



Université Mohamed khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf :

Présenté et soutenu par :

Soumia BALI

Le : Mardi 9 juillet 2019

Thème

Etude comparative entre deux méthodes d'extraction
des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso,
et évaluation de leur activité antimicrobienne

Jury :

M. Tarek BENMEDDOUR	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Sara REDOUANE SALAH	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
M. Fathi BEN BELAID	MAB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018-2019.

Remerciement

Je remercie avant tout ALLAH tout puissant, de m'avoir guidé toutes les années d'étude et m'avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à

M^{me} REDOUANE SALAH Sara Maitre de Conférence A au département Sciences de la nature et de la vie, faculté des sciences de la nature et de la vie l'université de Biskra pour avoir encadré et dirigé ce travail. Aussi pour ses conseils, ses encouragements et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à **M Fathi BEN BELAID** Maitre Assistante B au département de biologie à la faculté des sciences de la nature et de la vie l'université de Biskra pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens également mes vifs remerciements à **M Tarek BENMEDDEUR** Maître de Conférence B au département Sciences de la nature et de la vie, faculté des sciences de la nature et de la vie l'université de Biskra d'avoir accepté de présider le jury.

Tous les membres du laboratoire département de science de la nature et de la vie pour leur aide.

Nos remerciements vont également à tous qui ont participé de près ou de loin pour que nos arrivons à ce merveilleux instant.

Dédicace

Ce modeste travail est le fruit de mes efforts et mes sacrifices pendant mon parcours universitaire que je dédie :

A mon père Mohammed Lazher, à ma mère Merieme qui ont sacrifié les plus belles années de leur vie pour me voir un jour réussir et pour leur soutien morale et l'encouragement durant toute ma vie et au moment particulier du projet.

Je dédie aussi ce modeste travail à

A toute ma famille.

A mes amis et mes collègues.

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

A tous ceux qui aiment la science.

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : *Artemisia herba alba* Asso

1.1. Les plantes aromatiques	3
1.2. Les plantes médicinales.....	3
1.3. Armoise blanche « <i>Artemisia herba alba</i> ».....	3
1.3.1. Définition	3
1.3.2. Classification botanique	3
1.3.3. Répartition géographique	4
1.3.4. Description botanique	4
1.3.5. Composition de la plante.....	5
1.3.6. Usage traditionnel de l'armoise blanche	5
1.3.7. Toxicités	6

Chapitre 2: Les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*

2.1. Définition	7
2.2. Répartition botanique, localisation.....	7
2.3. Rôle écologique.....	7
2.4. Composition chimique des huiles essentielles	7
2.5. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles.....	8
2.6. Propriétés des huiles essentielles.....	8
2.6.1. Propriétés physicochimiques.....	8
2.6.2. Propriétés antimicrobiennes.....	8
2.6.2.1. Activité antifongique.....	8
2.6.2.2. Activité antibactérienne.....	8

2.7. Méthodes d'extraction et d'analyses des huiles essentielles.....	9
2.7.1. Hydrodistillation.....	9
2.7.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	9
2.7.3. Hydrodiffusion.....	9
2.7.4. Expression à froid.....	9
2.7.5. Extraction par solvants.....	10
2.8. Toxicité des huiles essentielles.....	10

Partie expérimentale

Chapitre 3: Matériel et méthodes

3.1. La matière végétale.....	11
3.1.1. Zone de l'étude.....	11
3.1.2. La récolte.....	11
3.1.3. Séchage.....	11
3.2. L'extraction des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i>	12
3.2.1. Dispositifs d'extraction.....	12
3.2.1.1. Hydrodistillation.....	12
3.2.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	12
3.2.2. Conservation des huiles essentielles.....	13
3.2.3. Rendement de l'extraction.....	13
3.3. Etude de l'activité antibactérienne.....	14
➤ Les souches bactériennes testées.....	14
3.3.1. Préparation des pré-cultures.....	14
3.3.2. Préparation de l'inoculum.....	15
3.3.3. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide.....	16
➤ Principe.....	16
3.3.4. La lecture.....	17
3.3.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu liquide.....	17
3.3.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide.....	19
2.4. Etude de l'activité antifongique.....	19
➤ Les souches fongique testées.....	19
2.4.1. Test antifongique.....	19
2.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	20

Chapitre 4: Résultats et discussion

4.1. Extraction des huiles essentielles.....	22
4.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite.....	22
4.3. Rendements des huiles extraites.....	22
4.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE	25
4.4.1. Méthode d'aromatogramme.....	25
4.4.2. Méthode de microdilution.....	29
4.4.2.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB).....	29
4.4.2.2. Nature de l'activité antibactérienne d'huile essentielle étudiée.....	33
4.5. Evaluations de l'activité antifongique des HE.....	36
4.5.1. Résultats de test antifongique.....	36
4.5.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice.....	37
Conclusion.....	43
La bibliographie.....	45
Annexes	
Résumés	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Souches bactériennes testées.....	14
Tableau 2. Rendement en huiles essentielles d' <i>A. herba alba</i>	23
Tableau 3. La moyenne du diamètre des zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées de l'HE d' <i>A. herba alba</i> après 24h d'incubation à 37°C.....	25
Tableau 4. Effet des différentes concentrations d'huile essentielle sur la croissance des Bactéries.....	31
Tableau 5. CMI et CMB d'huiles essentielle testées sur les six souches bactériennes étudiées.....	32
Tableau 6. Nature de l'activité d'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> vis-à-vis six souches bactériennes testées.....	35

Liste des figures

Figure 1. <i>Artemisia herba alba</i>	5
Figure 2. <i>Artemisia herba alba</i>	11
Figure 3. <i>Artemisia herba alba</i> : a) plante séchée; b) plante séchées et broyée.....	11
Figure 4. Montage d'extraction par hydrodistillation.....	12
Figure 5. Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	13
Figure 6. Préparation des pré-cultures.....	15
Figure 7. Inoculum préparé et standardisé à 10^8 UFC/ ml (DO = 0.08-0.13).....	15
Figure 8. Application des disques de papier Wattman.....	16
Figure 9. Méthode de détermination de la CMI par une microplaque.....	18
Figure 10. Huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	22
Figure 11. Rendement en huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> des deux méthodes d'extraction.....	23
Figure 12. Diamètre des zones d'inhibition de l'HE extraite d' <i>A. herba alba</i> sur quelques souches bactériennes testées.....	26
Figure 13. Effet antibactérien de l'HE pure d' <i>A. herba alba</i> sur quelques souches bactériennes testées par méthode de diffusion sur disque.....	29
Figure 14. Détermination CMI pour les souches bactériennes <i>E. coli</i> ATCC 1825, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 1028 et <i>S.aureus</i> ATCC 1253 sur microplaque.....	30
Figure 15. Détermination CMI pour la souche bactérienne <i>E. coli</i> ATCC 25922 sur microplaque.....	30
Figure 16. Détermination CMI pour les souches bactériennes SARM 1et 2 sur microplaque.....	31
Figure 17. Détermination de la CMB sur les souches bactériennes étudiées.....	35
Figure 18. Effet d'HE d' <i>A. herba alba</i> sur <i>Aspergillus niger</i> (A1 : <i>Aspergillus niger</i> traité avec HE ; A2 : <i>Aspergillus niger</i> non traité avec HE) et <i>Fusarium oxysporum</i> (B1 : <i>Fusarium oxysporum</i> traité avec HE ; B2 : <i>Fusarium oxysporum</i> non traité avec	

HE), après 7 jours de culture sur PDA.....	36
Figure 19. Détermination de la CMI d'HE extraite d' <i>A. herba alba</i> sur <i>Penicillium spp</i>	37
Figure 20. Détermination de la CMI d'HE extraite d' <i>A. herba alba</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i>	38
Figure 21. Détermination de la CMI d'HE extraite d' <i>A. herba alba</i> sur <i>Alternaria alternata</i>	39
Figure 22. Détermination de la CMI d'HE extraite d' <i>A. herba alba</i> sur <i>Aspergillus niger</i>	40
Figure 23. CMI de l'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> sur toutes les souches fongiques testées.....	41

Liste des abréviations

A. herba alba : *Artemisia herba alba*

AFNOR : Association Française de Normalisation

ATCC : American Type Culture Collection

BMH : Bouillon Mueller Hinton

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique

DZH : Diamètres des zones d'inhibition

E. coli : *Escherichia coli*

EVE : entraînement à la vapeur d'eau

HD : Hydrodistillation

HE : Huile Essentielle

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PDA : Potato Dextrose Agar

PI : Pourcentage d'Inhibition

R(%) : Rendement en pourcentage

RHE : rendement d'extraction d'huile essentielle.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

T : Témoin

UFC : Unité formant colonie

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux.

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine (Fellah et *al.*, 2006).

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (El Kalamouni, 2010).

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques connues (Amarti, 2010).

L'Algérie est dotée d'un patrimoine floristique tout aussi riche que varié, notamment dans le domaine des plantes aromatiques. Cette richesse se doit aujourd'hui d'être exploitée, et plus particulièrement en ce qui concerne l'extraction des huiles essentielles vu l'importance économique qu'elles représentent du fait de leurs propriétés biologiques, thérapeutiques, odoriférantes.....etc, de leur impact au niveau de l'environnement et de leurs multiples utilisations dans diverses industries (pharmaceutique, cosmétique et alimentaire) (Bekhechi, 2008).

L'*Artemisia herba alba*, ou encore l'armoise blanche désignée en arabe sous le nom de « chih » de la famille des Asteraceae, pousse généralement en touffes de tailles réduite. C'est une plante à différents usages. Elle se caractérise par sa richesse en huile essentielle; sa forte valeur fourragère et son rôle écologique très important contre l'érosion et la désertification. (Bouzidi, 2016).

Notre choix est portée sur cette plante aromatique, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'extraction des huiles essentielles et étude de leur activité biologique notamment les activités antibactériennes et antifongiques.

Notre travail est réparti en deux parties :

- La première partie est relative à l'étude bibliographique subdivisée en 2 chapitres. Dans le premier chapitre nous rappelons brièvement les connaissances actuelles sur l'espèce étudiée. Le deuxième chapitre élucide une généralité sur les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*.

• La deuxième partie est relative à l'étude expérimentale présente deux chapitres. Le premier chapitre est celui de matériel et méthode et le deuxième chapitre est celui des résultats et discussion.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1
« *Artemisia herba alba*
ASSO»

1.1. Les plantes aromatiques

La plante aromatique est une plante qui contient des molécules aromatiques volatiles ou odorantes dans un ou plusieurs organes producteurs que sont les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et les racines.

Les plantes aromatiques capables de synthétiser une essence sont peu nombreuses. Parmi les 800000 espèces végétales, seules 10% en sont capables. Parmi les familles aromatiques les plus représentatives : les Abiétacées, les Apiacées, les Astéracées (tanaisie, inule, armoise,...),... (Zahalka, 2010).

1.2. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques et cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie (Badulka, 2007).

De façon plus large, une plante médicinale et un végétale doué d'un effet thérapeutique sur l'organisme sans être toxique à dose normale (Debuigne et Couplan, 2009).

1.3. Armoise blanche « *Artemisia herba alba* »

1.3.1. Définition

Artemisia herba alba est une espèce steppique de la famille des Astéracées (Quezel et Santa, 1963). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989).

Connue depuis des millénaires, l'*Artemisia herba alba* (armoise blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle dans les steppes de la Mésopotamie (Francis, 2001).

1.3.2. Classification botanique

- Phylum: Angiospermeae
- Sous Phylum: Dicotylédones
- Ordre: Gampanulatae
- Famille: Asteraceae
- Sous-famille: Asterioideae

- Tribu: Anthemideae
- Sous tribu: Artemisiinae
- Genre: *Artemisia*
- Espèce: *Artemisia herba alba* (Dupont, 2004).

1.3.3. Répartition géographique

Le genre *Artemisia* est un membre d'une grande variété de plantes appartenant à la famille des Asteraceae (Compositae). Plus de 300 différentes de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, l'Afrique du nord ainsi qu'en Asie. Qui abonde au Moyen-Orient, dans le sud Algérien et au Maroc, sur sable profonds (Boullard, 2001).

En commun avec plusieurs d'autre espèce de ce genre, l'*Artemisia herba alba* Asso, plante caractéristique du moyenne-orient d'Afrique du Nord, est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

L'armoise blanche se développe dans les zones bioclimatiques qui vont de la partie supérieure semi-arides à la partie inférieure Subsaharienne (Gharbi et Sand, 2008).

1.3.4. Description botanique

Artemisia herba alba Asso est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, blanches et laineuses et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre (Bezza et al., 2010).

L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Pottier, 1981).

La saison d'automne est considérée comme une période très favorable pour la bonne croissance végétative de l'*Artemisia herba alba* Asso, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été (Gharabi et Sand, 2008).



Figure 1. *Artemisia herba alba* (Messai, 2011).

1.3.5. Composition de la plante

Sa composition chimique est complètement dépourvue d'alcaloïdes (Gseryra, 2011). La plante est riche en composés polyphénoliques qui sont les meilleurs antioxydants, flavonoïdes et tanins. Elle contient aussi des anthocyanes, des acides phénoliques et d'autres substances. Les études phytochimiques ont montrés que l'ivette contient aussi des diterpénoides, des iridoïdes et des saponosides acides (Boudjelal, 2013). Au Maghreb, l'*Artemisia herba alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant.

