique la présence d'huiles essentielles (**Ilboudo et al., 2009**).

II.3.4.9. Les glucosides

A 1ml des extraits, 1ml de H_2SO_4 a été ajouté et laissé au repos pendant 2 minutes. Un précipité de couleur rougeâtre indique la présence de glycosides (**Archana et al., 2012**).

II.3.4.10. Recherche des coumarines

On fait bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 minutes. Puis, on filtre. A 5ml de filtrat, on ajoute 10 gouttes de la solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCL) à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines (**Awor et Samseny, 2003**).

II.3.5. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la (figure 16). Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition. Les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi, le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. La séparation du solvant de l'extraît est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavapor (Figure 17). Dans cet appareil, on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation, le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide (**Penchev, 2010**)

II.2.5.1. Protocole d'extraction par Soxhlet

L'extraction à l'aide d'un appareil de type Soxhlet est utilisée pour isoler des composés actifs d'origine végétale sans les dégrader.

L'extraction a été faite avec un solvant organique (l'éthanol) selon le protocole suivant :

1 g de la poudre a été extrait dans 50 ml de solvant (éthanol) par Soxhlet pendant 7 heures (Figure 16). Les extraits ont été filtrés et le filtrat a été évaporé sous pression réduite donnant un extrait brut (**Shobhita et al., 2006**).

Après évaporation du solvant organique sous pression réduite à 40°C, le résidu sec de chaque solvant est pesé puis conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation (Figure 16).

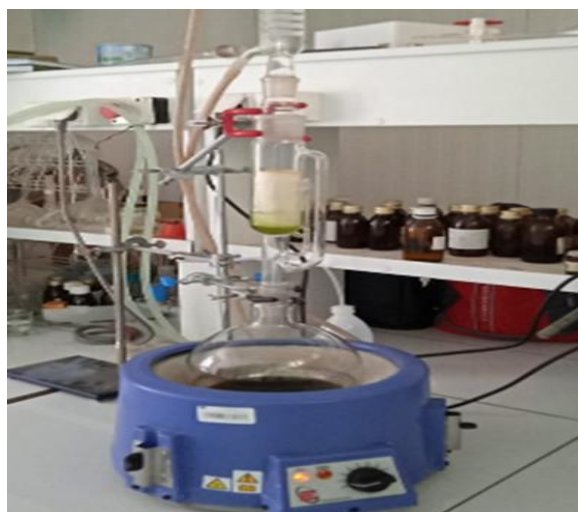


Fig.16 : Schéma illustrant l'extraction à chaud (L'appareil de Soxhlet).

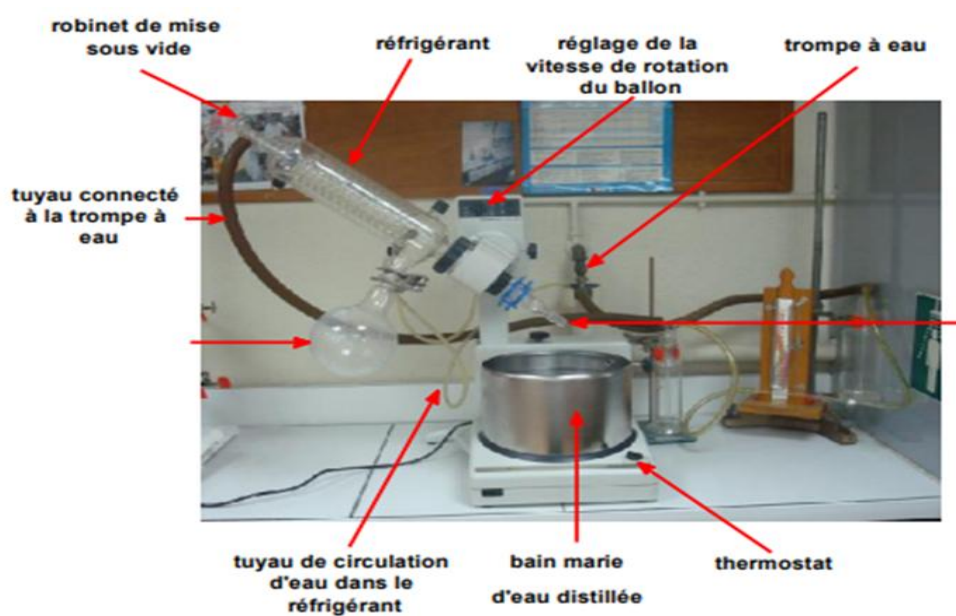


Fig. 17 : Montage de l'évaporateur rotatif.

II.2.5.2. Calculer du rendement

Le pourcentage en extrait éthanolique de la plante étudiée est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (p/p_0) \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

P: Poids en gramme de l'extrait sec résultant

P0: Masse en gramme du matériel végétal à traiter

II.2.6. Activité antimicrobienne

II.2.6.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre quatre bactéries de références une levure et une moisissure.

II.2.6.2. Principe

Le principe d'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits consiste à réaliser une culture bactérienne sur milieu solide, en présence de disques imbibés d'extraits de concentrations différentes. Si les extraits ont une activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque (Figure 18). Le diamètre de cette zone d'inhibition est proportionnel à l'efficacité de l'activité antimicrobienne de l'échantillon (Fattouch *et al.*, 2007).

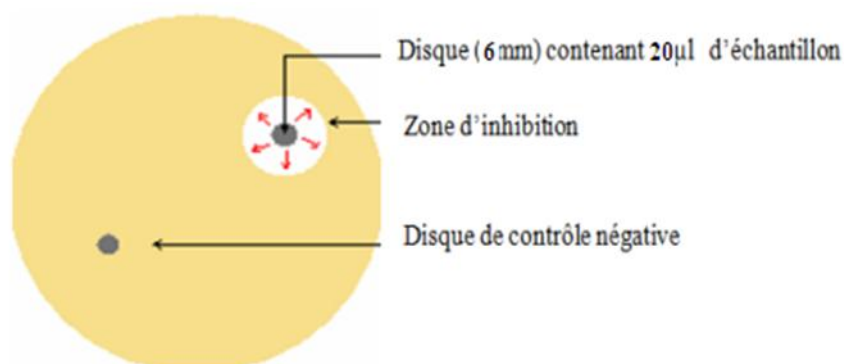


Fig. 18: Principe de d'évaluation de l'activité antibactérienne (Fattouch *et al.*, 2007).

II.2.6.3. Revivification des souches microbiennes

Les souches fournies sur des milieux de gélose de conservation ont été revivifiées par la méthode des stries sur le milieu gélose nutritif (GN), Muller-Hinton (M-H) pour les bactéries

et Sabouraud pour la levure et le champignon (Annexe 3). Il est à noter que les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24h. Par contre les levures sont incubées à 25°C pendant 48 à 72 h et entre 72 à 150 h pour les champignons (**Pharmacopée Européenne ,2002 ; Lamri et Akhzeroun, 2019**).

II.2.6.4. Préparation de l'inoculum

Dans le but d'obtenir une culture jeune, 3 à 5 colonies bien isolées et identiques sont prélevées et émulsionnées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5 (106 UFC/ml). Puis, on agite à l'aide d'un Vortex. La concentration de la suspension a été lue à l'aide d'un spectrophotomètre, par l'estimation de la transmittance à une longueur d'onde de 620 nm. Cette transmittance doit être comprise entre 0,08 et 0,1 pour les bactéries (**LABIOD, 2016**), et entre 2% et 3% pour les levures. Si la valeur de la transmittance lue est comprise dans les intervalles cités ci-dessus, la concentration de la suspension est optimale. Ceci s'interprète qu'elle contienne 107 à 108 germes/ml. Si la valeur de la transmittance ne fait pas partie des deux intervalles cités, on ajuste la concentration, soit en ajoutant des colonies si elle est inférieure à la valeur minimale, soit de l'eau physiologique si elle est supérieure à la valeur maximale.

L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation. La préparation de la première couche. (**Pharmacopée Européenne, 2002 ; Lamri et Akhzeroun, 2019**).

II.2.6.4. Préparation de la première couche

Les milieux gélosés Muller-Hinton (MH) et Sabouraud (SAB) sont fondus dans un bain-Marie à 95°C. On verse aseptiquement une première couche dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte. On Les laisse refroidir et solidifier sur la paillasse (**Pharmacopée Européenne, 2002 ; Lamri et Akhzeroun, 2019**).

II.2.6.5. La préparation de la deuxième couche

On liquéfie les milieux gélosés Mueller - Hinton et Sabouraud dans un bain-Marie à 95 °C. On les laisse refroidir jusqu'à une température de 45 °C. On remplit ensuite des flacons en verre stériles avec 50 ml du milieu Mueller-Hinton pour les bactéries, et avec 50 ml du milieu Sabouraud pour les levures et les champignons, pour chacune des souches. Puis, on inocule dans chaque flacon 200 μ l de chacune des suspensions bactériennes préparées à partir des cultures jeunes tout en assurant une agitation manuelle. On transvase rapidement chaque

contenu des flacons dans les boîtes contenant la première couche de gélose et on étale rapidement la seconde couche (4 ml) en faisant pivoter la boîte de Pétri sur elle-même pour avoir une surface uniforme. Enfin, on les laisse solidifier sur la paillasse (**Pharmacopée Européenne, 2002 ; Lamri et Akhzeroun, 2019**).

II.2.6.5. Préparation des extraits

La méthode de diffusion sur disque d'agar a été utilisée pour la détermination de l'activité antimicrobienne (**Changwei et al., 2008**). Pour cela des concentrations de 100 et 50 mg de l'extrait ont été dissous dans 1 ml de DMSO (Diméthylsulfoxyde). Des dilutions sont préparées de façon à obtenir des concentrations de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 et 1/64 à partir d'une solution mère de 50mg/ml dans le DMSO pour la détermination de la CMI. Un disque stérile de 6 mm de diamètre (Whatman n°3) a été imprégné de solution d'extrait et de DMSO (Témoin négatif) et placé sur la gélose préalablement ensemencée. Pour les bactéries nous avons utilisé des antibiotiques de synthèses comme témoins positifs (**tableau 4**). Après incubation, des zones d'inhibition claires autour des disques ont indiqué la présence d'une activité antimicrobienne.

