

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : biotechnologie et santé



Réf :

En vue de l'obtention du diplôme MASTER

Thème

*Etude de l'effet antibactérien de deux
plantes médicinales « Rubus fruticosus et
Rosa canina »*

Présenté par :

LATBI Manissa
YAHIOU Samia

Encadrant :

Mme BENACHOUR Karima

Soutenu le 26/06/2023 devant le jury composé de :

Président	Mr KECHA Mouloud	Professeur
Promotrice	Mme BENACHOUR Karima	MAA
Examineur	Mr BARACHE Nacim	MCB

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé
et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas riche et n'aurait pas pu
avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de madame*

Benachour,

*On la remercie pour la qualité de son encadrement, pour sa
patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre
préparation de ce mémoire*

*On tient à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer
ce modeste travail*

*Enfin on tient à exprimer vivement nos remerciements avec une
profonde gratitude*

*A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la
réalisation de ce mémoire.*



L.Manissa & Y.Samia -

Dédicaces

*Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour,
sincérité et fierté*

*A mes chers parents source de motivation, de tendresse et
d'affection*

A mon frère Mokrane

A mes sœurs Lina et Maya

A toute ma famille

A mes très chères amies, tout particulièrement Cylia

A Samia chère amie avant d'être binôme



L.Manissa -

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné à la vie,
qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite,*

A ma mère...

*A mon père, qui a été mon ombre durant toutes les années
des études, qui a veillé à me donner l'aide,*

*A m'encourager et à me protéger, que dieu les gardes et
les protèges.*

A mon adorable sœur et mes frères

A ma très chère nièce

A tout ma famille

A mes très chers amis

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime



Y.Samia -

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction Générale..... 1

Synthèse bibliographique

I. L'espèce <i>Rubus fruticosus</i> L.....	4
I.1. Découverte.....	4
I.2. Nom et origine.....	4
I.3. Description botanique de la plante.....	4
I.4. Distribution géographique.....	5
I.5. Classification botanique.....	5
I.6. Données phytochimiques.....	5
I.7. Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques.....	5
II. Espèce <i>Rosa canina</i> L.....	6
II.1. Découverte.....	6
II.2. Nom et origine.....	6
II.3. Description botanique de la plante.....	6
II.4. Distribution géographique.....	7
II.5. Classification botanique.....	8
II.6. Données phytochimiques.....	8
II.7. Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques.....	8
III. Composés phénoliques.....	9
III.1. Acide phénolique.....	9
A. Acide hydroxycinnamique.....	9
B. Acide hydrobenzoïque.....	10
III.2. Flavonoïdes.....	11
A. Flavonols.....	11
B. Flavones.....	11

Sommaire

C. Flavanones.....	11
D. Isoflavones	12
E. Flavanols	12
III.3. Effet biologiques des flavonoïdes.....	12
A. Activité antioxydante.....	12
B. Activité anti-inflammatoire et l'effet sur le système immunitaire.....	12
C. Activité antivirale	12
D. Activité antibactérienne	13
E. Activité anti-cancérogène	13
III.4. Tanins.....	13
A. Tannins hydrolysables	14
B. Tanins condensés.....	14
C. Effets biologiques des tannins	15
III.5. Propriétés et intérêts des polyphénols	15
A. Chez les végétaux.....	15
B. Chez l'Homme	15

Matériels et méthodes

I. Objectif du travail.....	18
II. Matériels et méthodes	18
II.1. Matériel végétal.....	18
II.1.1. La récolte des plantes.....	18
II.1.2. Le traitement des échantillons	18
A. Lavage.....	18
B. Séchage	18
C. Broyage.....	18
D. Conservation	18
II.2. Souches bactériennes.....	19
II.3. Matériel non biologique	20
III. Extraction des composés phénoliques.....	21
III.1. Extraction à l'eau distillée	21
III.2. Extraction par solvants organiques.....	21
A. Extraction au méthanol.....	21
B. Extraction à l'éthanol	21

Sommaire

<i>IV. Test antimicrobien avec la poudre de l'églantier.....</i>	<i>22</i>
<i>V. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de l'églantier et dela ronce.....</i>	<i>22</i>
V.1. Activation des souches bactériennes.....	22
V.2. Test des puits	22
V.1. Test des disques	23

Résultats et discussion

I.1. Résultats du test antimicrobien avec la poudre.....	25
I.2. Résultats du test des puits	25
I.3. Résultats du test des disques	28
II. Discussion des résultats.....	30
Conclusion et perspectives	32
Références bibliographiques	34
Annexes	44

Liste d'abréviation

Liste d'abréviation

Aq : Aqueux

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

BN : Bouillon nutritif

E. Aq : extrait aqueux

E. coli : *Escherichia coli*

E. Met : extrait méthanolique

et al : et collaborateurs

GN : Gélose nutritive

MH : Mueller Hinton

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

Liste des tableaux

Tableau I: Classification systématique de <i>Rubus fruticosus</i> L.....	5
Tableau II: Classification botanique de <i>Rosa canina</i> L.....	8
Tableau III: Principaux acides hydroxy cinnamiques	10
Tableau IV: Principaux acides hydroxy benzoïque	10
Tableau V: Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme.....	16
Tableau VI: Représente les codes des bacteries utilises	20
Tableau VII: Mesure du diamètre des zones d'inhibitions de l'extrait aqueux de l'églantier et de la ronce vis-à-vis 3 souches de <i>B. subtilis</i>	25
Tableau VIII: Mesure du diamètre des zones d'inhibition de la croissance de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>B.subtilis</i> vis-à-vis les extraits aqueux de la ronce et l'églantier (mm)	27
Tableau IX : Mesure des zones d'inhibition de <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i> vis-à-vis les E.M et E.ETH.....	28
Tableau X : Mesure du diamètre des zones d'inhibition de la croissance des trois souches avec la méthode du disque (l'eau distillée) (mm)	29

Liste des figures

Figure 1 : Présentation de <i>Rubus fruticosus</i> L.....	4
Figure 2 : Photographie de <i>Rosa canina</i> L.....	7
Figure 3 : Répartition géographique du genre Rosa à travers le monde.....	7
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes	11
Figure 5 : Structure chimique d'un tanin hydrolysable	14
Figure 6 : Structure chimique d'un tanin condensé.....	14
Figure 7 : Présentation des poudres obtenues après broyage des feuilles de la ronce et del'églantier	19
Figure 8 : Photo représentative des zones d'inhibitions de la poudre d'églantier et de la ronce sur 3souches de <i>B. subtilis</i>	25
Figure 9 : Photo représentative des zones d'inhibition des 9 souches vis-à-vis l'extrait aqueux des deuxplantes	26
Figure 10 : Résultats du test des puits avec les extraits méthanoliques et éthanoliques vis-à-vis <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>	28
Figure 11 : Résultas du test des disques sur <i>Ecoli</i> , <i>B.subtilis</i> et <i>S.aureus</i>	29

Introduction Générale

Pendant des milliers d'années, les humains ont utilisé les plantes de la nature pour traiter et guérir les maladies. Les plantes médicinales renferment une multitude de composants biologiquement actifs, mais leur potentiel thérapeutique est encore en grande partie inexploité. La médecine traditionnelle joue un rôle majeur dans les soins de santé et utilisée en tant que complément à la médecine moderne (**Dar et al., 2012**).

D'après l'OMS (2012), environ 80% de la population africaine utilisent des remèdes traditionnels pour les soins de santé de base.

La résistance aux antibiotiques est un grave problème de santé publique dans le monde entier, rendant la maîtrise des infections bactériennes de plus en plus complexe en raison d'une utilisation inadéquate et anarchique d'antibiotiques chez les humains et les animaux. Afin de limiter les effets négatifs de ces médicaments, les scientifiques cherchent à explorer des moyens thérapeutiques plus naturels issus des plantes (**Bellamine, 2017**). Dans ce cadre la recherche sur les plantes offre un potentiel inestimable pour découvrir de nouveaux agents à activités antimicrobiennes.

Les plantes médicinales contiennent des métabolites secondaires (principes actifs) tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes ou les huiles essentielles, qui offrent des propriétés curatives efficaces contre différentes maladies. Ces plantes peuvent être utilisées pour soulager les maux du quotidien ou traiter des maladies chroniques telles que le cancer (**Rammel et al., 2009**).

Les deux espèces sont sélectionnées selon des critères chimiques et biologiques. Chimiquement, les genres *Rosa canina L* et *Rubus fruticosus L* sont riches en composés phénoliques, en flavonoïdes et en diverses lactones ses qui terpéniques Organique; ce genre est connu pour ses propriétés médicinales et médicinales, pour lesquelles il est utilisé dans le traitement de diverses affections (**Alimov, 1973**)

De ce fait, le but de notre étude était d'évaluer l'activité antibactérienne d'extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques de deux plantes médicinales. Ce présent travail a été mené dans le laboratoire de microbiologie et se compose de deux parties essentielles :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique regroupant des généralités sur deux plantes médicinales *Rosa canina L* et *Rubus fruticosus L* et une

Introduction Générale

description botanique de chaque espèce, leur distribution géographique et leur classification botanique. Un aperçu sur l'exploitation de ces plantes à des usages thérapeutiques et Pharmaceutiques a été inclus dans cette partie ainsi les composés phénoliques et leurs effets biologiques.

