

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie

Réf :

Mémoire

Présenté par

IMADALI Houria et SOUFELAH Saida

Pour l'obtention du diplôme de

Master Académique/Professionnel

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Etude de l'effet antibactérien et antiadhésif de deux plantes médicinales
« *Rubus fruticosus* et *Rosa canina* » a l'égard des bactéries pathogènes**

Soutenu le : 01/07/2024

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mme TABTI D	MCB	Président
Mme BENACHOUR K	MAA	Encadrant
Mr NOURI H	MCA	Examineur

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à mon père et à ma mère la source de ma motivation, dont le soutien, les encouragements et l'amour constants m'ont permis de poursuivre ma démarche avec détermination et confiance.

A mon très cher frère Saïd, qui est toujours là à mes côtés.

A toutes ma famille et à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce projet de près ou de loin.

Houria

Dédicaces

Avec fierté et plaisir je dédie ce travail :

A mon père et ma mère qui sont la source de ma motivation et qui m'ont doté d'une éducation digne, votre amour et soutien a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A ma sœur Sabrina qui m'a toujours guidé et aimé tel que je suis sans conditions.

*A la mémoire de mon oncle **Samir** dont l'amour et les conseils continuent de me guider chaque jour.*

Aux mon membres de ma famille et à toutes les personnes qui m'aiment et me souhaitent le meilleur.

Saida

Remerciements

Tout d'abord on exprime notre gratitude à Dieu le plus puissant de nous faire voir ce jour et de nous donner la patience et la volonté d'accomplir ce travail.

On voudrait ensuite adresser nos remerciements à notre promotrice, Madame BENACHOUR Karima, pour son accompagnement, sa disponibilité et surtout ses conseils pendant la réalisation de notre projet de fin d'études.

On tient à remercier les membres du jury Madame TABTI D. et Monsieur NOURI H. d'avoir accepté de juger et examiner ce travail

On remercie également toute l'équipe pédagogique de l'université et les intervenants professionnels responsables de notre formation

IMADALI Houria et SOUFELAH Saida

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction.....	1
I. Généralités sur les plantes médicinales.....	2
II. Présentation de <i>Rosa canina</i> L.....	2
II.1. Description botanique	2
II.2. Origine et nom	3
II.3. Classification.....	3
II.4. Répartition géographique.....	3
II.5. Composition phytochimique de <i>Rosa canina</i>	3
III. Présentation de <i>Rubus fruticosus</i> L.....	5
III.1. Description botanique de <i>Rubus fruticosus</i>	5
III.2. Origine et noms	5
III.3. Classification systématique	6
III.4. Répartition géographique	6
III.5. Composition phytochimique.....	6
III.6. Utilisation	7
IV. Généralités sur les biofilms	8
IV.1. Historique	8
IV.2. Définition.....	8
I. Objectif du travail	9
II. Matériel végétal	9
II.1. Récolte des feuilles et du fruit	9
II.2. Traitement des échantillons	9
II.2. 1.Rinçage	9
II.2. 2.Séchage	9
II.2. 3.Broyage et tamisage	9
II.2. 4.Conservation	9
III. Préparation des extraits	10

III.1	Extraction aqueuse par infusion	10
III.2.	Extraction aqueuse par macération	11
III.3	Détermination du rendement d'extraction	11
IV.	Dosage phytochimique.....	11
IV.1.	Dosage des polyphénols	11
IV.2.	Dosage des flavonoïdes	12
IV.3.	Dosage des sucres totaux.....	13
IV.4.	Dosage des protéines	14
V.	Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits végétaux.....	14
V.2.	Préparation des souches bactériennes pour la réalisation des différents tests antibiogramme	15
V.3.	Test de sensibilité « antibiogramme »	15
V.4.	Test des puits	16
V.5.	La méthode de diffusion des disques d'extraits.....	16
V.6.	Test des spots	16
V.7.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	17
VI.	Etude de la capacité d'adhésion	17
VI.1.	Vérification des bactéries formatrices de Biofilm.....	17
VI. 2.	Etude de la capacité d'adhésion de l'ensemble des souches sur microplaque	17
VI.3.	Activité anti-formation de biofilm	18
I.	Détermination des rendements d'extraction	20
II.	Dosage phytochimique	21
II.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	21
II.2.	Dosage des flavonoïdes totaux.....	22
II.3.	Dosage des sucres totaux	23
II.4.	Dosage des protéines.....	23
III.	Revivification et vérification de la pureté des souches	24
IV.	Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	26
V.	Activité antibactérienne.....	26
V.1.	Résultats du test des puits	27
V.2.	Méthode de diffusion des disques des extraits	28
V.3.	Résultats du test des spots.....	30
V.4.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice	31
VI.	Etude de la capacité d'adhésion	32
VI.1.	Vérification des bactéries formatrices de biofilm	32

VI.2 Etude de la capacité d'adhésion de l'ensemble des souches sur microplaques.....	32
V.3 Activité anti-formation de biofilm.....	34

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure01 : Arbrisseau entier de <i>Rosa canina L</i>	02
Figure 02 : Un arbrisseau de <i>Rubus fruticosus L</i>	05
Figure 03 : Protocole d'extraction aqueuse par infusion.	10
Figure 04 : Protocole d'extraction aqueuse par macération.	11
Figure05 : Protocole suivi pour le dosage des polyphénols totaux.....	12
Figure06 : Protocole suivi pour le dosage des flavonoïdes.....	13
Figure 07 : Protocole suivi pour le dosage des sucres.....	13
Figure 08 : Protocole suivi pour le dosage des protéines.....	14
Figure 09 : Protocole suivie pour le test d'adhésion.....	18
Figure 10 : Procédure du test de l'activité anti adhésif du biofilm.....	19
Figure 11 : Rendements d'extraction de la macération et de l'infusion.....	20
Figure12 : Histogramme représentant les teneurs en polyphénols des différents extraits.....	21
Figure13 : Histogramme représentant les teneurs en flavonoïdes des différents extraits.....	22
Figure 14 : Histogramme représentant teneurs en sucres des différents extraits.....	23
Figure 15 : Histogramme représentant les teneurs protéines des différents extraits.....	24
Figure 16 : Aspect des souches formatrices de biofilm sur gélose rouge Congo.....	32
Figure17 : image personnelle de la microplaque d'adhésion.....	33
Figure18 : microplaque de référence.....	33
Figures19 : taux d'adhésion des souches sur microplaques en polystyrène.....	33
Figure20 : Microplaques d'activité antiadhésif	34

Liste des tableaux

Tableau I : Les noms vernaculaire de Rosa canina L.....	01
Tableau II : Classification systématique de Rosa Canina L.....	02
Tableau III : Différents usages de Rosa Canina L.....	03
Tableau IV : Les noms vernaculaires des Rubus fruticosus L.....	04
Tableau V : La classification systématique de Rubus fruticosus L.....	05
Tableau VI : Les différents usages de Rubus fruticosus.....	06
Tableau VII : Illustration des codes de différents échantillons.....	10
Tableau VIII : Ensemble de codes des souches utilisées.....	15
Tableau IX : liste d'antibiotiques utilisés.....	15
Tableau X : Illustration des différents codes des extraits utilisés.....	16
Tableau XI : Aspect macroscopique et microscopique des souches bactérienne utilisées.....	24
Tableau XII : Résultats d'antibiogramme comparatif.....	26
Tableau XIII : Mesure des diamètres des zones d'inhibition du test des puits.....	27
Tableau XIV : sensibilité des bactéries envers différents composés.....	28
Tableau XV : résultats obtenus dans test des disques pour les extraits aqueux de l'infusion.....	28
Tableau XVI : résultats obtenus dans test des disques pour les extraits aqueux de la macération.....	29
Tableau XVII : résultats obtenus dans le test des disques pour les extraits concentrés.....	30
Tableau XVIII : Mesures des diamètres des zones d'inhibition.....	31
Tableau XIX : la concentration minimale inhibitrice de chaque extrait testé.....	31
Tableau XX : Résultats et interprétations du test des bactéries formatrices de biofilm sur gélose rouge Congo.....	32
Tableau XXI : résultats de l'observation visuelle des microplaques du test anti adhésif	35

Introduction

Au cours des dernières décennies, l'utilisation extensive des antibiotiques a entraîné des avancées significatives dans la lutte contre les maladies infectieuses. Cependant, cet optimisme initial a été mis à mal par la montée rapide de la résistance antimicrobienne, une menace croissante pour la santé publique mondiale (WHO, 2020). La formation de biofilms par les microorganismes contribue encore davantage à cette résistance, rendant les infections plus difficiles à traiter et à éradiquer (López et al., 2018).

Face à la prolifération des bactéries multi-résistantes, la recherche de nouvelles alternatives aux antibiotiques traditionnels devient une nécessité urgente. La phytothérapie, utilisée depuis l'Antiquité, offre une piste prometteuse pour découvrir de nouvelles molécules antibactériennes (Newman et Cragg, 2020). En particulier, les plantes médicinales contiennent des composés bioactifs qui peuvent jouer un rôle crucial dans cette lutte.

L'Algérie, riche de sa biodiversité, possède une grande variété de plantes médicinales et condimentaires, souvent sous-exploitées dans le domaine pharmaceutique (Kadioglu et al., 2021). Malgré leur utilisation traditionnelle, le potentiel de ces plantes pour le développement de nouveaux traitements antibactériens reste largement inexploré.

La montée en flèche de la résistance aux antibiotiques pose un défi colossal à la santé publique. La nécessité de découvrir et de développer de nouvelles molécules antibactériennes est devenue cruciale. La phytothérapie, avec son vaste réservoir de plantes médicinales, pourrait offrir des solutions innovantes et efficaces. Cependant, l'exploitation scientifique et industrielle de la flore algérienne demeure insuffisante, cette étude se concentre sur l'évaluation des effets antibactériens et antiadhésifs de deux plantes spécifiques : *Rubus fruticosus* et *Rosa canina*. Quelles sont les propriétés antibactériennes et antiadhésives de ces plantes ?.

Pour répondre à cette question, cette recherche est structurée en deux parties principales :

- Une partie bibliographique présentant les deux plantes médicinales étudiées.
- Une partie pratique détaillant le matériel et les méthodes utilisés, suivie des résultats et de leur discussion.

Enfin, la conclusion et les perspectives futures seront développées pour proposer des pistes de recherche et d'application dans ce domaine prometteur.

Partie bibliographique

I. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des millénaires pour traiter diverses maladies et affections. Elles contiennent des composés bioactifs tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes et des glycosides, qui possèdent des propriétés thérapeutiques variées. Par exemple, l'aspirine, un des médicaments les plus utilisés, a été développée à partir de l'écorce de saule. Selon l'Organisation mondiale de la santé, environ 80 % de la population mondiale dépend encore des plantes médicinales pour leurs soins de santé primaires (OMS, 2023). Les recherches récentes continuent de découvrir de nouvelles applications et mécanismes d'action des plantes médicinales, renforçant leur importance dans la pharmacopée moderne (Smith et al., 2020)

II. Présentation de *Rosa canina* L

II.1. Description botanique

Rosa canina communément appelée églantier est un arbrisseau robuste qui peut monter jusqu'à 3 m de haut avec des rameaux dressés souvent arqués généralement verdâtre munis d'aiguillons fort et recourbés (Brosse,2010), qui est représenté dans la figure 01



Figure 01 : Arbrisseau entier de *Rosa canina* L, (Original, 2024).

Cette plante présente des feuilles composées de 5 à 7 folioles ovales ou elliptique de 2 à 4 cm de long à dents simple ou doubles a stipules et bractées dilatées, des fleurs blanches ou rose clair, s'épanouissent de mai à juillet d'un diamètre de 4 à 5 cm et un fruit (Cynorrhodon) mesurant de 1,5 à 2 cm de long, d'une forme ovoïde, de couleur orange ou rouge vif et en noir pourpre, et souvent couronné par des dents du calice : graines dures entourées de poils irritant désagréable au toucher, ont un goût acidulé fruité et sucré (Brosse,2010) .

II.2. Origine et nom

L'origine du mot « **Eglantier** » est d'un nom ancien écrit d'abord « **aiglent** » qui dérive du latin classique **aculeus** : aiguillon, par l'intermédiaire du latin populaire « **aquilentum** » signifiant riche en épines ; et celui du mot « **cynorrhodons** » composé de « **kuôn-kuôn** » et « **rhodon** » qui signifient chien et rose, (**Brosse,2010**) (**tableau I**).

Tableau I : Les noms vernaculaire de *Rosa canina L.* (**GBIF,2023**)

Langue	Appellation (s)
Français	Eglantier, Rosier des chiens, Rosier sauvages
Anglais	Dog rose
Espagnol	Escaramujo
Allemand	Hunds rose

II.3. Classification

Tableau II : Classification de *Rosa canina L* (**Benoit bock., 2021**)

Règne	Plante
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Rosaceae</i>
Genre	<i>Rosa</i>
Espèce	<i>Rosa Canina</i>

II.4. Répartition géographique

L'églantier est une espèce fréquente en plaine comme en basse montagne, dans les haies, les taillis et les pâtures ; étant représenté dans les région tempérée et subtropicales ; très répandu dans toute l'Europe, l'Asie (de l'Himalaya jusqu'au Philippines), Amérique du Nord (jusqu'au Mexique), Afrique du Nord. (**François et Faini.,2010**).

II.5. Composition phytochimique de *Rosa canina*

Les fruits de l'églantier sont très riches en composés chimiques, on trouve principalement la vitamine C (entre 213 et 262 mg pour 100gramme de matière sèche) ainsi que la vitamine E (79.73 mg/100 g), les polyphénols totaux (96.2mg/100g),

flavonoïdes(31.05mg/100g) et contiennent aussi 15 % de pectines et des quantités importantes en sucre (fructose, glucose, saccharose). (**Barros et al.,2011**).

