

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

**GACI Lydia et LAMAMRA Katia**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master Professionnel**

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et santé

Thème

**Évaluation du potentiel antimicrobien des extraits de la Ronce et l'Églantier à l'égard des bactéries isolées des angines infantiles**

Soutenu le : 02/07/2024

Devant le Jury composé de :

**Nom et Prénom**

**Grade**

**Qualité**

Mme MHENNI CH.

MCB

Présidente

Mme BENACHOUR K.

MAA

Encadrante

Mme BOUKTIT N.

MAA

Examinatrice

**Année Universitaire : 2023/2024**

# *Remerciements*

*On remercie Dieu qui nous a donné la santé et la volonté pour accomplir ce mémoire.*

*On remercie chaleureusement madame Benachour Karima et on est reconnaissantes pour sa disponibilité et bienveillance, ainsi que pour ses qualités pédagogiques, travailler sous son aile était une expérience exceptionnelle.*

*Nos sincères remerciements pour les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.*

*On tient à exprimer nos remerciements et notre gratitude à nos chers parents, familles et amis, qui nous ont tous soutenues pour en arriver à ce stade.*

*G. Lydia & L. Katia*

## *Dédicaces*

*Aux êtres les plus chers : ma famille*

*A mon père,*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance, J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts*

*A ma mère et ma grand-mère,*

*Pour leur affection, leur patience, leur compréhension*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous protège et vous garde en bonne santé*

*A mon cher frère et mes sœurs,*

*Pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

*A mon mari,*

*Pour son soutien infini et son encouragement, que dieu te protège*

*A mon Binôme,*

*Pour sa positivité et sa compagnie*

*A mes amies,*

*A ma grande famille et camarades*

*Lydia*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*À ma chère mère, dont la bienveillance et la force ont toujours été un phare dans ma vie, je suis reconnaissante pour tout ce que tu as sacrifié et offert pour moi. Ta présence est un soutien inébranlable que je chéris chaque jour.*

*À mon cher père, dont la sagesse et la détermination m'ont toujours inspirée, merci pour ton exemple et tes conseils éclairés qui ont façonné ma vision du monde. Ta force et ton soutien ont été des piliers essentiels dans ma vie.*

*À tous les deux, je vous aime profondément et je suis honorée d'avoir été guidée par votre amour et votre dévouement sans faille.*

*À mon cher frère et à mes sœurs bien-aimées, compagnons de souvenirs précieux, vous êtes mes alliés dans chaque étape de la vie. Votre présence joyeuse et vos sourires sincères illuminent mes journées. Merci d'être toujours là, de m'inspirer et de rendre chaque jour plus lumineux.*

*À mes amis, compagnons de rire, de découvertes et de confidences, votre présence illumine mes journées et rend chaque moment spécial.*

*À mon binôme, partenaire de travail et d'aventures.*

*Merci à chacun de vous d'avoir enrichi ma vie de votre amour et de votre soutien.*

*Katia*

# *Sommaire*

---

**Remerciements**  
**Dédicaces**  
**Sommaire**  
**Liste d'abréviation**  
**Liste des tableaux**  
**Liste des figures**

Introduction.....	1
Partie I: synthèse bibliographique	
I. Plantes médicinales.....	3
I.1. Intérêt des plantes médicinales.....	3
I.2. Ronce ( <i>Rubus fruticosus. L.</i> ).....	4
I.2.1. Classification.....	4
I.2.2. Distribution mondiale.....	5
I.2.3. Composition phytochimique.....	5
I.2.4. Usage de la ronce.....	6
I.3. Eglantier ( <i>Rosa canina</i> ).....	7
I.3.1. Classification.....	7
I.3.2. Distribution mondiale.....	8
I.3.3. Composition phytochimique.....	8
I.3.4. Usage de <i>Rosa canina</i> .....	9
I.4. Activité antimicrobienne.....	10
I.4.1. exemple de mécanismes d'action des composés de plantes.....	11
II. Angines.....	11
II.1. Types d'angines selon l'agent pathogène.....	11
II.1.1. Angine virale.....	11
II.1.2. Angine bactérienne.....	12
Partie II : matériels et méthodes	
I. Matériel végétale.....	13
I.1. Récolte des échantillons.....	13
I.2. Traitement des échantillons.....	13
I.3. Extraction des composants bioactifs.....	14
I.4. Détermination du rendement d'extraction.....	15
I.5. Etude phytochimique des extraits.....	15

I.5.1. Dosage des phénols totaux : Indice du Follin Ciocalteu.....	15
I.5.2. Dosage des flavonoides .....	16
I.5.3. Dosage des protéines (Méthode de Bradford).....	17
I.5.4. Dosage des sucres.....	18
II. Etude de l'effet antibactérien .....	19
II.1. Souches bactériennes testées.....	19
II.1.1. Revivification des souches .....	20
II.1.2. vérification de la pureté des souches.....	20
II.2. Préparation des pré-cultures.....	20
II.3. Standardisation des suspensions bactériennes.....	21
II.4. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques .....	21
II.5. Tests antibactériens .....	21
II.5.1. Test de disques .....	21
II.5.2. Test de puits.....	22
II.5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	22
II.5.4. Effet antibactérien dans un milieu liquide (microplaques).....	23
III. Dosage des protéines dans les surnageants (méthode de Bradford).....	24
<b>Partie III : Résultats et discussion</b>	
I. Rendement d'extraction .....	26
II. Dosage des extraits .....	27
II.1. Dosage des phénols totaux.....	27
II.2. Dosage des flavonoïdes.....	29
II.3. Dosage des protéines .....	30
II.4. Dosage des sucres .....	31
III. Vérification de la pureté des souches.....	32
IV. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques .....	32
V. Effet antibactérien.....	34
V.1. Test des disques .....	34
V.2. Test des puits.....	37
V.3. Détermination de la CMI.....	38

V.4. Effet antibactérien dans un milieu liquide (microplaques).....	40
VI. Dosage des protéines dans les surnageants (méthode de Bradford).....	44
Conclusion.....	46

**Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

## Liste d'abréviation

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**TCAC** : Taux de Croissance Annuel Composé

**SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la méthicilline

**CDC**: Centers for Disease Control and Prevention

**PBP**: Penicillin-Binding Proteins

**EBV** : Virus Epstein-Barr

**SGA** : *Streptocoque* du groupe A

**EqAG** : Equivalent d'acide gallique

**EqQ**: Equivalent de la quercétine

**BSA**: Bovin serum albumine

**BHIB**: Brain Heart Infusion Broth

**MH** : Mueller-Hinton

**Ta** : Température ambiante

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**EUCAST**: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classification de la ronce.....	4
<b>Tableau II</b> : Classification de l'égantier.....	7
<b>Tableau III</b> : Composition phytochimique de l'égantier.....	8
<b>Tableau IV</b> : Extraits obtenus par les deux méthodes.....	14
<b>Tableau V</b> : Liste des souches bactériennes étudiées.....	20
<b>Tableau VI</b> : Extraits utilisés pour déterminé la CMI.....	22
<b>Tableau VII</b> : Extraits utilisés dans les microplaques.....	24
<b>Tableau VIII</b> : Antibiogramme des souches étudiées.....	32
<b>Tableau IX</b> : Résultats du test des disques.....	34
<b>Tableau X</b> : Résultats de test des puits.....	37
<b>Tableau XI</b> : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents extraits testés contre les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
<b>Tableau XII</b> : Résultats de la microplaque 1.....	40
<b>Tableau XIII</b> : Résultats de la microplaque 2.....	41
<b>Tableau XIV</b> : Résultats de la microplaque 3.....	43

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Image de <i>Rubus fruticosus L.</i> .....	4
<b>Figure 02</b> : Distribution mondiale de la ronce.....	5
<b>Figure 03</b> : Image de <i>Rosa canina L.</i> .....	7
<b>Figure 04</b> : Distribution mondiale de l'églantier.....	8
<b>Figure 05</b> : Sites de collecte des plantes.....	13
<b>Figure 06</b> : Protocole de dosage des phénols totaux.....	16
<b>Figure 07</b> : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	17
<b>Figure 08</b> : Protocole de dosage des protéines.....	18
<b>Figure 09</b> : Protocole de dosage des sucres.....	19
<b>Figure 10</b> : Histogramme du rendement d'extraction des différents extraits.....	26
<b>Figure 11</b> : Histogramme de teneur en phénols totaux dans les extraits.....	27
<b>Figure 12</b> : Histogramme de teneur en flavonoïdes dans les extraits.....	29
<b>Figure 13</b> : Histogramme de teneur en protéines dans les extraits.....	30
<b>Figure 14</b> : Histogramme de teneur en sucres dans les extraits.....	31
<b>Figure 15</b> : Histogramme de teneurs en protéines dans les surnageants.....	44

# *Introduction*

---

Les plantes médicinales constituent un patrimoine et une richesse inestimables pour l'Humanité (Salhi et al., 2010). L'Humanité a découvert dans ces plantes une variété de composants bioactifs tels que les flavonoïdes et phénols qui ont un pouvoir bénéfique sur la santé (Calixto, 2000).

L'utilisation croissante de végétaux à des fins médicinales est observable à l'échelle mondiale. Cette tendance repose essentiellement sur la conviction que les plantes offrent une approche naturelle pour soulager la douleur et favoriser la santé Humaine (Bouacheriene et Benrabia., 2017).

Le monde compte environ 500 000 plantes, parmi ce nombre environ 80 000 espèces ont des propriétés thérapeutiques et pharmaceutique (Atia et Boudjema, 2021).

En Algérie il existe 3000 espèces de plantes médicinales environ utilisées en médecine traditionnelle et moderne (Bouzid et al., 2017).

Selon l'OMS, 70 à 80% de la population mondiale utilise des plantes médicinales pour se soigner (Chan, 2003). Au cours des dernières années, le marché des plantes médicinales a fortement progressé, affichant un taux de croissance annuel composé (TCAC) de 10,1 % selon **Herbal Medicine Global Market Report 2024**.

La ronce est connue pour ces propriétés qui peuvent soulager les irritations de la gorge (Chevallier, 2016). L'églantier est riche en vitamine C, polyphénols et flavonoïdes, ces composés aident à renforcer le système immunitaire et combattre les bactéries y compris celles responsables des infections de la gorge (Chrubasik et al., 2008).

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de deux plantes médicinales la ronce « *Rubus fruticosus* » et l'églantier « *Rosa canina* » sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) isolées des angines infantiles. Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de Microbiologie du département de biotechnologie et se compose de trois parties essentielles :

- La première partie est la synthèse bibliographique qui est axée sur la description botanique, la classification, la distribution géographique, et la composition phytochimique de *Rosa canina* et *Rubus fruticosus*.

- La deuxième partie décrit les protocoles utilisés pour l'extraction des composés bioactifs, la vérification de la pureté de nos souches bactériennes, ainsi que l'étude des effets antibactériens des extraits de plantes.
- La troisième partie présente les résultats obtenus et leurs interprétations, enfin une conclusion et des perspectives sont proposées.

# *Partie I; Synthèse bibliographique*

---

### I. Plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante ou une partie de plante dotée de propriétés thérapeutiques dues à l'interaction de ses composés actifs, sans effets néfastes aux doses recommandées (**Benouattas et Benzina, 2021**).

Le Papyrus Eber est le document le plus ancien écrit par les égyptiens, il remonte vers 1500 avant J-C, et répertorie une douzaine de plantes médicinales, décrivant leur mode d'utilisation, et les rituels associés à leur usage. L'ouvrage "De Materia Medica" de Dioscoride, décrivant les médicaments à base de plantes utilisés à son époque, est resté une référence essentielle pour les médecins jusqu'au début du 17e siècle. À partir du 19e siècle, les chimistes ont isolé les principes actifs des plantes, permettant une utilisation plus efficace de leurs propriétés thérapeutiques (**Chevallier, 2014**).

#### I.1.Intérêt des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont essentielles en recherche pharmacologique et dans la création de médicaments, utilisées à la fois comme agents thérapeutiques directs et comme matériaux pour fabriquer des médicaments ou créer des composés actifs (**Bediar, 2022**).

La base principale de cette utilisation repose sur l'idée que les plantes offrent un traitement naturel sans risque. Les traditions humaines ont progressivement étendu la compréhension et l'utilisation des plantes médicinales (**Bouacheriene et Benrabria, 2017**).

## I.2. Ronce (*Rubus fruticosus L.*)

*Rubus fruticosus L.* appartient à la famille des Rosacées (Akyüz, 2022) est une plante grimpante de 1 à 3 mètres de hauteur (Figure 01). Ses tiges sont ligneuses et épineuses, ses feuilles palmées vertes foncées. Ses fleurs sont de couleur blanche ou rose et ses fruits comestibles (les mûres) sont de couleur rouge foncé à noir (Wehrlen, 1985). Ses fruits originaires d'Arménie sont maintenant répandus dans plusieurs régions du monde (Akyüz, 2022).



Figure 01 : Image de *Rubus fruticosus L.*

(<https://thymeandlove.com/blackberry-agua-fresca/>)

Plusieurs appellations sont attribuées à cette plante : Ronce, Ronce arbrisseau, Aronce, Catimuron, Mûrier sauvage, Mûrier des haies, Mûrier de renard, Mûron, Mûre (Wehrlen, 1985).

### I.2.1. Classification

Tableau I : Classification de la ronce (Tutin et al., 1968).

<b>Royaume</b>	<i>Plantae</i>
<b>Division</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Angiospermae</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Dicotyledone</i>
<b>Ordre</b>	<i>Rosales</i>
<b>Famille</b>	<i>Rosaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Rubus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rubus fruticosus</i>

### I.2.2. Distribution mondiale

La ronce est répondeu entre le 30e et le 65e parallèle au nord et entre le 28e et le 40e parallèle au sud, se retrouvant dans divers habitats : en Europe, en Afrique du Nord, en Afrique australe, dans le Sud-Est de l'Australie, en Nouvelle-Zélande, (Wehrle, 1985). En Asie, et en Amérique du nord et du sud (Zia-Ul-Haq et al., 2014). La figure 02 représente la répartition géographique de la ronce.



Figure 02 : Distribution mondiale de la ronce (Notre propre synthèse).

### I.2.3. Composition phytochimique

La ronce contient des flavonoïdes, de l'acide ellagique et des tanins (Gudej et Tomczy, 2004), les anthocianes (Mertz et al., 2009). Parmi les phénols présents, on trouve l'acide gallique, l'acide caféique, la catéchine et la quercétine (Radovanović et al., 2013). Elle est également une source de caroténoïdes, incluant la lutéine, le  $\beta$ -carotène et la zéaxanthine (Marinova et Ribarova, 2007).

Les différentes parties de *Rubus fruticosus* ont des fonctions spécifiques selon leur différence de composition. Cette différence de composition varie selon plusieurs facteurs selon Abbassi & Absi (2022) :

- La biosynthèse et l'accumulation de métabolites secondaires sont strictement contrôlées de manière localisée et temporelle, influencées par l'évolution de l'environnement abiotique et biotique.
- Les conditions environnementales telles que la température, la lumière (y compris les UV), le dioxyde de carbone, et les stress du sol (comme la sécheresse) modulent la synthèse et l'accumulation de métabolites secondaires induisant des réponses métaboliques spécifiques en augmentant parfois la production de métabolites protecteurs comme les lactones et les acides phénoliques.
- La température affecte significativement l'activité métabolique et peut influencer la synthèse de composés tels que les alcaloïdes et les acides gras insaturés.
- La lumière et les rayonnements UV jouent un rôle crucial dans la régulation des niveaux de flavonoïdes et d'autres métabolites, avec des effets différents selon l'intensité lumineuse et les longueurs d'onde spécifiques.
- Le dioxyde de carbone atmosphérique et la fertilité du sol affectent également la composition métabolique des plantes, influençant la production de composés bioactifs.

### I.2.4. Usage de la ronce

Historiquement, les fruits de la ronce ont été utilisés en Chine comme tonique naturel pour traiter de nombreuses affections.

- La ronce présente des effets antioxydants, anti-inflammatoires, anti-ulcères gastriques, antitumoraux, anti-âge, anti-hyperglycémiques, anti-hypertension, et anti-obésité (**Gao et al., 2023**).
- Le fruit est utilisé dans des produits cosmétiques en raison de ses nutriments et composés bioactifs, dans les salades, les produits de boulangerie, les confitures, les desserts et les conserves de fruits (**Zia-Ul-Haq et al., 2014**).
- Les feuilles de *Rubus fruticosus* sont efficaces dans le traitement des inflammations des gencives, des ulcères buccaux et de la toux grâce à leurs propriétés antidiabétiques, dépuratives et astringentes (**Zia-Ul-Haq et al., 2014**).