La deuxième partie est axée sur la présentation du matériel et des protocoles expérimentaux utilisés pour l'extraction des composés phénolique, ainsi l'étude de leurs effets antibactériens, Suivi des résultats et leurs interprétations. Enfin, nous avons terminés par une conclusion et des perspectives pour mieux envisager les études ultérieures.

Synthèse bibliographique

I. L'espèce *Rubus fruticosus* L

I.1. Découverte

Rubus fruticosus a été étudié par **Linnaeus (1737)**, qui a décrit quatre espèces du genre *Rubus*. En France, **Bonnier (1934)** a déclaré que 150 espèces de ce genre ont été décrites dans les régions tempérées, tropicales et subtropicales du monde. **Heslop-Harrison (1968)** a rapporté que plus de 2000 espèces ont été décrites, y compris l'espèce intéressante '*Rubus fruticosus*'.

I.2. Nom et origine

Rubus ulmifolius Schott, un nom latin qui signifie Ronce à feuille d'orme (**Dumesnil, 1821**) dont le nom vernaculaire est «Tût el Ullayq » en langue arabe son ancienne appellation est *Rubus fruticosus* L (**Halimi, 1997 ; Hammer et al., 2004 ; Benhamza, 2008**).

I.3. Description botanique de la plante

Rubus fruticosus L. fait partie de la famille des Rosacées. Le mot "épine" vient du latin *lumex, lumicis*, qui signifie "épine". L'épine dorsale atteint une hauteur moyenne de 4 mètres. C'est une plante vivace, semi-caducue et piquante. Les feuilles sont vertes, trilobées et à peine gonflées de chaque côté. Elle possède cinq feuilles qui sont souvent déchirées et finement bosselées. La disposition des fleurs suit les schémas typiques de cette famille. 5 pétales presque blancs ou roses, 5 énormes dorsales vertes et de nombreuses étamines plus courtes ou presque de même longueur. Le fruit est une grappe de mûres. Le fruit est une grappe de mûres (Figure 1) (**Bruzzese et al., 2000**).



Figure 1 : Présentation de *Rubus fruticosus* L. (**Bruzzese et al., 2000**).

I.4. Distribution géographique

L'espèce *Rubus fruticosus* L se rencontre dans Europe, Asie, Afrique (Atlas), Afrique australe, Australie du Sud-est, Nouvelle-Zélande, États-Unis, Chili, Équateur. Les haies, les lisières de forêt et les basses terres supportent des environnements ouverts et ensoleillés ainsi que de environnements frais et ombragés. C'est l'espèce de ronce la plus répandue dans le département, de la plaine à la montagne et dans une variété de milieux dégradés. (Inselboob, 2012).

I.5. Classification botanique

Tableau I: Classification systématique de *Rubus fruticosus* L. (Linnaeus,1753)

Règne	Plante
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Rosaceae</i>
Genre	<i>Rubus</i>
Espèce	<i>Rubus fruticosus</i>

I.6. Données phytochimiques

Toutes les parties de la mûre présentent une astringence assez prononcée due aux tanins. Lorsqu'elle est infusée, la solution de sel de fer devient noire. Très riche en albumine. Les fruits contiennent du sucre, de la pectine, de l'acide pectique et de l'acide malique. (Jean-Louis de Lanessan, 1881). Les Feuilles de *Rubus sp* présente un intérêt en phytothérapie en raison de sa teneur en tanin et de l'absence de composés hautement toxiques tels que les alcaloïdes (Hurtel, 2016).

I.7. Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques

Dans l'épineux, on peut tout utiliser : des "murs" de fruits et, bien sûr, des feuilles, des boutons, des racines. En effet, ce sont d'excellents antidiabétiques, purificateurs et astringents, ils sont donc souvent utilisés dans le traitement de l'inflammation des gencives, des plaies buccales et de la toux. Ils ont également des propriétés anti diarrhéiques,

diurétiques et anti hémorroïdaires (**Zia-Ul-Haq et al., 2014**). Le fruit est utilisé pour l'hygiène, les soins du corps et du visage (**Wehrlen, 1985**).

II. Espèce *Rosa canina* L

II.1. Découverte

Les traces les plus anciennes de *Rosa canina* remontent à l'Antiquité. Le premier enregistrement de l'utilisation des roses de chien peut être trouvé dans l'histoire naturelle de Pline l'Ancien, une compilation des connaissances contemporaines. Il est connu pour traiter la colère grâce à des préparations de racines et de fleurs. Les racines, les fleurs, les feuilles et le bédégar étaient transformés en potions et bu par des patients en colère. (**Bernard ,2005**) Cependant, des recherches récentes ont montré que le genre *Rosa* existait en fait depuis plus de 35 millions d'années, sur la base de fossiles trouvés aux États-Unis. (**Tarbouriech ,2001**)

II.2. Nom et origine

Le nom populaire de '*Rosa canina*' est l'égantier' mais aussi 'rosier des chiens'. Il s'agit de la traduction du nom de son fruit cynorhodon. (**Howard, 1987**) dont le nom vernaculaire est Nesrine en longue arabe et Dog rose en anglais (**Léger, 2007**).

II.3. Description botanique de la plante

L'égantier est une plante hermaphrodite, fleurissant de mai à juillet. Ses fleurs simples, blanches ou roses, appelées « églantines », ressemblent à des rosaces, poussant seules ou regroupées en petites inflorescences terminales. Elles sont constituées de 5 sépales frangés, dont la gaine se rétracte ensuite, s'effondrant rapidement ; 5 pétales à 2 lobes formant une coupe évasée et de nombreuses étamines disposées en couronne. Le réceptacle floral en forme de coupe contient de nombreux carpelles libres et poilus, chacun contenant 1 ovule. La transformation de cet hypanthium produit une bourse ovoïde rouge dite "hip rose" qui contient de nombreux akènes à poils urticants communément appelés "gratte-cul"(figure 2)(**Val-de -Marne. 2011**).



Figure 2 : Photographie de *Rosa canina* L (Val-de-Marne. 2011)

II.4. Distribution géographique

Il est originaire de vastes étendus d'Europe, de la Méditerranée à la Scandinavie, comme les îles britanniques et la Russie. Largement distribué dans les régions tempérées, en particulier le nord-est de l'Anatolie et la Turquie (Davis, 1997), mais rare dans les régions plus chaudes. La végétation de la rose rosa est largement répandue en Afrique du Nord, aux îles Canaries et à Madère en Algérie (figure 3)(Pottier- Alapetite, 1979).



Figure 3 : Répartition géographique du genre Rosa à travers le monde (Magnier, 2016)

II.5. Classification botanique

Tableau II : Classification botanique de *Rosa canina L.* (Benoitbock et al., 2020)

Règne	Plante
Sous règne	<i>Trachéophytes</i>
Division	<i>Spermatophytes</i>
Classe	<i>Angiospermes</i>
Sousclasse	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Rosaceaes</i>
Genre	<i>Rosa</i>
Espèce	<i>Rosa canina L</i>

II.6. Données phytochimiques

Les principaux constituants de *Rosa canina se* trouvent dans la fleur et le cynorrhodon. La fleur contient des acides maliques et citriques, ainsi que des tanins. Le cynorrhodon est quant à lui est riche en vitamines C, A et B, en pectine, en tanins, en flavonoïdes, en anthocyanes et en caroténoïdes.

On retrouve également dans le cynorrhodon des sels minéraux qui sont bénéfiques pour la santé. Ces constituants font de *Rosa canina* une plante médicinale couramment utilisée pour ses propriétés thérapeutiques, notamment pour renforcer le système immunitaire et soulager les douleurs articulaires (Koczka ; Roman et al., 2013).

II.7. Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques

Les bienfaits de l'églantier pour la santé sont dus à la présence de plusieurs composés bioactifs tels que l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les composés phénoliques dans les fruits de l'églantier, appelés cynorrhodons. Ces derniers ont des propriétés préventives et thérapeutiques, protégeant les reins du stress oxydatif et réduisant les symptômes de l'arthrose. Ils ont également des effets anti- inflammatoires, antidiabétiques, antibactériens et anticancéreux. Des études cliniques ont également montré que l'églantier était efficace contre les rhumes, les infections, les troubles gastro-intestinaux et urinaires (Mármol et al.,

2017; Medveckienė et al., 2020).

III. Composés phénoliques

Les polyphénols ou les composés phénoliques sont des phytonutriments synthétisés par les végétaux et appartiennent à leur métabolisme secondaire (Johnson, 2001). Ils forment un grand groupe de substances difficiles à définir simplement. L'élément structurel de base qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou ayant une autre fonction, éther, ester, hétéroside. Les connaissances sur les polyphénols évoluent actuellement et sont fournies par des groupes de recherche du monde entier grand intérêt (Bruneton et al., 1999).

Plus de 8000 structures phénoliques ont été identifiées (Urquiaga et Leighton, 2000). Les composés phénoliques peuvent être classés selon la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette et la liaison de ces molécules de base à d'autres molécules telles que les glucides, les lipides et les protéines (Harborne, 1989).