Les fleurs contiennent des acides maliques ainsi que des tanins, les graines contiennent une huile grasse riche en acides gras poly-insaturés ; les bourgeons ou jeunes pousses sont composés de Flavanol, glycosides de quercétine de, acides hydroxy cinnamiques, ellagitanins et gallo tanins (jusqu'à 1,7 g/L). (**Magnier.,2016**).

II .6. Utilisation de la plante

Les utilisations de *Rosa canina* sont nombreuses dans des domaines différents et sont illustrés dans le Tableau III

Tableau III : Différents usages de *Rosa canina L*

Usages thérapeutiques et pharmaceutique	Usages en médecine populaire et traditionnelles	Usage culinaires
<ul style="list-style-type: none"> ○ Effet antioxydant : traitement de l'hépatotoxicité, troubles rénaux, les troubles inflammatoires, arthrite, pathologies rhumatismales l'hyperlipidémie, l'obésité, le diabète de type 2, et le cancer (Marmol et al.,2017). ○ Utilisé comme diurétique en présence de calculs rénaux et biliaires (Lesley ,2012). 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Les eglantines (pétales) sont utilisées comme laxatifs légers. ○ Les racines de l'eglantier étaient considérées autre fois come remède pour guérir la rage des chiens. ○ Application des feuilles en cataplasme sur les blessures et utilisées en 	<ul style="list-style-type: none"> ○ L'eau de pétales de rose de l'eglantier parfument les pâtisseries et les plats cuisinés. ○ Les roses sont cristallisées utilisées a des fins décoratives. ○ Les cynorrhodons sont préparés en sirop, confitures, compotes, vins de fruits et en tisane relaxantes.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

<p>○ Les cynorrhodons sont utilisés surtout comme fortifiant et stimulant, anti infectieux, anti diarrhéique dépuratif et astringent (Brosse ,2010).</p>	<p>tisane pour guérir les angines (Brosse ,2010)</p>	<p>○ Cuisinés en soupe et en sace tomate ou consommés tel quels (Lesley ,2012).</p>
---	---	--

III. Présentation de *Rubus fruticosus* L

III.1. Description botanique de *Rubus fruticosus*

Rubus Fruticosus communément appelé ronce est un arbrisseau envahissant avec de longues tiges flexibles qui s'enracinent lorsqu'elles touchent le sol et propagent ainsi la plante, couvertes d'épines. **(François et Faini., 2010)**, qui est représenté dans la figure 2



Figure 02 : arbrisseau de *Rubus fruticosus* L (Original, 2024)

Les feuilles de *Rubus fruticosus* sont divisées en 3 à 5 folioles disposées en éventail et bordées de dents aigues qui restent vertes durant l'été, ses fleurs bisexuées à 5 pétales blanches ou rose réunies en grappes très lâches à l'extrémité des rameaux et elles donnent des fruits, ses fruits sont drupéoles agglomérées vertes, rose puis noires **(François et Faini., 2010)**.

III.2. Origine et noms

L'origine de *Rubus fruticosus* du latin ruber : rouge et fruticosus : buissonnant (livre de flore forestière française **(Nuzhat et al.,2024)**)

Tableau IV : Les noms vernaculaires de *Rubus fruticosus* (GBIF ,2023)

Langue	Appellation
--------	-------------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Français	Ronce
Anglais	Black Berry, Bramble
Allemand	Brombeere
Portugais	Amora-preta

III.3. Classification systématique

Tableau V : La classification systématique de *Rubus fruticosus L* (Benoit bock et al., 2021)

Règne	<i>plante</i>
Embranchement	<i>trachéophytes</i>
Ordre	Rosales
Famille	<i>Rosacées</i>
Genre	<i>Rubus</i>
Espèce	<i>Rubus fruticosus</i>

III.4. Répartition géographique

La ronce pousse rapidement dans les bois, les broussailles et les hais ; les arbustes de mures tolèrent les sols pauvres et colonisent facilement les friches, les fossés et les terrains vagues. Elle est spontanée dans l'Europe, le nord de l'Asie et le Japon. (François et Faini.,2010)

III.5. Composition phytochimique

- **Les feuilles**

Les nervures de feuilles de ronce portent des épines qui contiennent au minimum 5% de tanins représentés par des élargis tanins dimères, elles renferment aussi des acides organiques triterpènes et des flavonoïdes (Jean,2009).

- **Le fruit**

Le fruit de ronce constitue une source d'énergie importante grâce à sa teneur en hydrates de carbone sous formes de sucres, avec des quantités importantes de fructose comparant à celles du glucose caractérisant l'organoleptique souhaitable, ainsi que des glucides, des acide ascorbique, folique et d'autres acides organiques responsables de la saveur

en faibles quantités comme l'acide citrique , malique et galacturonique .il est aussi riche en potassium et a une teneur en protéines inférieure à 3,5 % (**Milosevic et al.,2012**) .

III.6. Utilisation

Pour sa richesse en composés cette plante est utilisée dans plusieurs domaines, les différents usages de *Rubus Fruticosus* sont élaborés dans le Tableau VI.

Tableau VI : Les différents usages de *Rubus fruticosus*

Usages thérapeutiques et pharmaceutiques	Usages en médecine populaire	Usages culinaires
<ul style="list-style-type: none"> ○ La ronce est astringente, hémostatique, diurétique et cicatrisante ce qui lui offre une large utilisation dans la médecine ; ○ Elle est proposée contre les affections rénales et énurésie grâce aux glycosuriques (Lesley ,2012) ○ Elle peut soulager pleins d'autres troubles comme les diarrhées et dysenterie, les hémorroïdes, l'anémie, le paludisme les 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Elle est utilisée en cas des inflammations de la muqueuse Buccale (Sophn et Sophn.,2017) ○ Utilisé en cataplasme contre les plaies et contusions. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Les fruits peuvent être consommés crues dans des salades de fruits, yaourts, ou cuites en confiture, gelée. ○ Les feuilles sont utilisées comme succédané au thé, pour parfumer des liqueurs et du vinaigre en les fermentant légèrement pour développer l'arôme (François et Faini., 2010) ○ Le fruit est utilisé comme colorant naturel puisqu'il donne une teinture gris bleu (Lesley, 2012)

angines et gingivites. (Jean ;2001)		
--	--	--

IV. Généralités sur les biofilms

IV.1. Historique

L'origine de la recherche en microbiologie est souvent associée aux observations d'Antoni Van Leeuwenhoek qui a mis en évidence la présence de microorganismes à la surface de ses dents grâce à un microscope de son invention au XVII^e siècle , en 1933 Antoni Henricci a observé un dépôt de microorganismes qui s'épaissit progressivement sur des lames de microscope en verre plongées dans son aquarium , et en 1943, **Claude Zobell** a montré que dans un récipient rempli de liquide les bactéries colonisant les parois sont plus nombreuses que celles en suspension .

Enfin, en 1980, William Costerton a mis en évidence que l'essentiel de la biomasse microbienne est fixé sur des surfaces et constitue des populations hétérogènes englobée dans une matrice extracellulaire riche en eaux, sucres et en protéines (**Roux et Chigo, 2006**)

IV.2. Définition

Le biofilm est un environnement structuré qui présente souvent une architecture complexe très variables selon les microorganismes qui le composent et les conditions environnementales (**Roux et Chigo, 2006**), qui s'accumulent généralement sur une interface solide, liquide et qui sont renfermés dans une matrice d'EPS (extracellular polymeric substances) hautement hydratés (**Fleming et Wingender.,2001**).

Les biofilms sont souvent inoffensifs et jouent un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes mais sont aussi considérés comme source de nuisance en médecine humaine ou vétérinaire ainsi que dans l'industrie et difficile à éliminer car ils sont particulièrement tolérants à toutes sortes de stress.

Matériel et méthodes

I. Objectif du travail

Ce travail a été effectué au laboratoire de Microbiologie du département de Biotechnologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia ; dans le but de déterminer l'effet antibactérien et antiadhésif de deux plantes « *Rosa canina* » et « *Rubus fruticosus* » sur les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Bacillus Subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

II. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles des deux plantes et du fruit de l'églantier.

II.1. Récolte des feuilles et du fruit

Les feuilles et les fruits ayant servi dans ce travail proviennent de différentes régions : *Rosa canina* (feuilles et fruits) de la région d'El-fley (Sidi-aich) tandis que *Rubus fruticosus* de la région de Targa-Ouzemmour -Bejaïa ainsi que deux autres échantillons des mêmes plantes citées dans la région de Tahemamt (Amizour) au mois de Mars 2024.

II.2. Traitement des échantillons

II.2. 1.Rinçage

Il consiste à mettre les feuilles et le fruit récoltés dans de l'eau de robinet pour un nettoyage initiale puis à l'eau distillée pour enlever toute trace d'impureté.

II.2. 2.Séchage

Il est réalisé par deux méthodes différentes de séchages :

- Séchage à température ambiante pendant Cinq jours
- Séchage au niveau de l'étuve à 45C° pendant 48 à 72heures.

II.2. 3.Broyage et tamisage

Après le séchage, les échantillons secs obtenue sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisé pour récupérer des poudres fines

II.2. 4.Conservation

Les sept poudres (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7) obtenues sont conservées dans des flacons en verre, hermétique à l'abri de la lumière pour éviter que les poudres absorbent l'humidité mais aussi pour réduire le taux d'oxydation de ces poudres.

Selon les différentes méthodes de séchage et différents endroits du prélèvement des échantillons nous avons obtenus 7 poudres illustrées dans le tableau VII ainsi que leur code :

Tableau VII : Illustration des codes de différents échantillons

Plantes	Codes
Ronce : séchage à l'étuve, prélèvement d'Amizour	E1
Ronce Ta : séchage à température ambiante, prélèvement de Bejaia	E2
Ronce SH : séchage à l'étuve, prélèvement de Bejaia	E3
Eglantier : séchage à l'étuve, prélèvement de Amizour	E4
Eglantier Ta : séchage à température ambiante, prélèvement de Sidi-Aich	E5
Eglantier SH : séchage à l'étuve, prélèvement de Sidi-Aich	E6
Cynorrhodons : séchage à l'étuve prélèvement de Sidi-Aich	E7

III. Préparation des extraits

Préparation des extraits selon les méthodes conventionnelles qui consiste en l'infusion et la macération.

III.1 Extraction aqueuse par infusion

Cette extraction est réalisée selon la méthode de **(Pacôme et al.,2018)**. (Figure 03)

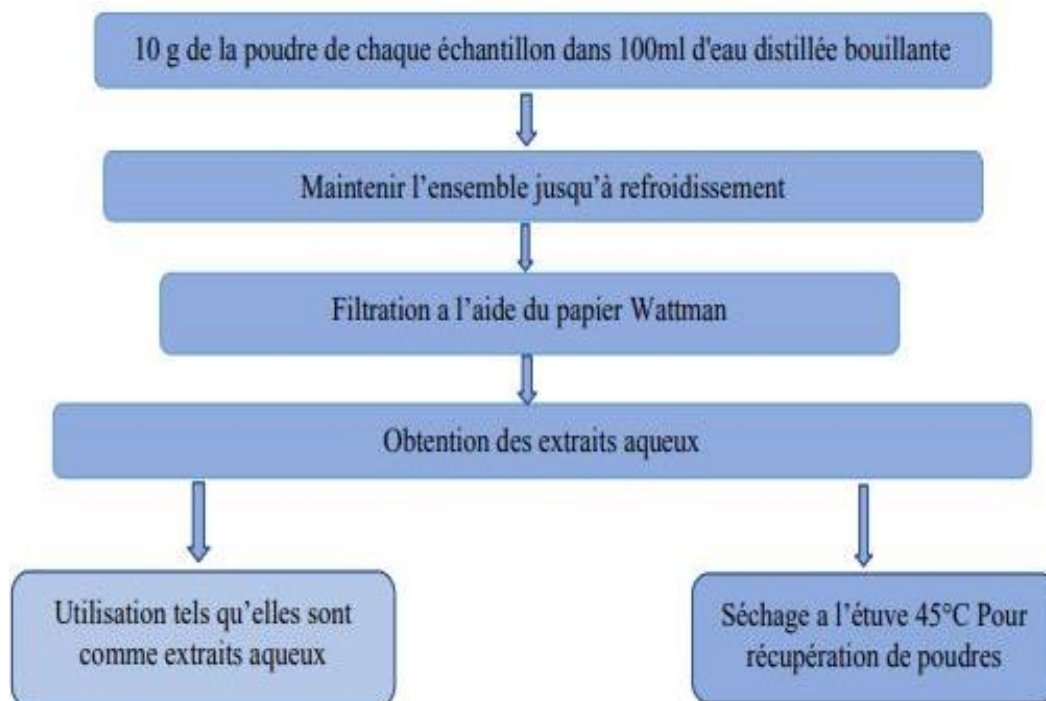


Figure 03 : Protocole d'extraction aqueuse par infusion

III.2. Extraction aqueuse par macération

Cette extraction est réalisée selon méthode de (**Pacôme et al.,2018**) (Figure 04)

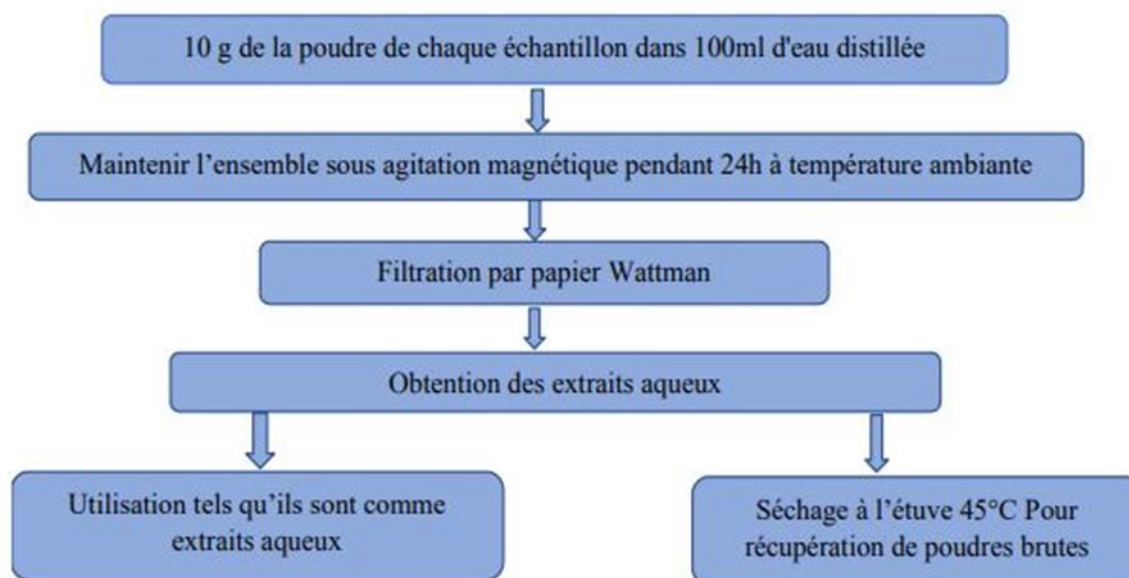


Figure 04 : Protocole d'extraction aqueuse par macération

III.3 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction nous informe sur l'efficacité de la méthode d'extraction en termes de quantité obtenu de l'extrait en question, est calculé comme suit (**Pacôme et al.,2018**)

$$\text{Rendement (\%)} = ((\text{Masse d'extrait sec}) * 100) / (\text{Masse de la matière végétale})$$

Où : le poids de l'extrait sec est la différence entre le poids plein après évaporation et le poids vide.