### I.3. Églantier (*Rosa canina* .L)

L'églantier est une plante grimpante vivace pouvant atteindre 3 mètres de haut. Elle possède des rameaux dressés et retombants, des feuilles pennées, des fleurs rosées ou blanches, et des fruits rouges (figure 03) (Chevallier, 2001).



Figure 03 : Image de *Rosa canina* L.

(<https://www.wildflowersprovence.fr/plant/rosa-canina/>)

Selon « le guide des arbres et des arbustes publiés en 2003 », l'églantier possède plusieurs appellations : Églantier des chiens, rosier des chiens, rosier sauvage, rosier des haies.

#### I.3.1. Classification

Tableau II : Classification de l'églantier (Tutin et al., 1968)

<b>Royaume</b>	<i>Plantae</i>
<b>Division</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Angiospermae</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Dicotyledone</i>
<b>Ordre</b>	<i>Rosales</i>
<b>Famille</b>	<i>Rosaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Rosa</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosa Canina</i>

### I.3.2. Distribution mondiale

L'églantier est originaire d'Europe et des régions tempérées d'Asie et d'Afrique du Nord, l'églantier pousse en bordure des haies, dans les fourrés et sur les friches (Chevalier, 2001). *Rosa canina* est fréquemment observée dans la région du Tell en Algérie. On peut la trouver le long des haies, au bord des routes, dans les broussailles et les forêts de cette région (Kaabeche, 2022) (Figure 04).

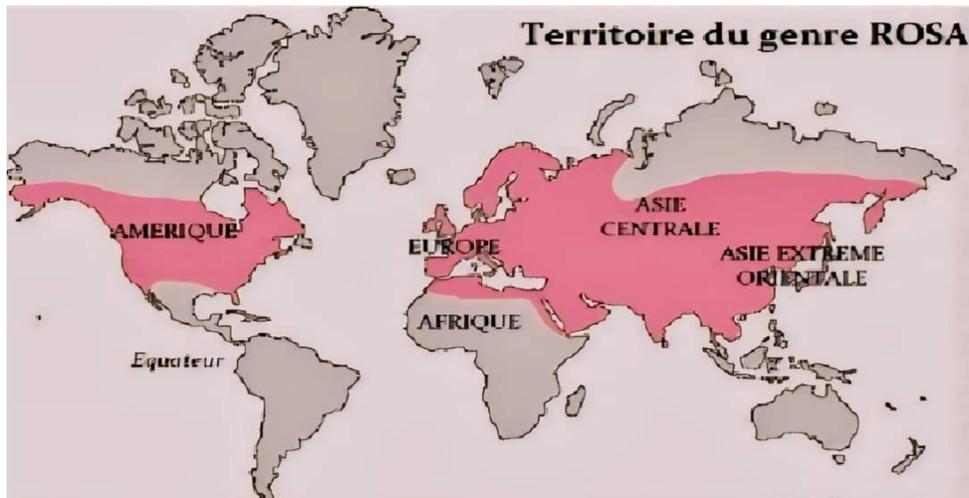


Figure 04 : Distribution mondiale de l'églantier (Magnier, 2016)

### I.3.3. Composition phytochimique

La composition phytochimique de l'églantier est illustrée dans le tableau III.

Tableau III : Composition phytochimique de l'églantier.

Partie de la plante	Composants	Référence
Fruit (cynorrhodon)	Vitamine C (jusqu'à 1,25 %), A, B1, B2, P, et K	(Chevalier, 2001)
	Flavonoïdes	
	Tanins (2 à 3 %)	
	Acides malique et citrique	
	Caroténoïdes	
	Huile essentielle	
	D-sorbitol	

<b>Grains</b>	<p><b>Acides Gras Polyinsaturés :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Acide linoléique (45-55%).</li> <li>▪ Acide <math>\alpha</math>-linoléique (18-32%).</li> <li>▪ Acide oléique (13-20%).</li> </ul>	<b>(Koczka et al., 2018).</b>
<b>Autres parties de la plante</b>	<b>Vitamines</b> (C, A, B1, B2, B6, D, E, et K)	<b>(Koczka et al., 2018).</b>
	<b>Caroténoïdes</b> (Lycopène, $\beta$ -cryptoxanthine, $\beta$ -carotène, Rubixanthine, Gazaniaxanthine, Zéaxanthine)	
	<b>Pectine</b>	
	<b>Sucres</b> (fructose et glucose)	
	<b>Huiles essentielles</b>	
	<b>Minéraux</b> (Phosphore, Potassium, Calcium, Magnésium, Manganèse, Zinc)	
	<b>Composés Phénoliques</b> (Tannins, Flavonoïdes, Acides phénoliques, Anthocyanines)	

### **I.3.4. Usage de *Rosa canina*. L**

*Rosa canina* est une plante très utilisée en phytothérapie et en cosmétique pour ses nombreuses propriétés bénéfiques. Les fleurs esthétiques sont utilisées comme garniture dans les salades et les desserts. Les cynorrhodons sont exploités dans diverses préparations telles que le sirop, la confiture, la gelée, la soupe et la tisane. Ils se distinguent par leur haute teneur en vitamine C, environ 20 fois supérieure à celle des agrumes, ce qui en fait une des sources les plus significatives de cette vitamine connues à ce jour (Couplan et Doux, 2007).

Les tanins contenus dans le fruit en font un remède doux contre la diarrhée. De plus, le fruit est efficace pour éteindre la soif et apaiser les inflammations gastriques (**Chevalier, 2001**).

Les cynorrhodons renforcent le système veineux avec leurs proanthocyanidols et tanins condensés, offrent une action anti-diarrhéique et adoucissante pour le système digestif, sont utiles contre les inflammations urinaires, et possèdent des propriétés anti-inflammatoires articulaires. Les poils présents dans les cynorrhodons ont une action antiparasitaire en aidant à éliminer les vers intestinaux et les oxyures (**Bernard, 2019**).

### **I.4. Activité antibactérienne**

Des décennies après les premiers traitements aux antibiotiques, les infections bactériennes sont redevenues une menace en raison de l'émergence rapide de bactéries résistantes. Cette crise est largement attribuée à l'abus des antibiotiques et à un manque de développement de nouveaux médicaments (**Ventola, 2015**).

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) est largement répandu à travers le globe, particulièrement en Europe, en Amérique et en Asie-Pacifique (**Ventola, 2015**). Les infections causées par le SARM représentent une menace sérieuse en raison de leur résistance aux antibiotiques, constituant ainsi l'une des résistances les plus fréquentes et graves à ces médicaments (**CDC, 2013**).

Les composés dérivés de plantes sont prometteurs dans la lutte contre les infections bactériennes. Ces composés, offrent divers avantages tels que des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques bénéfiques. Ils possèdent deux types d'activités contre les bactéries : Activité antibactérienne intrinsèque et une activité de modification de la résistance aux antibiotiques, en effet lorsqu'ils sont utilisés en combinaison avec des antibiotiques, ils peuvent aider à surmonter la résistance des bactéries.

Ces composés phytochimiques de plantes agissent sur les bactéries en endommageant la membrane cellulaire bactérienne, en inhibant des EP et la biosynthèse de l'ADN et des protéines (**Khameneh et al., 2019**).

### **I.4.1.Exemple de mécanismes d'action des composés de plantes (Khameneh et al., 2019)**

La plupart des alcaloïdes exercent leur activité antibactérienne en inhibant les EPI (pompes à efflux), ce qui est considéré comme un mécanisme putatif de leur fonctionnalité antibactérienne. Par exemple : la coadministration de pipérine (alcaloïde isolé de *Piper nigrum* et *Piper longum*) avec la gentamicine a montré son efficacité contre une infection impliquant le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

Parmi les mécanismes les plus significatifs des composés phénoliques, on trouve la diminution de l'activité des pompes d'efflux (EP) et l'action des brins EPI.

## **II. Angines**

L'angine, est une maladie saisonnière bénigne (Malbos, 2022). Également appelée amygdalite ou pharyngo-amygdalite aiguë, est une inflammation aiguë de la muqueuse pharyngée ou des amygdales (Couloigner, 2021). Les amygdales ont un rôle dans la défense du système immunitaire : elles possèdent des défenses locales comprenant un épithélium interne squameux qui produit des antigènes participant aux réponses des cellules B et T (MSD Manuals, 2024).

### **II.1. Types d'angines selon l'agent pathogène**

#### **II.1.1. Angines virales**

Elles sont l'une des causes de pathologie chez 60 à 90% de malades selon l'âge. Ce type d'angine est causée par des virus tels que : le virus Epstein-Barr (EBV), les adénovirus, les virus influenza, les virus influenza, le virus respiratoire syncytial, les rhinovirus et virus de l'herpès (Timsit, 2023).

### II.1.2. Angines bactériennes

Les infections bactériennes causant des angines sont peu fréquentes chez les enfants de moins de 3 ans. Le principal agent causal de ce type d'angine est généralement *Streptococcus pyogènes*, également connu sous le nom de *streptocoque β-hémolytique* du groupe A (SGA). Cette dernière est la cause d'angine chez 25 et 40 % d'enfants. De plus, ces infections sont les plus fréquentes chez les enfants âgés de 4 à 15 ans, période pendant laquelle l'incidence des angines causées par cette bactérie est à son maximum (**Timsit, 2023**).

Bien que *Streptococcus* soit le genre bactérien considéré comme le plus répondu comme cause de la pharyngite, on retrouve aussi d'autres bactéries telles que *staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, et *Chlamydia pneumonia*

(**MSD Manuals, 2024**).

## *Partie II: Matériels et méthodes*

---

Cette étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de Microbiologie du département de Biotechnologie, à l'université Abderrahmane Mira de Bejaia, durant la période allant du 06 mars au 03 juin 2024.

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de deux plantes médicinales « la ronce » et « l'églantier » sur les souches de *Staphylococcus aureus* Résistant à la méthicilline (SARM), isolées des angines infantiles.

### I. Matériel végétal

#### I.1. Récolte des échantillons

Cette recherche a été menée sur 700 g de feuilles de deux plantes médicinales *Rubus fruticosus* et *Rosa canina*, et 200 g de fruits cette dernière (cynorrhodon) ; qui proviennent de deux régions différentes Tahamamth à Amizour) et El Fley à Sidi Aich dans la Wilaya de Bejaia ; elles ont été effectuées entre le 28 février et le 5 mars 2024.

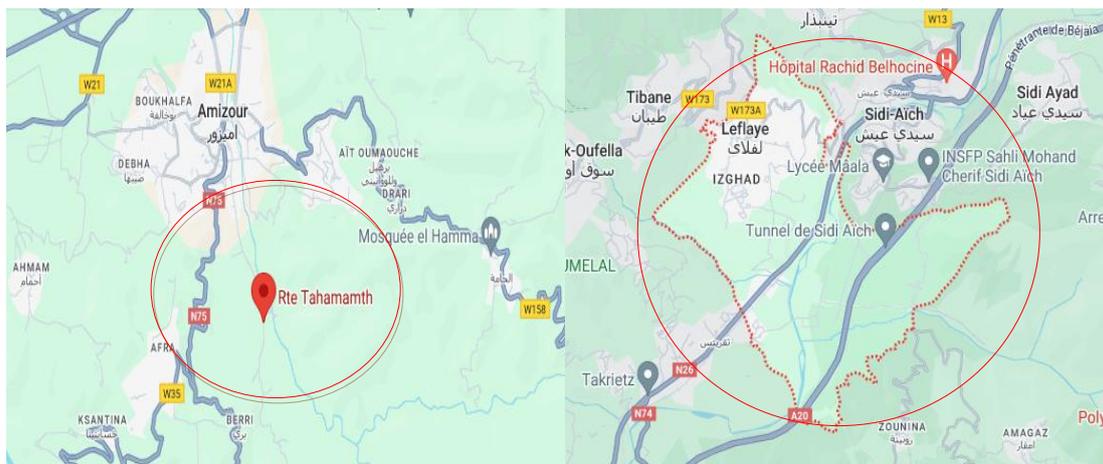


Figure 05 : Sites de collecte des plantes

#### I.2. Traitement des échantillons

•**Séchage** : Après avoir bien lavé les échantillons avec l'eau afin d'enlever toute trace d'impureté, on procède au séchage :

-Les échantillons récoltés dans la région d'Amizour ont été séchés dans une étuve à 45°C pendant 48 heures.

-Les échantillons récoltés à El Fley ont été séchés comme suit : la moitié dans une étuve à 45°C pendant 48heures, l'autre moitié à température ambiante pendant 5 jours.

•**Broyage** : Les échantillons secs obtenus après le séchage ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique.

•**Tamisage** : Après le broyage, nous avons réalisé le tamisage avec un tamiseur manuel. Les poudres obtenues ont été stockées et conservées dans des flacons en verre hermétique à l'abri de la lumière et loin de l'humidité.

### I.3.Extraction des composants bioactifs

Nous avons utilisé l'eau distillée comme solvant d'extraction (milieu aqueux), et deux méthodes : la macération et l'infusion sont appliquées.

**a. Macération aqueuse** : 10 g de la poudre végétale (des feuilles de l'églantier et de la ronce, le cynorhodon) séchée et broyée ont été macérés à température ambiante dans un erlenmeyer avec 100 mL d'eau distillée, ce mélange a été mis sous agitation continue pendant 24 heures. Le macérât obtenue a été filtré avec du papier Wattman. Pour avoir un extrait sec, le filtrat a été mis dans une étuve à 45°C jusqu'au séchage. L'extrait a été récupéré par grattage.

**b. Infusion** : 10 g de poudre végétale (des feuilles de l'églantier et de la ronce, le cynorhodon) ont été mis dans un erlenmeyer avec 100 mL de l'eau distillée bouillante pour infusion jusqu'au refroidissement. Le mélange ainsi obtenu a été filtré avec du papier Wattman et séché dans une étuve à 45°C, afin d'obtenir une poudre par grattage.

- Les poudres obtenues par les deux méthodes ont été pesées puis conservées à l'abri de la lumière et loin de l'humidité (Tableau IV).

**Tableau IV** : Extraits obtenus par les deux méthodes

Extraits	Infusion	Macération
Ronce d'Amizour	I1	M1
Ronce Ta de Sidi-aich	I2	M2
Ronce de Sidi-aich	I3	M3
Eglantier d'Amizour	I4	M4
Eglantier Ta de Sidi-aich	I5	M5
Eglantier de Sidi-aich	I6	M6
Cynorrhodon de Sidi-aich	I7	M7

### I.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction permet d'évaluer l'efficacité d'un processus d'extraction. Il indique la quantité de substance extraite par rapport à la quantité totale de cette substance présente initialement dans le matériau de départ.

Il se calcule généralement par la formule suivante :

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

### I.5. Etude phytochimique des extraits

#### I.5.1. Dosage des phénols totaux : indice de Folin-Ciocalteu

Le taux des phénols totaux a été estimé par la méthode de **Singleton et Rossi. (1965)** rapporté par **Ferreira et collaborateur (2007)**. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Dans un milieu basique le mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_4$ ) du réactif de Folin Ciocalteu est réduit en un mélange d'oxyde bleu de Tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_3$ ) lors de l'oxydation des phénols (**Ribereau-Gayon, 1968**). La coloration bleue qui se produit est plus ou moins foncée selon la concentration des phénols dans l'extrait.