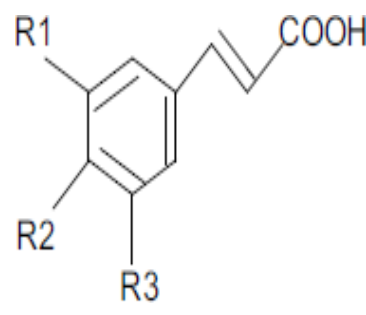
III.1. Acide phénolique

Les acides phénoliques sont largement distribués dans les plantes. Ces substances renferment des résidus COOH et prennent souvent la forme de glycosides ou d'esters. Les acides phénoliques se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (Guignard, 1996) et les dérivés de l'acide cinnamique (Malagas, 1992).

A. Acide hydroxycinnamique

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base C6-C3 est dérivée de celle de l'acide cinnamique (Sarni-machado et Cheynier, 2006). Ils sont principalement composés d'acide p-coumarique, d'acide caféique, d'acide férulique et d'acide sinapique. Les acides hydroxycinnamiques sont très abondants dans les fruits tels que les kiwis et les pruneaux (tableau III) (Macheix et Fleuriet, 1990)

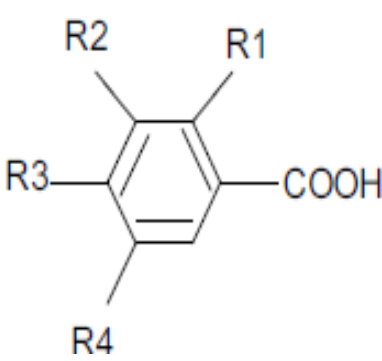
Tableau III : Principaux acides hydroxy cinnamiques (Sarni-Manchado et Cheyner, 2006).

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p-coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

B. Acide hydrobenzoïque

Les acides hydrobenzoïques sont dérivés des acides benzoïques et ont une formule de base de type C₆-C₁. Bien que ces dérivés soient très rares dans l'alimentation humaine, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique sont très courants (Fleuriet *et al.*, 2005), les acides hydrobenzoïques les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (tableau IV).

Tableau IV: Principaux acides hydroxy benzoïque (Sarni-Manchado et Cheyner,2006).

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

III.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des plantes et sont souvent responsables de la couleur des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Mukohata et al., 1978**). Structurellement, les flavonoïdes partagent un cadre commun avec 15 atomes de carbone disposés en trois anneaux appelés A, C et B. Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes moléculaires en fonction de leurs structures cycliques intermédiaires (figure 04) (**Abedini, 2013**).

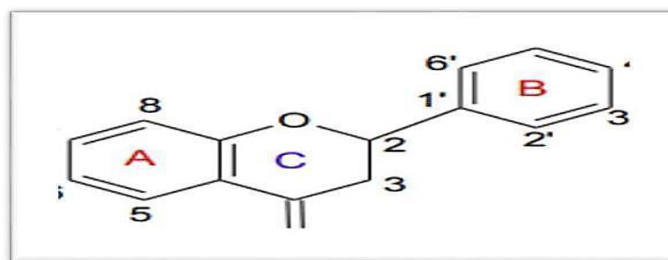


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (**Abedini, 2013**)

A. Flavonols

Les flavonoïdes les plus répandus dans les aliments sont les flavonols. Le kaempférol et la quercétine sont les composés les plus typiques de ce groupe. En raison de leur composition chimique, qui est propice à l'absorption des radicaux libres, ces derniers ont une très forte Propriété antioxydante. (**Liu et al., 2012**)

B. Flavones

Les flavones sont abondantes dans les plantes supérieures ou dans les aglycones ou glycolyses. Certains sont responsables de l'aspect blanc ou ivoire de certaines fleurs, comme les roses et les œillets. Ils ont une activité physiologique importante, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales (**Stafford, 1990**).

C. Flavanones

Les flavanones ont une structure similaire aux flavones, mais ils ne sont pas visibles dans un hétérocycle insaturé. Flavanones dans les aliments on les trouve dans les tomates, certaines plantes comme la menthe et se produisent en grande quantité dans les agrumes. Les aglycones les plus importants sont la naringénine pamplemousse, hespéridine dans l'orange et eriodictiol dans le citron (**Adouane, 2016**).

C. Isoflavones

Les produits à base de soja sont la principale source alimentaire des isoflavones, glycosylé ou non. On les trouve aussi dans les légumineuses (**Iwashina, 2000**).

E. Flavanols

Les flavanols existent sous forme de composés chimiques. Les unités les plus simples sont les catéchines, ou des polymères appelés proanthocyanidines. On le trouve le plus souvent dans les fruits comme les abricots, les baies, le thé vert et le chocolat. (**Arts et al., 2000**).

III.3. Effets biologiques des flavonoïdes

A. Activité antioxydante

Plusieurs études ont montré que les flavonoïdes de différentes sources végétales agissent comme des antioxydants efficaces encore plus que la vitamine C (**Alothmane et al., 2009**), ces composés peuvent prévenir les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'action : soit en éliminant les radicaux hydroxyles, superoxydes, alkyles et les peroxydes (**Hodek et al., 2002**), soit en chélatant les métaux (fer et cuivre), qui sont d'une grande importance dans l'initiation des réactions radicalaires, soit en inhibant les enzymes responsables de la formation des radicaux libres, comme la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipoxygénase (**Dicarlo et al., 1999 ; Sarni et Cheynier, 2006**).

B. Activité anti-inflammatoire et l'effet sur le système immunitaire

De nombreuses études montrent que les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires (**Huck et al., 2000 ; Chen et al., 2008**) et qu'ils sont capables de moduler la fonction du système immunitaire (**Raffaelli et al., 1997**). Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (**Loo et al., 1989 ; Waridel et al., 2001**). Certains d'entre eux, comme la quercétine, la myricétine, l'apigénine et la chrysrine, ont des effets anti-inflammatoires par inhibition enzymatique.

C. Activité antivirale

Les flavonoïdes se sont révélés être de bons inhibiteurs de la "transcriptase inverse". Cependant, leurs effets semblent être plus forts sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la transcriptase inverse virale (**Langewald et Schmutterer, 1992; Wilps et al., 1992**). D'autres chercheurs ont montré que les flavonoïdes peuvent avoir un effet plus sélectif

en interagissant avec la glycoprotéine de surface (Gp 120) du VIH, empêchant le virus de se lier à la cellule hôte (**Tail, 1998**).

D. Activité antibactérienne

Les flavonoïdes peuvent avoir des effets antibactériens. En effet, ils inhibent la croissance de différents types de bactéries telles que *Staphylococcus aureus* (**Babayi, 2004**), *Escherichia coli* (**Ulanawska, 2006**), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacea...* (**Didrak, 1999**). Certains articles mentionnent que les flavonoïdes extraits avec du méthanol ont un effet sur certaines bactéries. C'est le cas des flavonoïdes de *Linanum capitatum* contre *Staphylococcus aureus* (**Sivakumaran, 2004**).

E. Activité anti-cancérogène

Des études mettent en évidence l'effet protecteur des flavonoïdes contre les promoteurs tumoraux (**Kato et al., 1983**). Par exemple, l'effet antitumoral de la quercétine peut s'expliquer par son interaction avec le complexe calcium-calmoduline, qui joue également un rôle dans le mécanisme d'action de nombreux promoteurs tumoraux (**Nishino et al., 1996**). Les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes impliquées dans l'activation des procarcinogènes en intermédiaires mutagènes (**Obermeier et al., 1995**).

III.4. Tanins

Ce sont des substances d'origine végétale non azotée à structure polyphénolique, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone, légèrement soluble dans l'éther, a un goût astringent, a les caractéristiques communes de la peau brûlée par le soleil, et la rend antiseptique et imperméable en se liant aux protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000. Chez les plantes, les tanins existent à l'état complexe ; certains sont liés à des sucres appelés tannosides. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneteon ; 1993**).

A. Tannins hydrolysables

Les tanins hydrolysables Comme leur nom l'indique, ils se caractérisent par le fait qu'ils s'hydrolysent facilement en milieu acide et alcalin ou sous l'action d'enzymes comme les tannases (**Quideau ; 2009**). Il libère alors une fraction non phénolique (souvent glucose ou acidequinique) et une fraction phénolique composée principalement d'acide gallique dans le cas des gallotanins ou d'un dimère d'acide gallique, dans le cas des ellagitanins (figure 05) (**Radhia; 2010**).