Tableau 4: les antibiotiques de synthèses

Antibiotiques	Sigle	Charge de disque
Céfazoline	CZ	30
Ac.nalidixique	NA	30
Ciprofloxacine	CIP	5
Kanamycine	K	30
Streptomycine	S	10
Chloramphénicol	C	30
Téicoplanine	TEC	30

II.2.6.6. Préparation des disques

Une fois les milieux sont solidifiés, on prélève à l'aide d'une pince stérile des disques stériles de 6 mm de diamètre (Whatman No.3) qui ont été imprégnés de 20 μ l de chaque concentration d'extrait et de DMSO (témoin négatif). Ces disques sont placés sur le milieu de culture préalablement inoculé. Tous les essais ont été répétés trois fois. Les boîtes sont

fermées et laissées sur la paillasse pendant 30 minutes pour permettre la diffusion de l'extrait. Puis, elles sont incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries, et à 25°C pendant 48 à 72 h pour les levures. Pour les champignons, on a préparé des essais et des témoins négatifs. L'incubation dure entre six à sept jours à 25°C. (**Pharmacopée Européenne, 2002 ; Changwei et al., 2008**).

II.2.6.7. Lecture

La lecture se fait par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse. Le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne a été symbolisé par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés.

Suivant le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit (**Djabou et al., 2013**):

- Résistante (-) : diamètre ≤ 8 mm
- Modérément sensible (+) : diamètre compris entre 8 et 14mm.
- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

II.2.6.8. Analyse statistique

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne obtenus sont exprimés en tant que moyenne $\pm$ d'écart type des trois mesures. Cette analyse a été effectuée avec le logiciel

Microsoft Office Excel 2016.

Chapitre III :
RESULTATS ET DISCUSSION

Le processus général de caractérisation de nouvelles molécules bioactives à partir de matrices complexes, telles que les plantes fait intervenir différentes étapes, dont les trois principales sont l'extraction, le fractionnement et l'identification des composés d'intérêt. Ces étapes sont guidées par des analyses phytochimiques et des tests biologiques (**Hostettmann et Wolfender, 2004**).

III .1. Rendement de l'extraction

La préparation de l'extrait à partir de la partie aérienne d'*A. campestris* soit tiges et feuilles de la région de Boucedraïa qui se trouve au sud d'Ain Oussara située au nord de Djelfa a été effectuée par la méthode du Soxhlet en utilisant l'éthanol comme solvant organique.

Exprimé en pourcentage du poids en gramme de l'extrait sec résultant divisé sur la masse en gramme du matériel végétal à traiter, le rendement est égal à 10,75%. Poids en gramme de l'extrait sec résultant est de 2,15g. Ainsi, la masse en gramme du matériel végétal à traiter est de 20g. Donc, le rendement est égal à 10,75 %.

La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de l'extrait éthanolique sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: La couleur, l'aspect et le rendement d'extraction de la partie aérienne d'*A. campestris*.

Région	Aspect	Couleur	Rendement
Djelfa	visqueux	Vert	10.75%.

Selon les travaux de **Boudjourf (2011)** sur trois extraits bruts (chloroformique (Chl), l'extrait d'acétate d'éthyle (AcEt) et l'extrait éthanolique (EtOH)) de la partie aérienne d'*A. campestris* de la région de Boussaâda (wilaya de Msila), le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait de chloroforme soit un rendement de 3,4 % m/m. Il est suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle avec un rendement de 2,26 % m/m). Enfin, l'extrait éthanolique possède le plus faible rendement soit 0,48 % m/m.

III .2. Scraaning phytochimique des métabolites secondaires présent dans la partie aérienne d'*A. campestris*

La mise en évidence de divers groupes de métabolites secondaires existants chez l'espèce étudiée a été basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactions spécifiques.

Les tests de précipitations ont permis de mettre en évidence les différents métabolites secondaires successivement les tannins et les alcaloïdes. Tandis que, les tests de coloration en solution ont pu mettre en évidence les flavonoïdes, les anthocyanes, les terpènes, les quinones et les anthraquinones.

Les résultats du criblage phytochimique sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Screening phytochimique par réaction de coloration/précipitation de la plante étudiée.

Classe de composés /plante	<i>A. campestris</i> (partie aérienne)
Alcaloïdes	
• Dragendorff	+
Tanins	
• Simple	++++
• Catéchiques	+++
• Galliques	+++
Flavonoïdes	
• Flavones	+++
• Flavonoides libres	+
• Flavonones	-
• Leucoanthocyane	+
• Catéchols	+++
• Anthocyanes	+
Stérols et tri terpènes	+++
Saponines	+++
Huiles essentielles	+++
Glycosides	++
Coumarines	+

- Réaction Très positive : (++++).
- Réaction Positive : (+++).
- Réaction moyennement positive : (++)
- Réaction faiblement positive : (+).
- Réaction négative : (-) Absent.

Le criblage phytochimique préliminaire réalisé sur cette plante révèle la présence des tanins simple, des tanins cathéchiques et des tanins galliques. On note aussi la présence de flavonoïdes comme les flavones, les flavonoides libres, les leucoanthocyanes, les catéchols et les anthocyanes. Les flavonoïdes sont en majorité retrouvés, avec la présence des stérols des tri terpènes, des saponines, des huiles essentielles ainsi que des Glycosides et des coumarines. Par ailleurs on note l'absence des flavonones.

Selon **Kebili (2016)**, les tests préliminaires réalisés au préalable ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes et des composés phénoliques dans la plante.

Il est à noter que le criblage des alcaloïdes a montré qu'*A. campestris* est pauvre ces métabolites. Les résultats du présent travail sont similaires avec ceux d'**Ebidi (2016)** et de **Benattia (2015)**. Le premier auteur a touché à la partie aérienne d'*A. campestris* dans la région d'Aflou (Laghout). Tandis que le second auteur a testé les mêmes parties de la même plante de la zone d'El Hemel (M'sila).

D'après **Naili et al., (2010)**, les feuilles d'*A. campestris* contiennent aussi des alcaloïdes.

Le criblage des tanins a montré qu'*A. campestris* est riche en ce métabolite. La réaction est très positive pour les tanins simples et positive pour les tanins catéchiques et les tanins galliques.

Ces résultats sont similaires avec l'étude réalisée par **Ebidi, (2016)** sur l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A. campestris* de la région de El Hemel (M'sila). Ils sont aussi en accord avec ceux de **Talbi (2015)** ayant touché à l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A. campestris* de la région de Djelfa. Ainsi, ils sont aussi très proches de ceux de **Benattia, (2015)** ayant traité les mêmes parties de la même plante de la zone d'Aflou (Laghout).

En effet, de nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*A. campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les acides phénolique les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles (**Akrout et al., 2003**).

Les tests phytochimiques ont élucidé qu'*A. campestris* est riche en flavonoïdes. La réaction est positive pour les flavones et les catéchols. Elle est faiblement positive pour les flavonoïdes libres, les leucoanthocyanes et les anthocyanes. Par contre, elle est négative pour les flavonones.

Les résultats obtenus présentent une similarité avec ceux de **Ebidi, (2016)**, de **Talbi (2015)** et de **Benattia, (2015)**

De nombreuses études phytochimiques sont réalisées sur l'espèce étudiée par **Pascual et al., (1984)**, par **Rauter et al., (1989)**, par **Joao et al., (1998)** et **Akrout et al., (2001)** ayant étudié l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A. campestris*. Ils ont révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins, des huiles essentielles. Ceci confère à cette plante de nombreuses propriétés biologiques (**Akrout et al., 2011**).

Bakchiche et al., (2019) ont identifié 11 composés phénolique dans l'extrait alcoolique d'*A. campestris* par la méthode chromatographique HPLC-MS/MS, telle que les dérivés des acides phénoliques et les flavonoïdes.

Le contenu phénolique total de l'extrait éthanolique (80%) de la partie aérienne de cette espèce récoltée dans le Sahara Algérien (Laghouat) contient les flavonoïdes, les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydroxibenzoïques, qui ont été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (**Djeridane et al., 2007**).

Le criblage phytochimique des saponines, a montré que la partie aérienne d'*A. campestris* est riche en saponines. La réaction est positive.

Ces résultats sont similaires avec ceux d'**Ebidi, (2016)** et de **Talbi, (2015)**.

Les feuilles et les fleurs d'*A. campestris* sont riches en alcaloïdes, en saponines, en terpènes et surtout en flavonoïdes, selon l'étude effectuée par **Al-Snafi (2015)**. Quatre flavanones (pinostrobin, pinocembrine, sakuranetin et narin génine), un dihydroflavonol (7-méthyl aromadendrine) et un flavone (hispiduline) ont été isolés.

D'après **Naili et al., (2010)**, les feuilles d'*A. campestris* contiennent aussi des saponines.

Le criblage des stérols et les triterpènes a montré une réaction positive pour ces métabolites.

D'après les travaux d'**Ebidi (2016)**, la partie aérienne d'*A. campestris* de la région El Hemel (M'sila) pauvre en stérols et en triterpènes.

La réaction du criblage des huiles essentielles est positive ce qui montre qu'*A.campestris* est riche en huiles essentielles.

Les travaux de **Saihi (2011)** sur *A. campestris* de la région de Djelfa (Alger) ont montré que cette plante est riche en huiles essentielle avec un rendement de 0,29%. Dans la région de Bouilef à Batna, **Bertella (2019)** a trouvé un rendement de 0,29% à partir de la partie aérienne d'*A. campestris* séchée à l'aire libre, en utilisant la méthode de l'hydro-distillation.