IV. Dosage phytochimique

IV.1. Dosage des polyphénols

Pour procéder au dosage on a d'abord mis en évidence la présence des polyphénols dans nos extraits aqueux selon la méthode de (**Pacôme et al.,2018**) en introduisant quelques gouttes de FeCl_3 dans 2ml de chaque échantillon, l'apparition d'une couleur verte-noirâtre indique la présence des composés phénoliques.

Pour le dosage on a appliqué la méthode de (**Singleton ,1965**) en utilisant le Folin-Ciocalteu (dilution 1/10) un acide de couleur jaune, qui se réduit, lors de l'oxydation des

phénols, en un mélange d'oxydes bleus (**Ribereau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Ghazi et Sahraoui., 2005**). Pour se faire on a établi une gamme étalon d'acide gallique allant de la concentration (**0,3 mg/ml**) pour la solution mère suivant le tableau 01 de l'annexe 01

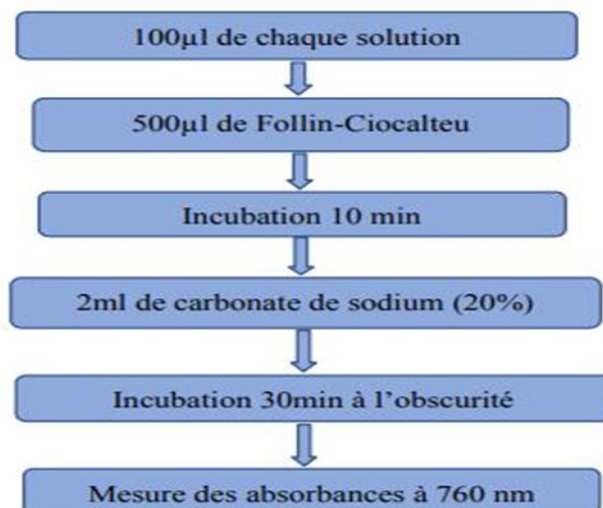


Figure05 : protocole suivi pour le dosage des polyphénols

- La même procédure avec chaque extrait dilué à 1/20

IV.2. Dosage des flavonoïdes

Pour doser les flavonoïdes on a utilisé la méthode de trichlorure d'aluminium qui forme un complexe jaune en contact avec les flavonoïdes et qui absorbe à 430 nm. (**Bahorun et al, 1996**)

Pour se faire on a établi une gamme étalon de la quercétine allant de la concentration (**0,12mg/ml**) pour la solution mère suivant le tableau 2 dans l'annexe 01

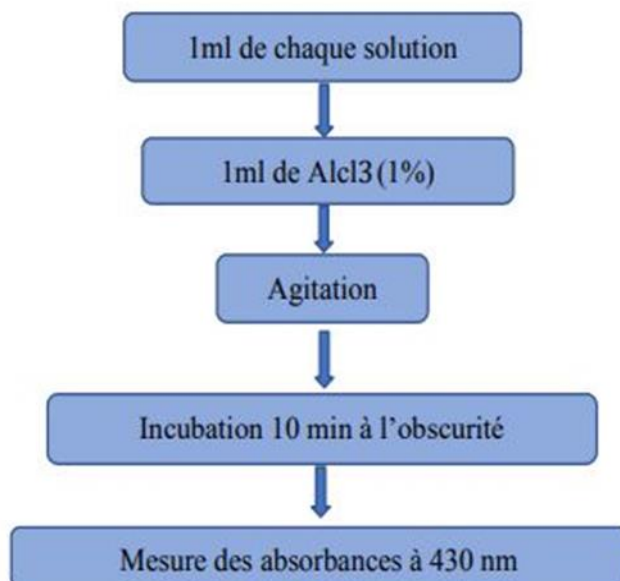


Figure06 : protocole suivi pour le dosage des flavonoïdes

- La même procédure avec chaque extrait dilué à 1/20.

IV.3. Dosage des sucres totaux

Pour doser les sucres dans nos extraits de plantes on a utilisé la méthode d'acide sulfurique-phénol de (Dubois et al.,1956).

Pour se faire on a établi une gamme étalon de glucose allant de la concentration (3mg/ml) pour la solution mère suivant le tableau 3 de l'annexe 01

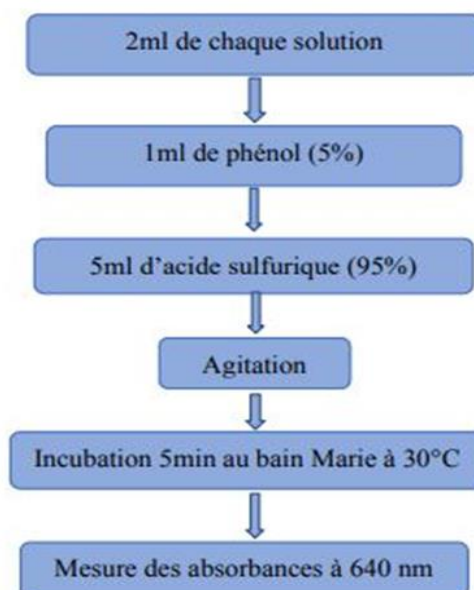


Figure 07 : protocole suivi pour le dosage des sucres

- La même procédure avec chaque extrait dilué à 1/20

IV.4. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de (**Bradford et al.,1976**) une méthode spectrophotométrique qui se base sur le changement de la couleur du Bleu de Coomassie après son contact avec les acides aminés.

Pour se faire on a établi une gamme étalon de la BSA allant de la concentration (**0,01g/100ml**) pour la solution mère suivant le tableau 4 de l'annexe 01

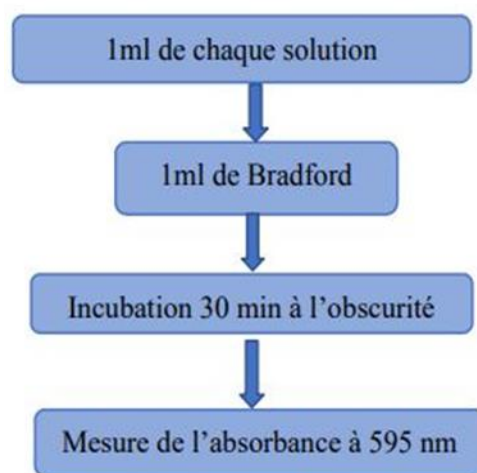


Figure 08 : protocole suivi pour le dosage des protéines.

- La même procédure avec chaque extrait dilué à 1/20

V. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits végétaux

Les souches bactériennes utilisées sont illustrées dans le tableau VIII ainsi que leurs codes

Tableau VIII : Ensemble de codes des souches utilisées

SOUCHES	CODES
<i>Escherichia coli</i>	E5P2, E5P1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	E17P2
<i>Bacillus subtilis</i>	E13P2, E12P1
<i>Staphylococcus aureus</i>	S. aureus 1, S. aureus1

V.1. Revivification et vérification de la pureté des souches

- Ensemencement des souches préalablement conservées à 4°C dans un bouillon BHIB puis incubation 24h à 37°C.
- Vérification macroscopique de la pureté des souches par un repiquage sur milieu solide sélectifs (les souches de Staphylococcus sont ensemencées sur milieu Chapman, E. coli sur EMB, les souches de Bacillus et Pseudomonas sur gélose nutritive).
- Vérification microscopique de la pureté des souches par une coloration de Gram.

V.2. Préparation des souches bactériennes pour la réalisation des différents tests antibiogramme

Préparation des cultures fraîches d'une concentration cellulaires de 10^7 UFC/ml de bactéries cible par ensemencement dans le milieu BN et incubation a 37C° Pendant 24h.

Réalisation de dilutions 1/10 pour chaque souche dans de l'eau physiologique stérile (1ml de l'inoculum bactérien dans 900 ml d'eau physiologique). Et cette procédure est répéter avant tout les tests décrit en dessous.

V.3. Test de sensibilité « antibiogramme »

Le but de ce test était de déterminer la sensibilité des bactéries cibles vis-à-vis de certains antibiotiques; et de comparer les résultats aux effets des extraits testés.

Nous avons utilisé des boites Petri contenant la gélose MH pour chaque souche et avons déposé les six antibiotiques à tester qui sont illustrés dans le Tableau IX

Tableau IX : Liste d'antibiotiques utilisés

Antibiotiques utilisés
(Amoxiline Acide clavulanique (Aug 30µg)
Cefoxitin (Fox 30µg)
, Meropenem (MRP 10µg)
Ceftazidime (Caz 30µg)
Vancomycin (Van30µg)
Tétracycline (Tet 30µg)

V.4. Test des puits

Une méthode de diffusion rapide sur milieu gélosé elle sert pour l'évaluation de l'activité des extraits sur des bactéries pathogènes.

Pour se faire une fine couche de GN est préalablement versée au fond de la boîte Pétri suivie du versement du milieu MH ensemencé en profondeur (inclusion) puis la formation des puits et le dépôt de 100µl de chaque extrait ; une pré-diffusion de 2heures est faites avant l'incubation 37°C pendant 18 heures.

V.5. La méthode de diffusion des disques d'extraits

La méthode de diffusion en milieu gélosé, également appelée "méthode des disques", est l'une des méthodes les plus utilisé pour évaluer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Il s'agit d'une méthode manuelle dans laquelle il est indispensable d'utiliser un milieu Mueller-Hinton et un inoculum standardisé pour réaliser cette technique.

Nous avons utilisé dans cette procédure les extraits aqueux et des extraits concentrés : (Ronce macération = 0,022g/ml, Ronce infusion=0,25g/ml, Eglantier infusion=0.055g/ml, Ronce SH infusion=0,295g/ml, Cynorrhodon infusion=0,65g/ml) en plus d'un témoin négatif d'eau distillée pour chaque boîte.

Les souches sont ensemencées sur milieu MH puis les disques sont déposés et sont imbibés de 20µl de chaque extrait ; après deux heures de pré-diffusion à 4°C les boîtes Petri seront incubées à 37°C pendant 18heures et les diamètres des zones d'inhibition seront mesurées.

V.6. Test des spots

Le test des spots est une méthode efficace pour évaluer l'activité antibactérienne de diverses substances. Bien qu'il soit principalement qualitatif, il constitue une étape cruciale dans le processus de découverte et de développement de nouveaux agents antimicrobiens

Les 14 extraits aqueux et 8 extraits concentrés sont utilisés dans cette étape, afin d'effectuer ce test nous avons ensemencé nos souches sur gélose MH puis la formation des spots en déposant 5µl de chaque extrait en contact direct avec les cellules bactériennes en question puis la réalisation des mems étapes de diffusion et d'incubation citées précédemment.

Nous avons testé les 14 extraits aqueux (macération et infusion) ainsi que 8 extraits concentrés codés comme le montre le tableau X

Tableau X : Illustration des différents codes des extraits utilisés

Extraits concentrés infusés	Extraits concentrés macérés
H1: Ronce	S1 : Eglantier Ta
H2: Eglantier	S2 : Eglantier
H 3: Ronce SH	S3 : Ronce Ta
H4: Cynorhodons	S4 : Cynorhodons

V.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est déterminée dans le but d'évaluer l'efficacité des extraits testés, et pour cela nous avons réalisé un test de disques de 20µL en préparant un ensemble de dilutions en cascade de ½

La CMI correspond à la concentration de l'extrait la plus minime qui inhibe toute croissance visible sur la surface de la gélose.

VI. Etude de la capacité d'adhésion

VI.1. Vérification des bactéries formatrices de Biofilm

Les souches de *Staphylococcus* et *Pseudomonas* et *Escherichia coli* sont ensemencées sur Gélose Rouge Congo afin de vérifier leur pouvoir de formation de biofilm ; puis sont incubé a 37c° pendant 18h.

Le virement de la couleur au bordeaux a noir indique une production de biofilm contrairement si les colonies sont apparues en rouge.