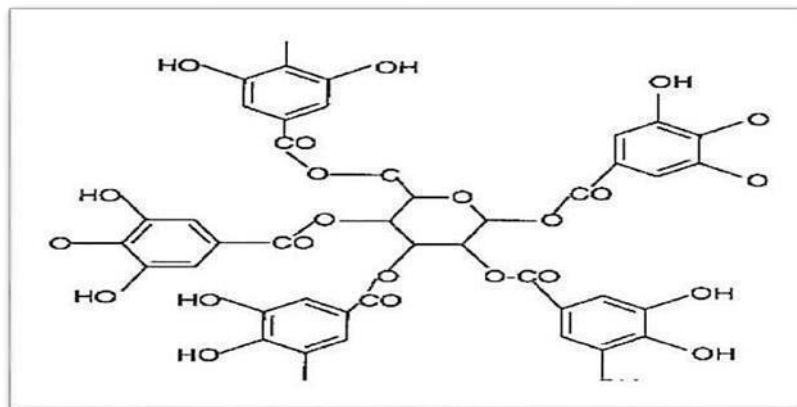


Figure 5 : Structure chimique d'un tanin hydrolysable (**Bennick, 2002**)

B. Tanins condensés

Les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines ou tanins catéchiques sont des dimères, des oligomères ou des polymères de flavonoïdes. Ils se distinguent essentiellement des tanins hydrolysables dans leurs molécules car ils ne contiennent pas de sucres et ils ont une structure de type flavonoïde (figure 06) (**Bruneton, 1999**).

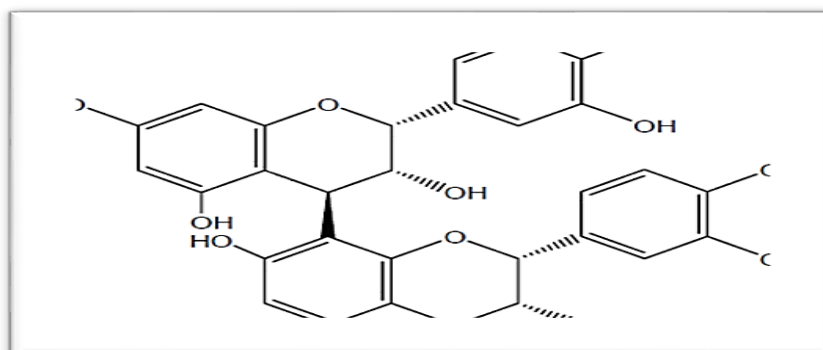


Figure 6 : Structure chimique d'un tanin condensé (**Vermerris et Nicholson,2006**).

C. Effets biologiques des tanins

- Les tanins possèdent certaines propriétés astringentes, ce qui explique leurs propriétés Vas protectrices, cicatrisantes et anti diarrhéique. (**Hennebelle et al., 2004**).
- Les tanins caté chiques ont une capacité anti oxydante très prononcée en raison de leur noyau phénolique et de la présence de groupes di- ou tri-hydroxyle et méta-5,7-dihydroxyle sur le cycle B de la boucle A. (**Rahman et al., 2006**).
- Les plantes riches en tanins resserrent les tissus mous tels que les varices, drainent les sécrétions excessives telles que la diarrhée, réparent les tissus endommagés par l'eczéma et les brûlures (**Smythies, 1998**), et sont utilisées pour arrêter et stopper les saignements. Lutte contre les maladies infectieuses (**Zimmer et Cordesse, 1996 ; Smythies, 1998 ; Bruneton, 1999**).
- Les tanins ont de fortes propriétés antibactériennes, inhibant la croissance des bactéries qui causent diverses infections humaines, notamment *E. coli*, *Helicobacter pylori* et *Proteus mirabilis* (**Chattejée et al., 2004 ; Leitao 2005**). L'inhibition bactérienne par les tanins dépend souvent de leur structure et du degré de polymérisation (**Sivakumaran, 2004**).

III.5. Propriétés et intérêts des polyphénols

A. Chez les végétaux

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans divers domaines de la physiologie végétale et leur interaction avec l'environnement physico-chimique et biologique. Les pigments phénoliques (anthocyanes, flavonols, pigments de brins) sont impliqués dans la coloration des organes végétaux. Les polyphénols participent aussi à la protection des plantes contre les agressions environnementales telles que les rayons UV, les insectes, les champignons ou les maladies (**Geet Johnson, 2001**). L'implication des composés phénoliques dans les interactions entre plantes et microorganismes est un autre domaine où les connaissances ont fait des progrès spectaculaires. (**Sarni-Manchad et Cheynie, 2006**)

B. Chez l'Homme

Des études épidémiologiques et des expériences in vitro ont montré que les polyphénols ont diverses activités biologiques (**Tableau VII**) (**Dos santos, 2006 ; Xiao et al., 2007**). Ils participent à la prévention de nombreuses maladies telles que le cancer et

Maladies cardiovasculaires. Leurs effets sur la santé dépendent de la quantité consommée et de leur biodisponibilité (Manach et al., 2004)

Tableau V: Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme (Macheix et al., 2005; Brunteon,1993; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Polyphénols	Activités biologiques
Phénols simples	Anti-oxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Flavonoïdes	Antitumorales Antiparasitaires Antibactériennes Anticarcinogènes Anti inflammatoire Antivirale Anti-oxydantes, Antiallergiques
Tannins	Anti-oxydantes Antidiarrhéiques

Matériels et méthodes

I. Objectif du travail

Ce travail expérimental a été réalisé au laboratoire de Microbiologie 4 de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, à l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa. Il a pour objet l'évaluation de l'effet antibactérien de deux plantes médicinales « l'égantier » et « la ronce » sur des trois genres de bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*).

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de deux plantes médicinales sélectionnées en tenant compte de leurs utilisations thérapeutiques dans la médecine populaire.

II.1.1. La récolte des plantes

La récolte des deux plantes « L'égantier et la Ronce » a été effectuée durant la période du mois d'avril 2023, dans la région de « Bouhoual » à Bejaia.

II.1.2. Le traitement des échantillons

A. Lavage

Les deux plantes ont été lavées par l'eau de robinet pour éliminer les grosses particules présentes, puis rincées avec de l'eau distillée pour éviter toute trace d'impuretés.

B. Séchage

Après lavage, La matière végétale a été séchée naturellement à l'abri de la lumière, à température ambiante (26°C) durant 5 jours. Une fois séchée, on sépare les tiges, les feuilles et les fleurs de la pulpe.

C. Broyage

Après séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine, qui a servi pour la préparation des extraits.

D. Conservation

Les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière jusqu'au moment de préparation des extraits pour préserver leur qualité initiale (figure 7).



Figure 7 : Présentation des poudres obtenues après broyage des feuilles de la ronce et de l'églantier

II.2. Souches bactériennes

L'effet antibactérien des extraits étudiés a été testé sur des bactéries à Gram négatif *Escherichia coli* et des bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (tableau VI).

- *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) (**Gram+**) : Bactérie qui provoque des intoxications alimentaires, des infections locales et dans certains cas extrêmes des septicémies chez les sujets ayant subi une greffe ou des prothèses cardiaques implantées (Delphine, 2008).
- *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) (**Gram+**) : Les bacilles sont des bâtonnets droits aux extrémités carrées. Endospores rondes de différentes tailles. La plupart sont des péri- flagellés mobiles et portuaires (Prescott et al., 2003). Cette bactérie a portée l'avantage d'un génome entièrement séquencé et d'une manipulation génétique facile (Zhu et Sturke,2018).
- *Escherichia coli* (*E. coli*) (**Gram-**) : Bactérie caractérisée par la formation de spores anaérobies non facultatives, présente dans l'intestin et les fèces des animaux à sang chaud et des reptiles et dans le microbiote intestinal (Tenailon, 2010).

Tableau VI : Les bactéries cibles utilisées

Souche bactérienne	Code
<i>Bacillus subtilis</i>	<ul style="list-style-type: none">• P74• BN7• SRYs
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none">• <i>E. coli</i> 1• <i>E. coli</i> 2• <i>E. coli</i> 3
<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none">• <i>S. aureus</i> 1• <i>S. aureus</i> 2• <i>S. aureus</i> 3

II.3. Matériel non biologique

Boîte de pétri, milieux de cultures, Tubes à essais, Béchers, Agitateur Vortex, Plaque chauffante, bain marie, Balance, Spatule, Erlenmeyer, Entonnoir, Papier filtres, Flacons en verre ...etc. (Annexe 01)

III. Extraction des composés phénoliques

Une variété de solvants tels que le méthanol, l'éthanol et l'eau distillée peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques.

III.1. Extraction à l'eau distillée

Des extraits aqueux ont été obtenus par macération dans de l'eau distillée, à partir de laquelle 10 g des deux poudres des feuilles de l'églantier et de la ronce ont été dissous dans 100 ml d'eau distillée sous agitation douce pendant 24 heures à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré sur papier filtre Wattman pour obtenir un filtrat. Le filtrat est conservé dans des flacons en plastique aseptiques à bouchons rouges au réfrigérateur pendant 24h.

III.2. Extraction par solvants organiques

A. Extraction au méthanol

Des extraits méthanoliques ont été préparés par macération de poudres des deux plantes dans du méthanol (10 g de la poudre d'églantier a été dissoute dans 40 ml de méthanol et 5g pour la ronce dans 20 ml du méthanol) sous agitation douce pendant 24h à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré sur papier filtre wattman pour obtenir un filtrat, qui est évaporé sec et stocké à 4°C dans des flacons. Le filtrat sec obtenu après évaporation est dilué avec 2 ml de l'eau distillée.