A. campestris récoltée en Tunisie) présente plus de 59% d'huile essentielle. De sorte que les monoterpènes relativement oxygénés constituent la petite fraction de cette huile (moins de 10%) Ils sont principalement composés de propanoate de géranyl (1,6-4,3%), d'alpha-terpinéol (0,6 -1,9%) et de terpinen-4-ol (0,8-1,9%). Les sesquiterpènes allaient de 5,0 à 29,8% (**Akrout et al., 2003**).

La réaction est moyennement positive pour le criblage des Glycosides. Pour ce qui est du criblage des coumarines, Il a été montré que la partie aérienne d'*A. campestris* est pauvre en ce métabolite. Ces résultats sont on accorde avec ceux de **Talbi (2015)** ayant touché à l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A. campestris* de la région de Djelfa, et ceux de **Ebidi, (2016)** de la région de El Hemel (M'sila).

L'aésculétine, l'hydroxycoumarine, le scopolin, l'isofraxidine et/ou la fraxidine sont des coumarines qui ont été trouvé dans l'extrait méthanolique et la fraction aqueuse d'*A. campestris* poussant en Tunisie (**Megdiche-Ksouri et al., 2015**).

La nature des métabolites secondaires mis en évidence par le criblage phytochimique laisse prévoir des activités pharmacologiques intéressante des plantes étudiées. Il s'agit essentiellement /

Les alcaloïdes sont dotés de propriétés pharmacologiques et toxicologiques marquées. Alors que, les composés phénoliques présentent une large gamme d'activités biologiques (**Ikan, 1991 ; Bruneton, 2009**). Ainsi que les flavonoïdes sont souvent présentés comme anti-inflammatoires, anti-allergitiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens et antiviraux in vitro (**Bruneton, 2009**). Les tanins sont des drogues. Ils sont assez restreints et découlent de leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie externe, ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes. En effet, ils ont aussi un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. Par voie interne, ils exercent un

effet antidiarrhéique certain. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet antiseptique antibactérien et antifongique clairement démontré de ces molécules est intéressant (diarrhées infectieuses, dermatites) (Bruneton, 2009).

.

III .3. Activité antimicrobienne

III.3.1. Activité antibactérienne

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne. Ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpenoïdes. Le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques (Rojas et al., 1992).

Très peu de recherche se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne d'*Artemisia campestris* (Ben Sassi et al., 2007; Naili et al., 2010).

Pour caractériser l'activité antimicrobienne de l'extrait testé, on a utilisé la méthode de diffusion sur disques. C'est une technique qualitative basée sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques chargés d'extraits végétaux.

Antibiogramme

Cet antibiogramme est réalisé afin de mettre en évidence la résistance ou la sensibilité de diverses souches étudiées dans ce travail vis-à-vis des antibiotiques synthétiques utilisés. Ils sont donc considérés comme témoins positifs de l'activité antibactérienne d'*A. campestris*. Tandis que, le DMSO est considéré comme témoins négatif (Tableau 7).

Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques utilisés sont représentées dans l'annexe 5

Tableau 7: Antibiogramme des souches bactériennes utilisées exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre

Souches ATB (ug)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Eschérichia coli</i> ATCC 8739	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
Kanamycine (K 30)	R	10 (R)	15 (I)	13 (I)
Streptomycine (S 10)	R	16 (S)	17 (S)	R
Céfazoline, (CZ 30)	R	R	25 (S)	16 (I)
Acide nalidixique (NA 30)	R	10 (R)	20 (I)	R
Chloramphénicol (C 30)	R	18 (R)	23 (S)	R
Ciprofloxacine (CIP 5)	R	30 (S)	29 (S)	R
Téicoplanine (TE C 30)	29 (S)	R	R	R
DMSO	00	00	00	00

R : résistance

I : intermédiaire

S : sensibilité

D'après le tableau ci-dessus *Staphylococcus aureus* testée présente une résistance à la Kanamycine, au Streptomycine, à la Céfazoline, à l'acide Nalidixique, au Ciprofloxacine, au Chloramphénicol. Par contre, elle est sensible vis-à-vis à la Téicoplanine avec une zone d'inhibition de 29 mm.

Pseudomonas aeruginosa a manifesté une résistance vis-à-vis de tous les antibiotiques testés, sauf pour le Ciprofloxacine, où on a enregistré une sensibilité de 30 mm. Cette espèce est résistante aussi à la Streptomycine, avec une zone d'inhibition de 16 mm.

E. coli présente une sensibilité contre les antibiotiques Céfazoline, Chloramphénicol, Ciprofloxacine respectivement avec des diamètres d'inhibition de 30, 23 et 29 mm. L'espèce étudiée possède une résistance pour la Tétracycline. En outre, on a enregistré une sensibilité intermédiaire pour Kanamycine, Streptomycine, et Acide nalidixique avec des zones d'inhibition de 15, 17, et 20 mm successivement.

La souche *Bacillus subtilis* est résistante contre les antibiotiques Streptomycine, Chloramphénicol, Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Tétracycline. Par ailleurs, elle a manifesté une sensibilité intermédiaire pour Kanamycine avec un diamètre d'inhibition de 15 mm, et pour Céfazoline, avec un diamètre d'inhibition de 16 mm.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons sont consignés dans le tableau 8.

Selon, **Djabou et al., (2013)**, la lecture des résultats est basée selon le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm). Autour de chaque disque, faite comme suit:

La souche testée est résistante lorsque le diamètre est inférieur ou égal à 8mm et modérément sensible lorsqu'il comprend entre 8 et 14mm, sensible entre 14 et 20mm et extrêmement sensible quand il est supérieur à 20 mm

Tableau 8 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenu par l'extrait éthanolique d'*A. campestris* exprimés en mm (moyenne $\pm$ écart type).

Souches bactériennes	Concentration mg/ml	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
		DMSO	Extrait
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	100	00	25 ± 0,00
	50	00	20,66 ± 0,58
	25	00	20 ± 0,00
	12,5	00	06 ± 0,00
	6,25	00	06 ± 0,00
	3,12	00	06 ± 0,00
	1,56	00	06 ± 0,00
	0,78	00	06 ± 0,00
	0,39	00	06 ± 0,00
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	100	00	20 ± 0,00
	50	00	16,33 ± 1,53
	25	00	13,33 ± 1,53
	12,5	00	11,33 ± 1,15
	6,25	00	10 ± 0,00
	3,12	00	06 ± 0,00
	1,56	00	06 ± 0,00
	0,78	00	06 ± 0,00
	0,39	00	06 ± 0,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	100	00	19 ± 1,00
	50	00	16,67 ± 2,08
	25	00	14 ± 2,64
	12,5	00	12,33 ± 1,15
	6,25	00	12,33 ± 0,57
	3,12	00	06 ± 0,00
	1,56	00	06 ± 0,00
	0,78	00	06 ± 0,00
	0,39	00	06 ± 0,00

Souches bactériennes	Concentration mg/ml	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
		DMSO	Extrait
<i>Eschérichia coli</i> ATCC 8739	100	00	20,66 ± 0,58
	50	00	17,66 ± 2,08
	25	00	15 ± 1,00
	12,5	00	11 ± 0,00
	6,25	00	10 ± 0,00
	3,12	00	06 ± 0,00
	1,56	00	06 ± 0,00
	0,78	00	06 ± 0,00
	0,39	00	06 ± 0,00

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* est testé via la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis des souches bactériennes Gram positive comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et des souches Gram négative à savoir *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées. Ceci confirme que cette plante est douée de propriétés antibactériennes.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* se révèle sensible vis-à-vis des concentrations 100, 50 et 25 mg/ ml avec des zones d'inhibition de 19, 16,67 et 14 mm respectivement. Elle est modérément sensible pour la concentration 12,5 mg/ml avec 12,33 mm.

La souche de *Staphylococcus aureus* est très sensible vis-à-vis des concentrations 100, 50 et 25 mg/ ml de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* avec des diamètres d'inhibition de 25, 20,66 et 20 mm.

Les souches *E. Coli* et *Bacillus subtilis* ont montré une sensibilité vis-à-vis de la concentration 100 mg/ml avec respectivement de zones d'inhibition de 20,66 et 20 mm. Par contre, elles sont modérément sensibles à sensibles vis-à-vis des concentrations 50, 25 et 12,5mg/ml.

La CMI a été déterminée pour les différentes souches bactériennes testées (Tableau 9)

Tableau 9: Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* exprimée en concentration minimale inhibitrice (CMI) (mg/ml).

Les souches bactériennes	La concentration minimale inhibitrice (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	6,25
<i>Eschérichia coli</i> ATCC 8739	6,25

On remarque que l'extrait éthanolique d'*A. campestris* a manifesté un pouvoir antibactérien envers toutes les souches bactériennes testées, mais avec des degrés différents. Ceci s'est traduit par la différence des CMI.

Les trois souches *E. coli* et *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa* possèdent la même CMI.

Artemisia campestris est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses maladies dont les infections, d'après l'étude de (Naili et al., 2010). Ces auteurs ont testé l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris*. Ils ont trouvé que cet extrait a un effet antibactérien très efficace vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.

Il est à mentionner que l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris* n'a exercé une activité antibactérienne que contre les bactéries Gram positif sans effets antagonistes contre les espèces bactériennes Gram négatif. Les concentrations minimales inhibitrices contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* sont respectivement de 12,5, 12,5, 250, 500 et 250 µg/ml (Bnouham et al., 2002).

Ben Sassi et al., (2007) ont étudié l'activité antibactérienne des extraits de la partie aérienne de 23 plantes médicinales dont *A. campestris*. Ils ont trouvé que seul l'extrait d'acétone exerce un effet inhibiteur parmi les trois extraits obtenus à savoir l'acétone, l'hexane et le méthanol.