Les plantes de la famille des Astéracées, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (Da Silva, 2004).

1.3.6. Usage traditionnel de l'armoise blanche

Son histoire thérapeutique est très diversifiée et connue depuis longtemps dans les médications traditionnelles. L'armoise blanche a été utilisée comme aromatisant dans le thé et le café.

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (Gharabi, 2008).

De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de l'*Artemisia herba alba* Asso dans le traitement du diabète sucré (Twaijha et Al-Badre, 1988). Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique,

antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antimalarien et antihémorragique (Boudjelal, 2013).

1.3.7. Toxicités

A forte dose, l'armoise est abortive, neurotoxique et hémorragique. La thujone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et la forme la plus toxique est l'alpha-thujone. Elle a des effets convulsivantes (Aouadhi, 2010).

Chapitre 2

Les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*

ASSO

2.1. Définition

Le terme « huile essentielle » fut inventé par le médecin suisse Parasculus Von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel (Porter, 2001).

On les appelle couramment: essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles.

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Bruneton, 1999).

2.2. Répartition botanique, localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de famille (ex : Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae...) (Anton et Lobstein, 2005).

Les huiles essentielles sont retrouvées dans tous les organes de la plante racines, feuilles, fleurs..... etc. Elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices spécialisées, qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante (Loupy, 2006).

2.3. Rôle écologique

Les composés organiques volatils des huiles essentielles permettent à la plante de communiquer avec les plantes voisines et également entre ses propres organes. Ils lui servent également de moyen de défense (Dudareva et *al.*, 2006).

2.4. Composition chimique des huiles essentielles

Pour la Pharmacopée française, les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant plusieurs centaines de molécules chimiques différentes. Les plus fréquemment rencontrés sont les alcools (phénols et sesquiterpènes), les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers, les terpènes et les oxydes. Ces principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Baghdad, 1988).

2.5. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers conditions: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Olle et Bender, 2010).

2.6. Propriétés des huiles essentielles

2.6.1. Propriétés physico-chimiques

- Ce sont généralement des liquides à température ordinaire.
- La coloration varie de l'incolore au jaune pâle.
- La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0,850 à 0,950).
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240° C.
- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires.
- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Jacques et Paltz, 1997).

2.6.2. Propriétés antimicrobiennes

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont différentes en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les micro-organismes de l'action des huiles essentielles (Malecky, 2008).

2.6.2.1. Activité antifongique

Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Knobloch et *al.*, 1989). Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique.

2.6.2.2. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles ont deux sortes d'activités sur les microorganismes, une activité létale (bactéricide) et l'autre inhibitrice de la croissance (bactériostase) (Kunle et *al.*, 2003).

D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure
- Destruction de matériel génétique, conduisant la mort de la bactérie (Burt, 2004).

2.7. Méthodes d'extraction et d'analyses des huiles essentielles

2.7.1. Hydrodistillation

Selon l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et la pharmacopée européenne l'hydrodistillation est la méthode la plus indiquée pour l'extraction d'une huile essentielle et le contrôle de sa qualité (Selles, 2012).

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 2009).

2.7.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (Hellal, 2010).

2.7.3. Hydrodiffusion

La vapeur d'eau est pulsée à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant (Chemat, 2009).

2.7.4. Expression à froid

Le procédé est simple mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence (Roux, 2008).

2.7.5. L'extraction par solvants

Cette technique est utilisée pour les plantes fragiles qui sont plongées dans une préparation chimique provoquant la dissolution des substances aromatiques. Après séparation du solvant par distillation, le produit doit être dissout avec de l'alcool (Lardry et Haberkorn, 2007).

2.8. Toxicité des huiles essentielles

D'après la confédération de Suisse certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses.

De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (Meynadier et Raison-Peyron, 1997).

Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter en irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques. Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la sorte et la quantité, générer une toxicité élevée voir un coma et même la mort.

Partie

Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. La matière végétale

3.1.1. Zone de l'étude

L'espèce *Artemisia herba alba* sur laquelle nous avons travaillé a été récolté de la région d'Ain Zaatout, située dans la wilaya de Biskra.

3.1.2. La récolte

Les parties aériennes de l'armoise blanche ont été recueillies en fin du mois décembre (28.12.2018).



Figure 2. *Artemisia herba alba* (photo originale).

3.1.3. Séchage

La plante a été nettoyée et séchée à l'aire libre, à l'ombre et à température ambiante. La période de séchage a duré un mois. Après séchage les parties aériennes ont été broyées (200g) pour extraire l'huile essentielle (figure 3).



(a)

(b)

Figure 3. *Artemisia herba alba* : a) plante séchée; b) plante séchées et broyée.

3.2. L'extraction des HE d'*Artemisia herba alba*

3.2.1. Dispositifs d'extraction

Deux méthodes d'extraction des essences végétales ont été appliquées dans le présent travail.

3.2.1.1. Hydrodistillation

Dans cette méthode, l'extraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un appareil de type Clevenger. 200g des parties aériennes de la plante ont été introduites dans un ballon de 2 litre, imprégné dans 1700 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 5 heures. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HE se séparent de l'hydrolysat par simple différence de densité, l'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysat. On obtient ainsi deux phases non miscibles que l'on peut séparer par décantation (Degryse et *al.*, 2008),(Figure 4).

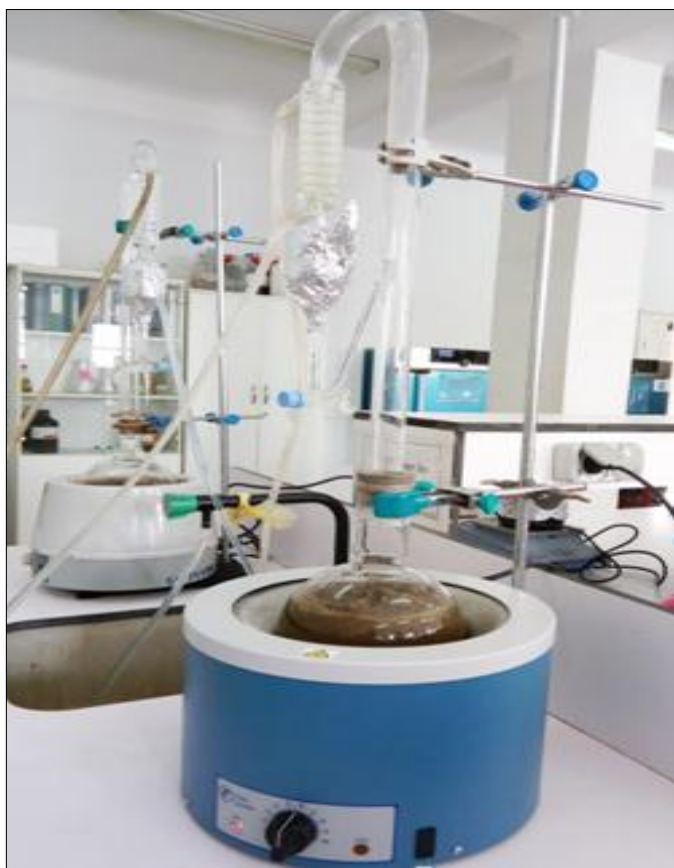


Figure 4. Montage d'extraction par hydrodistillation (Photo originale).

3.2.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode, l'extraction a été duré 5 heures de temps et a porté sur 200g de matière végétale séchée.

La matière végétale est placée dans une ampoule reliée à un ballon de 2L rempli d'eau (montage Clevenger). La vapeur d'eau endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les HE qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. La décantation du distillat donne deux phases : une phase organique sous forme d'une huile essentielle et une phase aqueuse (Figure 5).



Figure 5. Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Photo originale).

3.2.2. Conservation des huiles essentielles

L'HE extraite est conservée à l'abri de la lumière et d'oxygène dans un flacon en verre fermé hermétiquement pour éviter toute dégradation du produit, la conservation a été effectuée à une température de +4°C.

3.2.3. Rendement de l'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel utilisé pour cent. Après récupération d'huile essentielle, le rendement est calculé par la méthode suivante (AFNOR, 2000).

$$\text{RHE}(\%) = \frac{M}{M_0} * 100$$

RHE : Le rendement en huile essentielle (%).

M : la masse de l'huile essentielle en gramme.

M₀ : la masse de la plante en gramme.

3.3. Etude de l'activité antibactérienne

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne *in vitro* de l'HE d'*Artemisia herba alba*, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques (aromatogramme) pour tester la sensibilité des souches et ensuite par la méthode de microdilution pour déterminer les valeurs de CMI.

➤ Les souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a été évaluée sur six souches bactériennes dont trois à Gram négatif et trois à Gram positif (Tableau 1).

Parmi les six souches testées, quatre sont des souches de référence de type ATCC, fournies par le laboratoire microbiologique l'Hôpital Hakim Saadan Biskra, et deux souches cliniques SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), isolées du pus de certains malades par le laboratoire microbiologique de l'Hôpital de Tolga. Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes impliquées fréquemment dans diverses pathologies humaines et animales et multi-résistantes aux antibiotiques.

Tableau 1. Souches bactériennes testées.

Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif
Deux souches <i>S. aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1028
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 1253	<i>Escherichia coli</i> ATCC 1825
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

3.3.1. Préparation des pré-cultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive préparée précédemment (voir annexe 1) et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées (Figure 6).



Figure 6. Préparation des pré-cultures (photo originale).

3.3.2. Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et sont mises en suspension dans 10ml du bouillon Mueller Hinton (BMH) préparé précédemment et stérilisé (voir annexe 1). Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,13 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10^8 UFC/ ml (CA-SFM, 2013), (Figure 7).



Figure 7. Inoculum préparé et standardisé à 10^8 UFC/ ml (DO = 0.08-0.13), (photo originale).

3.3.3. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide

Cette méthode est appelée aussi méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibioaromatogramme ou encore méthode de Vincent (Pibiri, 2005). Cette méthode nous permet la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cette huile essentielle.

➤ Principe

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage avec l'inoculum préparé (CA-SFM, 2013). À l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, réaliser des stries parallèles et aussi serrées que possible à la surface d'une boîte de Pétri préalablement coulée avec la gélose de Mueller- Hinton. Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.

Des disques stériles de papier filtre N° 3 de 6mm de diamètre, imprégnés de 10 µl de huile essentielle (HE) à tester, ont été déposés d'abord sur la face interne du couvercle pendant 1-2 min afin d'évaporer le surplus de l'HE, ensuite transférés à la surface de la boîte de Pétri ensemencée. L'opération a été répétée deux fois (Figure 8).

Pour chaque bactérie à tester, des essais témoins (disque sans huile essentielle) ont été réalisés. Les boîtes de Pétri ont été laissées sur la paillasse au moins 15 min pour une pré-diffusion des huiles avant d'être incubées à 37°C pendant 18 h (Djenane et *al.*, 2012).



Figure 8. Application des disques de papier Wattman (photo originale)

3.3.4. Lecture

La lecture des résultats a été faite par la mesure, à l'aide d'une règle graduée, du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque, en prenant la moyenne des deux essais effectués (Gulluce et *al.*, 2007).

L'appréciation de l'efficacité de l'HE a été faite selon le critère de Poncé et *al.* (2003) in Sanogo et *al.* (2016) et la sensibilité à l'huile essentielle a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

*La bactérie est non sensible (-) ou l'HE est dite inefficace si le diamètre d'inhibition moins de 8mm ;

*La bactérie est sensible (+) ou l'HE est dite efficace si le diamètre est compris entre 9 et 14 mm;

*La bactérie est très sensible (++) ou l'HE est jugée très efficace lorsque le diamètre est compris entre 15 et 19 mm;

* La bactérie est extrêmement sensible (+++) ou l'HE est jugée extrêmement efficace si le diamètre est supérieur à 20 mm.

Les bactéries montrant une sensibilité à l'huile essentielle sont sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), (Bouguerra, 2012).

3.3.5. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice en milieu liquide

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'HE qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour mesurer *in vitro* l'activité d'un antibiotique (Fauchère et Avril, 2002).

La détermination de la CMI est réalisée par la technique de microdilution en milieu liquide, en utilisant une microplaque stérile de 96 puits (8 × 12 puits). Une gamme de concentration allant de 4% à 0,008%, (qui est l'équivalent de 8µl HE/200µl à 0.0156µl/200µl) a été préparée par la méthode de double dilution.

Déposer stérilement, 8µl de l'HE d'*Artemisia herba alba*, 2µl DMSO à raison de 1% et 190 µl du Bouillon Mueller Hinton (BMH) stérile dans le puits 1. Ensuite déposer 100µl de (BMH) stérile dans le puits 2 à 10.

Une série de dilution de raison géométrique 2 (ou des dilutions au facteur ½) a été réalisée extemporanément dans le bouillon Mueller Hinton à partir de la solution mère du

puits1, par le transfert de 100µl de puits en puits jusqu'au puits 10 (le 100µl du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu du puits.

Du fait de la non miscibilité des H.E. à l'eau et donc au milieu de culture, la mise en émulsion dans le DMSO a été réalisée afin de favoriser le contact germe/HE. Le choix de la dilution dans le DMSO (diméthylsulfoxyde), a été fait, parce que, le DMSO selon Gachkar et al. (2006) in Bouguerra (2012) n'a aucun pouvoir antibactérien puissant.