B. Extraction à l'éthanol

Des extraits éthanoliques ont été préparés en faisant macérer les poudres des deux plantes dans de l'éthanol (10 g de la poudre de l'églantier pour 40 ml de l'éthanol et 5g de la ronce pour 20 ml de l'éthanol) en agitant à température ambiante pendant 24 heures. Après l'extraction, les solutions obtenues sont filtrées en utilisant du papier Wattman pour éliminer les particules solides indésirables et pour obtenir des filtrats qui ont été évaporés à l'étuve sous vide pur éliminer le solvant organique et stocké à 4°C dans un flacon en plastique. Après évaporation le filtrat sec est dilué avec 2ml de l'eau distillée pour obtenir un volume de composés phénoliques.

IV. Test antimicrobien avec la poudre de l'églantier

Les poudres d'églantier et de ronce obtenues après broyage ont été directement testées sur les souches bactériennes cibles. Tout d'abord, une suspension bactérienne de 10^7 UFC/ml a été préparée à partir de colonies bactériennes fraîches de chaque souche. La gélose MH a été versée dans des boîtes de pétri à double compartiments. L'inoculation des boîtes se fait par écouvillonnage, les boîtes sont séchées devant le bec benzène, 0,04 g de chaque poudre est mise à la surface de la gélose et incubé à 37°C pendant 24 heures.

V. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de l'églantier et de la ronce

V.1. Préparation des souches bactériennes

Des cultures fraîches d'une concentration cellulaire de 10^7 UFC/ml de bactéries cible ont été préparées à partir des colonies obtenues après ensemencement et incubation à l'étuve pendant 24h à 37°C.

V.2. Test des puits

La méthode des puits également appelée méthode de diffusion en milieu gélosé, est une technique couramment utilisée pour évaluer l'activité d'un extrait de plante médicinale sur des bactéries pathogènes. Elle consiste à :

- Verser une couche très fine de gélose nutritive (GN) dans une boîte de Pétri. Après solidification, une deuxième couche de gélose Mueller Hinton (MH) est versée.
- Les puits sont formés à la surface de la gélose à l'aide des embouts bleus stériles.
- Un volume de 100 µl de chaque extrait Aq des deux plantes est déposée dans les puits préalablement formés.
- Les boîtes de Pétri contenant la gélose et les puits sont incubées à 37 °C, pendant 24H pour permettre la croissance bactérienne.

- Après l'incubation, la sensibilité des bactéries à l'extrait de plante est évaluée en mesurant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des puits. Les zones claires indiquent une inhibition de la croissance bactérienne, tandis que l'absence de zone d'inhibition indique une absence d'activité antimicrobienne. Les zones d'inhibition sont mesurées avec une règle.

V.3. Test des disques

La méthode de diffusion sur disque est généralement utilisée comme test préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne, suivie de méthodes plus détaillées.

On utilise dans cette méthode, le papier filtre découpé sous forme de disques circulaires environ 6 mm de diamètre, afin d'obtenir une zone d'inhibition facile à mesurer. Les suspensions bactériennes ont été étalées à la surface de la gélose MH avec des écouvillons.

À l'aide d'une micropipette, et on prélève 25 μ l d'extrait, puis on dépose chaque quantité prélevée sur le disque enfin les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C, l'expérience est répétée deux fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne. La lecture des résultats s'est faite 24 h après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en(mm).

Résultats et discussion

I.1. Résultats du test antimicrobien avec la poudre

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et les résultats sont représentés dans la Figure 9. La présence des zones d'inhibition indique que la poudre de l'églantier possède un effet anti bactérien vis-à-vis les 3 souches de *B. subtilis* testées.

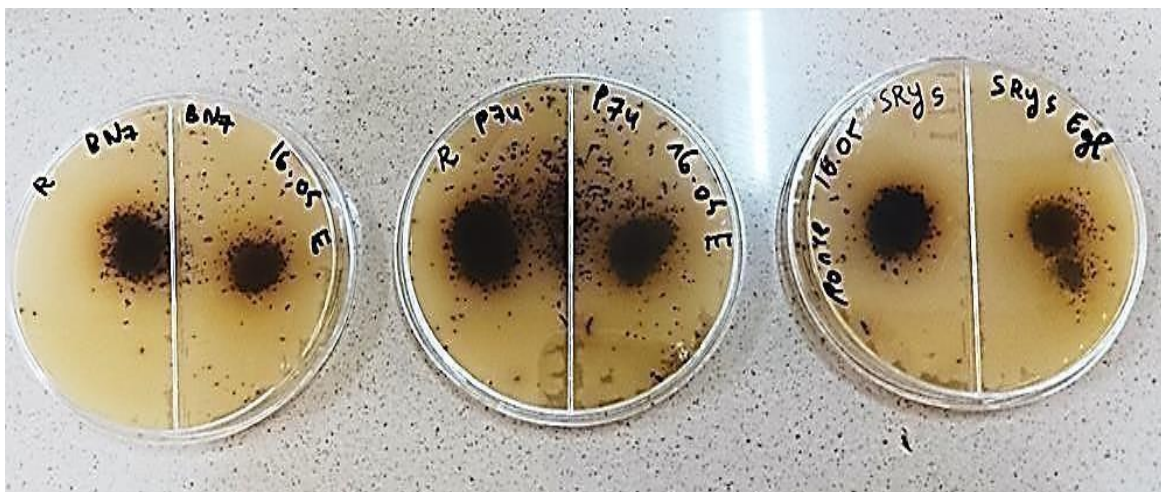


Figure 8 : Photo représentative des zones d'inhibitions de la poudre d'églantier et de la ronce sur 3 souches de *B. subtilis*

I.2. Résultats du test des puits

Les résultats du test des puits effectués sur 3 souches de *B. subtilis*, représentés dans la figure 12 et le tableau VII, montrent que les extraits aqueux des deux plantes exercent des effets antibactériens.

Tableau VII: Mesure du diamètre des zones d'inhibitions de l'extrait aqueux de l'églantier et de la ronce vis-à-vis 3 souches de *B. subtilis*

Souches \ Plantes	Ronce	Eglantier
BN7	12,5mm	7,5mm
SRYs	10 mm	8,5mm
P74	15,5mm	13,5mm

➤ Le test des puits a été fait pour une deuxième fois en utilisant les extraits aqueux des deux plantes mais en neutralisant leur pH avec du NaOH pour voir si le pH de la solution aqueuse influence vraiment l'inhibition de la croissance bactérienne. Les pH testés sont 4,24 et 7 pour l'égantier et 4,84 et 7 pour la ronce le test a été refait sur 9 souches bactériennes, 3 souches de *B. subtilis*, 3 souches de *E. coli* et 3 souches de *S. aureus* (Figure 10).

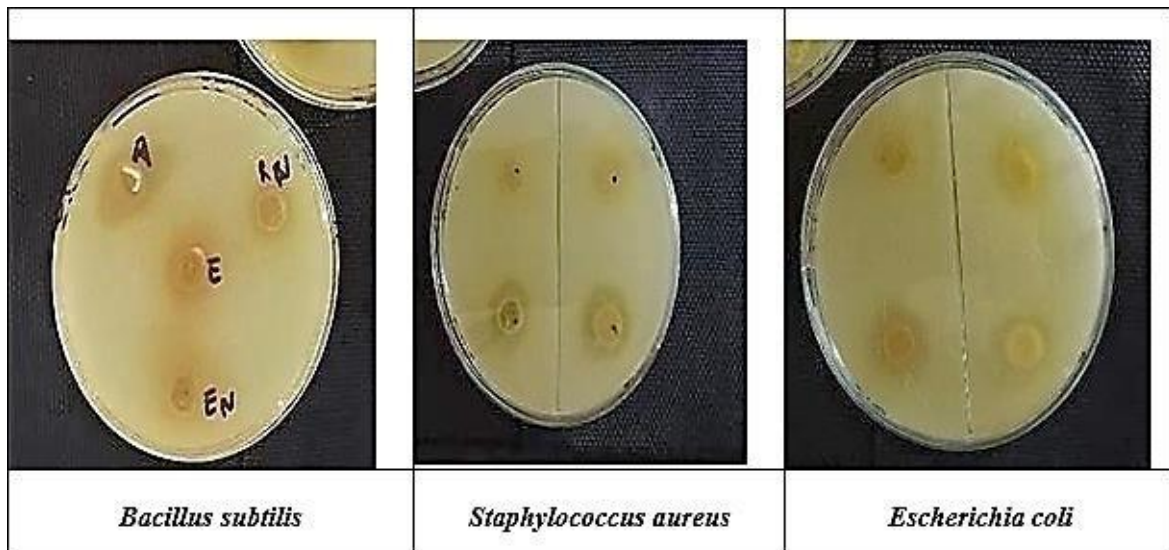


Figure 9 : Photo représentative des zones d'inhibition des 9 souches vis-à-vis l'extrait aqueux des deux plantes

Les diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux neutralisés et non neutralisés de la ronce et l'égantier, vis-à-vis *E. coli*, *S. aureus* et *B. subtilis* sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII: Mesure du diamètre des zones d'inhibition de la croissance de *E. coli*, *S. aureus* et *B. subtilis* vis-à-vis les extraits aqueux de la ronce et l'églantier (mm)

Souche \ Extrait	E	E Neutralisé	R	R Neutralisé
	SRY	5 mm	/	16 mm
BN7	11 mm	/	8 mm	/
P74	/	/	6 mm	/
<i>E coli 1</i>	5 mm	10 mm	15 mm	8 mm
<i>E coli 2</i>	10 mm	10 mm	10 mm	11 mm
<i>E coli 3</i>	3 mm	10 mm	10 mm	5 mm
<i>S aureus 1</i>	/	/	/	3 mm
<i>S aureus 2</i>	/	/	10 mm	8 mm
<i>S aureus 3</i>	8 mm	/	12 mm	6 mm

D'après le tableau, les souches de *B. subtilis* sont résistantes à l'extrait aqueux de l'églantier, neutralisé ou non neutralisé, à l'exception de la souche BN7 (11 mm). Concernant *E. coli*, l'extrait aqueux neutralisé a donné une zone d'inhibition d'un diamètre de 10 mm pour les 3 souches étudiées. Alors que l'extrait aqueux de l'églantier non neutralisé a exprimé un effet antibactérien seulement vis-à-vis la souche 2 (10mm).