L'indice de Folin Ciocalteu est déterminé sur les échantillons à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax$ ) de l'acide gallique (annexe 05). À partir d'une solution mère de 0,3 mg/mL des dilutions (de 0,02 à 0,3 mg/mL) ont été réalisées. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait de feuilles en poudre (mgEqAG /mg). Le protocole suivi pour doser les phénols totaux est comme suit :

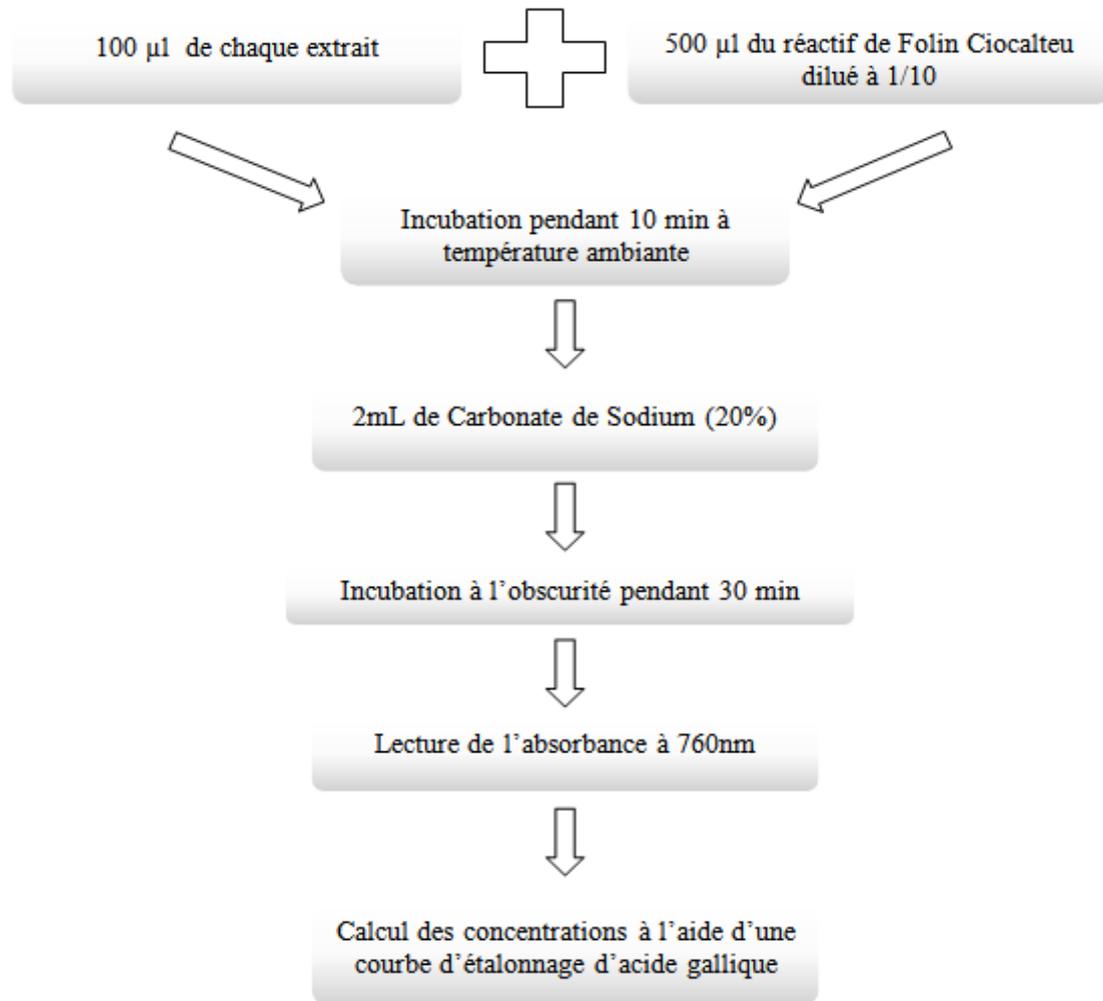


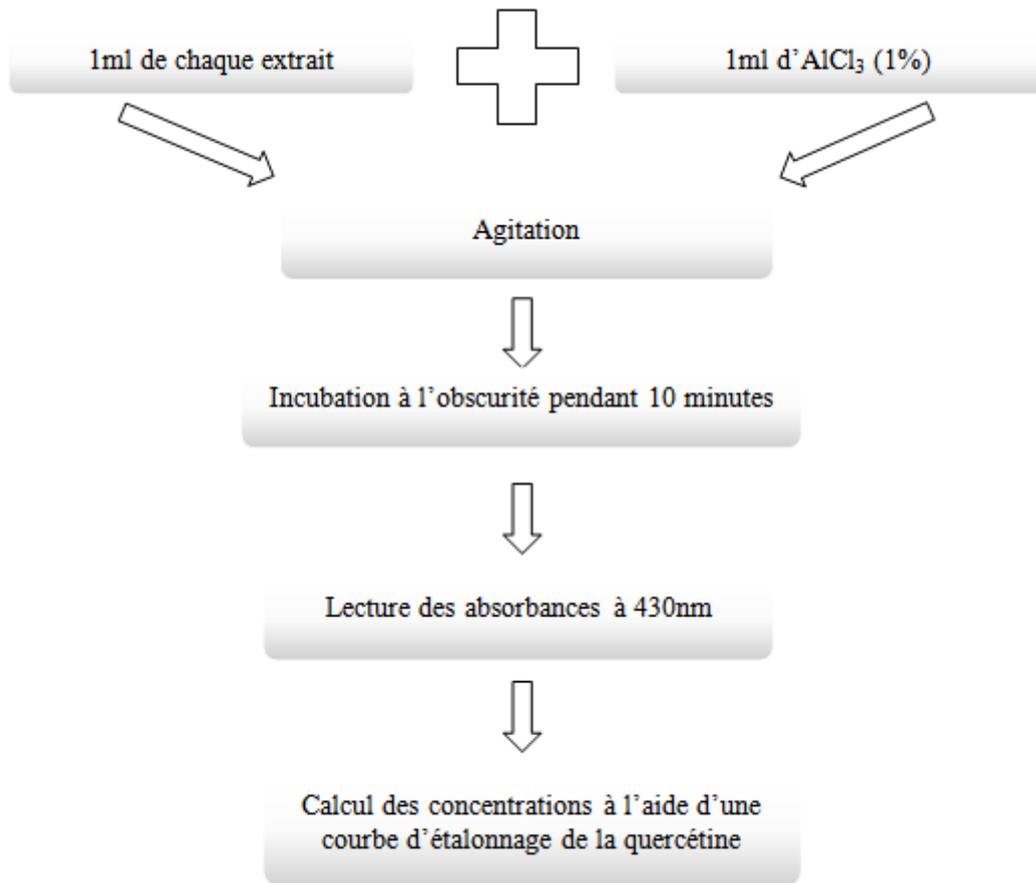
Figure 06 : Protocole de dosage des phénols totaux

### I.5.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode utilisée repose sur le dosage direct par le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Le groupement hydroxyle libre en position 5 que possède les flavonoïdes donne un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $\text{Al}^{+3}$  en présence d' $\text{AlCl}_3$ . La coloration jaune est plus ou moins foncée selon la concentration des flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Le taux de flavonoïdes a été déterminé sur les échantillons à l'aide d'une courbe d'étalonnage ( $y = ax$ ) de la quercitrine (annexe 06). À partir d'une solution mère de 0,12 mg/mL des dilutions de 0,012 mg/mL à 0,12 mg/mL ont été réalisées. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes d'équivalent de quercétine par milligramme

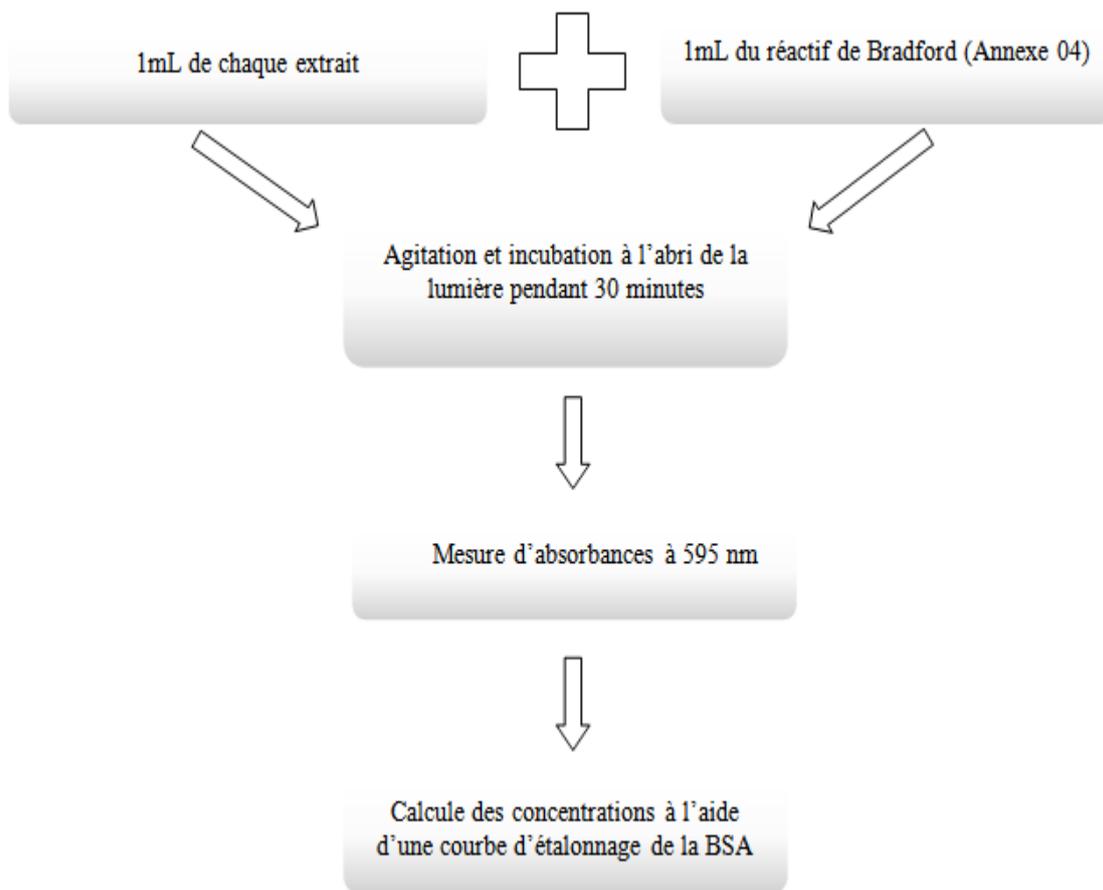
d'extrait (mg équivalent de la quercétine /mg d'extrait). Le protocole suivi pour doser les flavonoïdes est comme suit :



**Figure 07:** Protocole de dosage des flavonoïdes

### I.5.3. Dosage des protéines (méthode de Bradford)

La méthode de Bradford (**Bradford, 1976**) se base sur le changement de la couleur après fixation du colorant bleu de Coomassie G-250, cette dernière se manifeste par le changement de couleur du colorant après fixation sur les acides aminés basiques et les résidus hydrophobes des acides aminés aromatiques présents dans les protéines. Le taux de protéines a été déterminé sur les échantillons à l'aide d'une courbe d'étalonnage ( $y = ax$ ) de la BSA (annexe 07). À partir d'une solution mère de 0,01 g/100 mL de BSA, des dilutions ont été réalisées pour obtenir des concentrations de BSA allant de 0,001 mg/100mL à 0,008 mg/100mL. Le protocole suivi est comme suit :

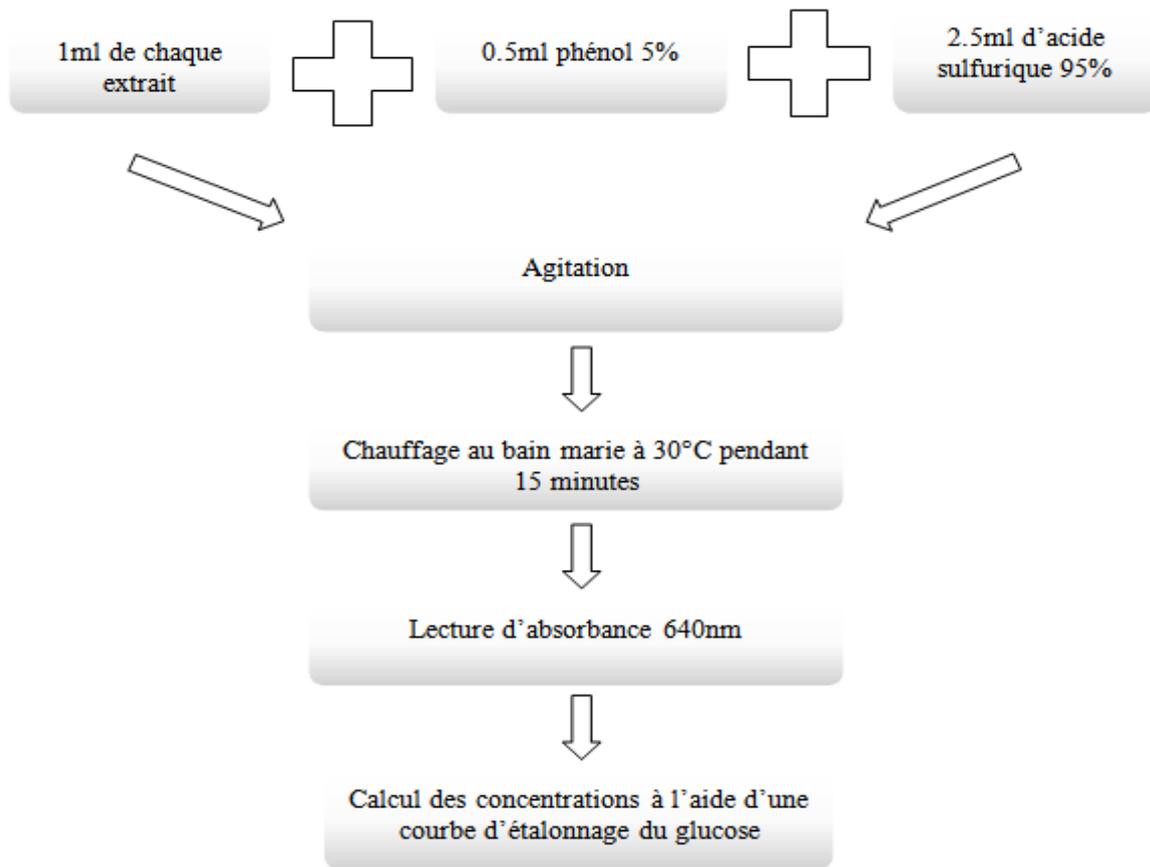


**Figure 08 :** Protocole de dosage des protéines

### I.5.4. Dosage des sucres

La détermination des sucres est basée sur la méthode de **DuBois et collaborateurs (1956)** modifiée qui est une technique classique utilisée pour quantifier les sucres totaux dans une solution. Elle se base sur la réaction entre les sucres et les réactifs à base d'acide sulfurique et de phénol. Cette réaction forme des composés colorés, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en sucres présents.

Le taux de sucres a été déterminé sur les extraits à l'aide d'une courbe d'étalonnage du glucose (annexe 08). A partir d'une solution mère de 3mg/mL, des dilutions ont été réalisées allant de 0,5 mg/mL à 3 mg/mL. Le protocole suivi est comme suit:



**Figure 09:** Protocole de dosage des sucres

## II. Etude de l'effet antibactérien

### II.1. Souches bactériennes testées

Les bactéries qui ont été testées pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de la ronce et de l'églantier sont présentées dans le tableau V.

La composition ainsi que les milieux de culture utilisés dans cette partie sont illustrés dans les annexes 01 et 02.

**Tableau V** : Liste des souches bactériennes étudiées

<b>souche</b>	<b>Référence</b>	<b>Origine</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i> 1	Angines infantiles
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i> 2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	P58 1	
	P58 1'	
	P58 2	
	P58 3	
	P58 4	
	P58 5	
	P59 1	
	P59 2	
	P59 2'	
	P59 3	
	P59 4	

### **II.1.1. Revivification des souches**

Pour revivifier les souches bactériennes qui ont été conservées à 4°C dans Brain Heart Infusion Broth (BHIB), des repiquages successifs sur bouillon nutritif ont été effectués. Le bouillon ainsi inoculé est incubé à 37°C pendant 24 heures pour permettre la croissance bactérienne. Enfin, on vérifie la croissance des bactéries pour s'assurer de leur viabilité.

### **II.1.2. Vérification de la pureté des souches**

Une fois la croissance bactérienne est observée, leur pureté est vérifiée en utilisant la coloration de Gram.

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Chapman et incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour obtenir des colonies. Ensuite des colorations de Gram ont été réalisées (Annexe 09).

### **II.2. Préparation de préculture**

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des tubes stériles contenant le bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24 heures.

### II.3. Standardisation des suspensions bactériennes

Les souches ont été diluées à 1/10 dans l'eau physiologique stérile (Annexe 03). La suspension bactérienne est bien homogénéisée. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 600 nm et doit être comprise entre 0,08 à 0,10.

### II.4. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques : Antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des bactéries utilisées et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts.

Trois antibiotiques différents ont été utilisés : ceftazidime (Caz 30µg), amoxicilline (AUG 30µg), cefoxitine (Fox 30µg). Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé Mueller-Hinton (MH), préalablement ensemencé par écouvillonnage avec des cultures bactériennes standardisées, les boîtes ont été ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h.

### II.5. Tests antibactériens

#### II.5.1. Test de disques

La gélose Mueller-Hinton, a été versée dans des boîtes de Pétri et laissée à solidifier à température ambiante, sa surface a été uniformément ensemencée avec les cultures bactériennes standardisées à l'aide d'un écouvillon stérile. Des disques de papier stérile de 6 mm de diamètre ont été déposés sur la surface de la gélose ensemencée ; 20 µL de chaque extrait ont été déposés sur les disques de papier. Les boîtes de Pétri ont été placées au réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures pour permettre aux extraits de diffuser dans la gélose. Après 24 heures d'incubation à 37°C, des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés pour déterminer l'efficacité antimicrobienne des extraits.