VI. 2. Etude de la capacité d'adhésion de l'ensemble des souches sur microplaque

La capacité adhésive de 14 souches a été testé sur gélose Rouge Congo puis évaluée sur microplaque de 96 puits suivant le Protocol de **Di Pietro et al (2024)** modifié comme suit :

MATERIEL ET METHODES

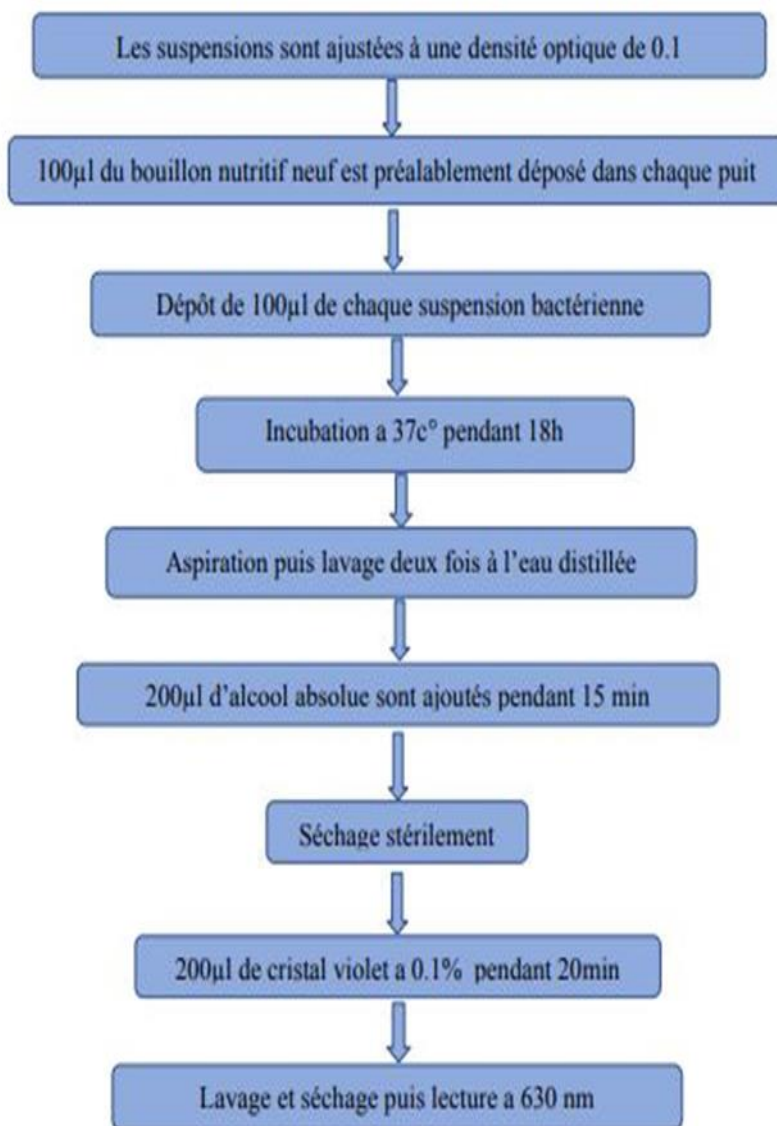


Figure 09 : Protocole suivie pour le test d'adhésion

VI.3. Activité anti-formation de biofilm

La capacité antiadhésive des extraits a été évalué sur microplaque 96 puits selon la méthode de (Di Pietro et al.,2024) selon les étapes suivantes :

MATERIEL ET METHODES

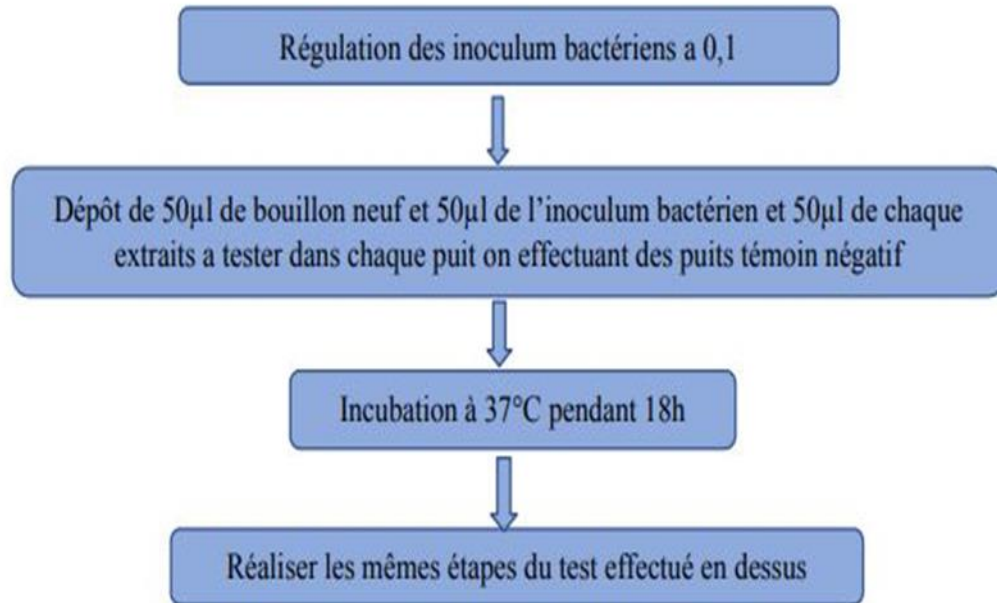


Figure 10 : procédure du test de l'activité anti adhésif du biofilm

Résultats et discussion

I. Détermination des rendements d'extraction

Dans ce travail nous avons utilisé deux méthodes d'extractions différentes : une macération et une infusion en milieu aqueux en utilisant des plantes prélevées de différentes régions et séchées de différentes manières. Au total nous avons obtenu 14 extraits afin d'effectuer une étude comparative de ces derniers.

Les résultats des rendements d'extraction obtenus sont illustrés dans la figure ci-dessous

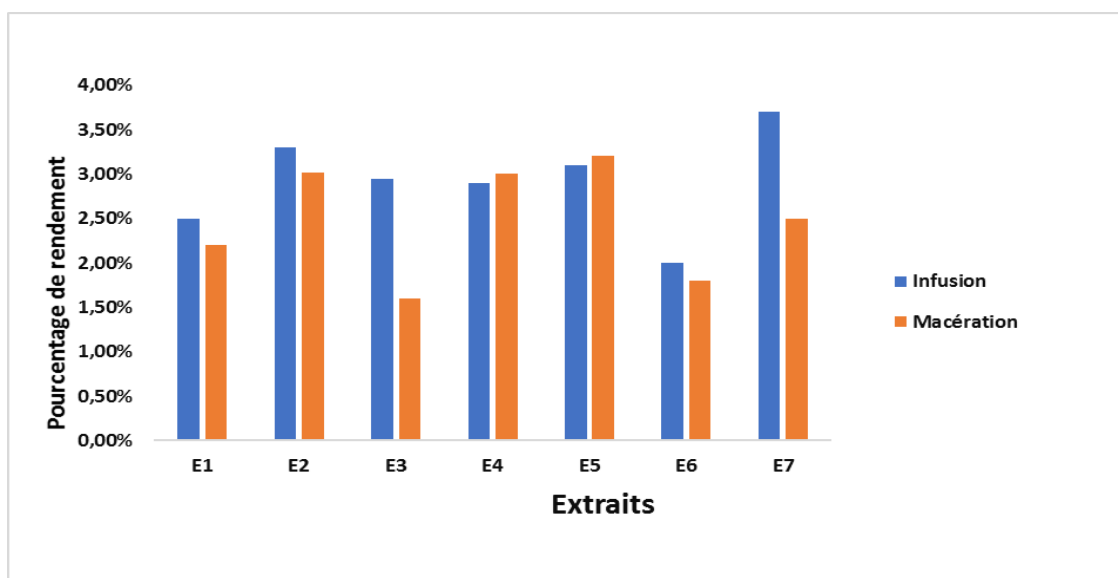


Figure 11 : Rendements d'extraction de la macération et de l'infusion.

Il ressort de cette figure que pour les 3 échantillons de *Rubus fruticosus* le meilleur rendement revient à l'infusion avec une valeur de **3,30%** pour la ronce séchée à température ambiante et **3,70%** pour les cynorhodons, cependant pour les échantillons de *Rosa canina* on a enregistré des valeurs légèrement élevés de la macération par rapport à l'infusion **3%** et **2,90%** respectivement pour E4, cela concorde avec les résultats de (Pacôme et al.,2018) ou ils ont eu les mêmes différences concernant les deux méthodes appliquées sur deux plantes différentes de 15,10% pour la macération et 14,30% pour l'infusion dans l'étude de *Azadirachta indica* contrairement à *Psidium guajava* de 15,9% pour l'infusion et 15,50% pour la macération .

Cela indique que l'efficacité de la méthode d'extraction peut dépendre de la plante elle-même et de la partie utilisée ainsi que le procédé du séchage de cette dernière avant extraction.

II. Dosage phytochimique

II.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des extraits étudiés est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage d'acide gallique et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par millilitre d'extrait (mg EAG/ml E), la figure 12 expose les concentrations des polyphénols dans les divers échantillons de *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*

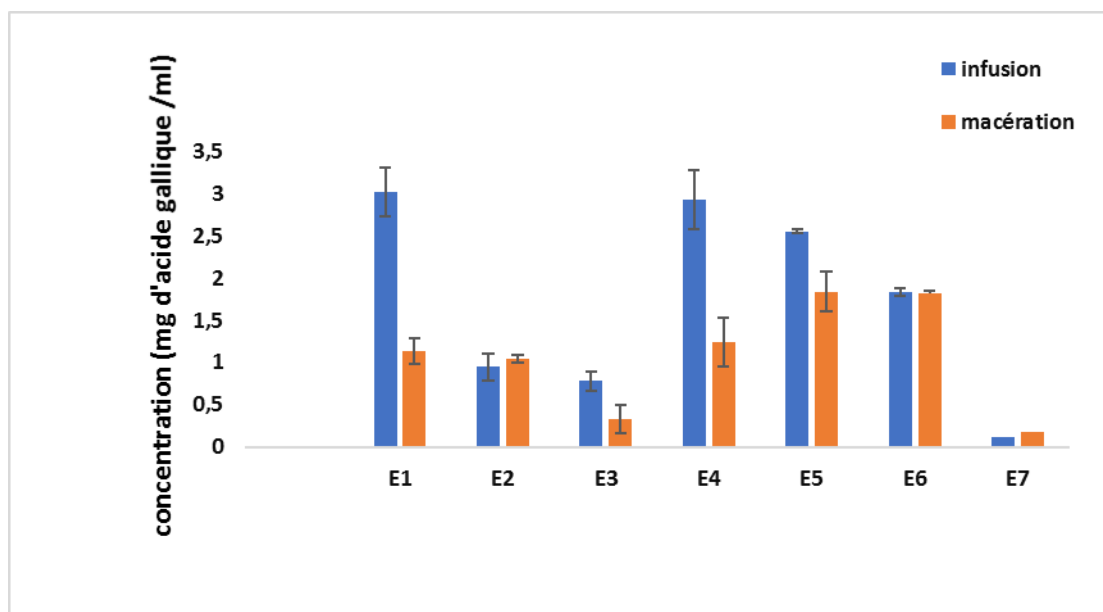


Figure12 : Teneurs en polyphénols

D'après la figure, l'infusion a donné des teneurs élevées en polyphénols totaux pour *Rubus fruticosus* dans les trois échantillons : ronce , ronce Ta, ronce SH de 3,09 mg EAG/ml E \pm 0.2, 0.94 mg EAG/ml E \pm 0.2 ,0.78 mg EAG/ml E \pm 0.15 respectivement, les teneurs importante en polyphénols concorde avec l'étude de (Nuzhat et al :, 2024) ou les feuilles ont montré une concentration de 50.60 ± 0.03 mg EAG/g , concernant la macération de cette dernière les valeurs sont très minimales par rapport à l'infusion de 1,13 mg EAG/ml E \pm 0,09 pour la ronce, 1,04 mg EAG/ml E \pm 0,1, 0,33 mg EAG/ml E \pm 0,04 .

Pour *Rosa canina*, l'infusion a donné aussi une meilleure extraction des composés en question de 2,91 mg EAG/ml E \pm 0,1 pour l'échantillon églantier et selon l'analyse faite on constate que les feuilles de *Rosa canina* sont riches en polyphénols comme démontré dans l'étude de (Malgorzata et al., 2020) d'une valeur de 225 mg/g d'extrait sec.

La quantité trouvée dans le fruit de *Rosa canina* est très faible dans les deux méthodes de 0,11 mg EQ AC/ml E \pm 0,04 pour l'infusion et 0,17 mg EQ AC/ml E \pm 0 ,02 pour la macération ce qui diffère des travaux précédents ou la teneur en polyphénols est élevée dans

le cynorrhodon comme l'étude de (Jablonska et al.,2009) qui a donné 3217.28 mg EAG/100g de poids frais.

L'infusion est la méthode la plus adéquate pour l'extraction des polyphénols totaux en utilisant l'eau distillé comme solvant contrairement à la macération qui exige des solvant organique pour une extraction plus efficace pour les polyphénols selon (Mahmoudi et al.,2013).