Les 3 souches de *S. aureus* n'ont montré aucune zone d'inhibition ce qui traduit la résistance de ces souches aux extraits de l'églantier neutralisé et non neutralisé. Pour les extraits de la ronce, les extraits neutralisé et non neutralisé ont un effet antibactérien contre *B. subtilis* mai seulement vis-à-vis la souche SRY. En revanche, l'extrait non neutralisé de la ronce est plus puissant que l'extrait neutralisé, contre les souches de *E. coli* et *S. aureus* étudiés

Le test des puits a été réalisé aussi en utilisant les extraits méthanoliques et éthanoliques des deux plantes sur 6 souches bactériennes (3 souches de *E. coli*, et 3 souches de *S. aureus*) et les résultats sont montrés dans la figure 9 et le tableau VIII.

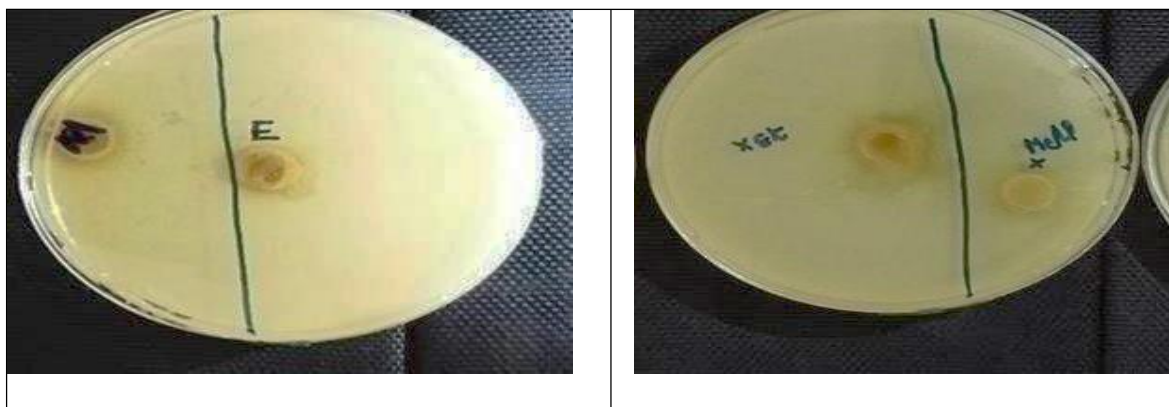


Figure 10 : Résultats du test des puits avec les extraits méthanoliques et éthanoliques vis-à-vis *S.aureus* et *E.coli*

Tableau IX : Mesure des zones d'inhibition de *S.aureus* et *E.coli* vis-à-vis les E.M et E.ETH

Souches Extraits	<i>S.aureus</i> 1	<i>S.aureus</i> 2	<i>S.aureus</i> 3	<i>E coli</i> 1	<i>E coli</i> 2	<i>E.coli</i> 3
Ethanol	6mm	7 mm	/	6mm	9mm	4 mm
Méthanol	8 mm	8 mm	11 mm	7mm	1mm	/

L'analyse des résultats a révélé la résistance des souches de *S. aureus* et *E. coli* aux extraits éthanoliques et méthanoliques étudiés, excepté la souche 3 de *S. aureus* qui a dévoilé un diamètre d'inhibition de 11mm.

I.3. Résultats du test des disques

L'activité antibactérienne des extraits aqueux des deux plantes, l'églantier et la ronce, a été analysée aussi par la méthode des disques vis-à-vis 3 souches de *E. coli*, 3 souches de *S. aureus* et 3 souches de *B. subtilis*. Les résultats sont exposés sur la figure 12 et le tableau IX.



Figure 11 : Résultats du test des disques sur *E.coli*, *B.subtilis* et *S.aureus*

Tableau X : Mesure du diamètre des zones d'inhibition de la croissance des trois souches avec la méthode du disque (l'eau distillée) (mm)

Plantes	Souches									
		<i>S.aureus</i> 1	<i>S.aureus</i> 2	<i>S.aureus</i> 3	<i>E. coli</i> 1	<i>E. coli</i> 2	<i>E. coli</i> 3	BN 7	P74	SRYS
La ronce		6 mm	6 mm	/	6mm	/	4mm	/	6mm	/
L'églantier		/	/	/	/	/	7 mm	/	/	/

Les résultats obtenus suggèrent une résistance de toutes les souches étudiées à l'effet inhibiteur des extraits aqueux des deux plantes.

II. Discussion des résultats

Dans cette présente étude, le choix de l'églantier et la ronce se justifie par la panoplie d'investigations, corrélées à des connaissances ancestrales, qui ont démontré les effets thérapeutiques de ces plantes, notamment Le pouvoir anti-inflammatoire, antioxydant, et antidiabétique.

Ses effets pharmacologiques ont été attribués aux métabolites secondaires et principalement aux composés phénoliques. L'extraction réalisée dans cette étude est une extraction solide-liquide, par macération d'une Quantité de poudre de plante dans l'eau, le méthanol ou l'éthanol. Ces solvants connus à extraire les composés phénoliques, solubilisent les composés phénoliques moyennement polaires et entraîne des substances lipophiles résiduelles (**Cowan, 1999**).

Des études récentes ont montré que des facteurs externes tels que les facteurs géographiques et climatiques, la saison de récolte et l'organe utilisé des plantes, et des facteurs internes tels que les facteurs génétiques, la maturité des plantes et le temps de stockage ont un impact important sur leur teneur en composés phénoliques (**Falleh et al., 2008**).

La technique de diffusion en milieu solide appelée aussi méthode des disques ou des puits, est basé sur la technique utilisée en bactériologie médicale nommée antibiogramme. Le principe de cette technique repose sur la diffusion de composés antimicrobiens en milieu solide, dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme, l'activité de la substance antimicrobienne sur les germes étudiés est évaluée par la mesure d'une zone d'inhibition (mm) (**Kaloustian et al., 2008**).

Dans cette étude, le criblage des propriétés antibactériennes des échantillons de *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*, suggérant que ces extraits ont une activité antibactérienne mais la sensibilité varie entre toutes les souches bactériennes Gram (+) et Gram (-). Cela a été confirmé par la neutralisation du pH qui a démontré la diminution de l'effet antibactérien de ces extraits.

Cette variabilité de l'efficacité des extraits de plantes peut dépendre de leur composition chimique qui peut être lié à la polarité des substances biologiquement actives. Un composé moins polaire comme les flavonoïdes, sans groupe hydroxyle OH, est plus

efficace que les agents antimicrobiens avec hydroxyle (**Cowan, 1999**). Il a été signalé aussi par **Wen et al., (2003)** que le contact direct des composés phénoliques avec les peptidoglycane de la paroi des bactéries à Gram (+) conduit à la perte de leur rigidité ce qui provoque la lyse de ces dernières sous la pression osmotique provoquant ainsi l'altération de leur membrane cellulaire.

Conclusion et perspectives

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*. Les plantes médicinales constituent une source importante de composés phénoliques et d'agents antibactériens naturels qui peuvent être utilisés dans le traitement des maladies infectieuses et autres.

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode des puits et la méthode des disques.

Les résultats montrent que les trois extraits (aqueux, hydro-méthanolique, Hydro-éthanolique) des deux plantes ont une activité antibactérienne contre *S. aureus*, *E. coli* et *B.subtilis*. Donc ses souches éprouvent de la sensibilité vis à vis de ces extraits. Sur la base des résultats obtenus, nous concluons que les deux espèces étudiées «*Rosa canina* et *Rubus fruticosus* » contiennent des composés phénoliques qui ont un effet antibactérien très intéressant qui leur confèrent la capacité d'être utilisée comme agents antibactériens.