- Les extraits utilisés dans ce test sont les extraits aqueux d'infusion (I1, I2, I3, I4, I5, I6, I7), et les extraits aqueux de la macération (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7).

### II.5.2. Test de puits

Une fine couche de gélose nutritive a été versée dans les boîtes de Pétri. Dans un tube stérile, un mélange de 18 mL de gélose Mueller-Hinton liquide avec 2 mL de chaque culture bactérienne standardisée est vortexé pour obtenir une suspension homogène. La suspension préparée est ensuite versée sur la boîte contenant la gélose nutritive, qui est inclinée doucement pour assurer une répartition uniforme de la suspension. Après la solidification de la gélose, des embouts bleus stériles sont utilisés pour creuser des puits. 100 µL de chaque extrait aqueux est déposé dans chaque puits à l'aide d'une micropipette. Les boîtes de Pétri sont placées au réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures pour permettre aux extraits de diffuser dans la gélose. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la zone d'inhibition autour des puits a été mesurée pour déterminer l'efficacité antimicrobienne des extraits.

- Les extraits utilisés dans le test de puits sont les extraits aqueux d'infusion (I1, I2, I3, I4, I5, I6, I7).
- Les souches étudiées sont : (*S. aureus* 1, *S. aureus* 2, P59 1, P59 2', P58 1').

### II.5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'un agent antimicrobien qui inhibe visiblement la croissance bactérienne.

La CMI été déterminée par la réalisation d'une série de dilutions à partir des extraits concentrés par la méthode de diffusion sur disques du papier.

- Les extraits concentrés utilisés sont représentés dans le tableau VI.

**Tableau VI : Extraits utilisés pour déterminer la CMI**

Extractions Dilution	Ronce Amizour infusion	Ronce Ta Sidi-aich infusion	Eglantier Amizour infusion	Eglantier Sidi-aich infusion	Cynorrhodon Sidi-aich infusion
1	0,32 g/ml	0,33 g/ml	0,12 g/ml	0,21 g/ml	0,38 g/ml
2	0,16 g/ml	0,17g/ml	0,05 g/ml	0,1 g/ml	0,19 g/ml
3	0,08 g/ml	0,08 g/ml	0,03g/ml	0,05g/ml	0,09 g/ml
4	0,04g/ml	0,04 g/ml	0,02g/ml	0,03g/ml	0,05g/ml
5	0,02g/ml	0,02 g/ml	0,01g/ml	0,01 g/ml	0,02g/ml

La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et peut être symbolisée selon la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés (**Ponce et al., 2003**).

- **Non sensible ou résistante** : si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 8 mm, indiquant une faible sensibilité ou une résistance complète.
- **Sensible** : pour des diamètres de 9 à 14 mm, montrant une sensibilité modérée de la souche bactérienne à l'extrait testé.
- **Très sensible** : lorsque les diamètres varient de 15 à 19 mm, dénotant une sensibilité élevée.
- **Extrêmement sensible** : si la zone d'inhibition dépasse 20 mm, signifiant une très forte sensibilité à l'extrait.

### II.5.4. Effet antibactérien dans un milieu liquide (microplaque)

L'étude de l'activité antimicrobienne sur microplaque implique directement le contact entre les agents antimicrobiens testés et les micro-organismes dans les puits des microplaques. Cette méthode permet d'évaluer de manière précise et contrôlée l'efficacité de ces agents contre différentes souches microbiennes.

Les extraits utilisés pour la réalisation des microplaques sont des extraits bruts non dilués, des dilutions de souches bactériennes ont été réalisées afin d'obtenir une absorbance 0,1 à une longueur d'onde de 600nm.

Les témoins :

- ✓ 200µL de bouillon nutritif;
  - ✓ 150µL de bouillon nutritif; + 50 µL de chaque souche ;
  - ✓ 150µL de bouillon nutritif; + 50 µL de chaque extrait.
- Un volume de 50µL de chaque souche bactérienne a été inoculé dans les puits de la microplaque contenant 100 µL de bouillon nutritif; en utilisant une micropipette stérile.
  - Un volume de 50 µL de chaque extrait a été ajouté dans chaque puits de la microplaque contenant les souches bactériennes.
  - Les microplaques ont été incubées pendant 18 heures à 37°C.

L'activité antibactérienne a été mesurée dans chaque puits en utilisant un lecteur de microplaques à une longueur d'onde de 630 nm.

- Pour chaque puits trois répétitions ont été réalisées.
- Les extraits utilisés dans ce test sont les extraits concentrés représentés dans le tableau VII.

**Tableau VII :** Extraits utilisés dans les microplaques

Code	Extraits	Concentration mg /mL
I1	Ronce infusion	0,32
I3	Ronce SH infusion	0,3
I4	Eglantier infusion	0,11
I7	Cynorhodon infusion	0,38
M1	Ronce macération	0,3
M2	Ronce Ta macération	0,3
M4	Eglantier macération	0,17
M5	Eglantier Ta macération	0,17

- Les souches étudiées sont : (*S. aureus* 1, P58 1, P58 2, P58 4, P58 5, P59 1, P59 2, P59 3, P59 4).

### III. Dosage des protéines dans les surnageants (méthode de Bradford)

La souche *S. aureus* 1 a été cultivée dans un tube stérile contenant du bouillon nutritif; et incubée à 37°C pendant 24 heures, après la croissance une dilution de 1/10 été réalisée afin d'avoir une absorbance de 0,1 à 600 nm.

La mesure des concentrations en protéines dans les surnageant des cultures de *Staphylococcus aureus* a été réalisés comme suit :

- Premier tube : Contient 2000 µL de bouillon nutritif, qui est le témoin.
- Deuxième tube : Contient 1900 µL du bouillon nutritif + 100 µL de *S. aureus* 1 standardisée, ce tube permet de mesurer la concentration en protéines produites par *S. aureus* 1 dans un milieu nutritif standard.
- Troisième tube : Contient 1900 µL de bouillon nutritif + 50 µL de *S. aureus* 1 standardisée, et 50 µL d'extrait de la ronce obtenu par infusion.
- Quatrième tube : Contient 1900 µL de bouillon nutritif + 50 µL de *S. aureus* 1 standardisé, et 50 µL d'extrait du cynorrhodon obtenu par infusion.

Les deux derniers tubes permettent d'évaluer l'effet des deux extraits utilisés sur la production de protéines par la souche *S. aureus* 1.

- Pour chaque tube trois répétitions ont été réalisées.

Les tubes ont été centrifugés à 14000 rpm pendant 4 minutes.

Pour déterminer la concentration en protéines dans chaque tube, 1 mL de surnageant a été mélangé avec 1 mL de réactif de Bradford. Les tubes sont vortexés et mis à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Après l'incubation, l'absorbance a été mesurée à 595 nm. Les valeurs d'absorbances obtenues ont été utilisées pour calculer les concentrations en protéines en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec des standards de BSA (annexe 07).

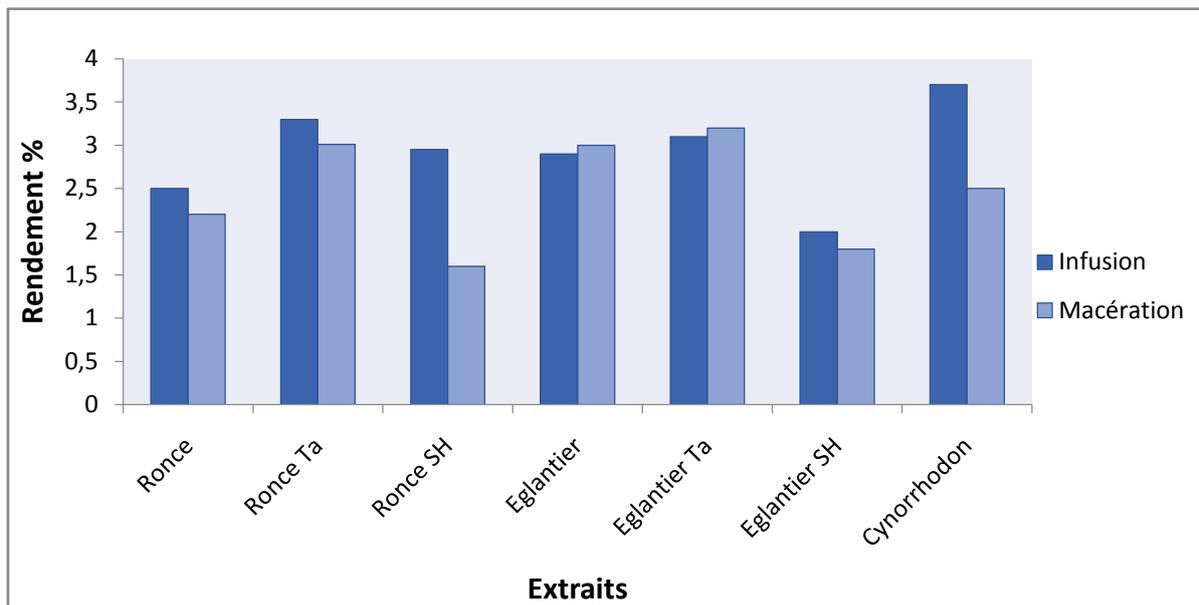
Les culots ont été lavés avec de l'eau physiologique stérile (annexe 03). Après avoir vortexé les tubes, ceux-ci ont été centrifugés à 14000 rpm pendant 4 minutes. Le surnageant a été transféré pour le dosage des protéines. Cette étape de lavage du culot a été répétée trois fois pour chaque tube.

## *Partie III : Résultats et discussion*

---

## I. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des différents extraits bruts sont illustrés dans la figure 10.



**Figure 10** : Histogramme du rendement d'extraction des différents extraits

Les résultats obtenus montrent une variation des rendements d'extraction en fonction de la méthode et de la plante utilisées :

- **Ronce et ronce Ta** : L'infusion donne un rendement de 2,5% et 3,3% légèrement supérieur à la macération (2,2%), (3,01%) respectivement.
- **Ronce SH** : L'infusion donne un rendement (2,95%) nettement supérieur à celui de la macération (1,6%).

Une étude réalisée par **Ferreira et collaborateurs (2015)** a montré des rendements d'extraction de 2,6% pour l'infusion et de 2,1% pour la macération aqueuse, ce qui est similaire à nos résultats. Cela indique que l'infusion est plus efficace pour extraire les composés de la ronce.

- **Eglantier, églantier Ta et SH** : Les deux méthodes montrent des rendements proches (infusion 2,9%, 3,1 %, 2%, macération 3%, 3,2%, 1.8% respectivement).

**Demir et collaborateurs (2018)** ont révélé des rendements d'extraction de 3% pour l'infusion et de 2,8% pour la macération aqueuse, ce qui est similaire à nos résultats. Cela indique que l'infusion est légèrement plus efficace pour extraire les composés de l'églantier.

- **Cynorrhodon** : L'infusion montre le rendement le plus élevé de toutes les plantes (3,7%), comparé à celui de la macération qui n'est que de 2,5%.

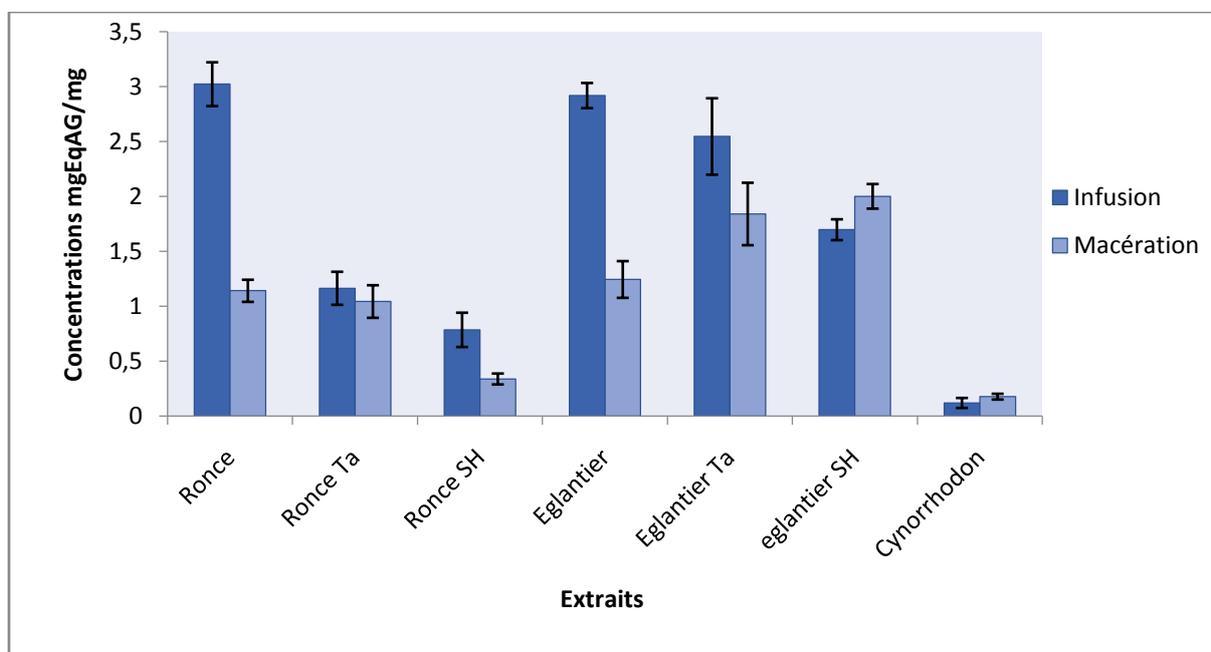
Les résultats obtenus dans notre étude sont similaires à ceux rapportés par **Ziegler et collaborateurs (2017)**, qui ont rapporté des rendements d'extraction de 3,5% pour l'infusion et de 2,6% pour la macération aqueuse. Ces résultats suggèrent que l'infusion est plus efficace que la macération aqueuse pour extraire les composés du cynorrhodon.

Les résultats révélés montrent que l'infusion tend à produire des rendements plus élevés que la macération pour la plupart des plantes étudiées. Ceci est soutenu par plusieurs études dans la littérature, qui indiquent que l'infusion, en utilisant de l'eau chaude permet de lyser plus efficacement les parois cellulaires des plantes, libérant ainsi plus de composés bioactifs et extraire plus efficacement les composés solubles dans l'eau comme les vitamines et les flavonoïdes (**Ziegler et al., 2017**).