Enfin, déposer 100µl de l'inoculum préalablement dilué au 1/100 (environ 10^6 UFC/ml) dans chaque puits pour avoir une concentration finale de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml.

La 11ème colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu Mueller Hinton (200µl) sert de témoin négatif.

La 12ème colonne qui contient 192µl de l'inoculum et 8µl DMSO sert de témoin positif.

Les différents échantillons de bactéries ont été espacés par des lignes de puits vides.

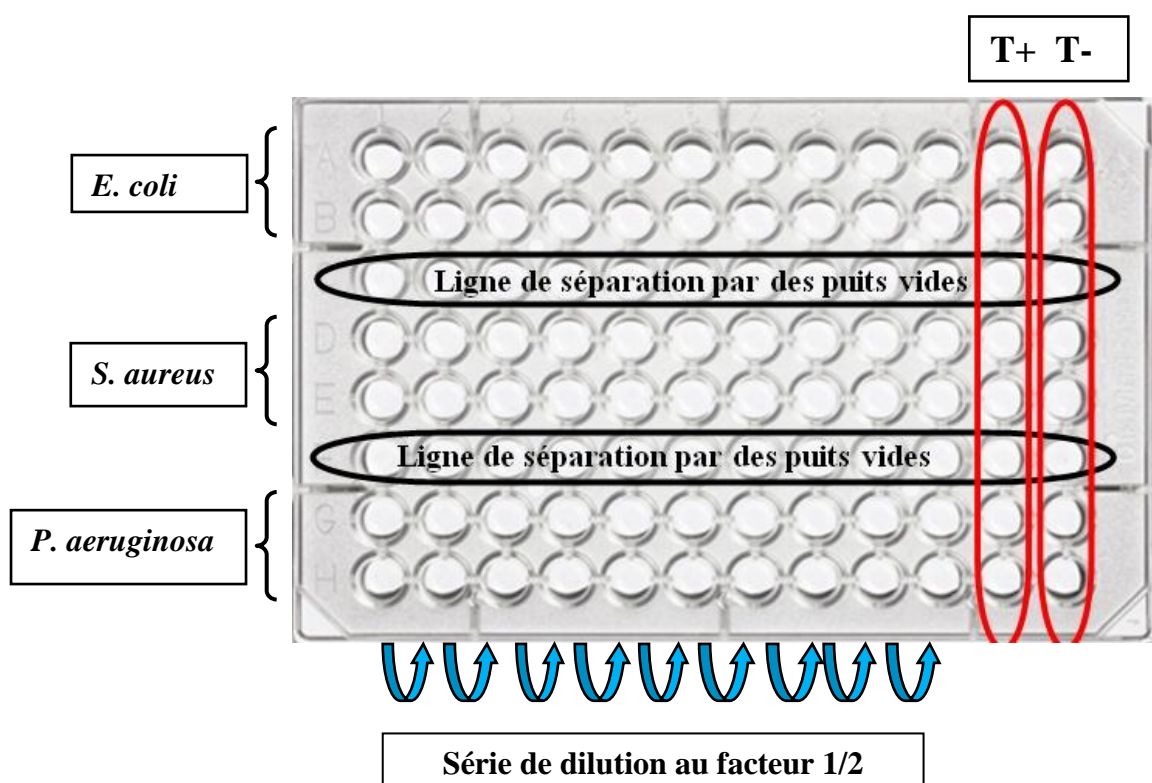


Figure 9. Méthode de détermination de la CMI par une microplaque.

La microplaque est couverte et incubée à 37 °C pendant 24h (Figure 9), (Mann et Markham, 1998). La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'huile à laquelle aucun trouble n'est observé (Eloff, 1998 ; EUCAST, 2003).

3.3.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est définie comme étant la plus faible concentration de l'huile essentielle qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale.

Après la détermination de la CMI, les puits contenant les concentrations en huile essentielle strictement supérieures à la CMI ont servi pour la détermination de la CMB.

Pour ce faire, un échantillon de 15µL de chaque puits (ne présentant pas de croissance) sont transférés dans des boîtes de Pétri contenant 20ml du Mueller Hinton Agar (annexe 1). Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. Cette technique nous permet de vérifier si les cellules sont viables et cultivables (EUCAST, 2003).

Le rapport CMB/CMI est calculé, il permet de déterminer le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, on dit que l'extrait est bactéricide et lorsqu'il est supérieur à 4, l'extrait est qualifié de bactériostatique (Eberlin, 1994).

2.4. Etude de l'activité antifongique

Pour étudier l'activité antifongique on a adopté la méthode de contacte directe décrite par Mishra et Dubey (1994) rapporté par Tatsadjieu et *al.*, (2010).

➤ Les souches fongiques testées

Les souches fongiques testées pour l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, ont été isolées par l'étudiante Ben-Achour Aya, (2019) à partir des aliments de bétail. Ceci dans le cadre de l'obtention d'un diplôme Master académique, option Biochimie, Université Mohammed Khider -Biskra-.

Il s'agit de quatre espèces : *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Penicillium spp.*

2.4.1. Test antifongique

Dans des tubes à vis contenant chacun 20 ml du milieu de culture PDA, on ajoute 500 µL d'huile essentielle et du 100µl DMSO. Après agitation des tubes, les milieux sont coulés dans des boîtes des Pétri. Après solidification des milieux, un disque mycélien de diamètre égal à 6 mm d'une pré-culture de 7 jours est prélevé et aseptiquement déposé au centre de la boîte. Dans chaque cas, des essais témoins (milieu de culture sans HE) ont été réalisés.

Les boîtes ont été placées à l'étuve à 25°C pendant 7 jours. Les diamètres de croissance mycélienne sont mesurés et comparés à celui des témoins. Les résultats obtenus ont permis de calculer le Pourcentage d'Inhibition (PI) selon la formule décrite par (Kumar et *al.*, 2007) :

$$\text{PI (\%)} = (D - D_i) / D$$

D : diamètre de la croissance mycélienne dans un milieu sans huile essentielle (témoin).

D_i : diamètre de la croissance mycélienne en présence d'huile essentielle.

2.4.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices

La détermination des CMI a concerné uniquement les concentrations en HE ayant montré un Pourcentage d'Inhibition (PI) égal à 100%. Elle a été réalisée par la méthode décrite par Billerbeck et *al.* (2001).

Le milieu de culture utilisé est le milieu PDA (annexe 1). Elle a consisté à incorporer l'HE à des concentrations variables dans le milieu de culture en fusion. En effet, différentes concentrations d'huile essentielle : 5, 10, 25, 50 et 100µl ont été testées par leur addition au 20ml du milieu de culture. Ce mélange est coulé dans des boîtes de Pétri puis agitées et laissées refroidies pendant 30 min à température ambiante pour permettre une meilleure solidification. Ensuite un disque mycélien de 6 mm de diamètre de la moisissure à tester a été transplanté sur les milieux pré-coulés à différentes concentrations. Ces boîtes ont été incubées à 25°C pendant 5 jours.

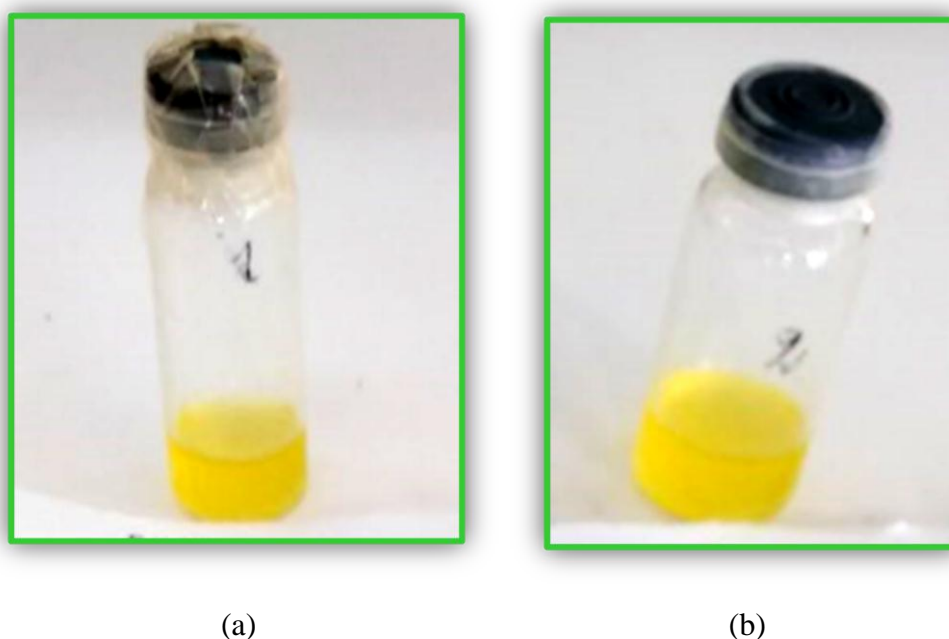
Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Extraction des huiles essentielles

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite des parties aériennes sèches d'*Artemisia herba alba* récolté de la région de Ain Zaatout, wilaya de Biskra.

L'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau sont deux méthodes que nous avons pratiqué pour extraire les huiles essentielles de la plante étudiée. L'extraction a été faite sur 2 cycles de 200g chacun. Chaque cycle d'extraction a duré 5 heures de temps. À la fin de chaque cycle, le distillat est récupéré et conservé dans un flacon hermétiquement fermé, à l'abri de la lumière (Figure10).



(a) : HE extraite par hydrodistillation.

(b) : HE extraite par entraînement à la vapeur d'eau.

Figure 10. Huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

4.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite

Les huiles essentielles de la plante étudiée sont très aromatiques. Elles sont liquides huileux et d'une couleur jaune foncé.

4.3. Rendements des huiles extraites

Les rendements en huiles essentielles issues de l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau, ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche des parties aériennes d'*Artemisia herba alba* utilisées dans l'extraction.

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage, est calculé par le rapport de la quantité d'HE extraite sur la quantité de la plante. Les résultats de calcul des rendements obtenus sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Rendement en huiles essentielles d'*A. herba alba*.

Méthodes d'extraction	Masse de la plante sèche (g)	Masse des HE (g)	Rendements (%)
Entrainement à la vapeur d'eau (EVE)	200	2.9	1.45
Hydrodistillation (HD)	200	2.1	1.05

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 11.

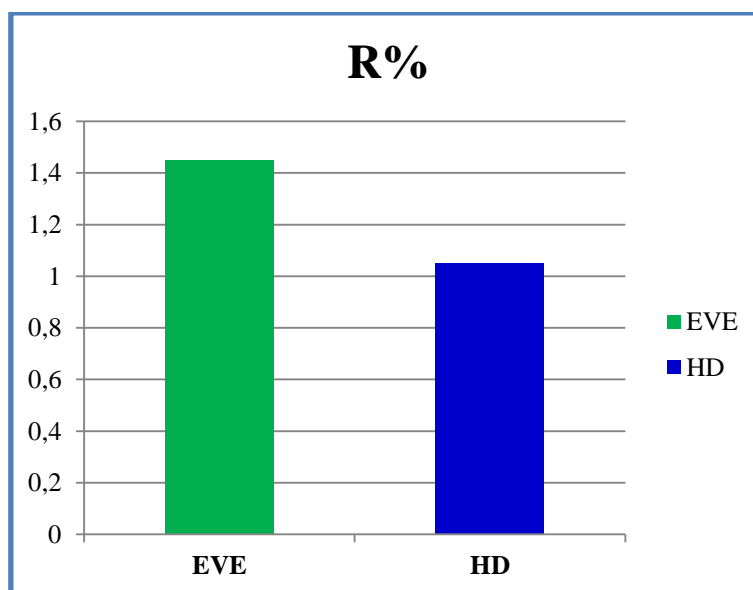


Figure 11. Rendement en huile essentielle d'*A. herba alba* des deux méthodes d'extraction.

Les rendements en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* obtenus par entrainement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation sont de 1.45% et 1.05% respectivement.

D'après la figure 11, on constate que le rendement en HE obtenu par entrainement à la vapeur d'eau (1.45%) est légèrement supérieur à celui obtenu par hydrodistillation (1.05%).

Des résultats proches de ceux que nous avons trouvés dans notre travail ont été signalés par plusieurs auteurs à travers le monde.

Les rendements en huiles essentielles que nous avons enregistrés (1.45 %, 1.05%) sont inférieures à celui enregistré dans les études algériennes faite par Makhloufi et *al.* (2011) 1,92% ; Soltani et Rounia, (2012) 2,09%. Bezza et *al.* (2010) ont obtenus un rendement par entraînement à la vapeur d'eau inférieur à celui que nous avons trouvé (0.95%).

Nos résultats sont inférieurs également à ceux rapporté en Espagne par Salido et *al.* (2004) 2,30%.

Haouari et Ferchichi, (2009) ont trouvés un rendement qui varie entre 0,68% et 1,93% lors d'une étude portée sur 18 échantillons d'*A. herba alba*. Zouri et *al.* (2010), à partir d'échantillons d'armoise blanche récoltés au Sud-Ouest de la Tunisie au stade de floraison ont trouvé un rendement de 1,45% identique à celui que nous avons trouvé par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau.