Naili et al (2010) ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris*. Ils ont utilisé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

Boudjouref (2011) a déterminée l'activité antimicrobienne d'*A. campestris* récoltée à Boussaada sur quatre souches bactériennes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, selon la méthode de diffusion de disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par les trois extraits sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia Coli* est de 1,8 mg/ml et 0,5 mg/ml respectivement. Sur *Proteus mirabilis*, elle est respectivement de 0,75 mg/ml et 1,5 mg/ml pour les extraits chloroformique et l'acétate d'éthyle. En outre, tous les extraits ont un effet sur les microorganismes testés sauf sur *Pseudomonas aeruginosa*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*A. campestris* en présence de quatre espèces bactériennes pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pnemoniae* ont montré que ces huiles présentent une activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes étudiées (**Saihi, 2011**).

Ainsi, **Abed et al., (2014)** et **Naili et al., (2010)** ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris* a induit un effet antimicrobien significatif contre un large éventail de bactéries telles *Escherichia coli* (17 mm), *Bacillus cereus* (25mm), *Bacillus subtilis* (21 à 32mm), *Staphylococcus aureus* (27mm), *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* (13 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (9mm), par comparaison à des antibiotiques comme le Chloramphénicol (33mm), le Streptomycine (22mm) et le Ceftazidime (27mm).

Karabegović et al., (2011) a examiné l'effet de deux types d'extrait méthanol préparés différemment à partir de la partie aérienne de la plante sur sept souches bactériennes, dont le meilleur effet a été obtenu contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des zones d'inhibition allant de 18 à 21mm. Ces effets semblent être plus élevés à ceux obtenus avec les antibiotiques soit l'Erythromycine (20,5mm) et le Tartrate de tylosine (17-18mm).

III.3.2. Activité antifongique

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne avec les différentes concentrations de l'extrait ethanolic de *A.campestris* sur les deux souches fongiques testées.

Les résultats d'évaluation de l'activité antifongique des échantillons sont consignés dans le tableau 10

Tableau 10 : Les résultats d'évaluation de l'activité antifongique

Souches	La concentration (Mg/ml)	Zones d'inhibition (mm)	
		DMSO	Extrait
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	100	00	25 ± 0,00
	75	00	20 ± 0,00
	50	00	17,33 ± 2,52
	25	00	14 ± 0,00
	12,5	00	12 ± 0,00
	6,25	00	11 ± 0,00
	3,12	00	9,67 ± 0,58
	1,56	00	06 ± 0,00
	0,78	00	06 ± 0,00
	0,39	00	06 ± 0,00
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	100	00	25 ± 0,00
	75	00	22,66 ± 2,52
	50	00	17 ± 0,00
	25	00	11,67 ± 1,53
	12,5	00	11,33 ± 0,58
	6,25	00	10,33 ± 0,58
	3,12	00	06 ± 0,00
	1,56	00	06 ± 0,00
	0,78	00	06 ± 0,00
	0,39	00	06 ± 0,00

La souche testée *Candida albicans* est extrêmement sensible pour la concentration de 100 mg/ml avec une zone d'inhibition de 25 mm. Tandis qu'elle est sensible pour les concentrations 75 et 50 mg/ml avec des diamètres d'inhibition de 20 et de 17,33 mm respectivement. Elle est modérément sensible pour les concentrations 25 ; 12,5 ; 6,25, 3,12 mg/ml avec des diamètres d'inhibition inférieurs à 14 mm.

La souche *Saccharomyces cerevisiae* est extrêmement sensible pour la concentration de 100 et 75 mg/ml avec des diamètres d'inhibition de 25 et 22,66 mm successivement. Elle est sensible vis-à-vis de la concentration 50 mg/ml avec un diamètre d'inhibition de 17 mm. Par contre, elle est modérément sensible vis-à-vis des concentrations 25, 12,5, 6,25 mg/ml avec des zones d'inhibition comprises entre 11,67 et 10,33 mm et résistante vis-à-vis de la concentration 3,12 mg/ml.

Concernant les concentrations 1,56, 0,78 et 0,39 mg/ml de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* elles n'ont exercé aucun effet sur les deux souches fongiques étudiées.

L'huile essentielle d'*A. campestris* agit de façon active sur les souches de moisissures, comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, et *Rhizopus stolonifer* qui atteint parfois 87 % d'inhibition. Ceci est du probablement à la présence de certains composés majoritaires comme β -pinène connu pour son activité antifongique (Gherib, 2009).

L'extrait aqueux d'*A. campestris* testé sur les souches *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum* et *Microsporum canis* a induit 100% de l'inhibition de la croissance. Le même résultat a été obtenu avec les antibiotiques soit le luconazole, l'itraconazole, le voriconazole et l'amphotéricine B (Webster et al., 2008).

Megdiche-Ksouri et al., (2015) notent que *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida albicans* traitées par l'extrait aqueux d'*A. campestris* a induit une zone d'inhibition de 7mm, qui était assez similaire à celui de l'amphotéricine B (8,4-10mm). En outre, l'extrait méthanol des tiges d'*A. campestris* a révélé différents pourcentages d'inhibition contre *Fusarium oxysporum* (54%), *Aspergillus fumigatus* (47%), *Fusarium verticillioides* (39%), *Penicillium brevicompactum* (31%) et *Aspergillus flavus* (30%) (Zabka et al., 2011).

Selon Megdiche-Ksouri et al., (2015), une zone d'inhibition allant de 7 à 9 mm a été observée suite au traitement des colonies de *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et *Candida albicans* avec les extraits méthanolique et acétate d'éthyle de la

partie aérienne d'*A. campestris*. Ce résultat est proche à celui obtenu après le traitement par l'antibiotique amphotéricine B.

L'huile essentielle de la partie aérienne d'*A. campestris* a induit un effet antifongique puissant contre certaines souches fongiques pathogènes. Ainsi, *Fusarium graminearum* était la plus sensible au traitement par l'huile essentielle, avec une CMI de 1,25 µl/ml (v/v). Elle est suivie par *Fusarium moniliforme*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus*, soit une CMI de 2,5 µl/ml (**Houicher et al., 2016**).

Il est très important de mentionner à partir des travaux de **Banso et Adeyemo (2007)**, que les tanins isolés des plantes médicinales possèdent une activité toxique contre les champignon.

Conclusions et perspectives

Conclusions et perspectives

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. D'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, différents aspects d'*Artemisia campestris* ont été étudiés. On note quelques propriétés phytochimiques, l'activité antibactérienne et l'effet antifongique des extraits éthanoliques de la plante testée.

Le criblage phytochimique préliminaire réalisé sur cette plante révèle la présence des tanins simples, des tanins cathéchiques et des tanins galliques. On mentionne aussi la présence de flavonoïdes comme les flavones, les flavonoides libres, les leucoanthocyanes, les catéchols et les anthocyanes. Les flavonoïdes sont en majorité retrouvés, avec la présence des stérols, des tri terpènes, des saponines, des huiles essentielles ainsi que des glycosides et des coumarines. Par ailleurs, on note l'absence des flavonones.

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* est testé via la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis des souches bactériennes Gram positif comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et des souches Gram négatif à savoir *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées. Ceci confirme que cette plante est douée de propriétés antibactériennes.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* se révèle sensible vis-à-vis des concentrations 100, 50 et 25 mg/ ml avec des zones d'inhibition de 19, 16,67 et 14 mm respectivement. Elle est modérément sensible pour la concentration 12,5 mg/ml avec 12,33 mm de diamètre d'inhibition.

La souche de *Staphylococcus aureus* est très sensible vis-à-vis des concentrations 100, 50 et 25 mg/ ml de l'extrait éthanolique d'*A. campestris* avec des diamètres d'inhibition de 25, 20,66 et 20 mm.

Les souches *E. Coli* et *Bacillus subtilis* ont montré une sensibilité vis-à-vis de la concentration 100 mg/ml avec respectivement de zones d'inhibition de 20,66 et 20 mm. Par contre, elles sont modérément sensibles à sensibles vis-à-vis des concentrations 50, 25 et 12,5mg/ml avec des zones d'inhibition entre 17 et 12 mm.

L'activité antifongique est montré que les deux souches *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* sont sensibles pour l'extrait éthanolique de cette plante.

La souche testée *Candida albicans* est extrêmement sensible pour la concentration de 100 mg/ml avec une zone d'inhibition de 25 mm. Tandis qu'elle est sensible pour les concentrations 75 et 50 mg/ ml avec des diamètres d'inhibition de 20 et 17,33 mm respectivement. Elle est modérément sensible pour les concentrations 25, 12,5 ; 6,25, 3,12 mg/ml avec des diamètres d'inhibition inférieurs à 14 mm.

La souche *Saccharomyces cerevisiae* est extrêmement sensible pour les concentrations 100 et 75 mg/ml avec des diamètres d'inhibition de 25 et 22,66 mm successivement. Elle est sensible vis-à-vis de la concentration 50 mg/ ml avec un diamètre d'inhibition de 17 mm. Par contre, elle est modérément sensible vis-à-vis des concentrations 25, 12,5, 6.25 avec des zones d'inhibition comprises entre 11,67 et 10,33 mm. Mais, elle est résistante vis-à-vis de la concentration 3,12 mg/ml.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens.

Ainsi, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. A cet effet, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antimicrobiennes, soit l'effet antibactérien et l'effet antifongique des extraits de ces plantes. Avec une recherche d'autres activités biologiques comme l'effet antibiofilm, l'effet antidiabétique, l'effet anticancéreux, l'effet anti-oxydant et d'autres effets.