## II. Dosages des extraits

### II.1. Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des différents extraits sont présentées dans la figure 11.

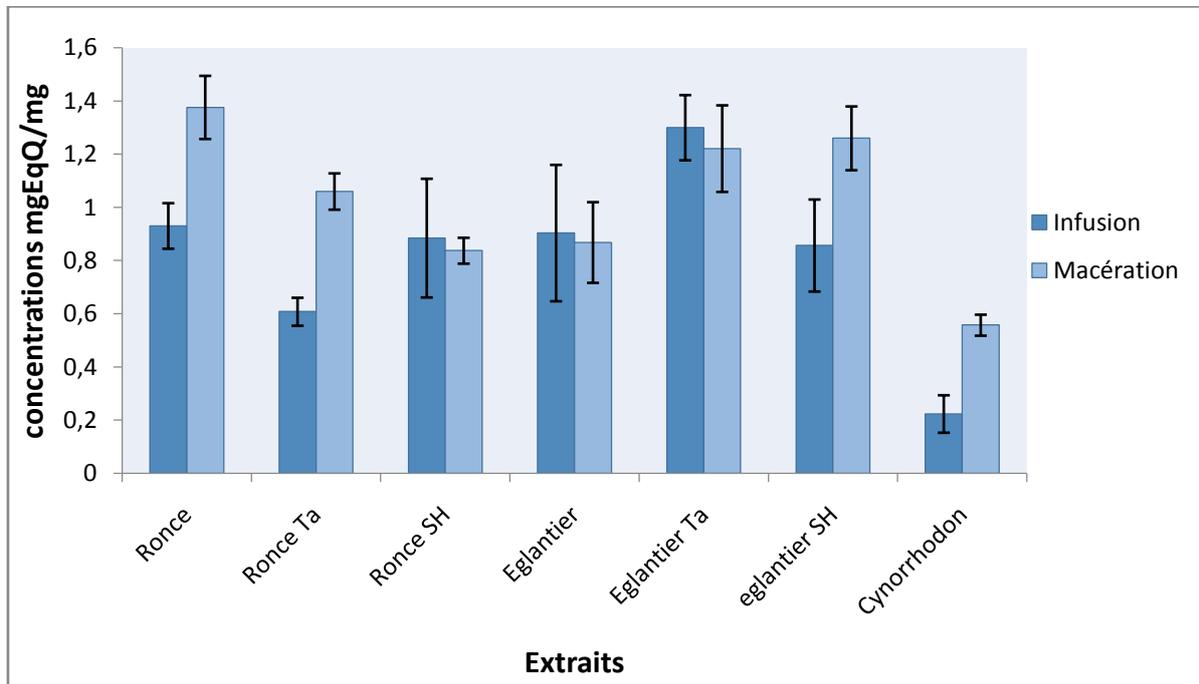


**Figure 11** : Histogramme de teneur en phénols totaux dans les extraits

- **Ronce** : la concentration en phénols obtenus par infusion de la ronce (3,02mg EqAG/mg) est plus élevée que celle des extraits obtenus par macération (1,14mg EqAG/mg) , cela peut être dû au fait que l'eau bouillante utilisé lors de l'infusion a permis une meilleure extraction des composés phénoliques (**Kähkönen et al., 1999**).
- **Ronce Ta** : la concentration en phénols est presque similaires dans les deux méthodes d'extraction (infusion : 1,16 mg EqAG/mg, macération : 1,04 mg EqAG/mg).
- **Ronce SH** : la concentration des phénols dans la ronce obtenue par infusion (0,79mg EqAG/mg) est plus élevée que celle des extraits obtenus par macération (0,34 mg EqAG/mg), ce qui indique que le lieu de récolte et les conditions de séchage influence la concentration en phénols dans la plante (**Macheix et al., 1990**).
- **Eglantier** : la concentration en phénols est plus élevée dans l'extrait obtenu par infusion (2,91 mgEqAG/mg) que dans celui obtenu par macération (1,24 mg EqAG/mg), ce qui peut être dû à la chaleur qui favorise la libération des phénols (**Kähkönen et al., 1999**).
- **Eglantier Ta** : les concentrations en phénols sont plus élevées en infusion (2,55 mg EqAG/mg) qu'en macération (1,84 mgEqAG/mg), ce qui indique que l'extraction est meilleure et plus efficace à chaud (**Chirinos et al., 2007**).
- **Eglantier SH** : étrangement, la concentration en phénols est plus élevée en macération (2 mgEqAG/mg) qu'en infusion (1,67 mgEqAG/mg), ce qui peut être dû à une meilleure préservation des phénols dans certains contextes environnementaux (**Macheix et al., 1990**).
- **Cynorrhodon** : la concentration en phénols est faible dans les deux méthodes mais un peu plus élevée suit à la macération (0,18 mgEqAG/mg) que l'infusion (0,12 mg EqAG/mg) ce qui indique une faible présence de phénols dans le cynorrhodon (**Kähkönen et al., 1999**).

## II.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits sont illustrées dans la figure 12.



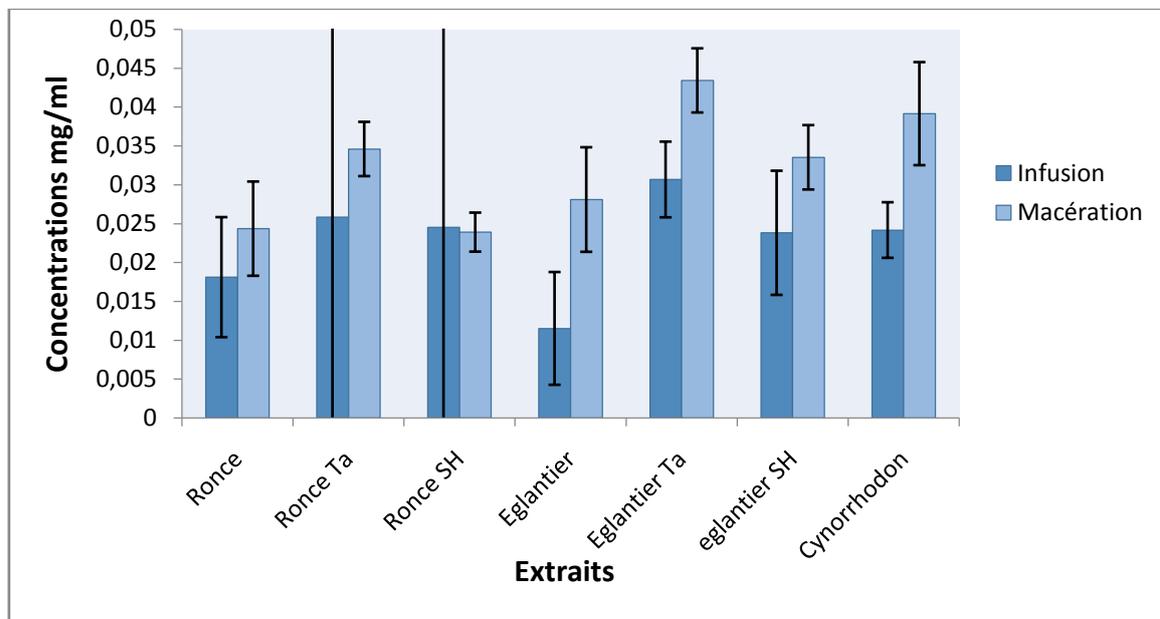
**Figure 12 :** Histogramme de teneur en flavonoïdes dans les extraits

- **Ronce :** La concentration en flavonoïdes est plus élevée dans l'extrait de la ronce obtenu par macération (1,38 mgEqQ/mg), comparée à celui obtenu par infusion (0,93 mgEqQ/mg), l'écart type est légèrement plus élevé pour la macération, ce qui veut dire qu'il y a une variabilité légèrement accru.
- **Ronce Ta :** La concentration en flavonoïdes est presque doublée dans l'extrait obtenu par macération (1,06 mgEqQ/mg) par rapport à celui obtenu par infusion (0,61 mgEqQ/mg).
- **Ronce SH :** La concentration en flavonoïdes après infusion (0,88 mgEqQ/mg) est à peu près équivalente à celle dans la macération (0,84 mgEqQ/mg).
- **Eglantier :** La concentration en flavonoïdes est presque équivalente dans les deux méthodes (infusion 0,90 mgEqQ/mg), (macération 0,87 mgEqQ/mg).
- **Eglantier Ta :** La concentration en flavonoïdes est un peu plus élevée dans le cas de l'infusion (1,30 mg EqQ/mg) dans le cas la macération (1,22 mg EqQ/mg).

- **Eglantier SH** : la concentration en flavonoïdes est plus importante dans l'extrait obtenu par macération (1,26 mg EqQ/mg) que dans celui obtenu par infusion (0,86 mg EqQ/mg).
  - **Cynorrhodon** : la concentration en flavonoïdes est plus importante après macération (0,56 mg EqQ/mg) qu'après infusion (0,22 mg EqQ/mg).
- Les résultats montrent que pour un peu plus de la moitié des échantillons, la macération produit des concentrations en flavonoïdes plus élevées que l'infusion ; Ce qui peut être dû au fait que la macération permet un contact plus long entre le solvant et la poudre végétale, et cela favorise une extraction plus complète. Pour certains échantillons tels que la ronce SH et l'églantier, les concentrations en flavonoïdes sont plus importantes dans l'infusion que la macération ce qui peut être dû à des variations spécifiques des plantes, aux facteurs environnementaux et aux conditions de séchage, ce qui influence la stabilité des flavonoïdes et leur solubilité (**Aberkane., 2010**). Le traitement post-récolte peut aussi avoir un impact sur la composition en flavonoïdes des extraits de plantes (**Diop, 2021**).

### II.3. Dosage des protéines

Les teneurs en protéines des différents extraits sont illustrées dans la figure 13.

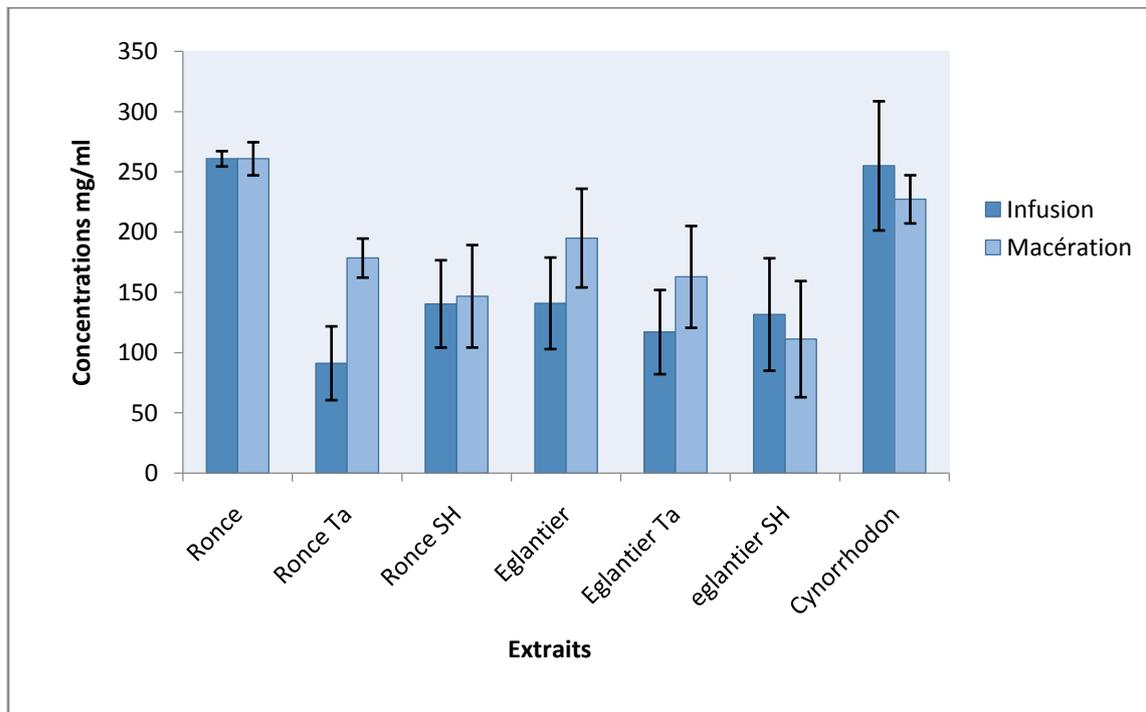


**Figure 13** : Histogramme de teneur en protéines dans les extraits

- Les concentrations en protéines sont plus élevées dans les extraits obtenus par macération (ronce, ronce Ta, églantier, églantier Ra, églantier SH, cynorrhodon) que pour ceux obtenu par infusion, ce qui peut être dû au fait que la macération permet une meilleure pénétration du solvant et facilite l'extraction des protéines (Selmane, 2010).
- Pour l'extrait de ronce SH séchée à l'étuve, la concentration en protéines est légèrement plus élevée dans ceux obtenus par infusion, ce qui peut être dû à la dénaturation des protéines à des températures plus basses pendant le processus (Selmane, 2010).
- Les résultats indiquent que la macération permet une extraction plus efficace des protéines que l'infusion à haute température, car elle minimise la dénaturation et la précipitation des protéines.
- Le séchage à température ambiante préserve mieux les protéines que le séchage à l'étuve.

### II.4. Dosage des sucres

Les teneurs en sucres des différents extraits sont illustrées dans la figure 14.



**Figure 14 :** Histogramme de teneur en sucres dans les extraits

Les résultats indiquent que les concentrations en sucres sont très élevées pour les deux plantes, cela peut s'expliquer par le fait que les deux plantes sont connues pour être très riches en sucres.

Les résultats indiquent généralement que la concentration en sucre des extraits obtenus par macération est plus importante que ceux obtenus par infusion.

Les extraits séchés à l'étuve ont des concentrations en sucres plus élevés que ceux séchés à température ambiante.

La macération permet une extraction plus complète que l'infusion, parce que les sucres sont sensibles à la chaleur, et pourraient se dégrader ou se caraméliser à des températures plus élevées.

Le séchage à l'étuve préserve les sucres en inactivant rapidement les enzymes qui pourraient les décomposer, contrairement au séchage à température ambiante qui permet à ces enzymes de rester actives plus longtemps.

### III. vérification de la pureté des souches

L'observation au microscope optique des résultats de la coloration de Gram des *Staphylococcus aureus* montre que toutes les cellules apparaissent en violet foncé ; confirmant qu'elles sont Gram positives. Elles sont sphériques (coques) et se regroupent en amas rappelant des grappes de raisins. Ces observations confirment la pureté des cultures bactériennes.

### IV. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Les résultats d'antibiogramme ont été résumés dans le tableau VIII

**Tableau VIII** : Antibiogramme des souches étudiées (diamètre des zones d'inhibition en mm)

ATB Souches	FOX 30	AUG 30	CAZ 30
<i>S. aureus</i> 1	26	12	0
<i>S. aureus</i> 2	27	12	0
P58 1	6	5	8
P58 2	6	7	4
P58 3	21	19	5
P58 4	13	5	13
P58 5	6	4	6
P59 1	12	5	9
P59 2	20	20	6
P59 3	12	14	9
P59 4	09	07	11

### Critères de sensibilité : selon (EUCAST, 2021)

#### Cefoxitine (FOX30)

Cet antibiotique est utilisé pour indiquer la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méthicilline :

- Sensible (S) :  $\geq 22$ mm
- Résistante (R) :  $< 22$  mm

#### Amoxicilline (AUG 30):

- Sensible (S):  $\geq 20$  mm
- Résistant (R):  $\leq 13$  mm

#### Ceftazidime (CAZ 30):

- Sensible (S):  $\geq 18$  mm
- Résistant (R):  $\leq 14$  mm

### Sensibilité à la cefoxitine (FOX 30)

Les zones d'inhibition pour cefoxitine indiquent que la majorité des souches (sauf *S. aureus* 1 et 2) sont résistantes à la cefoxitine, suggérant qu'elles sont potentiellement résistantes à la méthicilline (MRSA).

Le mode d'action de la cefoxitine contre SARM repose sur son inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) devient insensible aux antibiotiques  $\beta$ -lactamines comme la méthicilline en produisant la protéine de liaison à la pénicilline modifiée PBP 2a, qui présente une faible affinité pour ces antibiotiques. Cette résistance est due à la présence du gène *mecA* sur le chromosome du SARM, qui code pour la production de PBP 2a, permettant à la bactérie de continuer à synthétiser sa paroi cellulaire malgré le traitement avec les bêta lactamine (dont la cefoxitine) (Katayama et al., 2000).

### Sensibilité à l'Amoxicilline (AUG 30)

Les résultats obtenus montrent que toutes les souches testées sont résistantes à l'amoxicilline à l'exception de la souche P59 2 qui est sensible.

## Sensibilité à la ceftazidime (CAZ30)

Toutes les souches montrent une résistance à la ceftazidime, avec des zones d'inhibition bien en dessous du seuil de sensibilité. Cela indique que ceftazidime n'est pas efficace contre ces souches de *S. aureus*.

## V. Effet antibactérien

### V.1. Test des disques

Ce test a été réalisé pour évaluer l'efficacité antimicrobienne des différents extraits végétaux contre plusieurs souches de *Staphylococcus aureus*. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en millimètres (tableau IX).

**Tableau IX :** Résultats du test des disques (diamètre des zones d'inhibition en mm).

Souche	Ronce		Ronce Ta		Ronce SH		Eglantier		Eglantier Ta		Eglantier SH		cynorrhodon	
	INF	MAC	INF	MAC	INF	MAC	INF	MAC	INF	MAC	INF	MAC	INF	MAC
<i>S.aureus</i> 1	8	8	9	<	0	0	0	0	<	0	<	0	8	0
<i>S.aureus</i> 2	7	8	9	9	0	0	0	0	8	0	<	0	0	0
P59 1	12	16+	10	15+	12	12+	10	9	11	11	12	10+	<	+
P 59 2'	12	/	11	/	11	/	15	/	<	/	10	/	<	/
P58 1'	10	/	10	/	9	/	12	/	11	/	10	/	0	/
P58 1	/	9	/	9	/	/	/	8	/	12	/	11+	/	0
P 58 2	/	13+	/	11+	/	<	/	/	/	12	/	11	/	0
P 58 3	/	14+	/	15+	/	14+	/	13+	/	11	/	9+	/	8+
P 58 4	/	9	/	8	/	/	/	0	/	0	/	0	/	0
P58 5	/	15+	/	13+	/	10+	/	8	/	12	/	10+	/	9

P59 2	/	20+	/	19+	/	14+	/	11+	/	10	/	9	/	9+
P59 3	/	19+	/	18+	/	15+	/	10+	/	8	/	+	/	+
P59 4	/	15+	/	14+	/	12+	/	11+	/	9	/	9	/	0

**Légende :** INF = Infusion

MAC = Macération

+ = Repousse

< = Présence d'une zone d'inhibition inférieure à 8 mm

/ = Souche non testée

Les résultats montrent des variations notables dans l'efficacité antimicrobienne des différents extraits testés contre les souches de *Staphylococcus aureus*.