II.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes des extraits étudiés est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine et exprimée en milligramme équivalent de quercétine par millilitre d'extrait. La figure 13 expose les concentrations des flavonoïdes dans les divers échantillons de *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*

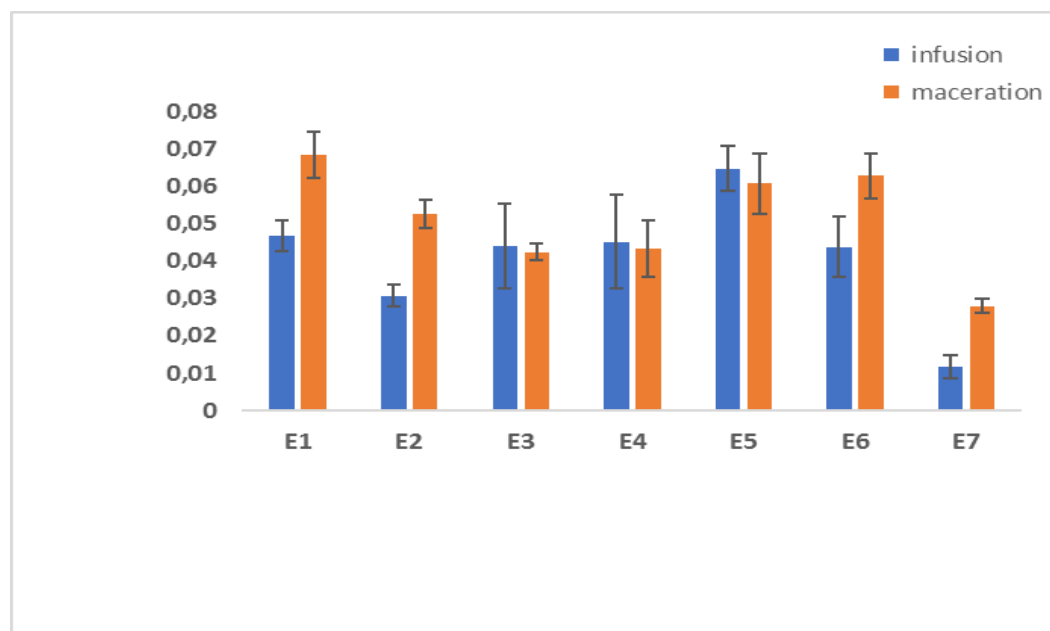


Figure13 : teneurs en flavonoïdes

Les résultats nous montrent que pour la plupart des échantillons de *Rubus fruticosus* c'est la macération qui a un meilleur rendement concernant l'extraction de ce composé, par exemple, pour la ronce Ta on a 0,052 mg Eq/ml E \pm 0,003 et 0,03 mg Eq/ml E \pm 0,002 pour l'extrait infusé., ainsi que le cynorrhodon avec une moyenne de 0,028 \pm 0,002 mg EQ q/ml E pour la macération et 0,011 mg Eq/ml E \pm 0,003 pour l'infusion et une valeurs de 0,062mgEq/ml E \pm 0,008 pour la macération de *Rosa canina* (églantier SH) cet aboutissement concorde avec les resultats de (Mahmoudi et al., 2013) ou ils ont cité que la macération préserve les molécules fragiles sensibles à la chaleur comme les flavonoïdes

II.3. Dosage des sucres totaux

La teneur en sucres a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de glucose et exprimée en milligramme équivalent de glucose par millilitre d'extrait. La figure 14 expose les concentrations des sucres dans les divers échantillons de *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*.

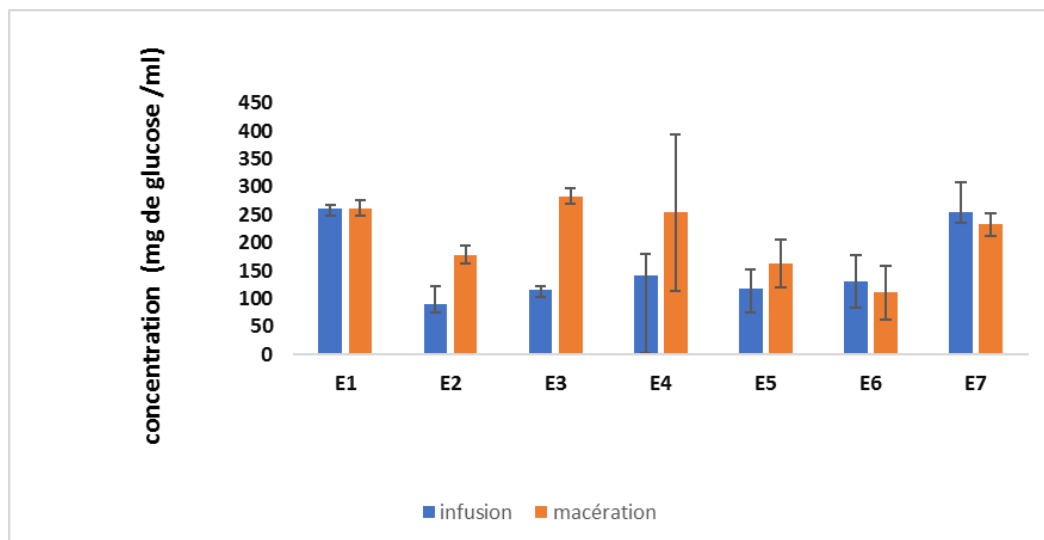


Figure 14 : teneurs en sucres

D'après les résultats des échantillons de ronce on constate que la macération a plus de rendement pour l'extraction des sucres, on a eu $283,5 \pm 13$ mg E glucose/ ml E pour l'extrait macéré de ronce SH et $116,67 \pm 4$ mg E glucose/ ml E pour l'extrait infusé et $125,13 \text{ mg EG/ ml E} \pm 36,6$ pour l'églantier SH infusé et $127,42 \text{ mg EG/ ml E}$ pour son macérat, mais quant à son fruit, on remarque que c'est l'infusion qui aide à extraire les sucres mieux, car on a obtenu une moyenne de $255,37 \pm 53$ mg EG / ml E et $232,45 \pm 20$ mg EQ glucose/ ml E pour la macération, les grandes quantités de sucres trouvées dans le cynorhodon concordent avec l'étude réalisée par (Barros et al., 2011) qui a révélé une quantité de 20,46 g EG /100g de poids sec

Les plantes étudiées sont très riches en sucres que d'autres plantes comme *Cystisus triflorus* de 83,58mgEG/g de matière végétale (Daghbouche et al., 2020).

II.4. Dosage des protéines

Les teneurs en protéines des extraits étudiés sont calculés en se référant à une courbe d'étalonnage de BSA, exprimées en milligramme équivalent de BSA par millilitre d'extrait et illustrées dans la figure 15

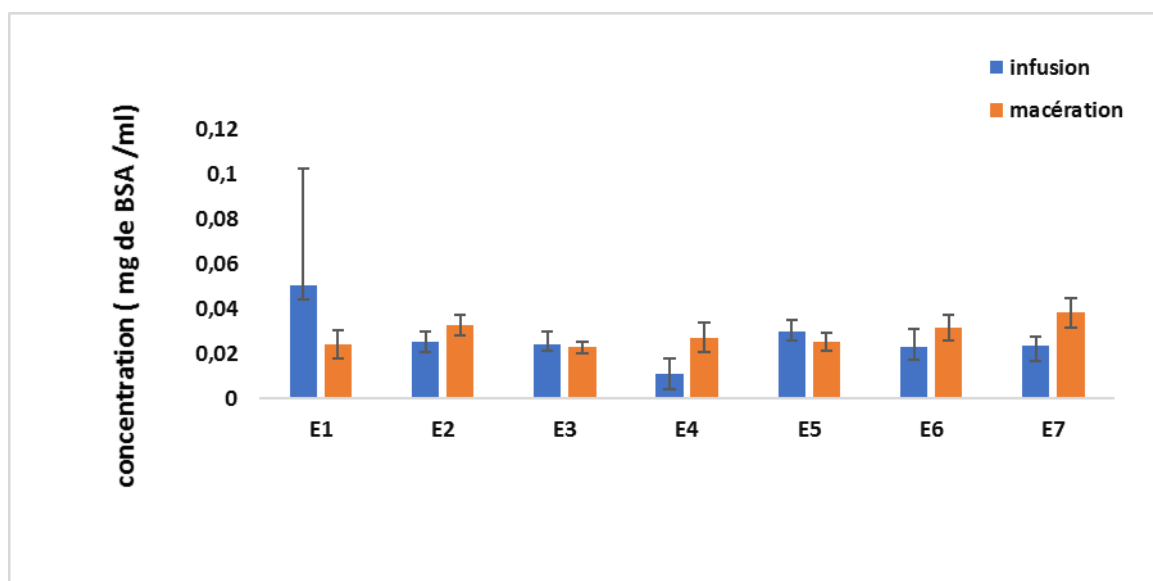


Figure 15 : Teneurs protéines des différents extraits

L'analyse de l'histogramme indique que la quantité des protéines présente dans les extraits macérés est plus importante que dans les extraits infusés ; les protéines sont sensibles à la température c'est ce qui justifie cette différence.

Les cynorrhodons présentent la concentration la plus élevée en protéines de 0,04 mg EQ BSA/ml $E \pm 0,006$ dans la macération suivie de la ronce Ta d'une valeur de 0,032 mg EQ BSA/ml $E \pm 0,004$ puis l'églantier SH de 0,031 mg EQ BSA/ml $E \pm 0,005$; Selon (**Houta et al.,2012**) les teneurs fortes en protéines dans le fruit par rapport aux feuilles de *Rosa canina* s'expliquent par l'assimilation du carbone et de l'azote dans le fruit.

D'après (**Laurence et al.,2013**) les valeurs de protéines peuvent être plus élevées en période en dehors du printemps.

III. Revivification et vérification de la pureté des souches

Selon notre suivi et observation des souches bactérienne utilisées leur pureté a été confirmé et montré dans le tableau suivant

Tableau XI : Aspect macroscopique et microscopique des souches bactérienne utilisées

RESULTATS ET DISCUSSION

Souches	Aspet sur milieu liquide	Aspet sur milieu solide	Observation microscopique après coloration de Gram
<i>Escherichia coli</i>	Turbidité moyenne uniforme. Pas de formation de voile.	GN : croissance abondante, grosses colonies rondes, lisses et blanchâtre a crème Possédant un éclat vert métallique sur milieu EMB.	Coccobacilles à Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Turbidité moyenne uniforme. Pas de formation de voile.	GN : colonies moyenne a grandes avec bords réguliers d'une couleur jaunâtre a dorée Caractéristique d'une couleur dorée sur milieu Chapman avec virage de la couleur rouge au jaune.	Grappe de Cocci a Gram positif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Turbidité élevée. Présence de voile à la surface. Pigmentation bleu-vert.	GN : colonies grandes plates avec une texture muqueuse, pigmentation bleu-vert.	Batônnets minces légèrement incurvés à Gram négatif
<i>Bacillus subtilis</i>	Turbidité élevée et dépôt au fond. Présence d'un voile résistant à l'agitation.	Colonies de taille variable, de croissance abondante, légèrement bombées,	Bacilles de forme allongés a Gram positif

RESULTATS ET DISCUSSION

		lisses et de couleur jaunâtre clair	
--	--	--	--

IV. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Les résultats des zones d'inhibition sont interprétés selon les points de coupures établies par l'EUCAST et la CLSI et sont montrés dans le tableau Suivant

Tableau XII : Résultats d'antibiogramme comparatif

Souche	ATB	<i>Aug</i>	<i>Fox</i>	<i>Mrp</i>	<i>Caz</i>	<i>Van</i>	<i>Tet</i>
<i>E. coli</i> E5P1		11/R	23/S	24/S	21/S	0/R	15/S
<i>E. coli</i> 1 E5P2		15/R	25/S	22/S	21/S	8/R	17/S
<i>E. coli</i> 2 E5P2		15/R	25/S	23/S	22/S	9/R	17/S
<i>S. aureus</i> 1		12/R	26/S	26/S	0/R	21/R	28/S
<i>S. aureus</i> 2		12/R	27/S	28/S	0/R	21/R	26/S
Pseudomonas E17P2		ID	ID	ID	ID	9	ID
Bacillus E12P1 I (2)		19/R	24/S	23/R	0/R	24/S	25/S
Bacillus E12P1 I (1)		21/S	29/S	25/S	0/R	25/S	25/S
Bacillus E12P1 II		21/S	32/S	30/S	0/R	ID	ID
Bacillus E13P2 II		22/S	30/S	32/S	0/R	ID	ID
Bacillus E13P2 I		0/R	0/R	24/R	0/R	22/S	19/S

R : résistante S : sensible ID : indéterminé

On remarque que la totalité des souches testées sont sensibles au Cefoxitine et Tétracycline avec des zones d'inhibition importantes et que l'amoxiciline acide clavulanique est actif sur toutes les souches à part 3 souches de Bacillus

D'autre part les souches d'*Escherichia coli* et 3 souches de *Bacillus* parmi 5 ont montré une sensibilité à la Ceftazidime et Vancomycine, contrairement aux autres bactéries testées ; *Bacillus* E12P1 I (2) et *Bacillus* E13P2 I sont plus résistantes aux antibiotiques utilisés

V. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des deux plantes *Rosa canina* et *Rubus fruticosus* a été évaluée par la détermination des zones d'inhibition par les méthodes de diffusion sur gélose (disques, puits et spots) et la concentration minimale inhibitrice (CMI).