Références bibliographiques

A /

- **Abad M J., Bedoya L M., Apaza L., Bermejo P. (2012).** The *Artemisia* L. genus: review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17, 2542-2566.
- **Abbad A., Kasrati A., Jamali C A., Zeroual S., Ba M'hamed T., Spooner-Hart R., Leach D. (2014).** Insecticidal properties and chemical composition of essential oils of some aromatic herbs from Morocco. *Nat. Prod. Res* 28(24), 2338-2341
- **Abderrazak M., et Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
- **Afolayan A J., and Meyer J J. (1997).** The antimicrobial activity of 3, 5, 7-trihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. *J. Ethnopharmacol.* 57:177–81.
- **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, 189-199.
- **Amalaradjou MAR., Narayanan A., Baskaran SA., Venkitanarayanan K. (2010).** Antibiofilm effect of trans- cinnamaldehyde on uropathogenic *Escherichia coli*. *J Urol.* 184: 358–363.
- **Akrout A., El Jani H., Amouri S., Neffati M. (2010).** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba-alba* Asso. And *thymus capitatus* Hoff et Link. growing wild in the southern of tunisia. *Recent Res. Sc. And Technol.*, 2, 29-39.
- **Akrout A., Chemli R., Chreif I., Hammami M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour Fragr.*, 19, 332-347.
- **Akrout A., Chemli R., Simmonds M., Kite G., Hammami M., Chreif I. (2003).** Seasonal Variation of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L, *Journal of Essential Oil Research*. P: 333-336.
- **Al-Snafi AE. (2015).** The pharmacological Importance of. *Artemisia campestris* A review. P 90-91.
- **Archana P., Samatha T., Mahitha B., Chamundeswari and RamaSwamy N. (2012).** Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of *Senna alata* L. Roxb-an Ethnomedicinal plant. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR)* Vol 3 Issue 3 Jun-Jul.
- **Aworet Samseny R R. (2003).** Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le *Strychnos Icaja*

Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto - Stomatologie, Mali.

B/

- **Babaamer Z Y., Sakhri L., Al-jaber H I., Al-Qudah M A., Abu Zarga M H. (2012).** two new taraxaterol-type triterpenes from *pergularia tomentosa* growing wild in Algeria. *Jornal of Asian Natural products Research*.vol. 14, n°2, pp. 1137-1143.
- **Bakchiche B., Gherib A., Bronze M R., Ghareed M A. (2019).** Identification Quantification and Antioxidant Activity of Hydroalcoholic Extract of *Artemisia campestris* from Algeria *Turk. J Pharm Sci* .16(2) :234-239
- **Banso A. (2007).** Comparative studies of antimicrobial properties of *Cardiospermu...*, *grandiflorum* and *Cardiospermum halicacabum*.Nig. *Journal of Health and Biomedical Sciences*, 6(1): 31-34.
- **Barkat A., Boumendjel M., Saoudi A., El Feki M. (2015).**Messarah, *Artemisia campestris* leafaqueousextractalleviatesmethidathion-inducednephrotoxicityin rats, *In.J. Pharm. Sci. Rev. and Res.*32. 200–209.
- **Benattia S. (2015).** Evaluation effet allélochimique des extraits aqueux et huile essentiels d'*Artemisia Compestris* L. Sur quelques souches de fusarium. Mémoire de master académique, université d'Ouargla, département des sciences biologique.
- **Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni1 M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.
- **Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A and Ziyat A B (2002).** Ethnopharmacology Forum: Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes & Metabolism*, 10: 33-50.
- **Borges A, Ferreira C, Saavedra M J, Simões M. (2013).** Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microb Drug Resist*; 19: 256–265.
- **Botterel F., Faibis F., Chevalier C., Delisse C., Fiacre A., Dubois A., Demachy M C. (2004).** Intérêts et limites de la surveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie: expérience du CHG de Meaux. *Pathologie Biologie*. 52 : 469–473.
- **Boudjourf M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. *Men. Mag. Bio.*, Université de Sétif. P : 99

- **Boukhalkhal S., Gourin N., Pinto DCGA., Silva AMS., Yousfi M. (2018).** Variability of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oils of two subspecies of *Artemisia campistris* L. growing in Algeria. J. Food Meas. Charact.1-14.
- **Brown J E., Khodr H., Hider R C., and Rice-Evans C. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. Biochem. J. 330: 1173-1178.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4ème Ed.), 1268 p.
- **Bruneton J. (2015).** Pharmacognosie (5^e Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris.1504pp.
- **Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods—a review. Int J Food Microbiol; 94: 223–253.

C/

- **Castañeda-Ovando A., Pacheco-Hernández M L., Páez-Hernández M E., Rodríguez J A., GalánVidal C A. (2009).** Chemical studies of anthocyanins: A review, Food Chemistry, 113, 859-871.
- **Chalchat J C., Cabassu P., Petrovic SD., Maksimovic Z A., Gorunovic M S. (2003).** Composition of Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia. J. Essent. Oil Res., 15, 251-253.
- **Changwei, A O., Anping L., Abdelnaser A E., Tran D X., Shinkichi T. (2008).** Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Ficus microcarpa* L. fil.extract. Food Control, 19: 940–948.
- **Chaudhry P S., Cabrera J., Juliani H R., and Varma S D. (1983).** Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. Biochem. Pharmacol. 32: 1995.
- **Clifford M N. (2000).** Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea, Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida,41(5), 393-397
- **Cohen Y et Jacquot C. (2001).** Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. 350p.

- **Conrad J., Vogler B., Klaiber I., Roos G., Walter U., Kraus W. (1998).** Two triterpene esters from *Terminalia macropterabark*, *Phytochemistry*, 48, 647-650.
- **Cosentino S., Barra A., Pisano B., Cabizza M., Pirisi F M., Palmas F. (2003).** Composition and antimicrobial properties of Sardinian *Juniperus* essential oils against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. *J. Food Protect*, 66, 1288-1291.
- **Cotelle N. (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr.Top. Med. Chem.* 1:569-590. (cited in Yakhlaif G, 2009).

D/

- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris, 317
- **Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani M C., Desjobert J M., Bolla J M., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A. (2013).** Phytochemical composition of Corsican *Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxii infectious pathogens. *Food Control*. 30: 354-363
- **De Pascual J T., Gonzalez M S., Muriel M R and Bellid I S. (1984).** Phenolic derivatives from *Artemisia campestris Subsp Glutinosa*. *Phytochemistry*. 23 (8): 1819-1821.
- **De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F, Gooijer C, Brinkman U A T. (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids, *Journal of Chromatography A*, 1112, 31–63.
- **Dib M., Tits L., Angenot J N., Wauters A., Assaidi H., Mekhfi M., Aziz M., Bnouham A., Legssyer M., Frederich. (2017).** Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* L. from Eastern Morocco, *J. Ethnopharmacol.* 206. 224–235.
- **Dib I., Angenot L., Mihamou A., Ziyat A., Tists M. (2017).** *Artemisia campestris* L.: Ethanomedicinal, phytochemical and pharmacological review. *J. Herb. Med.*, 7, 1-10.
- **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo AA., et Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci.* 65 (4): 337-53.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem.* 97: 654–660.

- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J., Stocker P. (2007).** Screening of some Algerien merdicinal plants for the phynolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 224, 801-809.
- **Dob T., Dahmane D., Berramdane T., Chelghom C. (2005).** Chemical composition of the Essetial Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *Pharm. Biol.*, 43(6), 512-514.
- **Dufresne C J., and Farnworth E R. (2001).** A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J. Nutr. Biochem.* 12, 404–421.
- **Dupont F. (2004).** Botanique – Systématique Moléculaire. *Ed Masson*. 336 p.

E/

- **Elbidi A. (2016).** Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire de master academique, Université de Djelfa.
- **Effendi L., Yajun Y. (2008).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylatedflavonols in *Escherichia coli* .*Metab.Eng.*8: 172-181.
- **Elghozi J L., Duval D. (1992).** Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.
- **El-Mokasabi F M. (2014).** Floristic composition and traditional uses of plant species at Wadi Alkuf, Al-jabal Al-Akhdar, Libya. *Am Eurasian J Agric. Environ. Sci.*, 14, 685-697.
- **Emery S M., Rudgers J A. (2010).** Ecological assessment of dune restorations in the Great Lakes region. *Restor. Ecol.*, 18, 184-194.

F/

- **Fakchich J. et Elachouri M. (2014).** Ethanobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethanopharmacol.*, 154, 76-87.
- **Fattouch S., Caboni P., Coreneov., Tuberesso C., Angioni A., Dessi S., Marzouki N., and Cabras P. (2007).** Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia Oblongamiller*) pulp and peel phenolic extracts. *j. Agric. Food Chem.*, 55: 963-969.

- **Ferrazzano G F., Amato I., Ingenito A., Zarrelli A., Pinto G., Pollio A .(2011).** Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties: A Review, *Molecules*, 16, 1486-1507.
- **Fogliani B. (2002).** De la connaissance physiologique des Cunoniaceae endémiques de la nouvelle-Calédonie, à la recherche des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de leurs substances bioactives d'intérêt. Thèse de Doctorat en physiologie végétale et phytochimie, pp 42-52.
- **Foxman B. (2003).** Epidiomilogie of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon.* 49: 53 -70
- **Fuhrman B., Lavy A., and Aviram M. (1995).** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.* 61:549-554. (cited in Yakhlaef G, 2009).

G/

- **Galeotti F., Barille E., Curir P., Dolci M., and Lanzotti V. (2008).** Flavonoids from carnation (*Dianthus caryophyllus*) and their antifungal activity. *Phytochemistry letters*. 1: 44-48.
- **Gérard G. (2015).** Biochemical functions of geophagy in parrots : detoxification of dietary toxins and cytoprotective effects. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 897-922.
- **Gherib M. (2009).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des flavonoïdes d'*Artemisia herba alba* Asso ; *Artemisia judaica* L. ssp. *sahariensis*; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth et Coll. Mémoire de magistair en biologie. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. P : 71-72.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC&DOC. Paris. Pp 275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Ghlissi Z., Sayari N., Kallel R., Bougatef A., Sahnoun Z. (2016).** Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and woundhealing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat, *Biomed. Pharmacother.* 84. 115–122.
- **Goller C C., et Romeo T. (2008).** Environmental influences on biofilm development. In *Bacterial biofilms*. Ed. Springer Berlin Heidelberg, pp : 37-66.

- **Grasteau A. (2011).** Sélection de mutations affectant la formation de biofilm chez *Actinobacillus pleuropneumoniae*. M.Sc en sciences vétérinaires. Université de Montréal.
- **Guarino C., De Simone L., Santoro S. (2008).** Ethanobotanical study of the Sannioarea, Campania, Southern Italy. *Ethanobot. Res. Appl.*, 6, 255-317.