**Ronce (I1) :** La ronce a montré une bonne activité antimicrobienne, avec des zones d'inhibition allant de 7 à 12 mm pour les différentes souches. Les résultats pour P59 1 et P59 2' sont particulièrement impressionnants avec des zones de 12 mm (sensible).

**Ronce Ta (I2) :** Les résultats pour la ronce Ta sont similaires à ceux de la Ronce, avec des zones d'inhibition allant de 9 à 11 mm (sensible).

**Ronce SH (I3) :** La ronce SH n'a pas montré d'activité contre *S. aureus* 1 et *S. aureus* 2, mais a une bonne efficacité contre les autres souches testées avec des zones allant de 9 à 12 mm.

**Églantier (I4) :** L'églantier a montré une forte activité antimicrobienne contre P59 2' (15 mm, très sensible) et des résultats modérés pour les autres souches, sauf pour *S. aureus* 1 et *S. aureus* 2 où aucune zone d'inhibition n'a été observée.

**Églantier Ta (I5) :** L'églantier Ta a montré une activité variable, avec des zones d'inhibition de 8 et 11 mm. Cependant, il n'y avait aucune activité observée contre P59 2'.

**Églantier SH (I6) :** Cet extrait a montré une bonne activité contre P59 1 (12 mm, sensible) mais aucune activité contre *S. aureus* 1 et *S. aureus* 2.

**Cynorrhodon (I7) :** Le cynorrhodon a montré une activité limitée, avec des zones d'inhibition observées seulement contre *S. aureus* 1 (8 mm). Pour les autres souches, aucune activité n'a été détectée.

**Ronce (M1) :** Pour *S. aureus* 1 et 2, les zones d'inhibition mesurent 8 mm, indiquant une résistance complète. Cependant, pour P 58 1 et P58 4, les zones d'inhibition sont de 9 mm, montrant une sensibilité modérée. Les autres souches ont repoussé.

**Ronce Ta (M2) :** Pour *S. aureus* 2 et P58 1, une zone d'inhibition de 9 mm montre une sensibilité modérée. *S. aureus* 1 et P58 4 sont résistantes. Les autres souches ont repoussé.

**Ronce SH (M3) :** Pour P 58 5 une zone de 10 mm montre une sensibilité modérée. Pour les souches P58 3, P59 2, P59 1, P59 4, P 59 3 ont repoussé. Cependant, les autres souches n'ont pas montré d'inhibition, indiquant une résistance complète.

**Eglantier (M4) :** Une zone de 9 mm pour P59 1 montre une sensibilité modérée. Les souches P59 2, P59 3, P59 4 et P58 3 ont repoussé. Les autres souches sont résistantes.

**Eglantier Ta (M5) :** *S. aureus* 1 et 2, P58 4, et P59 3 sont résistantes, et pour les autres souches, les zones varient entre 9 mm et 11 mm, donc la sensibilité est modérée.

**Eglantier SH (M6) :** P58 1, P58 3, P59 1, et P59 3 ont repoussé. *S. aureus* 1 et 2 et P58 4 sont résistantes. Et pour les autres souches, les zones varient entre 9 mm et 11 mm ce qui montre une sensibilité modérée.

**Cynorrhodon (M7) :** Une zone de 9 mm pour P58 5 montre une sensibilité modérée. P58 3, P58 4, P59 1, P59 2, et P59 3 ont repoussé. Les autres souches sont résistantes.

➤ Pour les souches où on remarque une repousse, cette dernière est peut-être due au fait que l'extrait a un effet bactériostatique à l'égard de ces souches.

Les extraits de ronce et de ronce Ta ont montré la plus grande activité antimicrobienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* testées, suggérant leur potentiel comme agents antimicrobiens naturels. Les extraits d'églantier et d'églantier SH ont montré des résultats prometteurs contre certaines souches, tandis que l'extrait de cynorrhodon a montré une efficacité limitée.

## V.2. Test de puits

Les résultats de ce test ont été résumés dans le tableau X

**Tableau X :** Résultats du test des puits (diamètre des zones d'inhibition en mm)

	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7
<i>S. aureus</i> 1	15	19	13	<	<	<	0
<i>S. aureus</i> 2	16	18	12	0	12	0	0
P59 1	27	25	25	30	29	26	19
P59 2'	17	16	17	0	13	0	0
P58 1'	17	18	14	0	0	<	11

**Légende :** < = Présence d'une zone d'inhibition inférieure à 8 mm.

**I1 (Ronce):** La ronce a une bonne activité antibactérienne contre toutes les souches testées surtout contre P59 1 (27 mm, extrêmement sensible), et les autres souches sont très sensibles (les zones varient de 15 à 17).

**I2 (Ronce Ta):** La souche P59 1 est extrêmement sensible à l'extrait ronce Ta avec une zone d'inhibition de 25 mm. Pour les autres souches, les zones d'inhibitions varient de 16 à 19 (très sensibles).

**I3 (Ronce SH):** L'activité de l'extrait ronce SH est très importante contre la souche P59 1 (25 mm, extrêmement sensible). La souche P59 2' est très sensible avec une zone de 17 mm. Les autres souches sont sensibles avec des zones d'inhibition qui varient de 12 à 14.

**I4 (Eglantier):** L'églantier a une très bonne activité contre la souche P59 1 avec une zone d'inhibition de 30 mm (extrêmement sensible), et aucune activité contre les autres souches (résistance).

**I5 (Eglantier Ta):** La souche P59 1 est extrêmement sensible à l'extrait églantier Ta avec une zone d'inhibition de 29 mm., et une activité modérée contre les souches *S. aureus* 2 et P592'(12 mm, 13 mm respectivement), et aucune activité contre la souche P58 1' et *S. aureus*1.

**I6 (Eglantier SH):** L'extrait a une bonne activité contre la souche P59 1 (26 mm, extrêmement sensible), et aucune activité contre les autres souches (résistance).

**I7 (Cynorrhodon):** La souche P59 1 est très sensible au cynorrhodon (19 mm). La zone d'inhibition pour la souche P58 1'est de 11mm donc cette souche est sensible au cynorrhodon. Les autres souches sont résistantes.

En générale, les extraits de la ronce ont une meilleure activité contre les souches de *staphylococcus aureus* que les extraits de l'églantier et cynorrhodon, l'efficacité de ces extraits peut être dû à leur teneur importante en composés phénoliques, connus pour être de fort antimicrobien (Altemimi et al., 2017). L'activité limitée de l'extrait I7 peut être dû à une concentration faible en composants bioactifs par rapport aux autres extraits.

### V.3. Détermination de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est présentée dans le tableau XI

**Tableau XI :** Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents extraits testés contre les souches de *Staphylococcus aureus*.

Extrait	Souche	CMI (g/ml)
<b>Ronce infusion</b>	<i>S. aureus 1</i>	0,04
	<i>S. aureus 2</i>	0,04
	P59 1	0,02
	P59 2'	0,02
	P58 1'	0,02
<b>Ronce Ta infusion</b>	<i>S. aureus 1</i>	0,04
	<i>S. aureus 2</i>	0,04
	P59 1	0,04
	P59 2'	0,04
	P58 1'	0,02
<b>Églantier infusion</b>	<i>S. aureus 1</i>	0,05
	<i>S. aureus 2</i>	0,03
	P59 1	0,03
	P59 2'	0,03
	P58 1'	0,01
<b>Églantier SH infusion</b>	<i>S. aureus 1</i>	0,10
	<i>S. aureus 2</i>	0,10
	P59 1	0,03
	P59 2'	0,06
	P58 1'	0,03
<b>Cynorrhodon infusion</b>	<i>S. aureus 1</i>	0,38
	<i>S. aureus 2</i>	0,38
	P59 2'	0,19
	P58 1'	0,02

Les résultats obtenus révèlent une variabilité notable dans l'efficacité antimicrobienne des différents extraits végétaux testés contre les souches de *Staphylococcus aureus*. Globalement, les extraits de Ronce et Ronce Ta ont montré les meilleures activités antimicrobiennes, produisant des zones d'inhibition significatives pour toutes les souches à différentes concentrations. Les zones d'inhibition étaient généralement plus larges pour les dilutions les plus concentrées (dilution 1), et diminuaient avec la diminution de la concentration.

**Ronce Infusion :** Cet extrait a montré une inhibition notable contre toutes les souches, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 16 mm pour la souche P59 1 à la concentration la plus élevée. Les CMI de ronce varient entre 0,02 et 0,04 g/mL. Ces résultats confirment la puissance de cet extrait contre toutes les souches testées, en particulier P59 1, P59 2', et P58 1', qui présentent les plus faibles valeurs de CMI (0,02 g/mL).

**Ronce Ta Infusion :** Cet extrait a également montré une activité antimicrobienne significative, en particulier contre les souches P59 1 et P58 1', avec des zones d'inhibition atteignant 15 mm. Les CMI de Ronce Ta sont légèrement plus élevées que celles de la Ronce pour la plupart des souches (0,04 g/mL), à l'exception de P58 1' (0,02 g/mL).

**Églantier et Églantier SH Infusion :** Les extraits d'Églantier ont montré une activité modérée à faible, avec une absence totale d'activité antimicrobienne à des concentrations plus faibles (dilutions 3 à 5). L'Églantier présente des valeurs de CMI variables, allant de 0,01 à 0,05 g/mL. L'extrait s'est avéré particulièrement efficace contre P58 1' (0,01 g/mL). L'extrait Églantier SH a montré une meilleure performance que l'extrait Églantier avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 13 mm. Les CMI pour l'Églantier SH sont globalement plus élevées (0,03 à 0,10 g/mL). Néanmoins, cet extrait montre une certaine efficacité, surtout contre P59 1 et P58 1'.

**Cynorrhodon Infusion :** Cet extrait a montré une activité antimicrobienne faible à modérée, avec les faibles concentrations n'affichant aucune zone d'inhibition. Cependant, à la concentration la plus élevée, il a produit des zones d'inhibition de 9 mm contre plusieurs souches. Les CMI de Cynorrhodon sont les plus élevées parmi tous les extraits testés (0,02 à 0,38 g/mL). Cependant, l'extrait montre une certaine efficacité contre P58 1' (0,02 g/mL).

Les extraits de Ronce et Ronce Ta apparaissent comme les extraits les plus efficaces contre *Staphylococcus aureus*, tandis que les extraits d'Églantier et de Cynorrhodon nécessiteraient probablement des concentrations plus élevées pour améliorer leur efficacité.

### V.4. Effet antibactérien dans un milieu liquide (microplaque)

Les résultats de la 1<sup>ère</sup> microplaque ont été résumés dans le tableau XII

**Tableau XII:** Résultats de la microplaque 1

Extrait	S. aureus 1	P58 2	P58 5	P59 2
<b>Cynorrhodon infusion</b>	-0,234	-0,269	-0,071	-3,033
<b>Cynorrhodon infusion</b>	-0,217	-0,266	-0,201	-2,788
<b>Cynorrhodon infusion</b>	-0,21	-0,118	-0,114	-2,784
<b>Ronce infusion</b>	-0,425	-0,264	-0,372	/
<b>Ronce infusion</b>	-0,143	-0,147	-0,057	/
<b>Ronce infusion</b>	-0,135	0,264 (24,6%)	0,213 (23,22%)	/
<b>Ronce macération</b>	/	0	0	/
<b>Ronce macération</b>	/	0,205 (21,28%)	-1,126	/
<b>Ronce macération</b>	/	0,303 (28,23%)	-1,096	/

**Légende :** / = Indéterminé

**Cynorrhodon infusion :** Les répétitions montrent une inhibition constante et complète de la croissance bactérienne (valeur d'absorbance négative), cela montre que l'absorbance des puits (bactéries+ bouillon nutritif+ extrait) est réduite par rapport aux témoins.

**Ronce infusion :** Les 3 répétitions montrent une inhibition variable de la croissance bactérienne, mais la troisième répétition montre une croissance bactérienne pour les deux souches P58 2 et P58 5 avec une réduction de 24,6% et 23,22% respectivement de la croissance.

**Ronce macération :** Cet extrait est utilisé sur deux souches (P58 2 et P58 5), les répétitions montrent qu'il y a une croissance de la souche P58 2 et une réduction de croissance de 21,28% et 28,23%, une inhibition de la souche P58 5. La différence de l'efficacité entre la ronce infusion et macération est peut-être due à la différence de méthode de séchage.

Le cynorrhodon infusion est l'extrait le plus efficace contre ces trois souches que la ronce infusion et macération.

Les résultats de la 2<sup>ème</sup> microplaque ont été résumés dans le tableau XIII

Tableau XIII: Résultats de la microplaque 2

Extrait	P59 3	P59 4
<b>Ronce infusion</b>	0,197 (24,93%)	0,035 (4,59%)
<b>Ronce infusion</b>	0,151 (18,30%)	-0,064
<b>Ronce infusion</b>	-0,027	-0,02
<b>Ronce SH infusion</b>	-0,476	-0,388
<b>Ronce SH infusion</b>	-0,232	-0,252
<b>Ronce SH infusion</b>	0,081	0,077 (8,77%)
<b>Cynorrhodon infusion</b>	-0,03	0,066 (8,66%)
<b>Cynorrhodon infusion</b>	0,054 (6,54%)	0,255 (31,40%)
<b>Cynorrhodon infusion</b>	-0,025	-0,183
<b>Eglantier Ta macération</b>	/	-0,052
<b>Eglantier Ta macération</b>	/	0,151 (18,59%)
<b>Eglantier Ta macération</b>	/	-0,057
<b>Eglantier macération</b>	-0,712	-0,6
<b>Eglantier macération</b>	-0,334	-1,487
<b>Eglantier macération</b>	0,304 (40,26%)	-0,184
<b>Ronce Ta macération</b>	-0,021	0,128 (16,79%)
<b>Ronce Ta macération</b>	0,001 (0,12%)	-0,194
<b>Ronce Ta macération</b>	-0,006	-0,101
<b>Ronce macération</b>	-0,167	-0,117
<b>Ronce macération</b>	0,163 (19,75%)	0,022 (2,70%)
<b>Ronce macération</b>	0,171 (22,64%)	-0,264

**Légende :** / = Indéterminé

**Ronce infusion :** La réduction de l'absorbance indique que l'extrait peut avoir une activité antibactérienne partielle, réduisant la croissance bactérienne.

**Ronce SH infusion :** L'extrait a un effet inhibiteur sur la croissance des deux souches, car il a majoritairement des absorbances négatives pour les deux souches, sauf pour la répétition de P59 3.

**Cynorrhodon infusion :** L'extrait a une action variée en fonction des répétitions, ce qui indique que l'extrait a une activité modérée avec quelques valeurs d'absorbances positives.

**Eglantier Ta macération :** L'extrait a une faible activité antibactérienne contre la souche P59 4, dont une seule répétition qui exprime un taux de croissance de 18,59%.

**Eglantier macération :** L'extrait a une forte inhibition sur les deux souches, sauf pour une répétition pour la souche P59 3 où il y a un taux de croissance de 40,26%.

**Ronce Ta macération :** L'extrait a une activité antibactérienne variable pour les deux souches, car il y a un taux de croissance de 0,12% pour la souche P59 3, et de 16,79% pour la souche P59 4.

**Ronce macération :** L'extrait a une activité antibactérienne avec des effets variables sur les deux souches : un taux de croissance de 19,75% et 22,64% pour deux répétitions de la souche P59 3, et de 2,70% pour une répétition de la souche P59 4.

Les résultats de la 3<sup>ème</sup> microplaque ont été résumés dans le tableau XIV

Tableau XIV : Résultats de la microplaque 3

Extrait	P58 1	P58 4	P 59 1
Ronce infusion	/	0,159 (15,25%)	-0,106
Ronce infusion	/	-0,409	-0,52
Ronce infusion	/	-0,025	0,02 (2,42%)
Eglantier infusion	0,113 (10,30%)	/	/
Eglantier infusion	0,082 (7,06%)	/	/
Eglantier infusion	0,063 (5,18%)	/	/
Ronce SH infusion	-0,154	-0,569	-0,691
Ronce SH infusion	-0,315	-0,519	-0,587
Ronce SH infusion	-0,137	-0,46	-0,403
Cynorrhodon infusion	-0,092	-1,598	-0,859
Cynorrhodon infusion	-1,521	-0,864	-1,157
Cynorrhodon infusion	-0,871	-1,53	-1,149
Ronce Ta macération	/	-0,826	-0,893
Ronce Ta macération	/	-0,651	-0,555
Ronce Ta macération	/	-0,303	-0,354
Ronce macération	-0,196	/	-0,044
Ronce macération	0,246 (21,18%)	/	0,065 (8,16%)
Ronce macération	0,035 (2,88%)	/	0,083 (10,07%)

**Légende :** / = Indéterminé

**Ronce infusion :** L'extrait a une activité antibactérienne variable, car l'absorbance indique un taux de croissance de 15,25% pour une répétition de la souche P58 4, et de 2,42% pour la souche P59 1.