En Espagne, Salido et *al.* (2004), ont trouvé un rendement en HE de l'armoise blanche, au stade de floraison, qui varie de 0,41% à 2,30%, l'étude a porté sur 16 échantillons de 4 provenances.

Au Maroc oriental, Ghanmi et *al.* (2008), ont remarqué une variabilité du rendement en HE d' *A. herba alba* de la région de Guercif selon la date de récolte. Les rendements en HE obtenues en Avril, Juin et Septembre (2008) sont respectivement de 0,86%, 1,23%, et 0,56%. Imelouane et *al.* (2010), ont collecté et séché les parties aériennes d'*A. herba alba* aux régions climatiques dans l'Est du Maroc (Taforalt) et calculé le rendement en HE. Ils ont obtenus un rendement de 1,0%.

En Tunisie, Akroute, (1999), chez la même espèce récoltée dans la chaîne montagneuse des Matmatas (région de Matmata) au cours du mois d'Avril 1999 a trouvé un rendement en HE d'*Artemisia herba alba* (0.65%), inférieur à celui que nous avons obtenus.

Zouri et *al.* (2010), à partir d'échantillons d'armoise blanche récoltés au Sud-Ouest de la Tunisie au stade de floraison ont trouvé un rendement identique que nous avons trouvé (1,45%).

Boukrich et *al.* (2007), en Tunisie (Sud-Est, Centre, Nord-Est), montrent que le rendement en HE de l'armoise blanche, originaire de 4 régions différentes, varient de 0,63% à 4,29%.

4.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE

4.4.1. Méthode d'aromatogramme

L'étude de cette activité antibactérienne a été réalisée par la technique de diffusion sur disques. C'est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres d'inhibitions, en mm autour du disque de papier imprégné des huiles essentielles étudiées. Cette technique nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'HE vis-à-vis de six bactéries.

D'après (Ponce *et al.*, 2003), un germe est considéré « non sensible » pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm, « sensible » pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, « très sensible » pour un diamètre entre 14 et 20 mm, et « extrêmement sensible » pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm.

Les diamètres des zones d'inhibition (DZH) observées autour des disques d'HE testées sont présentés dans le tableau 3 et la figure 12.

Tableau 3. La moyenne du diamètre des zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées de l'HE d'*A. herba alba* après 24h d'incubation à 37°C.

Souches bactériennes testées	DZH 10µl (HE pure)	Témoin – (disque sans HE)	Evaluation
<i>E. coli</i> (ATCC 1825)	16±0*	-	++
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 1028)	27±4.24*	-	+++
<i>S. aureus</i> (ATCC 1253)	15±0*	-	++
<i>S. aureus</i> (SARM 1)	13±1.41*	-	+
<i>S. aureus</i> (SARM 2)	12.5±0.71*	-	+

+ : Sensible ; ++ : très sensible; +++ : Extrêmement sensible

* : Moyenne de deux répétitions (mm) ± écart type.

Les résultats obtenus à partir de l'aromatogramme ont montrés que les huiles essentielles pures d'*A. herba alba* possèdent une bonne activité antibactérienne contre les souches sélectionnés dans le cadre du protocole entrepris. Seulement, il faudrait mentionner que la sensibilité des souches est variable à l'égard de l'huile essentielle testée.

Suivant ces résultats, l'huile essentielle d'*A. herba alba* est active sur les différentes souches testées: *E. coli* (ATCC 1825), *P. aeruginosa* (ATCC 1028), *S. aureus* (ATCC 1253), SARM (1) et SARM (2) avec des diamètres d'inhibition de 16 mm, 27mm et 15mm, 13mm, 12.5mm respectivement.

Les diamètres d'inhibition pour l'HE varient de 12.5 mm - 27 mm. Le diamètre le plus élevé est obtenu avec *P. aeruginosa* (27 mm) et le plus faible avec *S. aureus* SARM 2 (12.5 mm).

Selon le classement effectué par Ponce et *al*, (2003), les résultats obtenus montrent que l'HE d'*A. herba alba* possède une activité antimicrobienne sur les souches testées. Les souches sensibles à l'HE d'*A. herba alba* enregistrés sont : SARM 1 (13mm) et SARM 2 (12.5mm). Les souches très sensibles à l'HE sont *E. coli* (16mm) et *S. aureus* (15mm). La souche extrêmement sensible à l'HE est *P. aeruginosa* (27mm).

Donc l'HE d'*A. herba alba* a un spectre d'activité antibactérienne élevé sur les bactéries Gram- (*P. aeruginosa*, *E. coli*) que sur les bactéries Gram+ (*S. aureus*, SARM 1 et 2).

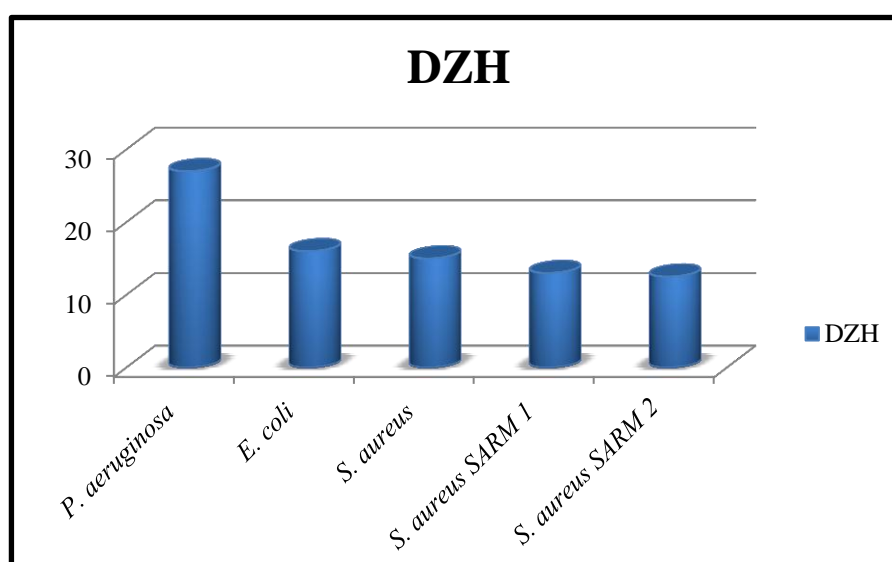


Figure 12. Diamètre des zones d'inhibition de l'HE extraite d'*A. herba alba* sur quelques souches bactériennes testées.

Tout d'abord, nos résultats sont en parfait accord avec ceux trouvés par Magraoui et Zahaf, (2017), qui ont étudié l'effet antibactérien des extraits d'HE d'*A. herba alba* et ont trouvés des diamètres d'inhibition variables en fonction des souches : *S. aureus* (15mm), *E. coli* (16.66mm). Par contre la souche *P. aeruginosa* a enregistré une résistance vis-à-vis l'huile essentielle d'*A. herba alba* qui ne montre aucun zone d'inhibition.

D'après les résultats obtenus, l'HE d'*A. herba alba* Asso présente un effet antibactérien particulièrement considérable sur la souche SARM, les mêmes résultats ont été observés et prouvés par les travaux de Benouda et *al.* (1988) ainsi que ceux de Ghanmi et *al* (2010).

Nos résultats sont aussi en accord avec ceux trouvés par Chibani, (2012) où l'huile de l'armoise blanche était active sur les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et moins active sur *Staphylococcus aureus*.

En revanche, nos résultats s'opposent à ceux trouvés par Bechiri et Tahar, (2018) où l'huile essentielle de l'armoise blanche était inactive vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Nos résultats relatifs à la sensibilité de *S. aureus* (15mm) sont très proches de ceux rapportés par Bouzidi, (2016), (14.33mm).

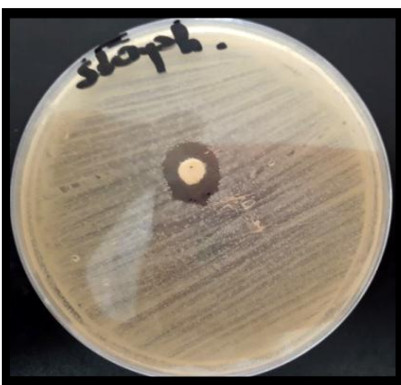
En 2013, une recherche a été réalisée par Laouar et Sifer dans le but d'étudier l'effet d'*A. herba alba* vis-à-vis de SARM. Elles ont trouvé par la méthode d'aromatogramme que la souche *Staphylococcus aureus* (SARM) était sensible vis-à-vis de l'HE dont le diamètre de la zone d'inhibition est comparable à celui que nous avons trouvés (13.5mm).

La figure 13 illustre les résultats d'aromatogramme de l'huile essentielle d'*A. herba alba* vis à-vis des cinq souches testées.



Effet de l'HE pure d'*A. herba alba* sur *E. coli*

Témoin négatif



Effet de l'HE pure d'*A. herba alba* sur *S. aureus*

Témoin négatif



Effet de l'HE pure d'*A. herba alba* sur *P. aeruginosa*

Témoin négatif

Effet de l'HE pure d'*A. herba alba* sur SARM (1)

Témoin négatif

Effet de l'HE pure d'*A. herba alba* sur SARM 2

Témoin négatif

Figure 13. Effet antibactérien de l'HE pure d'*A. herba alba* sur quelques souches bactériennes testées par méthode de diffusion sur disque.

4.4.2. Méthode de microdilution

L'étude de cette activité antibactérienne a été réalisée également par la technique de microdilution en milieu liquide sur microplaque stérile (96 puits). C'est une technique quantitative permet de déterminer l'intervalle de concentrations qui inhibent effectivement la croissance bactérienne.

4.4.2.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Après 24 heures d'incubation des microplaques nous avons remarqué l'apparition d'un aspect clair dans certains puits, dans d'autres un dépôt (dans certain cas on observe un trouble) indiquant une croissance bactérienne.

Dans la présente étude nous avons effectué une dilution en cascade dans du milieu MHB en présence de DMSO de manière à obtenir une gamme de dilution des huiles essentielles, allant de 4% à 0,008%, comme indiqué les figures 14, 15, 16.

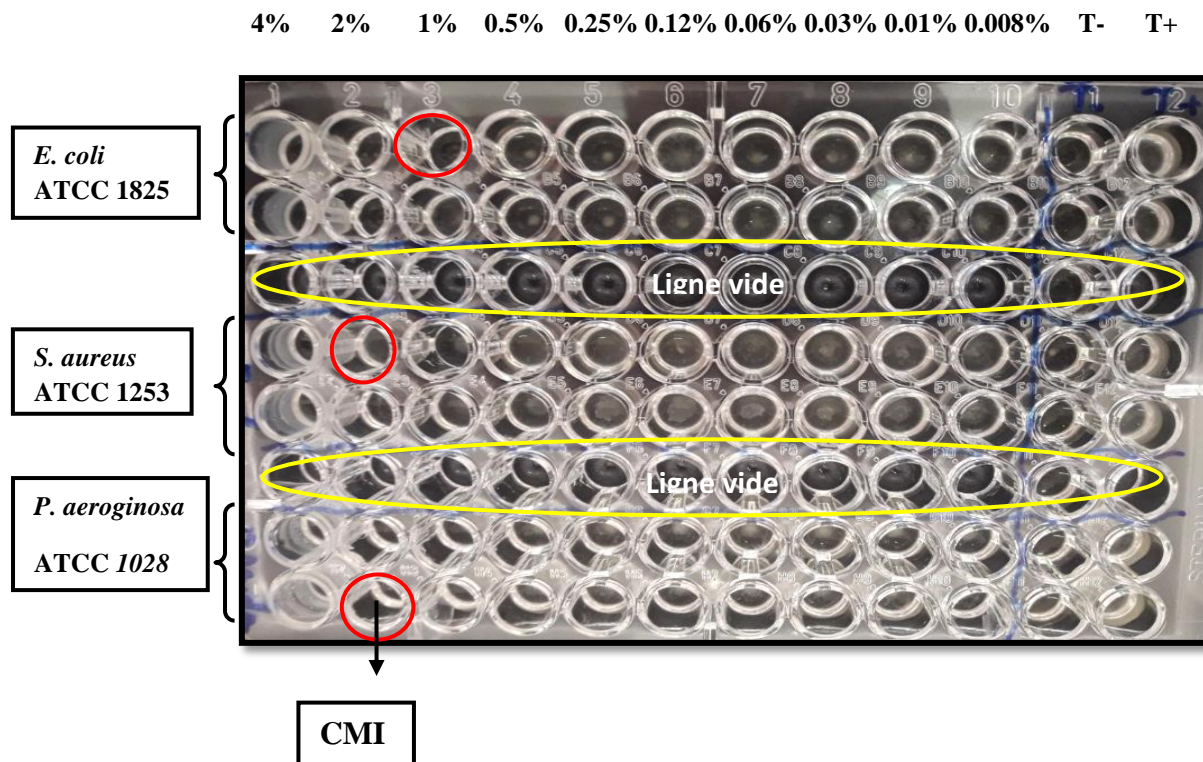


Figure 14. Détermination CMI pour les souches bactériennes *E. coli* ATCC 1825, *P. aeruginosa* ATCC 1028 et *S.aureus* ATCC 1253 sur microplaque.