V.1. Résultats du test des puits

Le pouvoir antibactérien des extraits aqueux des deux plantes a été analysée par la méthode de diffusion par puits et les résultats de la mesure des diamètres des zones d'inhibition sont illustrés dans le tableau ci dessous

Tableau XIII : Mesure des diamètres des zones d'inhibition du test des puits

Extraits / Souches	Ronce Ta	Ronce SH	Eglantier	Eglantier Ta	Eglantier SH	Cynorrhodon
Bacillus E12P1(2)	17mm/TS	18mm/TS	19mm/TS	*	*	-
Bacillus E12P1 I (1)	18mm/TS	18mm/TS	18mm/TS	*	*	-
Bacillus E12P2 II	18mm/TS	16mm/TS	18mm/TS	*	*	-
Bacillus E13P2 II	-	-	-	-	-	-
Bacillus E13P2 I	19mm/TS	13mm/S	-	-	-	-
E. coli E5P1	18mm/TS	12mm/S	-	12mm/S	-	-
E. coli1 E5P2	*	*	*	*	*	-
E. coli2 E5P2	-	*	*	*	*	-
S. aureus 1	12mm/S	*	*	*	*	-
S. aureus 2	*	-	*	*	*	-
Pseudomonas E17P2	16mm/TS	14mm/S	14mm/S	19mm/TS	14mm/S	-

* : repousse bactérienne - : absence de zone d'inhibition TS : très sensible

RESULTATS ET DISCUSSION

La qualification de la souche vis-à-vis l'extrait testé se fait selon le diamètre de la zone d'inhibition mesuré selon Kanga et ses collaborateurs

Tableau XIV : sensibilité des bactéries envers différents composés (Kanga et al.,2024)

Diamètre (mm)	<8	9—14	15—19	>20
Sensibilité	Résistante	Sensible	Très sensible	Extrêmement sensible

Les résultats du test des puits effectué montrent que les souches de *Bacillus* sont très sensibles aux extraits aqueux de *Rubus fruticosus* et que ceux de *Rosa canina* exercent un effet bactériostatique sur ces dernières (Observation de la repousse bactérienne sur la zone d'inhibition) sauf un seul échantillon (E4) qui présente des teneurs élevées en polyphénols.

Les extraits aqueux exercent un effet bactériostatique sur toutes les souches d'*Escherichia coli* voir absent chez la souche *E. coli2* E5P2.

La souche de référence de *Staphylococcus aureus* est très sensible à l'extrait codé ronce ta ayant la valeur la plus élevés en quantité de polyphénols totaux parmi les échantillons de *Rubus fruticosus* contrairement aux autres extraits qui exercent des effets bactériostatiques.

La souche de *Pseudomonas aeruginosa* est très sensible à tous les extraits sauf a celui du fruit qui n'est actif sur aucune souche.

D'après l'observation de nos résultats la quantité de l'extrait déposé dans le puit, sa Concentration et sa composition affectent le diamètre de la zone ainsi que son effet.

V.2. Méthode de diffusion des disques des extraits

Les résultats de la méthode des disques pour les différents extraits testés soit aqueux ou concentrés, macération ou infusion sont exprimés par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètre (avec les disques de 6 mm) et la sensibilité des bactéries est déterminée selon (Kanga et al.,2024)

Tableau XV : Résultats obtenus dans test des disques pour les extraits aqueux de l'infusion.

Extraits	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
Souche							
<i>E. coli</i> E5P1	9/ R	0/R	0/R	0/R	12/S	0/R	0/R
<i>E. coli1</i> E5P2	0/R	10/S	0/R	0/R	13/S	9/S	0/R
<i>E. coli2</i> E5P2	9/S	8/S	10/S	0/R	10/S	0/R	0/R

RESULTATS ET DISCUSSION

<i>S. aureus</i> 1	8/S	9/S	0/R	0/R	0/R	0/R	8/S
<i>S. aureus</i> 2	7/R	9/S	0/R	0/R	8/S	0/R	0/R
<i>Pseudomonas</i> E17P2	8/S	7/R	7/R	0/S	8/S	9/S	8/S
<i>Bacillus</i> E12P1 I (1)	10/S	9/S	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R
<i>Bacillus</i> E12P1 I (2)	7/R	8/S	0/R	10/S	12/S	9/S	0/R
<i>Bacillus</i> E12P1 II	8/S	10/S	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R
<i>Bacillus</i> E13P2 II	0/R	10 /S	10/S	0/R	9/S	9/S	1/R

Tableau XVI : Résultats obtenus dans test des disques pour les extraits aqueux de la macération.

Extraits	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
Souche							
<i>E. coli</i> E5P1	8/S	8/S	0/R	0/R	0/R	8/S	0/R
<i>E. coli</i> 1 E5P2	0/R	0/R	0/R	0/R	10/S	0/R	8/S
<i>E. coli</i> 2 E5P2	0/R	0/R	0/R	0/R	11/S	0/R	9/S
<i>S. aureus</i> 1	8/S	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R
<i>Pseudomonas</i> E17P2	0/R	8/S	13/S	8/S	0/R	10/S	*

D'après les résultats obtenus on constate que certains extraits utilisés ont une activité vis-à-vis les bactéries que les antibiotiques commercialisés n'ont pas ; par exemple pour *E. coli* elle est sensible à la ronce (avec des zones entre 8 et 10 mm) et résistante à amoxiciline acide clavulanique et à la vancomycine et cela est compatible avec l'étude réalisée par (**Riaz et al.,2011**) qui a enregistré un diamètre de zone d'inhibition de 8mm.

Concernant les feuilles de *Rosa canina* on a aussi observé des zones d'inhibition chez *E. coli*, *Pseudomonas* et quelques souches de *Bacillus* et pour son fruit on remarque une différence entre les deux méthodes, dans l'infusion on a eu une activité contre *S. aureus* et *Pseudomonas* et dans la macération c'est *E. coli* qui est sensible avec un effet bactériostatique contre la souche de *Pseudomonas*. Par contre l'étude de (**Oz et al.,2021**) ou *Bacillus* et *Pseudomonas* sont résistantes et un diamètre de 7mm pour *E. coli* et *S. aureus* (résistante).

Afin de mener ce travail à mieux on a opté pour un criblage et une concentration des extraits et réaliser ce test à nouveau, les résultats sont décrits dans le tableau suivant

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau XVII : Résultats obtenus dans le test des disques pour les extraits concentrés.

Extraits Souche	Ronce mac	Ronce Inf	Ronce SH Inf	Cynorrhodon inf	Eglantier inf
<i>E. coli</i> E5P1	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R
<i>E. coli 1</i> E5P2	0/R	0/R	0/R	0/R	8/S
<i>E. coli2</i> E5P2	0/R	0/R	0/R	0/R	8/S
<i>S. aureus 1</i>	10/S	0/R	*	8/S	9/S
<i>S. aureus 2</i>	10/S	0/R	9/S	9/S	*
<i>Pseudomonas</i> E17P2	0/R	*	0/R	0/R	8/S
<i>Bacillus</i> E12P1 I (1)	0/R	*	*	0/R	0/R
<i>Bacillus</i> E12P1 I (2)	0/R	0/R	0/R	0/R	8/S
<i>Bacillus</i> E12P1 II	0/R	0/R	0/R	*	0/R
<i>Bacillus</i> E13P2 II	0/R	0/S	0/R	0/R	0/R

Après analyse on déduit que les souches de *E. coli* sont résistantes aux extraits concentrés de *Rubus fruticosus* et aux cynorrhodon et sensibles à l'églantier avec des zones d'inhibition de **8mm**, et la plupart des souches de *Bacillus* sont résistantes, quant à *Pseudomonas* la ronce infusée exerce sur elle un effet bactériostatique et l'églantier un effet bactéricide avec une zone d'inhibition de **8mm** et concernant *S. aureus* elle est sensible envers la plupart des extraits testés.

Vu qu'on a eu des souches résistantes on a fait un criblage et effectuer d'autres méthodes pour l'étude de l'effet antibactérien dont on change la quantité de l'extrait déposée pour mieux savoir sur l'efficacité de nos échantillons.

V.3. Résultats du test des spots

Aucune zone d'inhibition n'est visualisée pendant la lecture des boîtes utilisées dans ce test sauf pour le cynorrhodon et la ronce infusés comme exposé dans le tableau ci-dessous

Tableau XVIII : Mesures des diamètres des zones d'inhibition

Souches Extraits	Cynorrhodon infusé	Ronce infusé
<i>E. coli1</i> E5P2	-	0/R
<i>E. coli2</i> E5P2	-	0/R

RESULTATS ET DISCUSSION

<i>E. coli E5P1</i>	-	0/R
<i>Pseudomonas E17P2</i>	9/S	8/S
<i>S. aureus 1</i>	11/S	9 /S

L'absence d'activité dans cette procédure revient aux quantités minimales déposées. Les souches de *Pseudomonas* et de *Staphylococcus* sont sensibles aux deux extraits cités en dessus et cela revient à la quantité élevée des polyphénols dans les extraits de la Ronce infusée. L'extrait concentré des cynorhodons est plus efficace que l'extrait aqueux.

V.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

On a poursuivi cette étape dans le but de chercher la moindre quantité de nos extraits dans laquelle ils peuvent agir sur les bactéries testées et les résultats sont représentés dans le tableau

Tableau XIX : la concentration minimale inhibitrice de chaque extrait testé.

Extraits Souche	Ronce inf	Ronce Ta inf	Eglantier inf	Eglantier SH inf	Cynorrhodon inf
<i>E. coli E5P1</i>	/	/	/	/	/
<i>E. coli 1 E5P2</i>	0,316g/ml	/	/	/	/
<i>E. coli 2 E5P2</i>	/	/	/	/	/
<i>S. Aureus 1</i>	0,039 g/ml	0,041 g/ml	0,054 g/ml	0,101g/ml	0,377 g/ml
<i>S. Aureus 2</i>	0,039 g/ml	0,041 g/ml	0,027 g/ml	0,101g/ml	0,377 g/ml
<i>Pseudomonas E17P2</i>	/	/	/	/	0,047 g/ml
<i>Bacillus E12P1 I</i> (1)	0,079 g/ml	0,020 g/ml	/	0,050g/ml	0,188 g/ml
<i>Bacillus E12P1 I</i> (2)	/	/	/	/	/
<i>Bacillus E12P1 II</i>	/	/	0,108 g/ml	/	/
<i>Bacillus E13P2 I</i>	0,316 g/ml	0,041 g/ml	0,108 g/ml	0,050g/ml	0,377 g/ml
<i>Bacillus E13P2 II</i>	/	/	/	0,025g/ml	/

D'après le tableau les bactéries à Gram- sont résistantes aux extraits de feuilles de *Rubus fruticosus* et *Rosa canina* et non à l'extrait du fruit de ce dernier pour *Pseudomonas*.

Les bactéries à Gram+ telles que *S. aureus* et quelques souches de *Bacillus* sont sensibles à la plupart des échantillons et à des concentrations assez petite (tableau XIX).

Il est difficile de fournir une comparaison avec les résultats de la littérature à cause des méthodes d'extraction qui se diffèrent et de la disponibilité des études des mêmes extraits.

VI. Etude de la capacité d'adhésion

VI.1. Vérification des bactéries formatrices de biofilm

Les résultats de la lecture après incubation et interprétations sont illustrés dans les tableaux XX

Tableau XX : Résultats et interprétations du test des bactéries formatrices de biofilm sur gélose rouge Congo (**Mathur et al.,2006**)

Souches	Observations	Interprétation
E5P1 E. coli	Colonies bordeaux	Souche formatrice de biofilm
S. aureus 1	Colonies bordeaux a noir	Souche formatrice de biofilm
E17P2 Pseudomonas	Colonies	Souche formatrice de biofilm

Les souches testées sont toutes formatrices de biofilm, d'après leur aspect sur la gélose rouge Congo et la figure 16 le montre



Figure 16: Aspect des souches formatrices de biofilm sur gélose rouge Congo

VI.2 Etude de la capacité d'adhésion de l'ensemble des souches sur microplaques

RESULTATS ET DISCUSSION

Ce test a été effectué dans le but de déterminer la capacité d'adhésion des souches bactériennes utilisées sur microplaques de 96 puits (polystyrène).

L'interprétation de l'observation visuelle est faite selon (Mathur et al.,2006)



T S1 S2 S3 S4 S5

Figure 17 : la microplaque d'adhésion

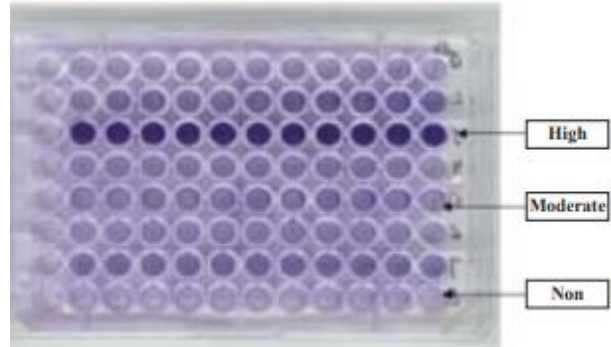


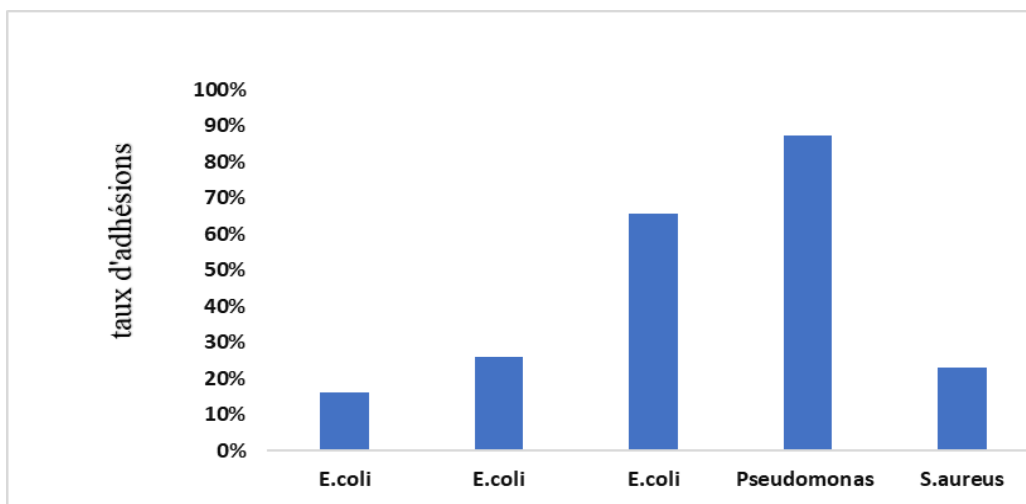
Figure18 : microplaque de référence (Mathur et al.,2006)

La microplaque a révélé une adhésion modérée pour les souches 1,2 et 5 et une forte adhésion pour les souches 3 et 4.