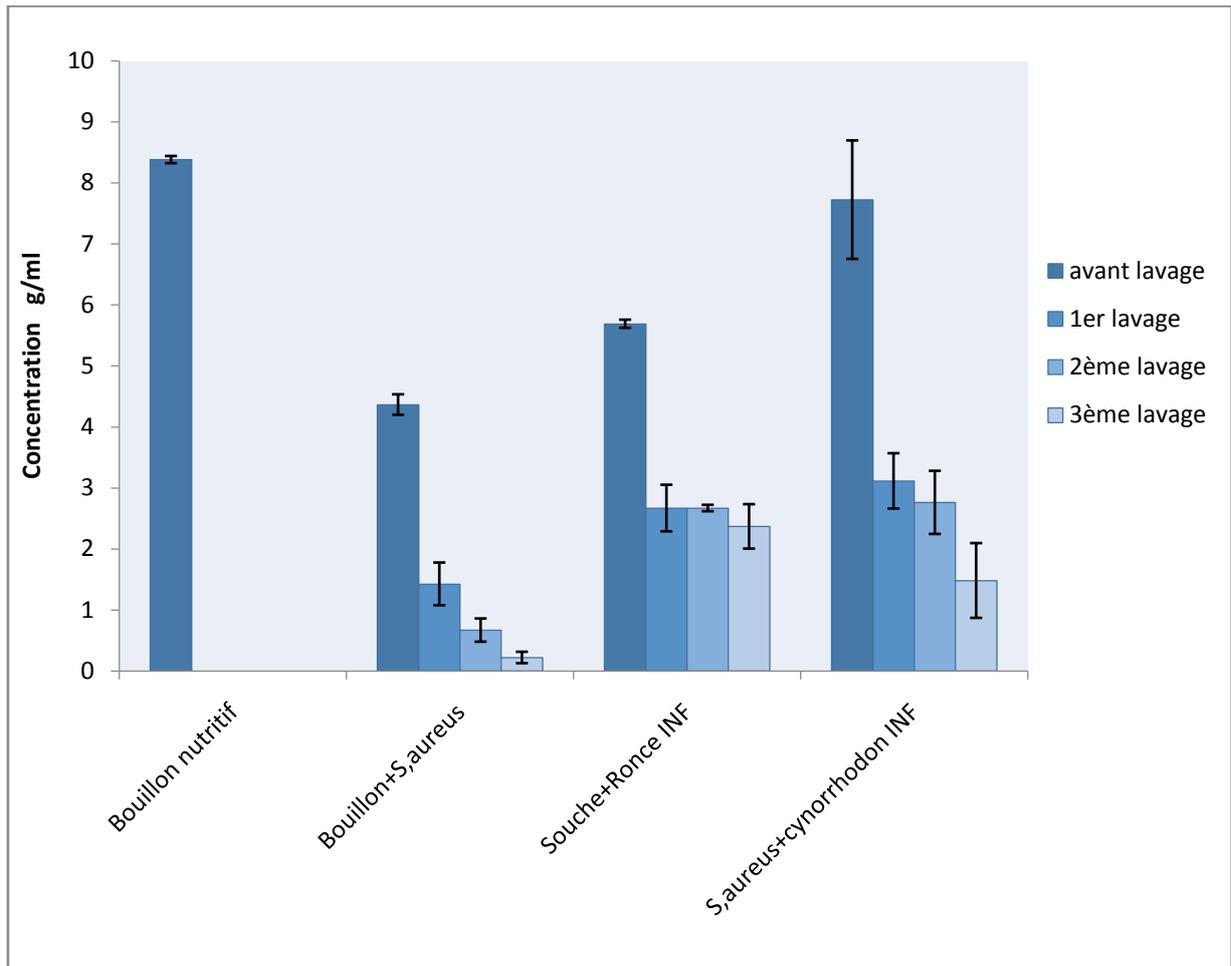
**Eglantier infusion :** L'extrait montre un faible taux de croissance pour les trois répétitions effectuées, cela indique qu'il n'a pas un effet inhibiteur.

**Ronce SH infusion, cynorrhodon infusion et ronce Ta macération :** Ces extraits ont une forte activité antibactérienne, car ils inhibent complètement la croissance des souches testés et dans toutes les répétitions effectuées.

**Ronce macération :** L'extrait a une activité antibactérienne variable, indiquant une faible activité pour les deux souches, avec un taux de croissance de 21,18% et 2,88% pour deux répétitions de la souche P58 4, et de 8,16% et 10,07% pour deux répétitions de la souche P59 1.

### VI. Dosage des protéines dans les surnageants (méthode de Bradford)

Les teneurs en protéines des différents surnageants sont illustrées dans la figure 15.



**Figure 15:** Histogramme des teneurs en protéines dans les surnageants

Les résultats obtenus à partir du dosage des protéines dans les surnageants des bactéries, en utilisant la méthode de Bradford, révèlent plusieurs points intéressants concernant l'effet des différents traitements et des cycles de lavage sur les concentrations en protéines dans les échantillons de *Staphylococcus aureus* 1.

**Avant lavage :** Les résultats montrent une concentration élevée en protéines dans le bouillon nutritif seul (8,38 g/mL), qui diminue significativement lorsqu'il est inoculé avec *S. aureus* (4,37 g/mL). Cependant, lorsqu'on ajoute les extraits de ronce et de cynorrhodon, les concentrations de protéines augmentent de manière notable par rapport au bouillon seul (5,69 g/ml, 7,72 g/mL respectivement), avec le cynorrhodon montrant une augmentation plus importante que la ronce.

**Après lavage :** Les résultats montrent que la concentration en protéines dans tous les échantillons diminue de manière significative après chaque lavage. Cependant, la diminution est moins marquée dans les échantillons contenant les extraits de plantes (2,37 g/mL pour la ronce et 1,48 g/mL pour le cynorrhodon) par rapport au contrôle (bouillon + *S. aureus*) (0,22 g/mL) après le 3<sup>ème</sup> lavage.

Les valeurs plus élevées de protéines dans les échantillons traités avec les extraits par rapport au contrôle indiquent que ces extraits peuvent induire une réponse de la part de *S. aureus*, augmentant l'interaction avec ses protéines produites. L'étude de **Baudelaire et collaborateurs (2020)** a montré que les extraits riches en composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les tanins, avaient une forte activité contre les souches de *Staphylococcus aureus*.

Les lavages successifs réduisent significativement les concentrations bactériennes en éliminant les protéines non fixées et autres débris. Nos observations soulignent l'efficacité des lavages pour diminuer la charge bactérienne.

## *Conclusion*

---

Le but de cette étude est d'évaluer le potentiel antibactérien des extraits de deux plantes médicinales *Rubus fruticosus* et *Rosa canina* contre des souches de *Staphylococcus Aureus* isolées d'angines infantiles.

L'évaluation de l'efficacité des extraits des deux plantes médicinales (la ronce et l'églantier) obtenues par deux méthodes d'extraction (macération et infusion), a été déterminé par la méthode des disques, des puits, et des microplaques.

Les résultats obtenus montrent que les extraits obtenus par infusion et macération sont riches en polyphénols, flavonoïdes, protéines et sucres. La macération est plus efficace pour l'extraction des flavonoïdes, des protéines et des sucres. Pour certains extraits (ronce SH, églantier, églantier Ta, cynorrhodon, églantier SH) l'infusion est plus efficace pour l'extraction. L'infusion est plus efficace pour l'extraction des phénols totaux.

L'étude confirme que les extraits des deux plantes ont une activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* responsables des angines infantiles. Certains extraits inhibent complètement la croissance de certaines souches bactériennes, tandis que d'autres ont une activité variable : ils inhibent la croissance dans certaines répétitions et on remarque un taux de croissance faible dans d'autres.

Les résultats du dosage des protéines des cultures bactériennes montrent que les extraits de la ronce et cynorrhodon influencent les protéines dans les surnageants des souches de *Staphylococcus aureus*, en augmentant la concentration des protéines produites par les bactéries avant le lavage, et en réduisant considérablement ces concentrations après plusieurs lavages par rapport aux témoins.

Puisque cette étude *in vitro* a montré son efficacité, il serait intéressant de poursuivre l'expérimentation *in vivo* en ouvrant la voie à l'application de ces extraits dans des recherches futures pour le traitement des infections de la gorge causée par des staphylocoques. Il serait intéressant d'explorer d'autres méthodes pour améliorer l'efficacité de l'effet de ces plantes.

## *Références bibliographique*

---

## *A*

- **Abbassi, B & Absi, D.** (2022). Effet des facteurs environnementaux sur l'accumulation des métabolites secondaires des plantes médicinales. Mémoire de Master, spécialité: Biotechnologie et valorisation des plantes. Université Mohamed Khider de Biskra). Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Département des sciences de la nature et de la vie.
- **Aberkane L.** (2010). Etude des mécanismes de structuration d'assemblages [bêta]-lactoglobuline-gomme d'Acacia en présence d'un flavonoïde, la quercétine. Thèse de Doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. *Institut National Polytechnique de Lorraine*.
- **Akyüz, M.** (2022). The determination of antidiabetic, anticholinesterase and antioxidant properties of ethanol and water extracts of blackberry (*Rubus fruticosus L.*) fruits at different maturity stages. *South African Journal of Botany*, 151(Part A), 1035-1048.
- **Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A.** (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4), 42.
- **Atia, K., & Boudjema, W.** (2021). Inventaire des plantes médicinales spontanées de la région d'El Outaya (Biskra). Mémoire de Master en Biotechnologie et Valorisation des plantes. *Université Mohamed Khider de Biskra, Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Département des sciences de la nature et de la vie*.

## *B*

- **Baudelaire Affi Kakou, Anoubile Benié, Alain Hugues N'Guessan, Konan K. Fernique, N. K. Guessennd et Yves-Alain Bekro,** (2020) Analyse phytochimique, activité antibactérienne des extraits hydrométhanoliques des tiges de *Ximenia americana*, espèce de Côte d'Ivoire sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 14(9): 3429-3440.

- **Bediar, H.** (2022). Contribution de l'étude biologique de l'effet de mélange des huiles essentielles. Mémoire de Master, spécialité Chimie Organique. Université Ibn-Khaldoun, Tiaret.
- **Benouattas, O., & Benzina, Z.** (2021). Inventaire et valeurs thérapeutiques des plantes médicinales existantes dans la région de Zemmoura. Mémoire de Master, spécialité Amélioration des plantes, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj.
- **Bernard, C.** (2019). Églantier et cynorrhodon : Immunité, circulation et articulations. *Althea Provence*. <https://www.altheaprovence.com/eglantier-et-cynorrhodon-immunite-circulation-et-articulations/>
- **Bouacheriene, R. Benrabia, H.** (2017). Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de BEN SROUR (M'sila). Mémoire de master, option : Biodiversité et physiologie végétale. Université Mohamad Boudiaf - M'SILA. Algérie.
- **Bouzid, A., Chadli, R. & Bouzid, K.** (2017) Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie* **15**, 373–378. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1027-6>.
- **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.

## C

- **Calixto, J. B.** (2000). Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33(2), 179-189.
- **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** (2013). Antibiotic resistance threats in the United States, 2013.  
Retrieved from <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>
- **Chan K.** (2003) Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere*, 52(9):1361-71.

- **Chevallier, A.** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparation, soins. Édition française: Larousse 2nd ed., p. 262. ISBN: 2-03-560252-1).
- **Chevallier, A.** (2014). Encyclopédie des plantes médicinales : 550 plantes médicinales et leurs usages thérapeutiques. Sélection du Reader's Digest. ISBN : 9782924382172 (2924382173).
- **Chevallier, A.** (2016). Encyclopedia of Herbal Medicine: 550 Herbs and Remedies for Common Ailments. *DK*.
- **Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R., & Larondelle, Y.** (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2), 217-225.
- **Chrubasik, C., Maier, T., Dawid, C., Torda, T., & Schieber, A.** (2008). An observational study and quantification of the actives in a supplement with *Sambucus nigra* and *Rosa canina* for the treatment of cold symptoms. *Phytomedicine*, 15(9), 782-788.
- **Couloigner, V.** (2021). Angine. EMC - AKOS - Trattato di Medicina, 23(3), 1-7.
- **Couplan, F., & Doux, Y.** (2007). Reconnaître facilement les plantes : Par l'odorat, le goût, le toucher (Les Guides Du Naturaliste) (p. 56). Delachaux & Niestlé, Paris. ISBN : 978-2-603-01538-4

## D

- **Demir, N., Yildiz, O., Alpaslan, M., & Hayaloglu, A. A.** (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of various solvent extracts from *Rosa canina* L. fruits. *Industrial Crops and Products*, 114, 104-112.
- **Diop, A.** (2021). "Impact du pré-récolte, du post-récolte et des conditions de séchage sur la qualité des mangues sèches naturelles." Thèse de Doctorat en Génie des procédés. Université de La Réunion.
- **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).** (2021). EUCAST guidelines for antimicrobial susceptibility testing, *Version 11.0, January 2021*.

## *F*

- **Ferreira I.C.F.R, Baptista P, Vilas-Boas. M, Barros L.** (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms From northeast Portugal: individual cap and stipe activity *food chemistry*.100:1511-1516.
- **Ferreira, I. C. F. R., Martins, N., & Barros, L.** (2015). Effect of infusion time on the antioxidant and antimicrobial activity of herbal teas. *Food Chemistry*, 176, 10-20.

## *G*

- **Gao, X., Zhang, Z., Wang, X., Qian, J., Hu, L., Li, Z., & Li, W.** (2023). Studies of value in use, chemical compositions, biological and pharmacological activities, and quality control of *Rubus* berries: A comprehensive review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 124: 105707.
- **Gudej J & Tomczyk KM.** (2004). Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from *Rubus L.* species. *Arch Pharm Res.* 27(11):1114-1119.
- ***Guide des arbres et arbustes*,** Sélection du Reader's Digest, Paris, 2003.

## *K*

- **Kaabeche, M.** (2022). *Guide Illustré : Flore et Végétation d'Algérie: La flore saharienne s'adapter ou périr !* 112 pages. Éditions universitaires européennes. ISBN-13:978-3-8416-7476-0.
- **Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M.** (1999). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.

- **Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K,** (2000) A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Jun; 44(6):1549-55.
- **Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & FazlyBazzaz, B. S.** (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8:118.
- **Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É., & Ombódi, A.** (2018). Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Rosehips of Some *Rosa* Species. *Medicines (Basel)*. 5(3) : 84.

## *M*

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Billot, J.** (1990). *Fruit Phenolics*. *CRC Press*. <https://doi.org/10.1201/9781351072175>
- **Magnier, P.** (2016). Intérêt de l'églantier dans la prise en charge des pathologies rhumatismales chez l'adulte. Thèse de Doctorat en Pharmacie. UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE.
- **Malbos, D.** (2022). Angines virales et bactériennes. *Actualités Pharmaceutiques*. 61(621) :48-51.
- **Marinova D & Ribarova F.** (2007). HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *J. Food Compos. Anal.* 20(5) : 370–374.
- **Mertz, C., Gancel, A.L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., Mercedes Perez, A., Ruales, J & Brat, P.**(2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22(5), 381-387.
- **MSD Manuals.** (2024). Pharyngo amygdalite. Consulté le [1 juin 2024], de <https://www.msmanuals.com/fr/professional/affections-de-l-oreille,-du-nez-et-de-la-gorge/pathologies-de-la-cavit%C3%A9-orale-et-du-pharynx/pharyngoamygdalite>.

## *P*

- **Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C. E., & Roura, S. I.** (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36(7), 679-684.

## *R*

- **Radovanović B.c., Anđelković S.M., Radovanović A.b & Anđelković M.Z.** (2013). Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild berry fruits grown in southeast Serbia. *Trop J PharmRes.* 12 (5):813-819.
- **Research and Markets.** (2024). Herbal Medicine Global Market Report.
- **Ribéreau-gayon P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. DUNOD, Paris : 254pp.

## *S*

- **Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., & Douira, A.** (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31 : 133-146.
- **Selmane, D.** (2010), Etude de l'extraction des protéines de coproduits d'abattage et de leur valorisation comme ingrédients fonctionnels. Thèse de Doctorat en Génie des procédés alimentaires. *Université Blaise Pascal – Clermont Ferrand II.*
- **Singleton, V. L., & Rossi, J. A.** (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

## *T*

- **Timsit, S.** (2023). Angine. In G. Chéron et al. (Eds.), Urgences pédiatriques (6th ed., pp. 479-483). Elsevier Masson. ISBN 9782294777486.