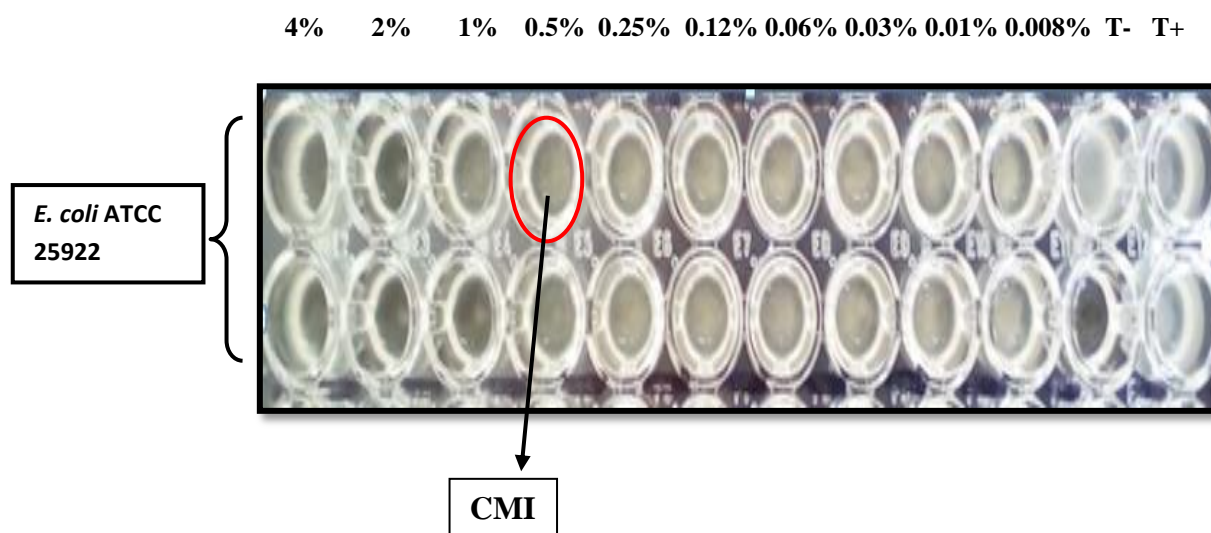


Figure 15. Détermination CMI pour la souche bactérienne *E. coli* ATCC 25922 sur microplaque.

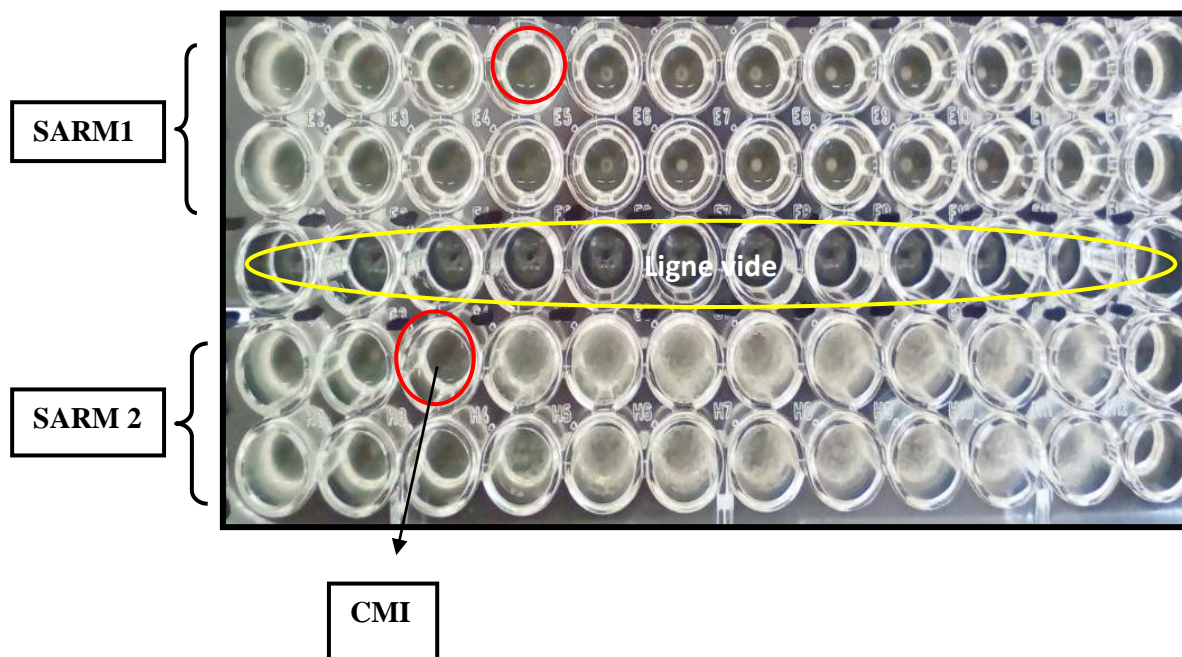


Figure 16. Détermination CMI pour les souches bactériennes SARM 1 et 2 sur microplaque.

Les résultats des microplaques obtenus dans notre étude sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4. Effet des différentes concentrations d’huile essentielle sur la croissance des bactéries.

		Puits										T-	T+
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
* Souches													
Microplaque n°1	<i>E. coli</i> ATCC 1825	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>S. aureus</i> ATCC 1253	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1028	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Microplaque n°2	<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Microplaque n°3	SARM 1	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	SARM 2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

- : Absence de dépôt

+ : Présence de dépôt

**E. coli* (ATCC 1825), *S. aureus* (ATCC 1253), *P. aeruginosa* (ATCC 1028), *E. coli* (ATCC 25922), SARM (1) et (2).

D'après les figures 14, 15, 16 et le tableau 4 la croissance de différentes souches des bactéries a été influencée par les concentrations de l'huile essentielle testées.

Les puits ne présentent pas de dépôts et d'un aspect clair indiquent une inhibition totale de croissance bactérienne. En revanche les puits présentent une croissance microbienne indiquent que l'HE n'a pas un effet sur la croissance des bactéries.

La méthode de microplaque nous a permis de déterminer les valeurs de concentrations minimales inhibitrices et bactéricides lors de la lecture grâce aux troubles de croissance bactérienne. Les résultats sont présentés dans le tableau (5) et la figure (17).

Tableau 5. CMI et CMB d'huiles essentielles testées sur les six souches bactériennes étudiées exprimée en % (V/V).

	Souches	CMI	CMB	CMB/CMI
Microplaque n°1	<i>E. coli</i> ATCC 1825	1	≥ 2	2
	<i>S. aureus</i> ATCC 1253	2	/	/
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1028	2	/	/
Microplaque n°2	<i>E. coli</i> ATCC 25922	2	4	2
	SARM 1	0.5	1	2
	SARM 2	1	/	/

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 0.5% à 2% alors que les valeurs des concentrations minimales bactéricide est de 1% à 4%.

D'après le tableau 5 nous constatons que l'huile de l'armoise blanche est active envers les souches testées, avec des valeurs de CMI qui sont : 2% pour *S. aureus* ATCC 1253, 1% pour *E. coli* ATCC 1825, 2 % pour *P. aeruginosa* ATCC 1028, 0.5% pour la souche SARM 1 et 1% pour SARM 2.

Concernant les espèces bactériennes testées, nous remarquons qu'il y a une différence de sensibilité vis-à-vis les différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. herba alba*.

L'espèce *S. aureus* résistant à la méthiciline s'est révélé la plus sensible à l'huile testée par CMI la plus faible (0.5%).

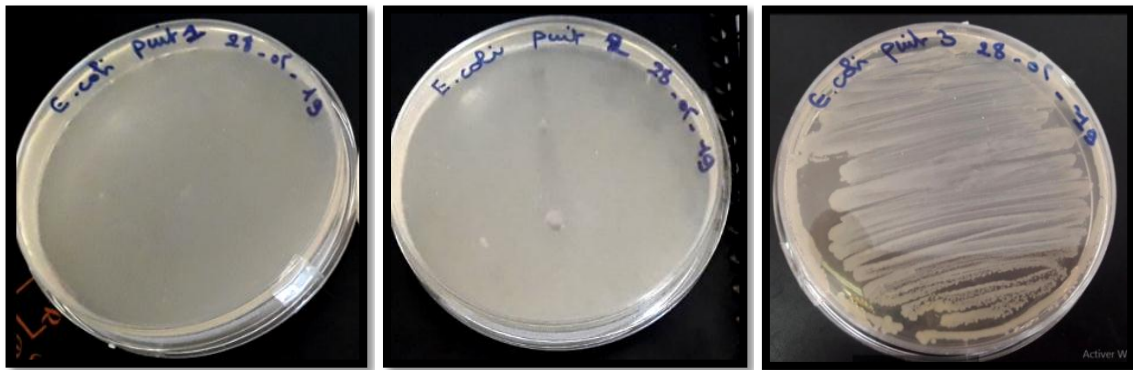
Alzoreky et Nakahara, (2003), ont montré que *S. aureus* de référence a été la plus sensibles ce qui est en discordance avec nos résultats.

Ces concentrations minimales inhibitrices obtenues semblent être moins significatives par rapport à celle rapportées par Mansouri et *al.* (2011) au Maroc, ont été trouvées avec *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* une concentration moins de 0.004%.

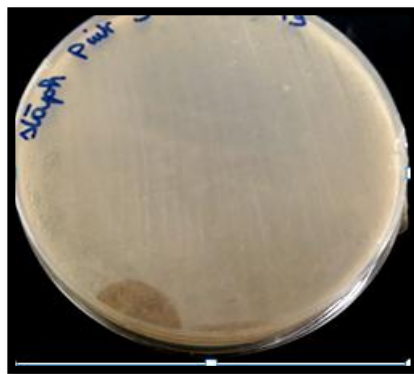
Les différentes valeurs de CMI obtenues nous permettent de constater que l'activité antibactérienne est en fonction de la bactérie, et des différentes concentrations de l'huile essentielle testée.

4.4.2.2. Nature de l'activité antibactérienne d'huile essentielle étudiée

La détermination de la nature de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*A. herba alba* vis-à-vis des six souches microbienne étudiier a été effectuée à partir des boites à dilution 1% à 4% présentant une inhibition visible de la croissance. Les résultats sont présentés dans le tableau 6 et la figure 17.

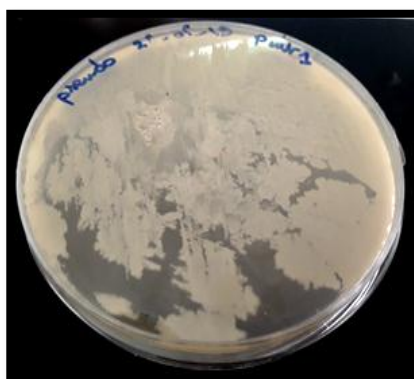


E. coli (ATCC 1825) (Puits1) *E. coli* (ATCC 1825) (Puits 2) *E. coli* (ATCC 1825) (Puits 3)



S. aureus (ATCC 1253) (Puits1)

S. aureus (ATCC 1253) (Puits 2)



P. aeruginosa ATCC 1028
(puits 1)

P. aeruginosa ATCC 1028
(puits 2)

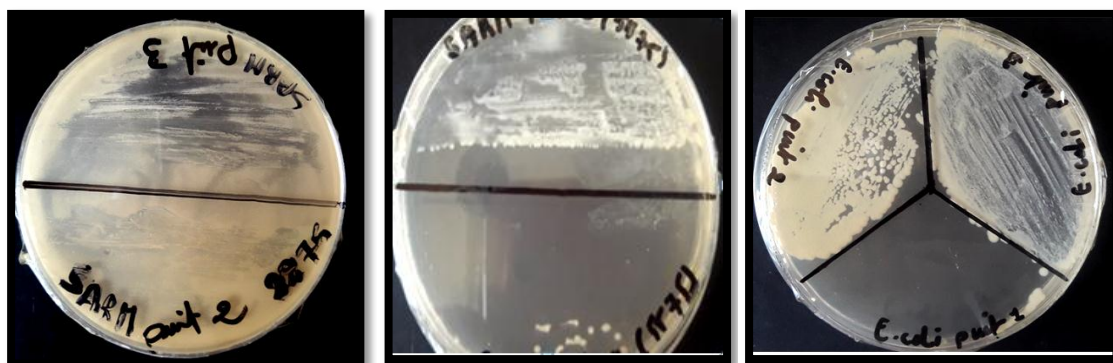


Figure 17. Détermination de la CMB sur les souches bactériennes étudiées.

Ces résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 6: Nature de l'activité d'huile essentielle d'*A. herba alba* vis-à-vis six souches testées.

Souches bactérienne	Nature de l'activité
<i>E. coli</i> ATCC 1825	Bactéricide
<i>S. aureus</i> ATCC 1253	Bactériostatique
<i>P. aeruginosa</i> 1028	Bactériostatique
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Bactéricide
SARM 1	Bactéricide
SARM 2	Bactériostatique

Nos résultats montrent que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'armoise blanche est de nature bactéricide pour les souches suivantes : *E. coli* (ATCC 1825), *E. coli* (ATCC 25922), et *S. aureus* (SARM 1). Il est en revanche, bactériostatique pour *S. aureus* (ATCC 1253), *P. aeruginosa* (ATCC 1028) et *S. aureus* (SARM 2). Ce qui correspond aux résultats obtenus par Laouer et *al.* (2003), avec l'huile essentielle de l'espèce *Artemisia herba alba* quant à elle montre un effet bactériostatique sur *S. aureus* de référence.