Les résultats sont aussi exprimés par les taux d'adhésions calculés à partir des absorbances mesurées selon (Christine., et al.,2002) suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Absorbance du témoin négatif - absorbance} / \text{Absorbance du témoin}$$

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 19



Figures19 : taux d'adhésion des souches sur microplaques en polystyrène.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus nous montrent que *Pseudomonas* adhère à 87%, la souche 3 à 66%, et le deux autres *E. coli* et *S. aureus* ont un taux qui varie entre 16 et 26 % ; Ces taux calculés sont cohérents avec les résultats de l'analyse visuelle effectuée auparavant.

Pour passer au test d'anti-adhésion on a criblé les souches et pris les plus adhérentes.

V.3 Activité anti-formation de biofilm

Ce test est mis en place afin de déterminer la capacité d'anti-formation des biofilms exercée par les extraits exploités dans notre étude, et la lecture des résultats est faite visuellement en se référant à (Mathur et al.,2006), la figure 27 montre l'adhésion des souches qui ont été en contact avec les extraits

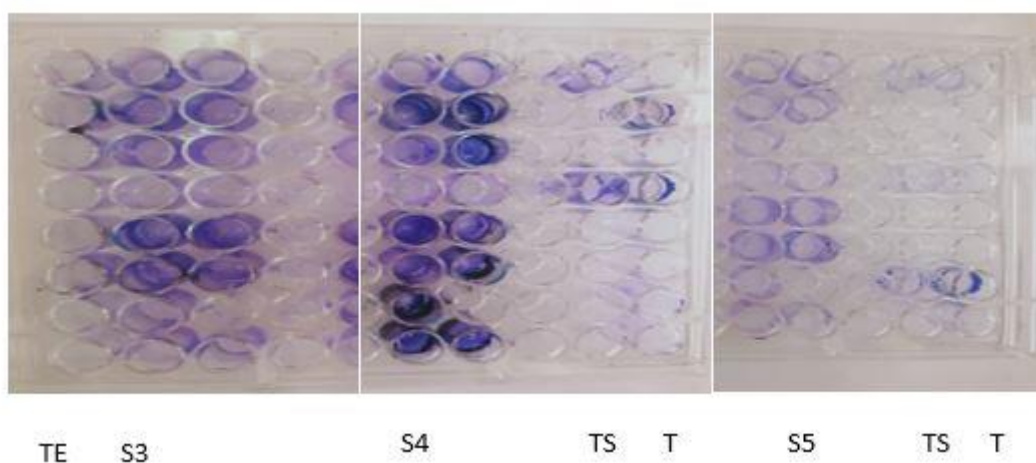


Figure 20 : Microplaque d'activité anti adhésif

Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant

Tableau XXI : résultats de l'observation visuelle des microplaques du test anti adhésif

Souche Extractions	Souche 3 : <i>E. coli</i>	Souche 4 : <i>Pseudomonas</i>	Souche 5 : <i>S. aureus</i>
H1	Adhésion modérée	Adhésion modérée	Adhésion modérée
H2	Adhésion modérée	Adhésion forte	Adhésion modérée
H3	Absence d'adhésion	Adhésion forte	Absence d'adhésion
H4	Adhésion modérée	Absence d'adhésion	Absence d'adhésion
S1	Adhésion forte	Adhésion forte	Adhésion modérée
S2	Adhésion forte	Adhésion forte	Adhésion forte

RESULTATS ET DISCUSSION

S3	Absence d'adhésion	Adhésion forte	Adhésion modérée
S4	Adhésion modérée	Adhésion forte	Absence d'adhésion

L'extrait de ronce SH (H3) infusé possède un pouvoir anti-formation de biofilm sur la souche de *S. aureus* et *E. coli* et non pas sur celle de *Pseudomonas aeruginosa* et Le cynorrhodon infusé (H4) vis-à-vis la souche de *Pseudomonas* et *S. aureus*

L'extrait de ronce Ta macéré(S3) sur *E. coli*, cette absence d'adhésion revient à la présence des flavonoïdes qui sont des composés qui inhibe la formation de biofilm chez *E. coli* d'une manière significative selon (Yarmolinsky et al.,2022).

Pour les extraits de d'églatier on a trouvé qu'ils favorisent la formation de biofilms chez *E. coli* et *S. aureus* sachant que les extraits de *Rosa canina* contiennent des quantités importantes en sucres totaux nous supposons que c'est pour cela qu'on observe une favorisation de formation de biofilm en extrapolant ce résultat à l'étude de (Agrawal et al., 2013). Qui a montré une augmentation significative de la formation du biofilm par des isolats de *Staphylococcus* lorsqu'ils ont testé la capacité de former le biofilm à des concentrations différentes de sucre

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'effet antibactérien et anti adhésif de *Rubus fruticosus* et *Rosa canina* afin de trouver des alternatives aux antibiotiques conventionnelles pour lutter contre la résistance bactérienne.

Les résultats ont révélé que les plantes étudiées présentent une activité antibactérienne et anti adhésive assez importante mais plus significatif chez *Rubus fruticosus*, et elle a montré que l'infusion est et plus efficace pour l'extraction des polyphénols tandis que la macération est plus appropriée pour extraire les flavonoïdes et les protéines ; l'eau distillée peut-être un solvant d'extraction efficace dans la désignation et la recherche des activités biologiques sans influencer la composition phytochimique de la plante en question Ce qui lui donne le privilège d'être utilisé comme solvant d'extraction Possédant des avantages sur la santé humaine et sur la plan économique dans l'élaboration d'un produit pharmaceutique

En conclusion, *Rubus fruticosus* et *Rosa canina* Présentent un potentiel prometteur autant qu'agents antibactérien naturel, toutefois des études supplémentaires sont nécessaires pour :

- Déterminer les mécanismes d'action
- Optimiser les conditions d'extraction
- Cribler les composés actifs
- Evaluer leur efficacité in vivo
- Etablir une étude plus approfondie sur la capacité antiadhésive du fruit *Rosa canina* à l'égard de *Staphylococcus aureus*

Cela peut contribuer dans la réduction de la dépendance aux antibiotiques conventionnelles et la lutte contre la résistance bactérienne.

Ce genre d'études sont essentielles dans l'exploitation de la richesse végétale de l'Algérie dans le développement des domaines pharmaco-industrielles et économiques dans notre pays

Références bibliographiques

« A »

- **Alekshun MN, Levy SB** (2007) Molecular mechanisms of antibacterial multi drugs resistance. Cell128 :1037-50.

« B »

- **Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A. & Laglaoui, A** (2016). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de Mentha: Mentha spicata, Mentha pulegium et Mentha piperita. Phytothérapie 14, 88–96
- **Barros, L. Carvalho, AM. Ferreira ICFR.** . (2011) Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal, Food Res Int44(7):2233-6.
- **Bock, B.** (2021). Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine et régions avoisinantes (version 8).
- **Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2), 248-254.
- **Brosse, J.** (2010). Larousse des arbres. Janne Faune et Veronique Tahon.

« C »

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2024). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th Edition. CLSI document M100. Disponible sur : <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/> (Consulté le 24 juin 2024).

« D »

- **Daghbouche, S., Ammar, I., Rekik, D. M., Djazouli, Z., Zebib, B., & Merah, O.** (2020). Effect of phenological stages on essential oil composition of *Cytisus triflorus* L'Her. Journal Of King Saud University. Science/Mağallaġ Ġāmi'aġ Al-malik Sa'ūd. al-'Ulūm, 32(4), 2383-2387.
- **Di Pietro, M.; Filardo, S.; Mattioli, R.; Bozzuto, G.; Raponi, G.; Mosca, L.; Sessa, R.** (2024) Anti-Biofilm Activity of Oleacein and Oleocanthal from Extra-Virgin Olive Oil toward Pseudomonas aeruginosa. Int. J. Mol. Sci., 25, 5051.

- **DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F.** (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.

« E »

- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2024). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 14.0. Disponible sur : <https://www.eucast.org> (Consulté le 24 2024).

« F »

- **Faille, C., Jullien, C., Fontaine, F., Bellon-Fontaine, M., Slomianny, C., & Benezech, T.** (2002). Adhesion of Bacillus spores and Escherichia coli cells to inert surfaces: role of surface hydrophobicity. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(8), 728-738.
- **Fanny, V. Maher, S. Gilles, P.** (2008). Les facteurs de virulence de Staphylococcus aureus. *Revue Francophone des laboratoires*. 407,61-69.
- **Flemming, C. U., & Wingender, J.** (2001). Extracellular polymeric substances—the construction material of biofilms—selected proceedings of the 1st IWA international conference on microbial extracellular polymeric subst nature| reviews microbiology.
- **François Couplan, Paris Faini.** (2010). Plantes urbaines. Sang de la terre.

« G »

- **Ghazi, F., & Sahraoui, S.** (2005). Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes : Tantboucht et Hamraïa. Mémoire d'ingénieur. Institut national d'agronomie. Alger.

« H »

- **Houta, O. Chouaeb, H. Neffati, M. Amri, H.** (2012). Criblage chimique des protéines et caroténoïdes présent dans un *Crithmum maritimum* cultivé en Tunisie. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 2012, 14, 77-82.

« J »

- **Jabłońska-Ryś, E. Zalewska-Korona, M. Kalbarczyk, J.** (2009). Antioxydant capacity, ascorbic acid and phenolic content in wild edible fruits. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. Vol. 17/ (2) 2009: 115-120.

- **Jean, B.** (2009). Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. Editions Tec et Doc, Editions médicales internationales.
- **Jean, V.** (2001). Phytothérapie. Vigot.

« K »

- **Kanga, y. Bolou, GEK. Soro, D.** (2024). Activité antibactérienne de l'extrait aqueux de trois plantes à usage médicinal en Côte d'Ivoire, *Olax subscorpiodea*, *Guiera senegalensis* et *Psorospermum guineense*. Revue Marocaine des Sciences
- **Kadioglu, O., Jacob, J. A., Khan, M. W., & Thurston, D. E.** (2021). Antiproliferative and antimicrobial activities of selected medicinal plants from Algeria. BMC Complementary Medicine and Therapies, 21(1), 1-11.

« L »

- **Laurence Coiffard & Yannick De Roeck-Holtzhauer** (1995) Variations géographiques et saisonnières de la teneur en protéines et en acides aminés de *Crithmum maritimum* L. (Apiacées), Acta Botanica Gallica, 142 :5, 405-414.
- **Lesley Bremnees.** (2012). Plantes aromatiques et médicinales. L'œil nature (Larousse).
- **López, D., Vlamakis, H., Losick, R., & Kolter, R.** (2008). Biofilm formation and swarming in *Bacillus subtilis* are controlled by a novel motility-promoting protein. Journal of Bacteriology, 190(6), 4751-4760. doi:10.1128/JB.01808-07.
- **López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R.** (2018). Biofilms. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 12(8), a018713.

« M »

- **Mahmoudi, S. Khali, M. Mahmoudi, N.** (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) Nature et technologie.
- **Malgorzata, K. Khassenova, A B. Skalski, B. Michlewska, S. Wielanek, M. Aralbayeva, A N. Murzakhmetova, M K. Zamaraeva, M. Skodowska, M. Bryszewska, M. Ionov, M.** (2020). Bioactive Compounds and Antiradical Activity of the *Rosa canina* L. Leaf and Twig Extracts. Agronomy 2020, 10, 1897.

- **Mármol, I., Sánchez-De-Diego, C., Jiménez-Moreno, N., Ancín-Azpilicueta, C., & Rodríguez-Yoldi, M. J.** (2017). Therapeutic Applications of Rose Hips from Different Rosa Species. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1137.
- **Mathur, T. Singhal, S. Khan, S. Upadhyay, DJ. Fatma, T. Rattan, A.** (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24 (1):25-9.
- **Mehmet Öz, İlhan Deniz, Onur Tolga Okan, Cemalettin Baltacı & Seyda Merve Karatas** (2021): Determination of the Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Parts of *Rosa canina L.* and *Rosapimpinellifolia L.* Essential Oils, *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* Miara, M. D., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11(4), 206-218.
- **Michel-Briand, Y., & Baysse, C.** (2002). The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie*, 84(5-6), 499-510.
- **Milosevic, T., Milosevic, N., Glisic, I., & Glisic, I.** (2012). "Composition and quality of blackberry (*Rubus spp.*) fruits".
- **Magnier P.** (2016). Intérêt de l'églaïtier dans la prise en charge des pathologies rhumatismales chez l'adulte. Université de picardie jules verne.

« N »

- **Nuzhat Nazir, Tahira Batool and Shahzad Akbar Khan.** Exploration of total flavonoids, phenolic contents, antioxidant and anti-bacterial activities of *Rubus fruticosus L.* as a new source of drug. *Pure and Applied Biology*. Vol. 13:112-122.
- **Newman, D. J., & Cragg, G. M.** (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 1981 to 2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770-803.

« O »

- Organisation mondiale de la santé (2023). Médecine traditionnelle et complémentaire. Consulté à partir de:
[<https://www.who.int/fr/newsroom/events/detail/2023/08/17/default-calendar/the-first-traditional-medicine-global-summit>]

« P »

- **Pacôme Serge Gouegoui Bohui 1***, Augustin Amissa Adima1 Florence Bobelé Niamké1, Jean David N'Guessan2.

« R »

- **Riaz, M. Ahmad, M. Najmur, R.** (2011): Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus*. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(24), pp. 5920-5924. ISSN 1996-0875.
- **Ribéreau-gayon P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. DUNOD, Paris: 242.
- ***Rosa canina L.*** in GBIF secretariat (2023). GBIF backbone taxonomy. checklist dataset via GBIF. ORGON 2024-02-26.
- **Roux, A., & Ghigo, J.** (2006). Les biofilms bactériens. Bulletin de L'Académie Vétérinaire de France/Bulletin de L'Académie Vétérinaire de France, 159(3), 261-268.
- ***Rubus fruticosus L.*** in GBIF secretariat (2023). GBIF backbone taxonomy. checklist [dataset via GBIF](#). ORGON [2024-02-26](#). Doi:10.15468/39 omei.