D'un point de vue, il serait très intéressant de poursuivre cette étude in vitro par une expérimentation in vivo pour s'assurer de sa parfaite innocuité dans le modèle animal sélectionné. En outre, il convient d'envisager d'étudier d'autres propriétés et effets biologiques de ces extraits en utilisant d'autres méthodes, à savoir l'ébullition, l'infusion et l'extraction avec d'autres solvants organiques avec d'autres souches bactériennes et espèces fongiques, et en testant plusieurs échantillons de cette espèce de zones aux conditions pédoclimatiques différentes. Il serait également très instructif d'étudier la composition chimique de l'extrait et de tester les effets isolés et synergiques des différents composants des différents extraits de ces espèces végétales.

***Références
bibliographiques***

A

1. **Abedini, A., & Schmidt, A. M.** (2013). Mechanisms of islet amyloidosis toxicity in type 2 diabetes. *FEBS letters*, 587(8), 1119-1127.
2. **Ahmad Dar, S., Najar, A. M., Balkhi, M. H., Rather, M. A., & Sharma, R.** (2012). Length weight relationship and relative condition factor of *Schizopyge esocinus* (Heckel, 1838) from Jhelum River, Kashmir. *Int. J. of Aquatic Science*, 3(1), 29-36.
3. **Al-Awami, L., Sidrak, Y., & Bettayeb, M.** (1999). Classical and Dynamic Matrix Control of Kamyir Digesters A Comparative Study. *Industrial & engineering chemistry research*, 38(10), 3950-3956.
4. **Allothman, M., Bhat, R., & Karim, A. A.** (2009). UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative food science & emerging Technologies*, 10(4), 512-516.
5. **Amiot, M. J., Tacchini, M., Fleuriet, A., & Macheix, J. J.** (1990). The debittering process of olives: characterization of fruits before and during alkaline treatment. *Sciences des Aliments*, 10(3), 619-631.
6. **Amoruso, S., Wang, X., Altucci, C., De Lisio, C., Armenante, M., Bruzzese, R., & Velotta, R.** (2000). Thermal and nonthermal ion emission during high-fluence femtosecond laser ablation of metallic targets. *Applied Physics Letters*, 77(23), 3728-3730.
7. **Arts, I. C., Van De Putte, B., & Hollman, P. C.** (2000). Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1752-1757.

B

8. **Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J. I., & Ijah, U. J. J.** (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camalctulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms.
9. **Barros, E. M., Torres, J. B., Ruberson, J. R., & Oliveira, M. D.** (2010). Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137(3), 237-245.

Références bibliographiques

10. **Benhamza, L., & Hamdi, P. Y.** (2008). Effets biologiques de la petite centaurée *Erythraea centaurium* (L.)Pers.
11. **Benkeblia, N.** (2004). Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT-food science and technology*, 37(2), 263-268.
12. **Bennick, A.** (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology&Medicine*, 13(2), 184-196.
13. **Boaventura, T. P., Souza, C. F., Ferreira, A. L., Favero, G. C., Baldissera, M. D., Heinzmann, B.M., ... & Luz, R. K.** (2020). Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) as anesthetic for *Lophiosilurus alexandri*: induction, recovery, hematology, biochemistry and oxidative stress *Aquaculture*, 529, 735676.
14. **Bouayed, J., Rammal, H., & Soulimani, R.** (2009). Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(2), 63-67.

C

15. **Chaves, H., Knapp, M., Kubitzek, A., Obermeier, F., & Schneider, T .** (1995). Experimental study of cavitation in the nozzle hole of diesel injectors using transparent nozzles. *SAE transactions*, 645- 657.
16. **Chen, C. H., Lee, C. Y., & Shinjo, R.** (2008). Was there Jurassic paleo- Pacific subduction in South China?: Constraints from ⁴⁰Ar/³⁹Ar dating, elemental and Sr–Nd– Pb isotopic geochemistry of the Mesozoic basalts. *Lithos*, 106(1-2), 83-92.
17. **Cheyrier, V., Duenas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J. M., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H.** (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 298-305.
18. **Cooper, Jr, W. E.** (1998). Reactive and anticipatory display to deflect predatory attack to an autotomous lizard tail. *Canadian Journal of Zoology*, 76(8), 1507-1510.
19. **Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4) :565,568-571.

D

20. **Damasceno-Junior, G. A., Semir, J., Dos Santos, F. A. M., & de Freitas Leitão-Filho, H.** (2005). Structure, distribution of species and inundation in a riparian forest of Rio Paraguai, Pantanal, Brazil. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 200(2), 119- 135.
21. **De Medici, D., Pieretti, S., Salvatore, G., Nicoletti, M., & Rasoanaivo, P.** (1992). Chemical analysis of essential oils of Malagasy medicinal plants by gas chromatography and NMR spectroscopy. *Flavour and fragrance journal*, 7(5), 275-281.
22. **Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F.** (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353.
23. **Doucet, M., Russell, A. P., Léger, B., Debigaré, R., Joanisse, D. R., Caron, M. A., ... & Maltais, F.**(2007). Muscle atrophy and hypertrophy signaling in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 176(3), 261-269.
24. **Dumesnil, J. B.G.** (1821). Synonymes latins, et leurs différentes significations: avec des exemples tirés des meilleurs auteurs; à l'imitation des synonymes françois de l'abbé Girard. de l'imprimerie d'Auguste De lalain.

E

25. **Evans, M., Guthrie, N., Pezzullo, J., Sanli, T., Fielding, R. A., & Bellamine, A.** (2017). Efficacy of a novel formulation of L-Carnitine, creatine, and leucine on lean body mass and functional muscle strength in healthy older adults: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Nutrition & metabolism*, 14, 1-15.

F

26. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*, 331(5), 372-379.
27. **Fedele, L., Bianchi, S., Raffaelli, R., Portuese, A., & Dorta, M.** (1997). Treatment of adenomyosis- associated menorrhagia with a levonorgestrel-releasing intrauterine device.

Fertility and sterility, 68(3),426-429.

G

28. **Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I.** (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.
29. **Guyot, C., Nguyen, J. M., Cochat, P., Foulard, M., Bouissou, F., Damme-Lombaerts, R. V... & André, J. L.** (1996). Risk factors for chronic rejection in pediatric renal allograft recipients. *Pediatric Nephrology*, 10, 723-727.

H

30. **Halimi, S.** (1997). Les nouveaux chiens de garde (p. 21). Liber-Raisons d'agir.
31. **Harborne, J. B.** (1989). *Methods in plant biochemistry. Volume 1. Plant phenolics.* Academic Press Ltd..
32. **Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2, 3-6.
33. **Hodek, P., Trefil, P., & Stiborová, M.** (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-biological interactions*, 139(1), 1- 21. **Howard, M.** (1987). Traditional folk remedies: a comprehensive herbal. Century.
34. **Huck, W. T., Bowden, N., Onck, P., Pardoen, T., Hutchinson, J. W., & Whitesides, G. M.** (2000). Ordering of spontaneously formed buckles on planar surfaces. *Langmuir*, 16(7), 3497- 3501. *Research*, 113(3), 287.

J

35. **Johnson, J. A., Ambers, A. D., & Burnham, K. K.** (2012). Genetics of plumage color in the Gyrfalcon (*Falco rusticolus*): analysis of the melanocortin-1 receptor gene. *Journal of Heredity*, 103(3), 315-321.
36. **Johnson, P. T., Lunde, K. B., Haight, R. W., Bowerman, J., & Blaustein, R.**

Références bibliographiques

(2001). Ribeiroia ondatrae (Trematoda: Digenea) infection induces severe limb malformations in western toads (Bufo boreas). *Canadian Journal of Zoology*, 79(3).

K

37. **Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-F.** (2008). Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité Antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160–164.

38. **Kim, T. B., Isaacson, B., Sivakumaran, T. A., Starr, A., Keats, B. J., & Lesperance, M. M.** (2004). A gene responsible for autosomal dominant auditory neuropathy (AUNA1) maps to 13q14–21. *Journal of medical genetics*, 41(11), 872-876.

39. **Kim, Y., Johnson, R. C., & Hupp, J. T.** (2001). Gold nanoparticle-based sensing of “spectroscopical lysilent” heavy metal ions. *Nano letters*, 1(4), 165-167.

40. **Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É., & Ombódi, A.** (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some Rosa species. *Medicines*, 5(3), 84.

L

41. **Langewald, J., & Schmutterer, H.** (1995). Colour change in the desert locust, Schistocerca gregaria (Forsk.) (Orth., Cyrtacanthacridinae), induced by topical treatment with azadirachtin-enriched neem oil in semi-field trials in Benin at different population densities. *Journal of Applied Entomology*, 119(1-5), 221-226.

42. **Loo, J. A., Udseth, H. R., & Smith, R. D.** (1989). Peptide and protein analysis by electrospray ionization-mass spectrometry and capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Analytical biochemistry*, 179(2), 404-412.

M

43. **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PUR presses polytechniques.

44. **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L.** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*,

79(5), 727-747.

45. **Manaouil, C., Lemaire-Hurtel, A. S., Sénéchal, A., & Jardé, O.** (2016). Information du patient parle pharmacien en officine. *Médecine & Droit*, 2016(138), 70-81.

N

46. **Nicholl, B. I., Mackay, D., Cullen, B., Martin, D. J., Ul-Haq, Z., Mair, F. S., ... & Smith, D.J.** (2014). Chronic multisite pain in major depression and bipolar disorder: cross-sectional study of 149,611 participants in UK Biobank. *BMC psychiatry*, 14, 1-11.