Les rapports CMB/CMI d'huiles essentielles de l'armoise blanche sont égaux à 2 pour *E. coli* ATCC 1825, *S. aureus* (SARM1) et *E. coli* ATCC 25922. Cette huile essentielle semble donc exercer une action bactéricide contre ces souches bactériennes.

4.5. Evaluations de l'activité antifongique des HE

4.5.1. Résultats de test antifongique

Le test antifongique est révélé que l'HE d'*A. herba alba* est actif sur les souches fongiques testées. Il exerce une activité antifongique avec un Taux d'Inhibition (PI) de 100% qui s'est traduit par l'absence de croissance mycélienne sur les milieux de culture contenant extrait de plante (Figure18).

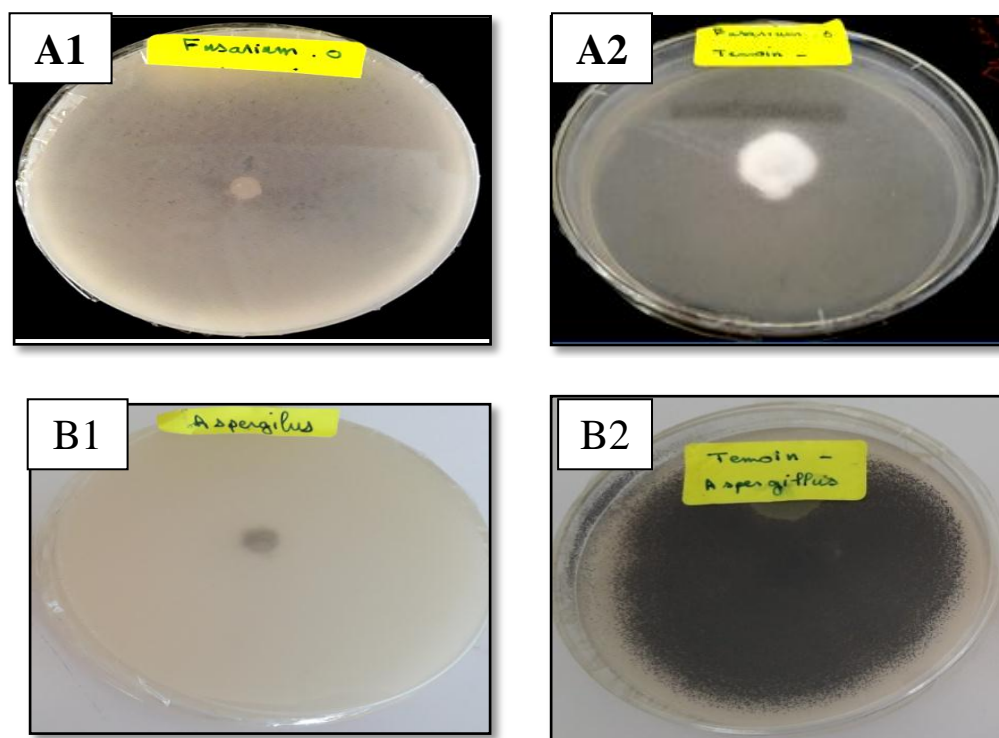


Figure 18. Effet d'HE d'*A. herba alba* sur *Aspergillus niger* (A1 : *Aspergillus niger* traité avec HE ; A2 : *Aspergillus niger* non traité avec HE) et *Fusarium oxysporum* (B1 : *Fusarium oxysporum* traité avec HE ; B2 : *Fusarium oxysporum* non traité avec HE), après 7 jours de culture sur PDA.

Nous n'avons pas eu de réponse avec *Alternaria alternata* et *Penicillium spp* en raison des problèmes de contamination rencontrés au cours de notre travail.

4.5.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI

L'analyse des résultats relatifs à la croissance des moisissures soumises à l'action de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. herba alba*, testée pour son activité inhibitrice a permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir de laquelle, aucune croissance n'est observée à l'œil nue (Figure 19, 20, 21, 22).

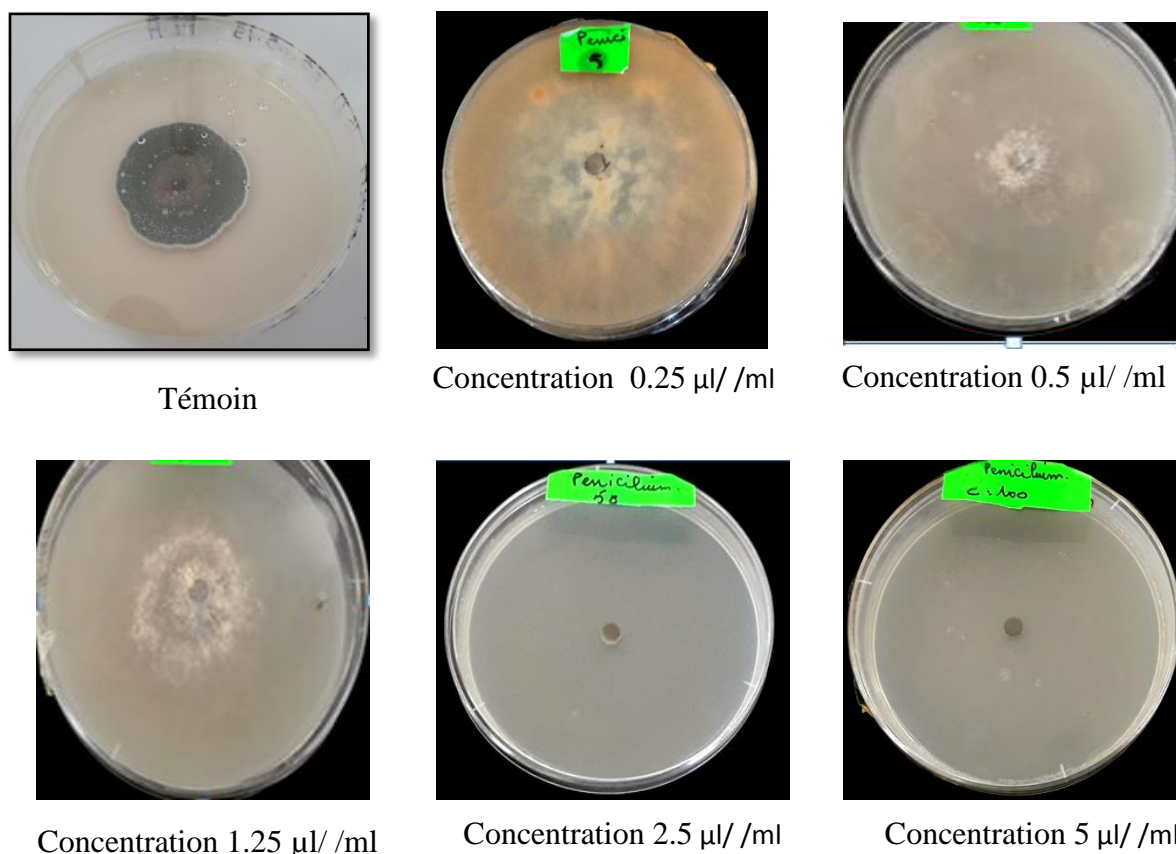


Figure 19. Détermination de la CMI de l'HE extraite d'*Artemisia herba alba* sur *Penicillium spp.*

Les résultats obtenus par contact direct sur *Penicillium spp* montrent que l'HE de l'armoise blanche est active envers la souche étudiée. Pour les concentrations de 2.5µl/ml et de 5µl/ml, l'huile essentielle exerce une inhibition totale où aucune croissance mycélienne n'a pu avoir lieu. En revanche, nous n'avons pas noté une inhibition de la croissance vis-à-vis la souche de *Penicillium spp* aux concentrations de 0.25µL/ml, 0.5µL/ml et 1.25 µL/ml. Donc la concentration minimale suffisante pour inhiber la croissance de la souche est supérieure ou égale de 2.5µl/ml.

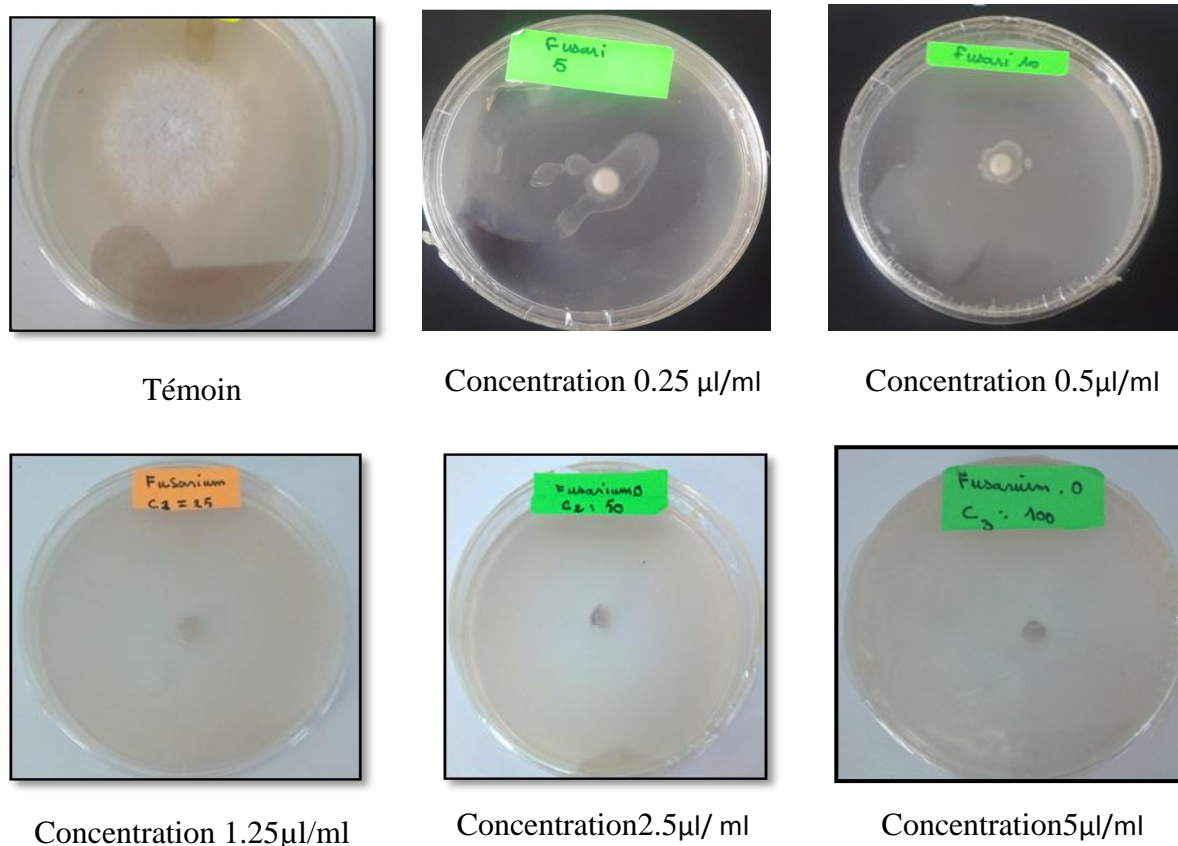


Figure 20. Détermination de la CMI de l'HE extraite d'*Artemisia herba alba* sur *Fusarium oxysporum*.

L'examen des résultats montre que l'huile essentielle d'*A. herba alba* a exercé un très bon pouvoir antifongique sur *Fusarium oxysporum* à partir de la concentration de 0.25µl/ml. Donc la concentration minimale de l'HE d'*Artemisia herba alba* (0.25µl/ml) était suffisante pour inhiber la croissance de l'espèce étudiée.