H/

- **Halliwell B. (1994).** Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52:253-265. (cited in Yakhlaoui G, 2009).
- **Hammer K A., Carson C F., Riley T V. (1996).** Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Am. J. Infect. Control*, 24, 186-189.
- **Hammer K A., Carson C F., Riley T V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 95, 853-860.
- **Haraguchi. H., Tanimoto. K., Tamura Y., Mizutani. K., and Kinoshita. T. (1998).** Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*. 48 : 125-129.
- **Harborne J B. (1967).** Comparative biochemistry of the flavonoids (London; New York: Academic Press).
- **Harborne, J B. (1983).** *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (Springer Science & Business Media).
- **Harborne J B., and Williams CA. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504.
- **Holly R A., Patel D. (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and natural antimicrobials. *Food Microbiol.*, 22, 273- 292.
- **Hostettmann K., Wolfender J L. (2004).** Application of liquid chromatography/UV/MS and liquid chromatography/NMR for the on-line identification of plant metabolites. In: Tringali. C. *Bioactive Compounds from natural sources: isolation, characterization and biological properties*. Londres: Taylor And Francis e-Library. pp. 31-68.
- **Houari M., et Ferchichi A. (2009).** Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from southern Tunisia. *Molecules*, 14, 1585-1594.

- **Houicher A., Hechachna H., Özogul F. (2016).** In vitro determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria. *Int. J. Food Prop.* 19(8), 1749-1756.

I/

- **Ikan R. (1991).** Natural Products: a laboratory guide. Academic Press (2eme Ed.), pp 357.
- **Ilboudo S., Ouedraogo M., Some N., et Guissou P I. (2009).** Criblage phytochimique et évaluation de la toxicité aigüe de *Pisolithus tinctorius* (Basidiomycète). *Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.* 10(2):6-13.
- **Iniesta-Sanmartin E., Barberan F A T., Guirado A., and Lorents F T.(1990).** Antibacterial flavonoids from *Helichrysum picardii* and *H. italicum*. *Planta Medica.* 56: 648-649.
- **Iinuma M., Tsuchiya H., Sato M., Yokoyama J., Ohyama M., Ohkawa Y., Tanaka T., Fujiwara S., and Fujii T. (1994).** Flavanones with antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. *J. Pharm. Pharmacol.* 46: 892-895

J/

- **Jacobsen S M., Stickler D J., Mobley H L T., Shirliff M E. (2008).** Complicated catheter -associated urinary tract infections due *Escherichia coli* and *proteus mirabilis* .*Clin microbial Rev*; 21:26 -59.
- **Jean Yves H (1998).** Plant polyphenols synonym vegetable tannins and chemical defense, a reappraisal. Fourth Annual meeting of the International Society of Chemical Ecology, Hull, England, July, 13-17, 1987. *Journal of Chemical Ecology*, 14, 1789-1805
- **Jaouadi I., Abdelkafi-Koubaa Z., Riabi-Ayari S., Hassen I., Yakoubi M., Ayeb M E., Gazzah M E., Marrakchi N. (2016).** Anti- -cytotoxic effect of two *Artemisia* species (*A. campestris* and *A. herba-alba*) essential oil against snake venom, *Int. J .Agric. Biol.* 18:805–812.
- **Joao O M., Vasconcelos., Artur M S S and Jose A S C. (1998).** Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry.* 49 (5): 1421-1424
- **Jovanovic S V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., and Simic M G. (1994).** Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 116: 4846-4851.

- **Junich K., masanabu A., and yasuka T. (1994).** Triterpenoid constituents *ficus thunbergii*. Chem. pharm. bull. 42(3) 608-6100.
- **Juteau F., Masotti V., Bessière J M., Viano J. (2002).** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa* Biochem. Syst. Ecol., 30, 1067-1070.

K/

- **Kawada K., Suzuki K., Sunganima H., Smaoui A., Isoda H. (2012).** Plant biodiversity in the semi-arid zone of Tunisia., J.Arid Land stud, 22, 83-86.
- **Khanbabae K and Ree T R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry. 18: 641-649. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Kittakoop P., Mahidol C., and Ruchirawat S. (2013).** Alkaloids as Important Scaffolds in Therapeutic Drugs for the Treatments of Cancer, Tuberculosis, and Smoking Cessation. Curr. Top. Med. Chem. 14, 239–252.
- **Karabegović I., Nikolova M., Veličković D., Stojičević S., Veljković V., Lazić M. (2011).** Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques. Chin. J. Chem. Eng. 19(3), 504-511.
- **Kreitschitz A., Vallès J. (2007).** Achene morphology and slime structure in taxa of *Artemisia* L. and *Neopallasia* L. (Asteraceae) Flora. 202, 570-580.
- **Ksouri R., Megdiche W., Jallali I., Debez D., Magné M., Hiroko I., Abdelly C H. (2012)** Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications,Critical Reviews in Biotechnology, 32(4),289-326.

L/

- **Labiod R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse. Faculté des sciences Département de biochimie, Laboratoire de biochimie et de microbiologie appliquee. Universite Badji Mokhtar-Annaba.

- **Lamri H. Akhzeroun R. (2019).** Profil phytochimique et activité biologique insecticide antimicrobienne et antiinflammatoire des extraits végétaux du *Cistus salviifolius*. Mémoire de Master Académique, Filière Sciences Biologique.Faculté Des sciences. Université M'Hamed Bougara, Boumerdes.
- **Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.
- **LYATIM S. (2008).** Moisissures d'intérêt médical. Etude récente prospective au laboratoire de parasitologie et mycologie à l'hôpital d'enfants de rabat : a propos de 133 prélèvements. Thèse de doctorat. Université Mohammed V de Rabat. Maroc.

M/

- **Mahmoud N., Pizza C., Aquino R., De Tommasi N., Piacente S., Colman S., Burke A., and Hay A J. (1993).** Inhibition of HIV infection by flavanoids. Antivir. Res. 46 (7): 1257-71.
- **Malecky M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- **Marfak A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. pp: 6-7-10.
- **Medic-Saric M., Jasprica I., SmolcicBubalo. A., and Momar A. (2003).** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. CroaticaChemicaActa .77 (1-2):361-366. (cited in Mohammedi Z, 2005).
- **Megdiche-Ksouri W., Trabelsi N., Mkadmini K., Bourguou S., Noumi A., Snoussi M., Barbria R., Tebourbi O., Ksouri R. (2015).** *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Ind. Crops Prod.* 63, 104-113
- **Middleton and Elliott J. (1996).** Biological properties of plant flavonoids and overview. *Int. J. Pharmacol.* 34 (5): 344-348.
- **Mila I., and Scalbert A. (1994).** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation a new hypothesis.International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance. 381(2): 749-755.
- **Minami M., Suzuki M., Hosokawa K., Kondo S., Oka K., Shibata T. (2010).** Preliminay survey of taxonomical problems, pharmacognostical cheractestics, and

- chloroplast DNA Polymorphisms of the folk medicinal herb *Artemisia campestris* from the Ryukyu Islands, Japan. J. Nat. Med., 64, 239-244.
- **Monroe D. (2007).** Looking for Chinks in the Armor of Bacterial Biofilms. PLoS Biol, 5(11), e307
 - **Mpondo M E., Yinyang J., Dibong S D. (2015).** Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). Journal de biosciences appliquées, (85): 7804– 7823.
 - **Mookerjee B K., Lee T P., Logue G P., Lippes H A., and Middleton E. (1986).** The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. Prog. Clin. Biolo. Res. 213: 511 20.
 - **Moussaoui F., Zellagui A., Segueni N., Touil A., Rhouati S. (2010).** Flavonoïde constituents from Algerien *launaea resedifolia* (O.K.) and thier antimicrobiel activity. Record of Natural products.vol. 4, pp. 91-95.
 - **Mussatto S I., Dragone G., Roberto I C. (2007).** Ferulic and p-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. Ind Crop Prod. 25: 231– 237.
 - **Muthu C., Ayyanar M., Raja N. & Ignacimuthu S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 2:43 doi: 10.1186/1746-4269-2-43.

N/

- **Naili M B., Alghazeer O A., Saleh N A., Al-Najjar A Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). Arab. J. Chem. 3: 79–84.
- **Namgoong S Y., Son K H., Chang H W., Kang S.S., and Kim H P. (1994).** Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. Life Sci. 54 (5): 313-20
- **Nauciel C., and Vildé J L. (2005).** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris. pp: 5-10.
- **Nicolle L E. (2005).** Catheter-related urinary tract infection. Drugs Aging. 22: 627– 639.
- **Nijveldt R J., Nood E V., Hoorn D., Boelens P., Norren K., Leeuwen P. (2001).** Flavonoïdes : examen des mécanismes d'action probables et de leurs applications potentielles. Société américaine de nutrition clinique. (74): 418-425

- **Noumi Z., Ouled Dhaou S., Derbel S., Chaibe M. (2010).** The status of Asteraceae in the arid and saharian flora of North African region: case of Tunisia. Pak. J. Bot., 42, 1417-1422.
- **Novak J., Konvicka M. (2006).** Proximity of valuable habitats affects succession patterns in abandoned quarries. Ecol. Eng., 26, 113-122.

O/

- **OMS. (2002).** Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
- **Ong K C., and Khoo H E. (2000).** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. Life. Sci. 67: 1695-1705.
- **O'toole G., Kaplan H B., Kolter R. (2000).** Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol; 54:49-79.
- **Ouyahya A., (1990).** Clé de détermination des espèces marocaines du genre *Artemisia* L. Al Birunya Rev. Mar. Pharm., 6, 31-91.
- **Ozanda P. (1991).** Flore et végétation de Sahara. 3ème ed. Paris: CNRS.