« S »

- **Smith, J., Brown, P., et Anderson, K.** (2020). Advances in medicinal plant research. Journal of Medicinal Plant Research, 14(3), 123-134.
- **Singleton, V.L., Rossi, J.A.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Ecology and Viticulture, 16(3), 144-158.
- **Sophn, M. Sophn, R.** (2017). 350 arbres et arbustes. Delachaux et Niestlé.

« T »

- **Tela Botanica.** (2024). Tela Botanica - Le réseau de la botanique francophone. Disponible sur : <https://www.tela-botanica.org> (Consulté le 26-02-2024).
- **Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B. et al.** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. Nat Rev Microbial 8, 207–217 (2010). doi.org/10.1038/nrmicro2298.
- **Tuttle, A. R., Trahan, N. D., & Son, M. S.** (2021). Growth and Maintenance of *Escherichia coli* Laboratory Strains. Current Protocols, 1(1).

« W »

- **WHO.** (2020). Antimicrobial resistance. Retrieved from World Health Organization

Annexes

Annexes01

Représentation des différentes concentrations des gamme d'étalons

Tableau 1 :la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Concentration en (mg/ml)	0,3	0,27	0,21	0,15	0,09	0,02	0
Volume de la solution en µl	1000	900	700	500	300	100	0
Volume d'eau distillée en µl	0	100	300	500	700	900	1000

Tableau 2 :la gamme d'étalonnage de la quercétine.

Concentrations en (mg/ml)	0,12	0,108	0,084	0,06	0,036	0,012	0
Volume de la solution mère en µl	1000	900	700	500	300	100	0
Volume d'eau distillée en µl	0	100	300	500	700	900	1000

Tableau 3 : la gamme d'étalonnage du glucose

Concentrations en (mg/ml)	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0
Volume de la solution mère en µl	1000	833	666	500	333	166	0
Volume d'eau distillée en µl	0	167	334	500	667	834	1000

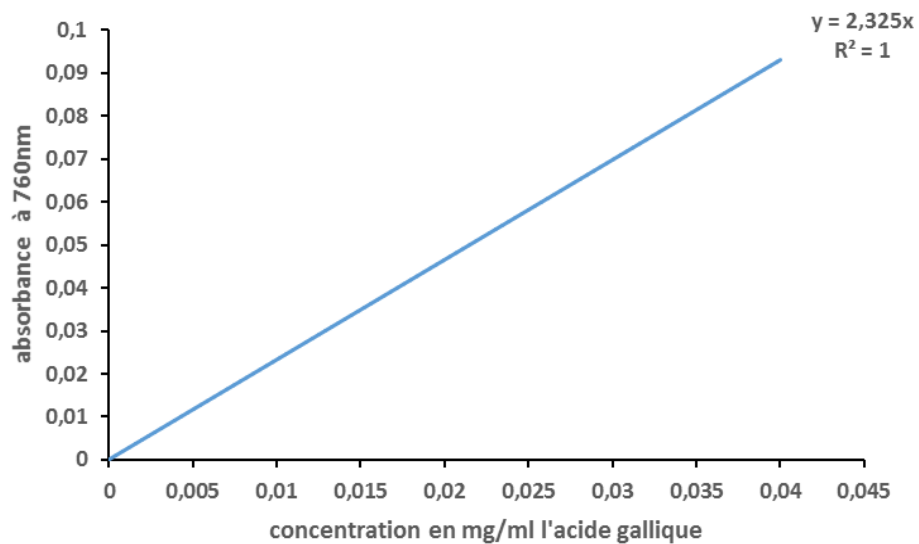
Tableau 4 : la gamme d'étalonnage de la BSA

Concentrations en (mg/100ml)	0	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008
Volume de la solution mère en µl	0	100	200	300	400	500	600	700	800
Volume d'eau distillée en µl	1000	900	800	700	600	500	400	300	200

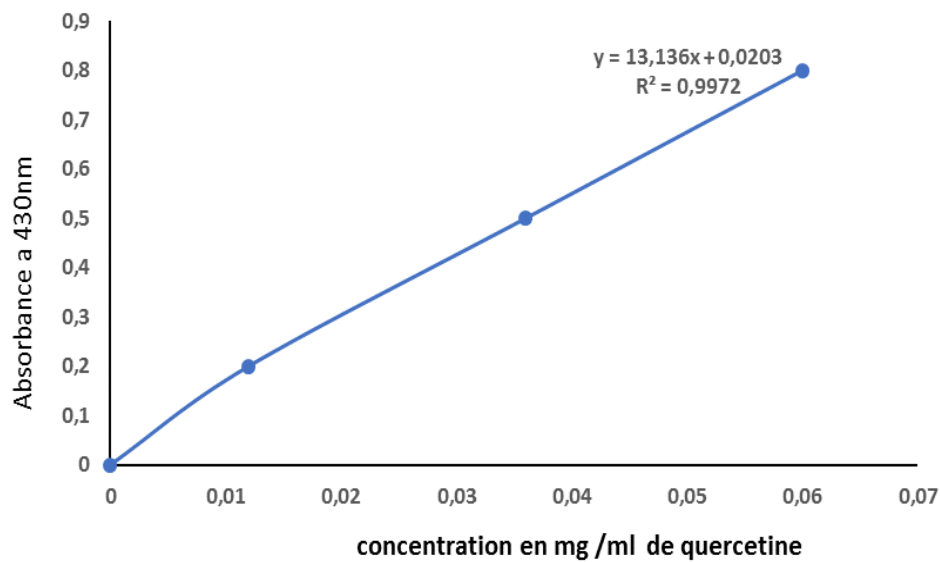
Annexe 02

Représentation des courbes d'étalonnage

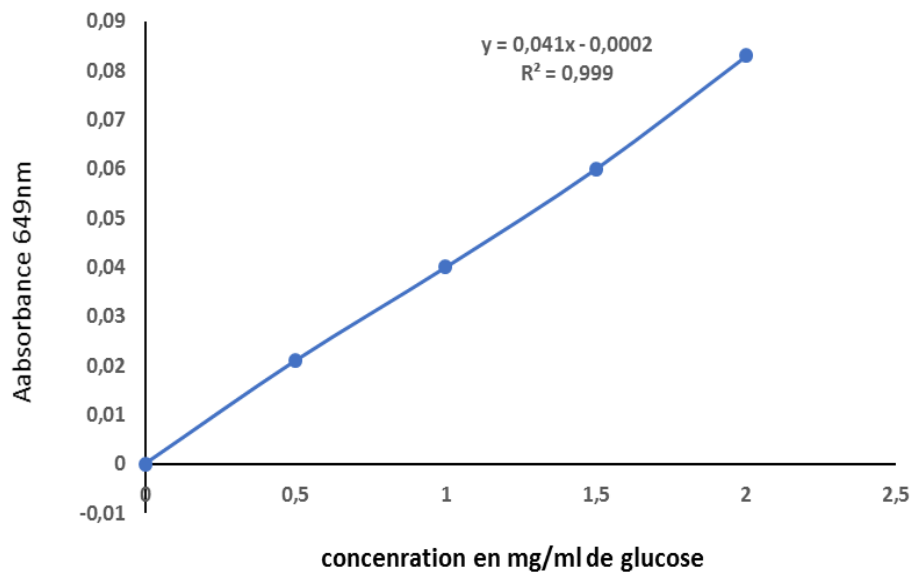
1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



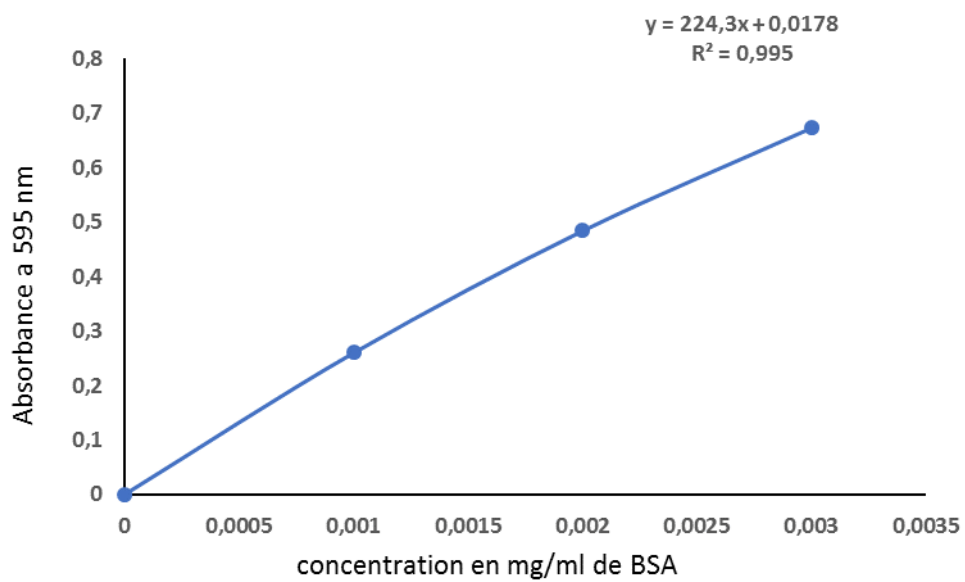
2. Courbe d'étalonnage de la quercétine



3. Courbe d'étalonnage de glucose



4. Courbe d'étalonnage de BSA



Annexe 03

Composition et préparation des milieux

Milieux	Composition	Préparation
Gélose nutritive	Chlorure de sodium...5g/l Extrait de viande ...1,5g/l Extrait de levure ... 1,5G/L Agar15g/l Peptone.....5g/l pH= 7,4±0,2	Mélanger 8 g du milieu déshydraté dans 1 L d'eau distillée, agitation et chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
Mueller Hinton	Infusât de viande 2g/l Peptone 17,5g/l Amidon 1,5g/l Agar 17g/l pH=7,3±0,2	Mélanger 28 g du milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée, agitation et chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
EMB	Hydrogène phosphate dipotassique 2g/l Bleu de méthylène 0,065g/l Peptone 10g/l Lactose 5g/l Saccharose 5g/l Agar 13,5g/l PH=7,2±0,2	Mélanger 35,96g du milieu déshydraté dans 1L d'eau distillée, agitation et chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
Chapman	Chlorure de sodium ...75g/l Digéré peptique de tissu animal 5g/l Digéré pancréatique de caséine 5g/l Mannitol 10g/l Extrait de viande 1g/l Rouge de phénol 0,025g/l Agar 15g/L pH=7,4	Mélanger 11,02 g/l dans 1L d'eau distillée, agitation chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
BHIB	Infusion de cervelle de veau 200g/l Infusion de cœur de Bœuf 250g/l Chlorure de sodium 5g/l Protéose peptone 10g/l Phosphate disodique 2,5g/l Glucose 2g/l	Mélanger 37g du milieu déshydraté dans 1L d'eau distillée, agitation et chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

	pH=7,2±0,2		
Rouge Congo	BHIB	35g/l	Les quantités citées sans suffisante pour 1L d'eau distillée, agitation et chauffage sur l'agitateur à plaque chauffante et enfin stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
	Saccharose	50g/l	
	Agar	10g/l	
	Rouge Congo pH=7,4g/l	0,8g/l	

Résumé :

Cette présente étude a pour but la détermination du pouvoir antibactérien et anti adhésif de deux plantes médicinales: *Rosa canina* et *Rubus fruticosus* sur les souche de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, par réalisation de plusieurs tests : test de diffusion (puits , disques) et test de spots et des test d'anti adhésion sur microplaques à 96 puits avec l'utilisation de deux différentes méthodes d'extraction :la macération et l'infusion afin de comparer leurs efficacité .

Les résultats indiquent que les deux plantes ont une activité antibactérienne envers toutes les souches utilisées, mais plus élevée chez *Rubus fruticosus*. La souche de *Staphylococcus* a montré une sensibilité à l'extrait concentré du fruit de *Rosa canina* et *Pseudomonas aeruginosa*. En ce qui concerne le pouvoir antiadhésif, il est présent chez les extraits de *Rubus fruticosus* et chez l'extrait du fruit de *Rosa canina*. Quant aux méthodes d'extraction, la macération s'est avérée plus appropriée pour extraire les flavonoïdes et les protéines. En fin de compte, les résultats indiquent que ces deux plantes pourraient être utilisées comme des alternatives aux antibiotiques conventionnels.

Mots clés : Pouvoir antibactérien, Pouvoir antiadhésif, *Rubus fruticosus*, *Rosa canina*.

Abstract:

The aim of this study is to determine the antibacterial and anti-adhesive power of two medicinal plants : *Rosa canina* and *Rubus fruticosus* on strains of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, by the achievement of several tests : diffusion tests (wells, discs) and spot tests, and anti-adhesion tests on 96-well microplates using two different extraction methods : maceration and infusion to compare their efficiency.

The results showed antibacterial activity for both plants with regard to all the strains used, but stronger for *Rubus fruticosus*, the *Staphylococcus* strain showed sensitivity to the concentrated extract of *Rosa canina* fruit and also *Pseudomonas aeruginosa*, with regard to anti-adhesive power, It is present in *Rubus fruticosus* extracts as well as in *Rosa canina* fruit extracts, in addition to extraction methods, maceration proved to be more efficient for extracting flavonoids and proteins. Finally, the results suggest that these two plants could potentially be used as alternatives to conventional antibiotics.

Keywords: Antibacterial power, anti-adhesive power, *Rubus fruticosus*, *Rosa canina*.