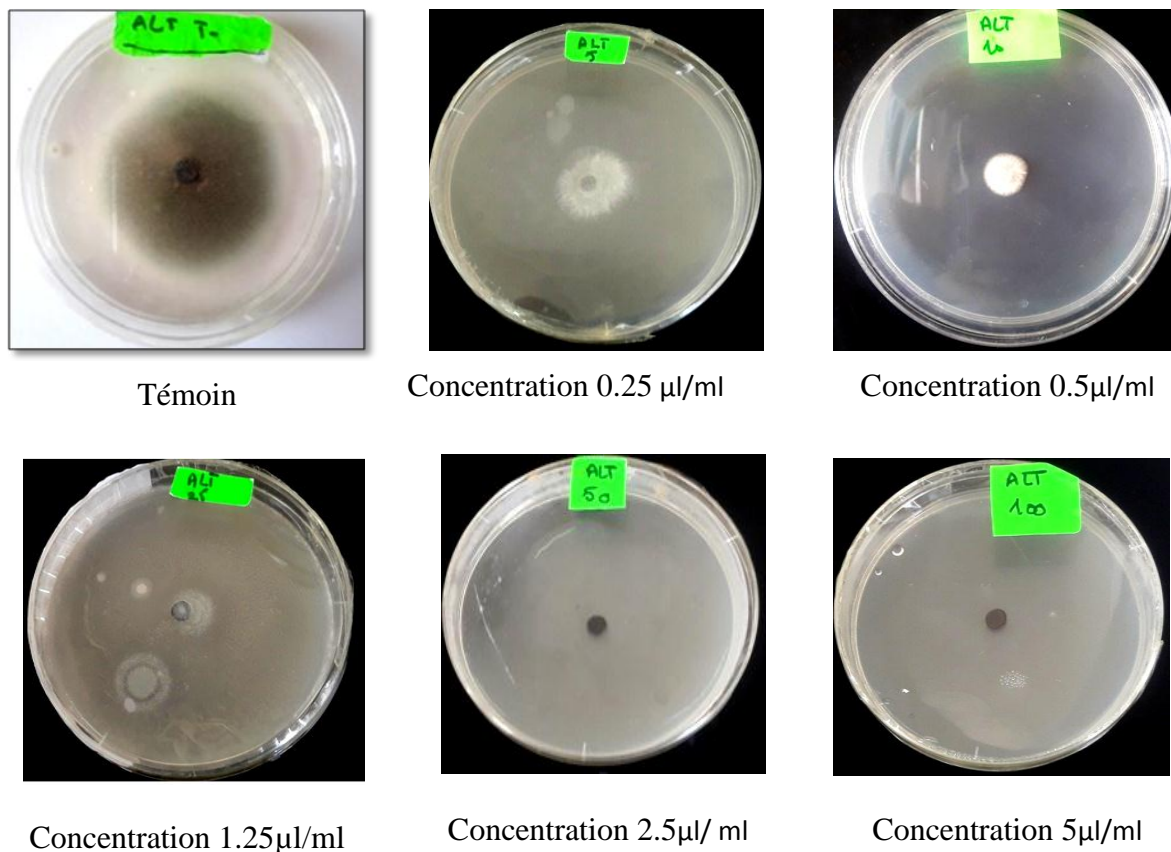


Figure 21. Détermination de la CMI de l'HE extraite d'*Artemisia herba alba* sur *Alternaria alternata*.

D'après la figure 21, nous avons remarqué une activité inhibitrice de 100% de l'espèce *Alternaria alternata* après 5 jours de l'application d'une concentration de 2,5µl/ml et de 5 µl/ml de l'huile essentielle d'*A herba alba*. En revanche, nous avons enregistré une légère croissance mycélienne aux concentrations les moins élevées (0.25µL/ml, 0.5µL/ml et 1.25 µL/ml).

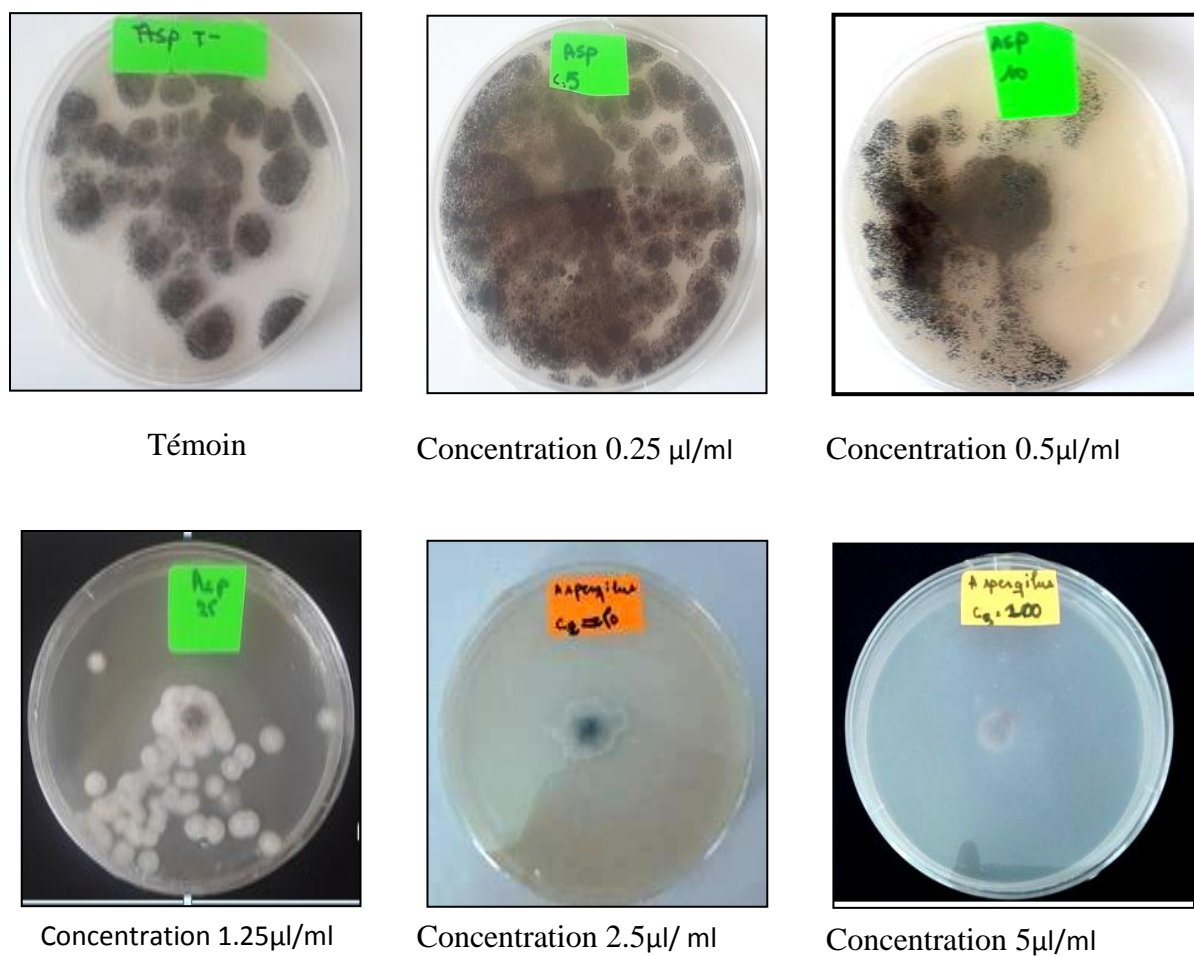


Figure 22. Détermination de la CMI de l'HE extraite d'*Artemisia herba alba* sur *Aspergillus niger*.

L'huile essentielle d'*A. herba alba* a une faible activité antifongique sur *Aspergillus niger*. Nous n'avons pas noté une inhibition de la croissance mycélienne aux concentrations de 0.25 µL/ml, 0.5 µL/ml et 1.25 µL/ml. La croissance est inhibée par une concentration minimale de 5 µl/ml.

La figure 23 résume les résultats de la CMI enregistrés sur toutes les souches fongiques testées sous l'effet de l'huile essentielle d'*A. herba alba*.

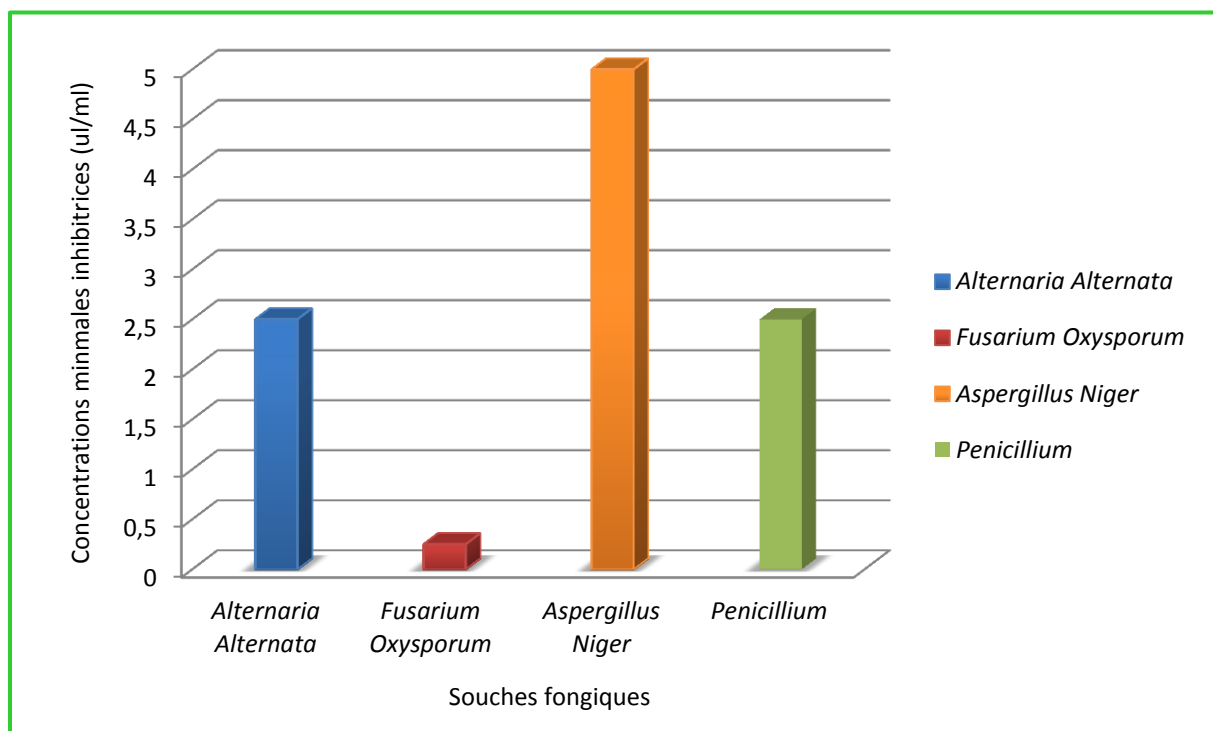


Figure 23. CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur toutes les souches fongiques testées.

Les travaux de Mohammed et al. (2010) sur *A. herba alba* et d'autres espèces de plantes, sélectionnés pour le criblage antifongique ont montré que toutes les HE étudiées ont exercées un très bon pouvoir antifongique. Ces plantes aromatiques récoltées le mois de Mai 2009 font partie des espèces les plus abondantes de la région Nord-Ouest de l'Algérie. Les HE d'*A. herba alba* Asso de son étude, ont montré une inhibition moyenne de la croissance mycélienne sur les espèces fongiques étudiées en comparaison avec les HE des autres plantes ayant fait l'objet d'étude.

Travaux de Soltani et Rouina, (2012) sur *Artemisia herba alba*, récolté de la région Ben S'rour (M'sila) fin de mois Janvier début de Février 2012, ont montrées que les HE de cette plante possèdent un bon pouvoir antifongique sur les souches de moisissures étudiées.

Les travaux de Kolai et al. (2012) sur l'effet inhibiteur *in vitro* de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur la souche de *Fusarium oxysporum* ont montrés que l'huile essentielle de l'armoise a révélé une efficacité remarquable sur la souche avec une concentration minimale inhibitrice CMI de 2%.

Conclusion

L'armoise blanche « *Artemisia herba alba* » est une plante médicinale et aromatique, utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle algérienne. Malgré ses effets biologiques potentiels, elle est exploitée à une échelle assez réduite. Le présent travail est consacré à l'extraction de l'huile essentielle (HE) d'*Artemisia herba alba* par deux méthodes différentes, la détermination et la comparaison entre les rendements de l'HE extraite. Aussi, l'activité biologique (notamment l'activité antibactérienne et antifongique) de l'huile essentielle extraite a été déterminée.

L'extraction de l'HE des parties aériennes de l'armoise blanche est réalisée par hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau.

Les rendements en huiles essentielles se diffèrent légèrement entre les deux méthodes d'extraction : hydrodistillation (1.05%) et entraînement à la vapeur d'eau (1.45%). Cette dernière méthode montre un rendement meilleur par rapport à l'hydrodistillation.

L'étude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*A. herba alba* vis-à-vis de quatre souches bactériennes référenciées et deux SARM. Ce pouvoir est important pour toutes les souches mais la sensibilité des bactéries est variable à l'égard de l'huile essentielle testée. Les zones d'inhibition pour l'HE varient de 12.5 mm - 27 mm, le diamètre le plus élevé est obtenu avec *P. aeruginosa* (27 mm) et le plus faible avec SARM 2 (12.5 mm).

En ce qui concerne la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices par la méthode de microdilution en milieu liquide sur microplaque, les valeurs de CMI obtenues varient et dépendent des souches testées. La croissance des bactéries s'est arrêtée à une concentration de d'HE. Ainsi l'activité d'huile essentielle étudiée de l'armoise blanche est de nature bactéricide pour l'*E. coli* (ATCC 1825), *E. coli* (ATCC 25922) et SARM 1. Il est en revanche, bactériostatique pour *S. aureus* (ATCC 1253), *P. aeruginosa* (ATCC 1028) et SARM 2.

Pour l'activité antifongique, La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'huile essentielle vis-à-vis d'*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Penicillium spp.* La CMI (concentration minimale inhibitrice) varie de 0.25µl/ml à 5µl/ml.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies afin d'exploiter le teste d'activité fongistatique/fongicide.

Il ressort que l'armoise blanche pourrait être valorisée d'avantage particulièrement dans l'industrie pharmaceutique pour la production de nouveaux agents thérapeutiques dans le traitement des maladies infectieuses causées par les bactéries ou peuvent être suggérées comme agents naturels de conservation des aliments.