P

47. **P Magnier, .** (2016). A Micromegas-based telescope for muon tomography: The WatTo experiment. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 834, 223-228.

48. **Poole, K., Gotoh, N., Tsujimoto, H., Zhao, Q., Wada, A., Yamasaki, T., ... & Nishino, T.**(1996). Surexpression de l'opéron d'efflux mexC – mexD – oprJ dans les souches multirésistantes de type nfxB de *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiologie moléculaire*, 21 (4), 713- 725.

49. **Pottier-Alapetite, G.** (1979). Flore de la Tunisie. Angiospermes-dicotyledones [...] Apétales Dialypétales.

50. **Prescott, E. D., & Julius, D.** (2003). A modular PIP2 binding site as a determinant of capsaicin receptor sensitivity. *Science*, 300(5623), 1284-1288.

51. **Provansal, M., Berger, J. F., Bravard, J. P., Salvador, P. G., Arnaud-Fassetta, G., Bruneton, H., & Vérot-Bourrély, A.** (1999). Le régime du Rhône dans l'Antiquité et au Haut Moyen Age. *Gallia*, 13-32.

Q

52. **Quideau, S., Lyvinec, G., Marguerit, M., Bathany, K., Ozanne-Beaudenon, A., Buffeteau, T.,... & Chénéde, A.** (2009). Asymmetric hydroxylative phenol dearomatization through in situ generation of iodanes from chiral iodoarenes and m-CPBA. *Angewandte*

Chemie International Edition, 48(25), 4605-4609.

R

53. **Rahman, M., Vahter, M., Sohel, N., Yunus, M., Wahed, M. A., Streatfield, P. K., ... & Persson, L. Å.** (2006). Arsenic exposure and age- and sex-specific risk for skin lesions: a population-based case-referent study in Bangladesh. *Environmental health perspectives*, 114(12), 1847-1852.

S

54. **Smythies, J., & Galzigna, L.** (1998). The oxidative metabolism of catecholamines in the brain: a review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1380(2), 159-162.

55. **Sonoda, M., Takano, M., Miyahara, J., & Kato, H.** (1983). Computed radiography utilizing scanning laser stimulated luminescence. *Radiology*, 148(3), 833-838.

56. **Stafford, L., & Reske, J. R.** (1990). Idealization and communication in long-distance premarital relationships. *Family relations*, 274-279.

T

57. **Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E.** (2010). The population genetics of Commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 8(3), 207-217.

58. **Tian, Y., Ma, L., Gong, M., Su, G., Zhu, S., Zhang, W., ... & Yan, X.** (2018). Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry. *ACS nano*, 12(1), 671-680.

U

59. **Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., & Węgrzyn, G.** (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Archives of microbiology*, 184, 271-278.

60. **Urquiaga, I. N. E. S., & Leighton, F.** (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 33(2), 55-64.

V

61. **Val-de-Marne. Dufour, J. Y.** (2011). 11-13, rue Louis Bonin. *Archéologie médiévale*, (41), 210- 211.
62. **Vermerris, W., Nicholson, R., Vermerris, W., & Nicholson, R.** (2006). Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic compound biochemistry*, 1-34.

W

63. **Walker, D. L., & Davis, M.** (1997). Double dissociation between the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis and the central nucleus of the amygdala in startle increases produced by conditioned versus unconditioned fear. *Journal of Neuroscience*, 17(23), 9375-9383.
64. **Waridel, P., Wolfender, J. L., Ndjoko, K., Hobby, K. R., Major, H. J., & Hostettmann, K.** (2001). Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers. *Journal of Chromatography A* 926(1), 29-41.
65. **Wehrlen, L.** (1985). La ronce (*rubus fruticosus* l. agg.) en forêt. *Revue forestière française*, 37(4), 288-304.
66. **Wen AM, Delaquis P, Stanich K, Toivonen P.** 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiol.* 20:305–311.
67. **Wilps, H., Kirkilionis, E., & Muschenich, K.** (1992). The effects of neem oil and azadirachtin on mortality, flight activity, and energy metabolism of *Schistocerca gregaria* forskal—A comparison between laboratory and field locusts. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 102(1), 67-71.
68. **Winther, K., Sophie Vinther Hansen, A., & Campbell-Tofte, J.** (2016). Bioactive ingredients of rose hips (*Rosa canina* L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies. *Botanics: Targets and Therapy*, 11-23.

Y

69. **Yeni, P. G., Hammer, S. M., Hirsch, M. S., Saag, M. S., Schechter, M., Carpenter, C. C., ... & Volberding, P. A.** (2004). Treatment for adult HIV infection: 2004 recommendations of the International AIDS Society-USAPanel. *Jama*, 292(2), 251-265.

Z

70. **Zhai, X., Zhang, P., Liu, C., Bai, T., Li, W., Dai, L. et Liu, W.** (2012). Nanopoints de carbone hautement luminescents par pyrolyse assistée par micro-ondes. *Communications chimiques*, 48 (64),7955-7957.
71. **Zimmer, N., & Cordesse, R.** (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*, 9(3), 167-179.

Annexes

Annexes

Annexe 01

Réactifs et matériels utilisés

Appareillages	Matériels	Produits utilisés
Balance analytique	Spatule	Ethanol
Bain marie	Erlenmeyer	Méthanol
Plaque chauffante	Papier aluminium	Eau distillée
Etuve	Entonnoir	
Vortex	Papier filtre	
	Flacons en verre	
	Flacons en plastique	
	Tubes à essais	
	Porte tubes	
	Eprouvettes graduées (25ml et 50ml)	
	Béchers	
	Boîtes de pétri	

Annexe 02

Composition des milieux de cultures

Mueller Hinton	Bouillon nutritif
Infusât de viande 02.0g/l	Extrait de viande 02g/l
Hydrolysât de caséine 17.5g/l	Extrait de levure 05g/l
Amidon 01.5g/l	Peptone 10g/l
Extrait de levure 01g/l	Chlorure de sodium 05g/l
Eau distillée 1000ml	
pH = 7.4	pH = 7.4

Composition gélose nutritive

Ingrédients	gramme/litre
Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar bactériologique	12,0 g

Annexe 03

Préparations des milieux de cultures

Le milieu MH : Pour la préparation de ce milieu de culture, il suffit de mélanger 38 g du milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène et chauffer sur la plaque chauffante, répartir ensuite dans des flacons en verre et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

Le bouillon nutritif : Pour la préparation du bouillon nutritif, il suffit de mélanger 2,6 g du milieu déshydraté dans 200ml d'eau distillée jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène et le conserver par la suite dans un flacon en verre et enfin le stériliser à l'autoclave

Le milieu GN : Pour la préparation de ce milieu de culture, il suffit de mélanger 8 g du milieu déshydraté dans 1 L d'eau distillée jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène et chauffer sur la plaque chauffante, répartir ensuite dans des flacons en verre et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

Etude de l'effet antibactérien de deux plantes médicinales **«*Rubus fruticosus et Rosa canina* »**

Résumé

Rubus fruticosus et *rosa canina* sont des plantes médicinales appartenant à la famille des Rosacées, Ces deux plantes sont riches en métabolites secondaires et c'est ce qui nous a conduit à procéder à leurs extractions à partir de feuilles par l'eau distillée, le méthanol et l'éthanol. L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques des deux espèces en utilisant la méthode des puits et la méthode des disques avec les extraits sur neuf souches bactériennes à Gram- et à Gram+ (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,). Les résultats obtenus suggèrent une résistance de toutes les souches étudiées à l'effet inhibiteur des extraits aqueux des deux plantes. Les souches de *S. aureus* et *E. coli* ont révélé une résistance aux extraits éthanoliques et méthanoliques étudiés, excepté la souche 3 de

S. aureus qui a dévoilé un diamètre d'inhibition de 11mm. L'activité antibactérienne a été principalement attribuée aux métabolites secondaires de ces deux plantes. Ces résultats pourraient justifier leur utilisation dans le traitement de certaines maladies d'origine bactérienne.

Mots-clefs : *Rubus fruticosus*, *Rosa canina*, activité antibactérienne, métabolites secondaires

Abstract

Rubus fruticosus and *rosa canina* are medicinal plants belonging to the Rosaceae family. Both plants are rich in secondary metabolites, which led us to extract them from leaves using distilled water, methanol and ethanol. The aim of this study is to evaluate the antibacterial activity of aqueous, methanolic and ethanolic extracts of the two species, using the well method and the disc method with extracts on nine Gram- and Gram+ bacterial strains (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,).

The results obtained suggest that all the strains studied were resistant to the inhibitory effect of the aqueous extracts of the two plants. *S. aureus* and *E. coli* strains showed resistance to the ethanolic and methanolic extracts studied, with the exception of *S. aureus* strain 3, which revealed an inhibition diameter of 11mm. Antibacterial activity was mainly attributed to the secondary metabolites of these two plants. These results could justify their use in the treatment of certain bacterial diseases.

Key words: *Rubus fruticosus*, *Rosa canina*, antibacterial activity, secondary metabolites.