- **Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Valentine, D. H., Walters, S. M., & Webb, D. A.** (1968). *Flora Europaea*, Volume 2: Rosaceae to Umbelliferae. Cambridge University Press.

## V

- **Ventola C. L.** (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P & T*, 40(4), 277–283.

## W

- **Wehrle L.** (1985). La Ronce (*Rubus fruticosus L. agg*) en forêt. *Revue forestière française*, 37 (4) : 288-304.

## Z

- **Zia-Ul-Haq, M., Riaz, M., De Feo, V., Jaafar, H. Z., & Moga, M.** (2014). *Rubus fruticosus L.*: Constituents, biological activities and health related uses. *Molecules*. 19(8), 10998-11029.
- **Ziegler, J. U., Steiner, D., Landbo, A.-K., Jacobsen, S., Meyer, A. S., & Kristensen, H. L.** (2017). Hot water infusion of rose hip fruits (*Rosa canina L.*): Phenolic composition and antioxidant capacity. *Food Research International*, 100, 115-125.
- <https://thymeandlove.com/blackberry-agua-fresca/>
- <https://www.wildflowersprovence.fr/plant/rosa-canina/>

# *Annexes*

---

## Annexe 01

Milieu de culture	Utilisation	Composition
<b>Bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth)</b>	Pour l'isolement et l'entretiens des souches bactériennes.	Infusion de cervelle de veau 200 g/L Infusion de cœur de bœuf 250 g/L Protéose peptone 10 g/L Chlorure de sodium 5 g/L Phosphatase disodique 2,5 g/L Glucose 2 g/mL pH= 7,4
<b>Bouillon Nutritif</b>	Pour l'isolement et l'entretiens des souches bactériennes.	Digéré peptique de tissu animal 5 g/L Chlorure de sodium 5 g/L Extrait de viande 1,5 g/L Extrait de levure 1,5 g/L pH = 7,4
<b>Gélose Nutritive</b>	Pour l'isolement et l'entretiens des souches bactériennes.	Agar 15 g/L Peptone 5 g/L Chlorure de sodium 5 g/L Extrait de viande 1,5 g/L Extrait de levure 1,5 g/L PH = 7,4
<b>Gélose Mueller Hinton</b>	Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes.	Peptone 17,5 g/L Solides d'infusion de bœuf 2 g/L Amidon 1,5 g/L Agar 17g/L pH = 7,3
<b>Gélose Chapman</b>	Pour l'isolement et l'entretiens des <i>staphylococcus aureus</i> .	Mannito 110 g/L Chlorure de sodium 75 g/L Digéré peptique de tissu animal 5 g/L Digéré pancréatique de caséine 5 g/L Extrait de viande 1 g/L Rouge de phénol 0,025 g/L Agar 15 g/L pH = 7,4

## Annexe 02

### Préparation des milieux de cultures

**Bouillon Brain Heart Infusion Broth (BHIB):** Le milieu a été préparé en dissolvant 37 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. La suspension obtenue sera chauffée doucement sur une plaque chauffante tout en agitant pour assurer la dissolution complète des composants. Ensuite, le milieu sera réparti dans des flacons en verre puis stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**Bouillon nutritif :** Le milieu a été préparé en dissolvant 13 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. La suspension obtenue sera chauffée doucement sur une plaque chauffante tout en agitant pour assurer la dissolution complète des composants. Ensuite, le milieu sera réparti dans des flacons en verre puis stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**Gélose nutritive :** Le milieu a été préparé en dissolvant 28 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. La suspension obtenue sera chauffée doucement sur une plaque chauffante tout en agitant pour assurer la dissolution complète des composants. Ensuite, le milieu sera réparti dans des flacons en verre puis stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**Gélose Mueller Hinton (MH) :** Le milieu a été préparé en dissolvant 37,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. La suspension obtenue sera chauffée doucement sur une plaque chauffante tout en agitant pour assurer la dissolution complète des composants. Ensuite, le milieu sera réparti dans des flacons en verre puis stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**Gélose Chapman :** Le milieu a été préparé en dissolvant 110,02 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. La suspension obtenue sera chauffée doucement sur une plaque chauffante tout en agitant pour assurer la dissolution complète des composants. Ensuite, le milieu sera réparti dans des flacons en verre puis stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### Annexe 03

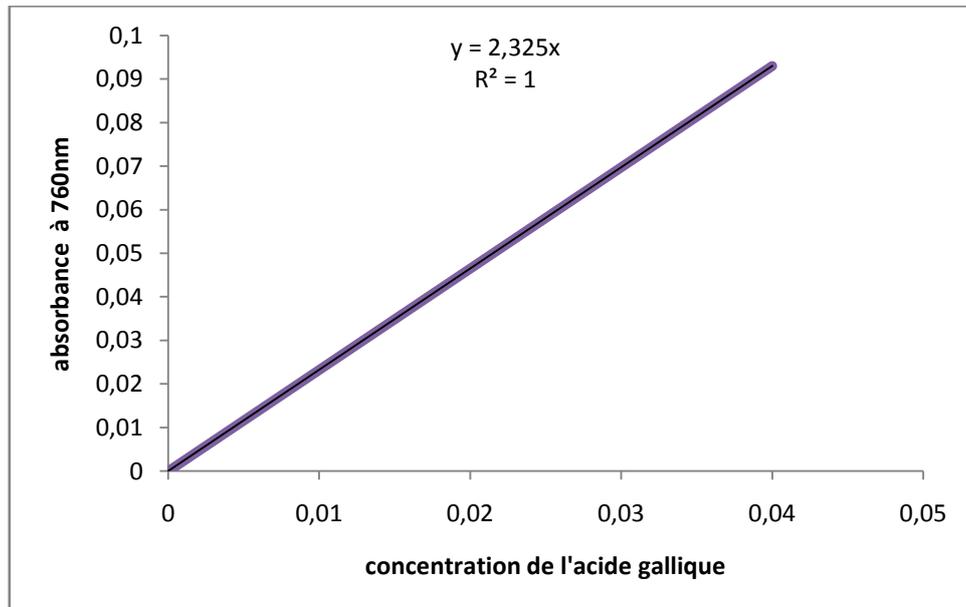
**Préparation d'eau physiologique :** L'eau physiologique a été préparée en mélangeant 9 g de chlorure de sodium (Na Cl) dans 1 litre d'eau distillée jusqu'à dissolution complète. Ensuite, le mélange sera agité pour assurer une répartition uniforme. Puis le pH est mesuré pour vérifier sa conformité aux normes physiologiques (7,4). Ensuite, l'eau physiologique sera répartie dans des flacons en verre avant de les stériliser dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### Annexe 04

**Préparation du Réactif de Bradford :** Le réactif de Bradford a été préparé en dissolvant 5 mg de Bleu de Coomassie G250 dans un mélange de 5 mL d'acide phosphorique à 88%, 2,5 mL d'éthanol à 95%, et 50 mL d'eau distillée. Le mélange sera filtré pour obtenir une solution claire. Ce réactif peut être conservé jusqu'à un mois à une température de 4°C, à l'abri de la lumière pour préserver sa stabilité et son efficacité.

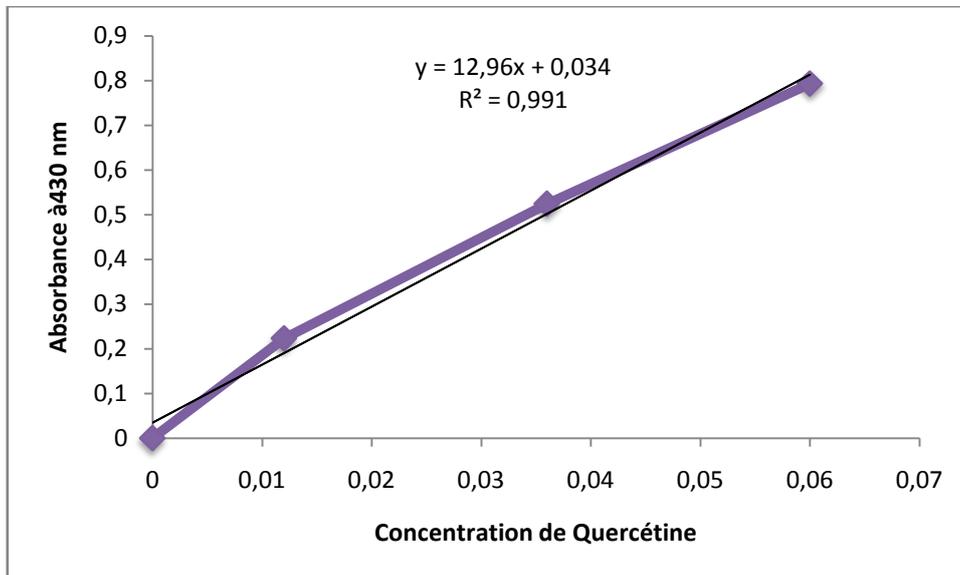
### Annexe 05

**Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**



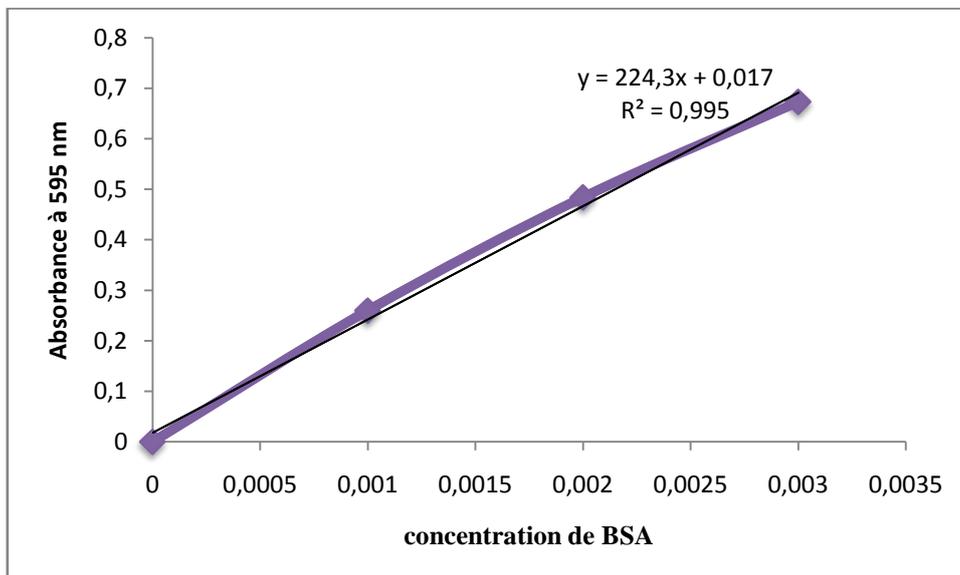
## Annexe 06

### Courbe d'étalonnage de la Quercétine



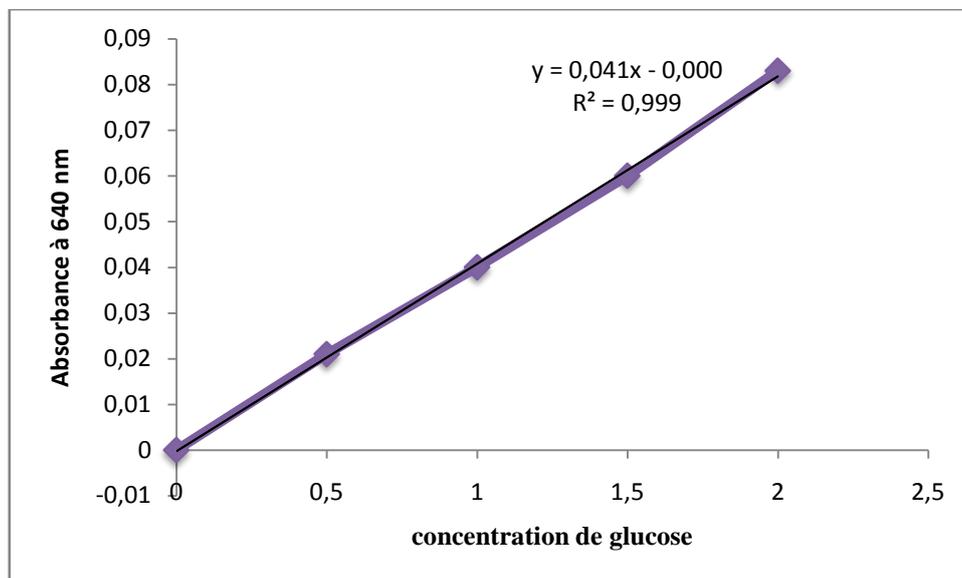
## Annexe 07

### Courbe d'étalonnage de la BSA



## Annexe 08

### Courbe d'étalonnage du glucose



## Annexe 9

### Protocole de coloration de Gram

**Préparation des frottis :** À l'aide d'une anse de platine stérile, une colonie bactérienne a été prélevée et étalée sur une lame de microscope contenant une goutte d'eau distillée pour faciliter l'étalage. La fixation du frottis se fait par passage rapide au-dessus d'une flamme du bec bunsen.

**Coloration :** Une fois que le frottis est fixé, la coloration est réalisée afin de rendre les bactéries plus visibles au microscope. La coloration de Gram est largement utilisée pour différencier les bactéries en Gram positif (qui apparaissent en violet foncé) et en Gram négatif (qui apparaissent en rose), permettant ainsi une identification précise des micro-organismes observés.

- Le cristal violet est appliqué sur la lame (coloration primaire) pendant environ une minute.
- La lame a été rincée légèrement avec de l'eau distillée afin d'enlever l'excès de cristal violet.

- La solution de Lugol (iodure de potassium) est utilisée comme agent mordant pendant environ 20 secondes.
- Un rinçage avec de l'alcool éthylique à 95% est réalisé pour décolorer (c'est l'étape critique qui distingue les bactéries Gram positif et Gram négatif).
- La lame est rincée immédiatement avec l'eau distillée afin d'arrêter l'action de l'alcool.
- La fuchsine est appliquée (coloration de contre-coloration) pendant environ une minute.
- Un rinçage avec l'eau distillée est réalisé afin d'éliminer l'excès de colorant.

**Observation microscopique :** Une goutte d'huile à immersion est ajoutée sur la lame (pour améliorer la résolution et l'observation des détails microscopiques) ensuite l'observation optique est réalisée au grossissement ( $G = 10 \times 100$ ) pour vérifier la morphologie et la coloration des bactéries.

- Des cultures pures présentent des résultats uniformes et spécifiques, indiquant une seule souche bactérienne bien définie. Tandis que des contaminations ou des mélanges de souches se traduisent par des résultats variés ou imprécis, ce qui peut rendre difficile l'identification précise des micro-organismes présents.

## *Résumé*

*Rubus fruticosus* et *Rosa canina* sont des plantes médicinales de la famille des *Rosaceae*. Ces deux arbustes sont riches en composés bioactifs, et connus pour leur utilisation en phytothérapie ; et sont utilisés autrefois pour guérir les angines, ce qui nous a conduit à réaliser cette étude, d'où l'objectif est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux de ces deux plantes sur des bactéries isolées d'angines infantiles. Cette évaluation est réalisée en utilisant la méthode des disques, la méthode des puits, et des microplaques, et en testant les extraits obtenus de la macération aqueuse et l'infusion (toutes deux réalisées avec l'eau distillée) sur des souches de *Staphylococcus aureus*. Les résultats obtenus confirment que les extraits des deux plantes ont une activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* responsables des angines infantiles.

**Mots-clefs :** *Rubus fruticosus*, *Rosa canina*, plantes médicinales, activité antibactérienne, angine infantile, polyphénols, flavonoïdes, protéines.

## *Abstract*

*Rubus fruticosus* and *Rosa canina* are medicinal plants from the *Rosaceae* family. These two shrubs are rich in bioactive compounds and known for their use in phytotherapy; and are used in the past to cure angina, which led us to carry out this study, where the objective is to evaluate the antibacterial activity of aqueous extracts of these two plants on bacteria isolated from infantile angina. This evaluation is carried out using the disc, well and microplate methods, and by testing the extracts obtained from aqueous maceration and infusion (both performed with distilled water) on strains of *Staphylococcus aureus*. The results confirm that the extracts from both plants have antibacterial activity against the *Staphylococcus aureus* strains responsible for infantile angina.

**Key words :** *Rubus fruticosus*, *Rosa canina*, medicinal plants, antibacterial activity, infantile angina, polyphenols, flavonoids, proteins.