P/

- **Pascual-Villalobos M., Robledo A. (1998).** Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. Ind. Crops Prod. 8(3), 183-194.
- **Paris M et Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107
- **PENCHEV P I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, doctorat de l'université de Toulouse. P : 50.
- **Pharmacopée Européenne. (2002).** 4 ème édition.
- **Pirini Chrisoula B., Tsiripidis L., Bergmeier E. (2014).** Steppe-like gress land vegetation in the hills around the lakes of Vegoritidia and Petron, North-centre Greece. Hacquetia, 13(1), 121-169.

- **Preuss H. G., Echard B., Enig M., Brook I., Elliott T. B. (2005).** Minimum inhibitory concentration of herb essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Mol. Cell. Biochem.*, 272, 29-34.

Q/

- **Qiu S., Sun H., Zhang A H., Xu H Y., Yan G L., Han Y., and Wang X J. (2014).** Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives. *Chin. J. Nat. Med.* 12, 401– 406.
- **Quezel P., Santa S., (1962).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I. 565 p.

R/

- **Rauter A.P., Branco I., Tostao Z., Pais M S., Gonzalez A G et Bermejo J B. (1989).** Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. *Phytochemistry*. 28 (8): 2173-2175
- **Rebbas K., et Bounar R. (2014).** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la région de M'sila (Alger) *Phytothérapie* 12, 284-291.
- **Rojas A., Hernandez L., PEREDA-MIRAND A. (1992).** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*. vol. 35, no 3, p. 275-283.
- **Rukangira E. (1997).** Actes de l'atelier régional : Plantes médicinales et médecines traditionnelles en Afrique Conakry, Rep. de Guinée, 17 - 21 Novembre 1997 56p
- **Russell W., Duthie G. (2011).** Plant secondary metabolites and gut health: the case for phenolic acids. *Proc Nutr Soc* 70: 389–396.
- **Russo P., Frustaci A., Del Bufalo A., Fini M., and Cesario A. (2013).** Multitarget Drugs of Plants Originate Alzheimer's Disease. *Cu. Med. Chem.* 20, 1686–1693.

S/

- **Saadaoui L., Ilahi H., Robin B C., Rejeb H. (2014).** Contribution to the study of the flora in the central-west of Tunisia: landscape dynamics and evaluation of plant biodiversity of mountain Bouchebka. *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 6, 257-268.

- **Saihi R. (2011).** Etude phytochimique, Extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de magistère en chimie. Université d'Oran. P : 67.
- **Salido S., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A J. (2001).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia herba-alba* Asso SSP. valentina (Lam). J. Essent. Oil Res., 13, 221-224.
- **Salinas M J. Guirado J. (2002).** Riparian plant restoration in Summer-dry riverbeds of Southeastern Spain. *Restor. Ecol.*, 10, 695-702.
- **Sandrine F M. (2005).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Maerua angolensis* DC. (Capparidaceae). Thèse, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto-Stomatologie, Bamako-Mali.
- **Saoudi M., Allagui M S., Abdelmouleh. A., Jamoussi K., El Feki A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against pufferfish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats, *Exp. Toxicol. Pathol.* 62. 601–605.
- **Saoudi M., Badraoui R., Bouhajja H., Ncir M., Rahmouni F., Grati M., Jamoussi K., El Feki A. (2017).** Deltamethrin induced oxidative stress in kidney and brain of rats: Protective effect of *Artemisia campestris* essential oil, *Biomed. Pharmacother.* 94. 955–963.
- **Sebai H., Jabri M., Souli A., Hosni K., Selmi S., Tounsi H., Tebourbi O., Boubaker S., El-Benna J., Sakly M. (2014).** Protective effect of *Artemisia campestris* extract against aspirin- induced gastric lesion and oxidative stress in rats. *RSC Adv.* 4. 49831- 49841.
- **Sefi M., Fetoui H., Makni M., Zeghal N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation and products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Food Chem. Toxicol.*, 48, 1986-1993.
- **Sefi M., Fetoui H., Soudani N., Chtourou Y., Makni M., Zeghal N. (2012).** *Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products, *Pathol. Res. Pract.* 208: 157–162.

- **Sefi M., Bouaziz H., Soudani N., Boudawara T., Zeghal N. (2011).** Fenthion induced-oxidative stress in the liver of adult rats and their progeny: Alleviation by *Artemisia campestris*, Pestic. Biochem. Physiol. 101. 71–79.
- **Sefi M., Troudi A., Hamida F., Soudani N., Boudawara T., Zeghal Z. (2013).** Protective effects of *Artemisia campestris* upon fenthion-induced nephrotoxicity in adult rats and their progeny, Gen. Physiol. Biophys. 32. 577–588.
- **Sekkoum k., belboukhari N., Cheriti A. (2014).** New flavonoids from four bioactive exact of Algerien medicinal plant launeae arborescens. Asian pacific journal of tropical biomedicine. vol 4, pp.267-271.
- **Shobhita T., Bartarya R., Kumari K M., Bhatnagar V P., Srivastava S S. (2006).** Effective method for extraction of larvicidal component from leaves of *Azadirachta indica* and *Artemisia annua* Linn. Journal of Environmental Biology. 27(1): 103- 105.
- **Souquet J M., Labarbe B., Le Guerneve C., Cheynier V., Moutounet M. (2000).** Phenolic composition of grape stems, Food Chem, 48, 1076-1080.
- **Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D.(2002).** Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoreticelectrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups, Journal of chromatography A, 967, 85-113.
- **Swain T. (1973).** (Union internationale de chimie pure et appliquée. Division de chimie organique), Chemistry in Evolution and Systematics, Londres, Butterworths. 672 p
- **Szegletes T., Balint T., Szegletes Z., Nemcsok J. (1995).** Invivo effects of deltamethrin expo sure on activity and distribution of molecular forms of carpAChE, Ecotoxicol. Environ. Saf. 31. 258–263.

T/

- **Tabuti J R S., Lye K A. et Dhillion S S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. J. Ethnopharmacology, 88, 19-44.
- **Talbi M. (2014-2015).** « dosage des polyphénols de la plante d'*artemisia campestris*. L. Par chromatographie HPLC, mise en évidence de l'activité biologique », mémoire de magister, université d'oran 1 Ahmed Benbella, département de chimie.
- **Tang H Q., Hu J., Yang L., Tan R X. (2000).** Terpenoids and flavonoids from *Artemisia* species. Planta Med., 66, 391-393.

- **Tim C T P and Andrew J L. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 26:343–356.
- **Todar K P. (2018).** The normal bacterial flora of humans. *Biomedical physics and engineering express*, pp: 1.
- **Tutin T G., Persson K., Gutermann W. (1976).** *Artemisia* L. In: *Flora Europaea*, (Eds, Tutin TG, Heywood BNA, Moore, DM, Valentine, DH, Walters SM, Webb DA,). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 178-186.

U/

- **UNESCO. (1960).** Recherches sur la zone aride : les plantes médicinales des régions arides. Paris 7° : ONU, vol. 13. Disponible sur: <http://unesdoc.unesco.org/images/000681/068198fo.pdf>

V/

- **Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U W., et al. (1997).** New anti-HIV-1, Antimalarial, and antifungal compounds from *Terminalia bellerica*. *J. Nat. Prod.* 60: 739-742.
- **Vermerris W. (2006).** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1- 40205163-8 (HB).

W/

- **Wachter G A., Hoffmann J J., Furbacher. T., Blake M E., and Timmermann B N. (1999).** Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia Texana*. *Phytochemistry*. 52: 1469 -1471.
- **Wilfred V et Ralph N. (2006).** Phenolic compound biochemistry Ed Springer .USA. 24p.
- **Wu L., Hsu H W., Chen Y C., Chiu C C., Lin Y I., Ho J A. (2006.)** Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya, *Food Chem*, 95, 319-327.

Y/

- **Yuan H Q., Zuo C X., Yao X X. (1992).** Studies on the chemical constituents of *Cynanchum thesioides*. *Acta pharmaceutica Sinica*. 27 (8) 589-94.
- **Yu J., Lei J., Yu H., Cai X., Zou G. (2004).** Chemical composition and antimicrobial Activity of the essential oil of *Scutellaria barbata*. *Phytochemistry*, 65, 881-884.

Z/

- **Zabka M., Pavela R., Gabrielova-Slezakova L. (2011).** Promising antifungal effect of some Euro-Asiatic plants against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *J. Sci. Food Agric.* 91(3), 492-497.
- **Zheng W F., Tan R X., Yang L., and Liu Z L. (1996).** Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta.Med.* 62: 160-162.

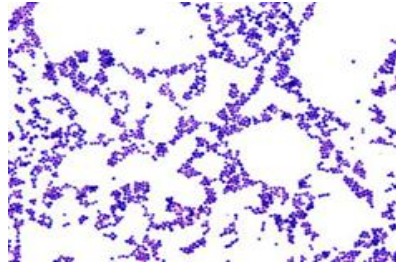
Sites web :

- <https://ca.wikipedia.org>
- <https://www.asturnatura.com/fotografia/flora/artemisia-campestris-3/7749.html>
- www.gastroscan.ru
- <https://www.drugbank.com>

Annexes

Annexe 01 : Classification et description des microorganismes étudiés

❖ *Staphylococcus aureus*



Classification :

Règne : Bacteria

Embranchement : Firmicutes

Classe : Bacilles

Ordre : Bacillales

Famille : Staphylococcaceae

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus Aureus*

Description :

Staphylococcus aureus étant un organisme vivant procaryote et une bactérie à Gram positif, à croissance aéro-anaérobie facultative, et sa croissance sur milieu ordinaire est facile entre 10 et 45 °C (Chambers, 1997) *S. aureus* est l'agent pathogène le plus pathogène chez l'Homme, il cause des abcès, des infections des blessures, des pneumonies, des empoisonnements alimentaires, et d'autres maladies.