Références

Bibliographiques

- Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L. et Bermejo P. 2012.** Le genre *Artemisia* L.: une revue des huiles essentielles bioactives. *Molecules*, 17 (3), 2542-2566.
- Abass O.A. 2012.** Effet thérapeutique de l'extrait aqueux d' *Artemisia herba alba* ajouté au traitement classique de l'hyperlipidémie acquise. *JOURNAL IRAKIEN DE MÉDECINE COMMUNAUTAIRE*, 25 (4), 320-323.
- AFNOR. 2000.** Huiles essentielles : échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2).
- Aidoud A. 1989.** Les écosystèmes à armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso). Phytomasse et productivité primaire. *Bulletin d'écologie terrestre (Biocénoses)*, 4, 70-90.
- Akroute A. 1999.** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des Régions Arides, 4119 Médenine, Tunisie.
- Al-Khazraji S. M., Al-Shamaony L. A., & Twaij H. A. 1993.** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of ethnopharmacology*, 40(3), 163-166.
- Anton R. and Lobstein A. 2005.** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc.
- Aouadhi S. 2010.** Atlas de risques de la phytothérapie traditionnelle à l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Faculté de médecine de Tunis-Master spécialisé en toxicologie.
- Babulka P. 2007.** Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales: de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie*, 5(3), 137-145.
- Baghdad F. 1988.** "L'aromathérapie et Citrus." Thèse de pharmacie, Montpellier.
- Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F. and Kaloustian J. 2010.** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*. 8(5). pp. 277-281.
- Billerbeck V.G., Roques C.G., Bessière J.M., Fonvieille J.L., Dargent R. 2001.** Effect of *Cymbopogon nardus* (L) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Canadian Journal of Microbiology*, 47: 9–17.

- BOUDJELAL A .2013.** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. thèse doctorat : Biochimie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 61p.
- Boullard B. 2001.** Plant médicinales du monde-Croyances et Réalités. Ed ESTEM, Paris.645.
- Bruneton, J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp.227-310.
- Bruneton, J. 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 4 e éd. *Tec & Doc / Lavoisier*, Paris, 279-281.
- Burt S. 2004.** Huiles essentielles: leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments - un bilan. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 94 (3), 223-253.
- CA-SFM. 2013.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>
- Charabot E., Dupont J et Pillet L. 1899.** Les huiles essentielles et leurs principaux constituants. C. Béranger.
- Chemat F. 2009.** *Essential oils and aromas Green Extraction and Applications*. Har Krishan Bhalla & Sons.
- Da Silva J.A.T. 2004.** Extraction des huiles essentielles des Anthemideae. *Revue africaine de biotechnologie*, 3 (12), 706-720.
- Debuigne G et Couplan F. 2009.** Petit Larousse des plantes médicinales. Larousse.
- Dudareva N., Krzyzanowska J., Oleszek W., Pistelli L. 2006.** Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Rev. Plant Sci*, 25 (5), 417-440.
- Dupont F, 2004,** Botanique - Systématique Moléculaire. Edétion : Masson, Paris, 110-125p.
- Duraffourd C., Lapraz J.C. 2002.** Examen de Laboratoire. In « *Traité de phytothérapie clinique* », Edition Masson, pp. 120-123.
- Duval L. 2012.** Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de Doctorat, Ufr de medecine et de pharmacie de ROUEN.
- Eberlin T. 1994.** Les antibiotiques Classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Nathan, Paris, 88 p.

El Rhaffari L. 2008. Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes. Faculté des Sciences et Techniques d'Errachidia, Equipe Environnement et Santé.

Fenardji F., Klur M., Furlon C & Ferrando, R. 1974. White artemisia (*Artemisia herba alba* L.). Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 27(2), 203.

Francis J. 2001: Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont, ISBN 2221092074.

Gharabi et Sand R.L. 2008. *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa : 49 - 49.

Gseyra N. 2011. Étude Phytochimiques de Deux Espèces Pastorales. Ed. EUE,

Hellal Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Jacques G. Paltz. 1997. Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".

Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H. et Weis N. 1989. Propriétés antibactériennes et antifongiques des composants des huiles essentielles. Journal of Essential Oil Research, 1 (3), 119-128.

Kunle O., Okogun J., Egamana E., Emojevwe E. et Shok M. 2003. Activité antimicrobienne de divers extraits et de carvacrol de l'extrait de feuilles de *Lippia multiflora*. *Phytomedicine*, 10 (1), 59-61.

Lardry J. M., et Haberkorn V. 2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinésithérapie, la revue, 7(61), 14-17.

Loupy A., and Varma R. S. 2006. Microwave effects in organic synthesis. *Chimica oggi Chemistry Today*, 24(3), 36.

Messai L., and Belkacemi D. 2011. Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien.

Meynadier J. M., Raison-Peyron N., Meunier L. et Meynadier, J. 1997. Allergie aux parfums. Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique, 37(5), 641-650

- Mohamed A., Magdi H., El-Sayed A., Hegazy M.E. Helaly S., Esmail A et Mohamed N.S. 2010.** Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. Rec. Nat. Prod. 4:1 (2010) 1-25.
- Mouhammed A ., Ahmed K., El Mokhtar E., Abdelhamed B ., Souliman A ., Hassan M., Abderrahim Z ., Ahmed M., Mohamed B., Abdelkhaleq L. 2010.** Relaxant effet of essential oil of *Artemisia herba alba* Asso. on Rodent Jéjunum contraction. Maroco.
- Nabli M.A. 1989.** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Faculté des Sciences de Tunis.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi Motamed M. et Ghorbani A. 2010.** La famille Labiata dans la médecine traditionnelle iranienne: de l'ethnobotanique à la pharmacologie. Journal iranien de recherche pharmaceutique, 63-79.
- Office fédéral de la santé publique. 2008.** "Les Huiles Essentielles". Confédération suisse.
- Olle M., Bender I. et Koppe R. 2010.** Le contenu des huiles dans les cultures ombellifères et sa formation. *Agronomy Research*, 8 (3), 687-696.
- Ozenda P. 1983.** Flore du sahara. Edition CNRS. 2e édition. pp. 416-442.
- Porter N. 2001.** Essential oils and other production: crop and food research, number 9, edition Reader, p 282-286.
- POTTIER G. 1981.** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes—dicotylédones— gamopétales, p 1012.
- Quezel, P. et Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. (Editions CNRS: Paris).
- Roux D. 2008.** Conseils en aromathérapie. 2ème édition, Pro-Officina, p.187.
- Salido S., Valenzuela R., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A., Cano E. 2004.** Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology* 32: 265–277 www.elsevier.com/locate/biochemsyseco.
- Seddiek S. A., Ali M. M., Khater H. F. and El-Shorbagy M. M. 2011.** Anthelmintic activity of the white wormwood, *Artemisia herba-alba* against *Heterakis gallinarum* infecting turkey poults. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), 3946-3957.
- Seidemann, J. 2005.** World spice plants: economic usage, botany, taxonomy. Springer Science & Business Media.

- Selles C. 2012.** Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux *dans H2SO4 0.5 M* (Doctoral dissertation).
- Skandamis P., Koutsoumanis K., Fasseas K. 2001.** Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *E. coli* O157: H7. *Ital J Food Sci* 13: 65–75.
- Soltani A. et Rounia Z. 2012.** Activité antifongique des huiles essentielles de *Artemisia herba alba* de la région M'Sila : extraction des huiles essentielles et évaluation de leur activité antifongique. Thèse de mémoire, université Mohamed Haider Biskra, 85 pages
- Tatsadjieu N., Jazet M., Ngassoum M.b., Etoa X., Mbofung Mf. 2010.** Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. *Food Control*, 5:161–166.
- Twaij Ha., Al-Badr A. 1988.** Hypoglycaemic activity of *Artemisia herba-alba*. *J Ethnopharmacol*, 24 (2-3) : 123 – 126.
- Unsicker, SB, G. Kunert Et J. Gershenzon. 2009.** Parfums protecteurs: rôle des substances volatiles végétales dans la défense des plantes contre les herbivores. *Opinion actuelle en biologie végétale*, 12 (4), 479-485.
- Zahalka J.P. 2010.** Les huiles essentielles (230 huiles essentielles, 170 maux traités).
- Zaim A., El Ghadraoui L., Farah A. 2012.** Effets des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur la survie des criquets adultes d'*Euchorthippus albolineatus*. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Vie, 2012, n° 34 (2), p. 127-133
- Zouri S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef N., Ayadi M.A., Mohamed N. 2010.** Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba-alba* Asso. *Journal of Medicinal Plant Research* Vol. 4(10), pp.871-880.

Annexes

Annexe 1 : Les milieux de culture**❖ Bouillon Mueller Hinton**

Composition	Quantité
Bouillon Mueller Hinton	20g
Eau distillée	1L

❖ Milieu Mueller Hinton (agar)

Composition	Quantité
Mueller Hinton	38g
Eau distillée	1L

❖ Potato Dextrose Agar (PDA)

Composition	Quantité
Filtrat de pomme de terre	200g
Glucose	15g
Agar	20g
Eau distillé	1L

❖ Gélose nutritif

Composition	Quantité
Gélose nutritif	23
Eau distillé	1L

Annexe 2**Tableau :** Diamètre des zones d'inhibition (mm) des deux répétitions des souches bactériennes de l'HE d'*A. herba alba* après 24h d'incubation à 37°C

Souches	Répétition1	Répétition2
<i>E. coli</i> (ATCC 1825)	16	16
<i>S. aureus</i> (ATCC 1253)	15	15
<i>P.aeruginosa</i> (ATCC1028)	30	24
SARM (1)	13	12
SARM (2)	14	12

المخلص

أدى البحث عن عوامل جديدة نشطة دوائيا من خلال فحص المصادر الطبيعية إلى اكتشاف عدد كبير من الأدوية المفيدة لمكافحة العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان والحيوان.

الهدف من هذا العمل هو دراسة مقارنة لعائد الزيوت العطرية التي تم استخلاصها بطريقتين مختلفتين من نبات *Artemisia herba alba* المنزوع من منطقة عين زعوط (بسكرة) وكذلك تحديد نشاطها المضاد للبكتيريا مقابل عشرة من الكائنات الحية الدقيقة. تم تحديد الحد الأدنى من التركيز المثبط بواسطة طريقة التخفيف الجزئي للبكتيريا فوق صفيحة رقيقة معدنية تحتوي على 96 جب والطريقة المباشرة للقالب. تم تحديد قيم الحد الأدنى من التركيز المثبط للبكتيريا. أظهرت نتائج استخراج الزيوت العطرية إنتاجية أفضل عن طريق التقطير البخار مقارنة بطريقة التقطير المائي (1.45% مقابل 1.05%)، و كذلك نشاطاً مضاداً للجراثيم، حيث تتراوح مساحة التثبيط بين 13 و 27 ملم. وفقاً لنتائج الحد الأدنى (SARM 1) أكثر حساسية مقارنة مع السلالات الأخرى التي تم اختبارها. كما أثبتت الدراسة ان زيت الشيح لديه فعالية جيدة ضد الفطريات المدروسة ، بتركيز منخفض مثبط انطلاقاً من 0.25 ميكرو لتر/ملم

الكلمات المفتاحية : *Artemisia herb Alba* , الزيوت الأساسية، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للفطريات.

Résumé

La recherche de nouveaux agents pharmacologiquement actifs via le screening de sources naturelles a abouti à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles pour combattre de nombreuses maladies humaines et animales.

L'objectif du présent travail est l'étude comparative du rendement en HE de deux méthodes d'extraction, extraite d'*Artemisia herba alba*, collectée de la région de Ain-Zaatout (Biskra). Ainsi que la détermination de son activité antibactérienne et antifongique vis-à-vis de dix micro-organismes La CMI a été déterminée par la méthode de micro-dilution sur plaque à 96 puits pour les bactéries et par la méthode directe pour les moisissures. La CMB a été déterminée.

Les résultats de l'extraction des huiles essentielles ont montré un meilleur rendement en HE par la méthode d'entraînement à la vapeur par rapport la méthode d'hydrodistillation (1.45% contre 1.05%). Les HE de l'armoise blanche ont montré une importante activité antibactérienne, avec une zone d'inhibition entre 13 et 27mm. Selon les résultats de la CMI, il a été conclu que SARM (1) semble plus sensible par rapport aux autres souches testées. Les HE ont montré aussi un bon pouvoir antifongique vis-à-vis de toutes les souches testées par ce qu'elles ont révélées une concentration minimale inhibitrice à partir de 0,25ul/ml.

Mots clés : *Artemisia herba alba* Asso, huiles essentielles, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

The search for new pharmacologically active agents through the screening of natural sources has led to the discovery of a large number of drugs useful for combating many human and animal diseases.

The objective of this work is the comparative study of the HE yield of two extraction methods of HE extracted from *Artemisia herba alba* collected from the region of Ain-Zaatout (Biskra). As well as the determination of its antibacterial and antifungal activity against ten microorganisms. MIC was determined by the 96-well micro-dilution method for bacteria and by the direct method for molds. The CMB has been determined.

The results of the extraction of essential oils showed a better efficiency of HE by the steam distillation method compared to the hydrodistillation method (1.45% against 1.05%). White mugwort HE showed

significant antibacterial activity, with an inhibition zone between 13 and 27mm. According to the results of the MIC, it was concluded that **SARM** (1) seems more sensitive compared to the other strains tested. The HEs also showed good antifungal power with respect to all the strains tested by the fact that they revealed a minimum inhibitory concentration starting from 0.25ul/ml.

Key words : Artemisia herba alba Asso, essential oils, antibacterialactivity, antifungalactivity.