❖ *Escherichia coli***Classification :****Règne:** Bacteria.**Embranchement :** Proteobactéria.**Classe :** Gamma Proteobacteria.**Ordre :** Enterobacteriales.**Famille :** Enterobacteriaceae.**Genre :** *Escherichia*.**Espèce :** *Escherichia Coli*.**Description :**

E. coli (gram-), également appelé colibacille ou *E. coli* est une bactérie intestinale des mammifères, très commune chez l'être humain .C'est un coliforme fécal généralement commensal.

Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastroentérites, des infections urinaires, des méningites, ou des septicémies (**NATARO et KAPER, 1998**)

❖ *Pseudomonas aeruginosa*

Image de *Pseudomonas aeruginosa* (www.gastroscan.ru)

Classification

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonas

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*

Description

C'est un bacille Gram négatif, aérobic strict, généralement mobile grâce à des flagelles. La couleur verte brillante caractéristique de *P. aeruginosa* résulte de la combinaison de la pyoverdine et la pyocyanine.

Elle est généralement considérée comme pathogène opportuniste préférentiellement des sujets hospitalisés immunodéficients ou affaiblis (**FRENEY, 2000**).

❖ *Bacillus subtilis*



Image de *Bacillus subtilis*

Classification

Règne : Bacteria

Embranchement : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceae

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus subtilis*

Description :

B. subtilis est une bactérie sous forme de bacille, catalase positive que l'on trouve habituellement dans le sol. C'est une bactérie Gram⁺ et qui possède une respiration aérobie stricte.

Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduite à développer diverses stratégies afin de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations.

B. subtilis n'est pas considéré comme pathogène pour l'Homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire (MARCHADIER, 2009).

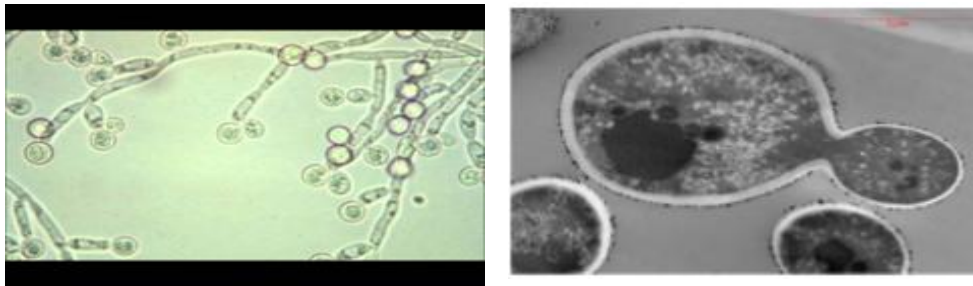
❖ *Candida albicans*

Image de *Candida albicans*

Classification

Règne : Champignons

Embranchement : Ascomycota

Classe : Saccharomycetes

Ordre : Saccharomycetales

Famille : saccharomycetaceae

Genre : *Candida*

Espèce : *C. albicans*

Description :

C'est une levure ovale bourgeonnante qui produit des pseudomycéliums en culture. Normalement présente sur la peau, dans la bouche et dans l'intestin, elle peut devenir

pathogène suite à un changement d'environnement et attaque le tube digestif et la vessie. La dissémination hématogène peut entraîner des lésions des reins, des poumons et du foie. (LARPENT, 1988)

❖ *Saccharomyces cerevisiae*

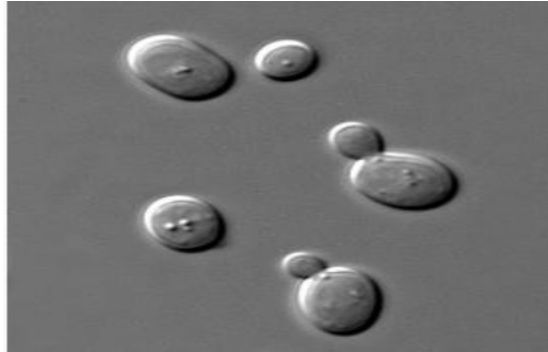


Image de *Saccharomyces cerevisiae*

Classification

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Sous-embreusement : Saccharomycotina

Classe : Saccharomycetes

Sous-classe : Saccharomycetidae

Ordre : Saccharomycetales

Famille : Saccharomycetaceae

Genre : Saccharomyces

Espèce : *Saccharomyces cerevisiae*

Meyen et Hansen, (1883)

Description :

Saccharomyces cerevisiae est un micro-organisme, une levure particulière parmi tous les ferments, levains, levures, etc. utilisés depuis la haute Antiquité : les Égyptiens, les Babyloniens, mais également les Celtes, l'utilisaient pour la fabrication de boissons fermentées, du pain, du kéfir, du vin et de la bière de fermentation haute. Elle a été découverte, isolée et identifiée au milieu du xixe siècle par des brasseurs hollandais à la demande de la corporation des boulangers parisiens qui commençaient à industrialiser leur production et cherchaient, pour faire leur pain, un procédé de fermentation plus fiable et plus rapide que leur levain traditionnel. Ainsi, dans ces domaines, certains mélanges de ses

différentes souches sont appelées « levure de boulanger » et « levure de bière ». Enfin, par analogie avec son mode de reproduction, elle est également nommée « levure à bourgeon » (ou « levure bourgeonnante » (LARPENT, 1988).

Annexe 2 : Réactifs et appareillages (Matériel non biologique)

Appareillage et équipement	Verrières et accessoires	Réactifs	Milieux de culture
-Agitateur -Autoclave -Bain marie -Balance de précision -Hotte -Etuve poupinel -Incubateur à 25°C -Incubateur à 37°C -Incubateur à 45°C -Mixeur - Plaque chauffante -Réfrigérateur	-Ampoule à décanter -Ballons -Bec Bunsen -Béchers -Boîtes de Pétri -Burettes -Disque en papier -Embouts (bleu et jaune) -Entonnoirs -Erlen Mayer - Etiquettes -Fioles -Gants -La gaze -Micropipettes -Milieux de cultures -Marqueurs -Papiers filtres -Pince de laboratoire -Pipettes pasteur -Portoirs - Seringues -Spatule -Tube à essai en verre	-Acétate de sodum -Acide chlorhydrique -Acide sulfurique -Alcool éthylique -Alcool Isoamylique -Ammoniaque concentrée -Chloroforme -Chlorure de fer -Copeau de magnésium -Eau distillée -Eau physiologique (NaCl à 0,9°C) -Hydroxyde de potassium -Propanol	-MH -SAB -Gélose nutritif

Annexe 3 : Composition des milieux de culture

Milieu de culture	Composition
Gélose Muller Hinton	• 300ml d'infusé de bœuf • 17.5g peptone de caséine • 17g agar (1 litre pour 38g du mélange) • pH 7.4 (Soduim Igor, 2002)
Gélose Sabouraud	• 10g peptone • 10g glucose • 15g agar • 10.5g chloramphénicol • Eau distillée 1 litre • pH 6.2 (Soduim Igor, 2002)

Annexe 4: Préparation des solutions pour le screening chimique :**1-Acide Chlorhydrique 1 N :**

Prélever 8,33 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

2-Acide Chlorhydrique 0,1 N :

Prélever 0,833 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

3-Acide Chlorhydrique 2 N :

Prélever 16,66 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

4-Acide Chlorhydrique à 10 % :

Prélever 10 ml d'acide chlorhydrique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

5-Acide Sulfurique 2 N :

Prélever 5,6 ml d'acide sulfurique et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

6-Ammoniaque ½ :

Prélever 30 ml d'ammoniaque, puis rajouter 30 ml d'eau distillée

7-Réactif de Drangendroff :

Solution a :

Dissoudre 0,85 g de nitrate de bismuth dans 40 ml d'eau distillée+10 mld'acide acétique

Solution b :

Dissoudre 8g d'iodure de potassium dans 20 ml d'acide acétique puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée

8-Chlorure de Fer à 5% :

Dissoudre 05g de chlorure de fer dans 100 ml d'eau distillée

9-Ether/ chloroforme (3/1) :

Mélanger 03 volumes d'éther avec 01 volume de chloroforme

10-Hydroxyde de potassium à 10% :

Dissoudre 10g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml d'eau distillée

11-Hydroxyde de sodium à 0,1 N :

Dissoudre 04 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml d'eau distillée 0,1 N (bien agiter dans l'agitateur)

12-Propanol/Acide Chlorhydrique :

Mélanger 01 volume de propanol avec 1 volume d'acide chlorhydrique

13-Ractif de stiasny :

Mélanger 02 volumes de formol avec 1 volume d'acide chlorhydrique 1N

14-Réactif de Wagner :

Dissoudre 2 g d'iode et 6 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau distillée.

Annexe 5: Tableau : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques utilisé

Antibiotiques	sigle	sensibilité	intermédiaire	résistance
Amoxicilline+ aide clavulanique	AMC	>20	15 – 20	< 15
Céfazoline	CZ	>18	12-18	<12
Céfotaxime	CTX	>23	15-23	<15
Imipinème	IMI	>16	14-16	<14
Gentamicine	Gen	>16	14-16	<14
Ac.nalidixique	NA	>20	15-20	<15
Ciprofloxacine	CIP	>21	16-21	<16
Colistine	CS	>15	15	<15
Nitrofurane	NIT	>17	14-17	<14
Fosfomycine	FF	>12	13-15	<16
cotrimoxazole	COT	>16	11-16	<11
Cefoxitine	FOX	G- : > 18 G+ : > 22	15 – 17 15 - 17	<14 <14
Ampicilline	AMP	>19	14-19	<14
Aztreonam	ATm	>50	16-50	<16
Tobramycine	Tob	>16	16	<16
Piperacilline	PRL	>19	19	<19
Oflaxacin	OF	>22	16-22	<16
Clindamycine	DA	>18	13-18	<13
Tetracycline	TE	>19	17-19	<17
Oxacilline	OX	>13	11-13	<11
Amikacine	AK	>17	15-17	<15
Kanamycine	K	>18	13-18	<13
Acide fusidique	FC	>22	15-22	<15
Vancomycine	VA	>19	14-19	<14

G+ : Gram positif.

G- : Gram négatif.