

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCE  
DE LA NATURE ET DE LA VIE

N° :.....



DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE  
ET DE LA VIE

FILIERE : S. BIOLOGIQUES

OPTION : BIOTECHNOLOGIES  
VEGETALES

**Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master Académique  
en Biotechnologies végétales**

**Par : BOUZIDI Safia**

**Intitulé**

**Activité Antimicrobienne De Quelque Plantes Médicinale**

**En Algérie**

**Soutenu le : 24-06-2018**

**Soutenu devant le jury composé de**

**Dr. BOUNAR Rabah /MCA**

**UMB, M'sila**

**Président**

**Dr. GHADBANE Mouloud / MCA**

**UMB, M'sila**

**Rapporteur**

**Dr. BENDIF Hamid /MAB**

**UMB, M'sila**

**Examineur**

**Année universitaire : 2017/2018**



*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes Parents*

*À toute ma famille*

*À tout mes amies*

**safia**

# ***Remerciements***

*Alhamdo li Allah, qui je m'a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui je m'a aidé à compléter cette recherche modeste.*

*Premièrement, je m'exprime mes remerciements à mon directeur de thèse, Monsieur Mouloud GADHANE, pour avoir accepté de me superviser et de me guider, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée en réalisant ce travail, je le remercie profondément pour sa compréhension, sa patience*

*Comme nous ne pouvons pas oublier de remercier les membres du jury " Rabah Bonaire " et " Bendif Hamdi " pour avoir accepté d'évaluer ce travail*

# SOMMAIRE

---

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction .....1

## CHAPITRE I : revue bibliographique

### Généralités sur les plantes médicinales étudiées

#### I. -1-*Le Thymus ciliatus*

1-2-Description morphologique de *Thymus ciliatus* .....3

1-3- Classification taxonomique de *Thymus ciliatus*.....3

1- 4-Composition chimiqui .....4

1- 5- Usage traditionnel du Thym .....4

#### I -2-*Rosmarinus officinalis L .*

2-1- Habitat et description.....4

2-2- Position systématique .....4

2-3- Composition chimique.....5

2-4-Utilisation de Romarina..... 5

#### I- 3- *Marrubium vulgare*

3-2-Classification taxonomique..... .5

3- 3-Composition chimique..... 6

2-4-Utilisation..... 6

#### I -4 –*Buxacées .*

4-2-Position systématique..... 6

4-3- Utilisation du katam .....6

### II. Activités biologiques des extraits.....6

1- Activité antimicrobienne .....6

1-1Activité antifongique.....7

1-2- Activité antibactérienne.....7

---

# SOMMAIRE

---

|                           |   |
|---------------------------|---|
| III. Les polyphénols..... | 8 |
|---------------------------|---|

## CHAPITRE II : Matériel et méthode

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I. Matériel végétal .....                                                                                                                    | 9  |
| 1. Identification les plantes <i>Marrubium vulgaire</i> , <i>Thymus ciliatus</i> . <i>Rosmarinus officinales</i> . <i>Buxus dioica</i> ..... | 9  |
| 2. Récolté du matériel végétal.....                                                                                                          | 9  |
| 3. Broyage .....                                                                                                                             | 9  |
| 4. Conservation .....                                                                                                                        | 9  |
| II. Préparation des extraits.....                                                                                                            | 10 |
| III. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique.....                                                                                | 12 |
| 1.Milieu de culture.....                                                                                                                     | 12 |
| 2. Conservation des souches .....                                                                                                            | 12 |
| 3. Préparations des prés cultures.....                                                                                                       | 13 |
| 4. Préparation de l'inoculum.....                                                                                                            | 13 |
| 5. Dilution des extrait des plantes étudiées.....                                                                                            | 13 |
| 6. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide.....                                                                                   | 13 |
| IV. Dosage des polyphénols totaux.....                                                                                                       | 14 |
| V.Analyse statistique.....                                                                                                                   | 14 |

## CHAPITRE III : Résultat et Discussion

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| I. Détermination du rendement.....                                    | 15 |
| II. Activité antimicrobienne des extraits des plantes de l'étude..... | 16 |
| III. Évaluation de l'activité antimicrobienne.....                    | 19 |
| IV. Teneur des polyphénols totaux.....                                | 21 |
| Conclusion.....                                                       | 23 |
| Références bibliographique.....                                       | 24 |

---

# SOMMAIRE

---

**Resume.....28**

**Annexe**

---

---

## LISTE DES FIGURES

---

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 01 : la classification des composés phénoliques.....                                                                                         | 8  |
| Figure 02 : matériel végétal.....                                                                                                                   | 9  |
| Figure 0 3: Agitation et filtration Des 'extrait éthanolique de Marrubium vulgaire,<br>Thymus ciliatus .Rosmarinus officinales et Buxus Dioica..... | 10 |
| figure0 4 : Rotavapeur de types BUCHI R-120.....                                                                                                    | 11 |
| Figure 05 : Protocole de préparation d'extrait éthanolique par macération.....                                                                      | 11 |
| Figure06 : Protocole de dosage des composés phénoliques.....                                                                                        | 11 |
| Figure 07 : rendement des extraits éthanoliques des plantes Marrubium vulgaire, Thymus<br>ciliatus .Rosmarinus officinales. Buxus Dioica.....       | 15 |
| Figure 08 : Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas d'E. coli.....                                                         | 16 |
| Figure 09: Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés :cas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 16                                         |    |
| Figure 10: Exemples de l'activité antifongique des extraits testés : cas <i>Bacillus cereus</i> 17                                                  |    |
| Figure11: Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés cas <i>Staphylococcus aureus</i>                                               |    |
| Figure 12: Exemples de l'activité antibactérienne des extraits testés : cas <i>Proteus mirabilis</i> 18                                             |    |
| Figure 13 : Exemple de l'activité antifongique des extraits testés cas : <i>Candida albicans</i> . 18                                               |    |
| Figure14 : Les zones d'inhibition des extraits sur les souches bactéries étudiées.....                                                              | 19 |
| Figure15 : la courbe d'étalonnages d'acide gallique.....                                                                                            | 22 |

---

## LISTE DES TABLEAUX

---

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau0 1 :Liste des souches bactériennes et fongique.....                                                                                   | 11 |
| Tableau0 2: Rendement des extraits éthanoliques des plantes Marrubium vulgaire, Thymus ciliatus<br>.Rosmarinus officinales. Buxus Dioica..... | 14 |
| Tableau03:activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées.....                                                                     | 18 |
| Tableau04 : Teneur en polyphénols totaux (mg/g de poids sec de la plante)..                                                                   | 21 |

---



# INTRODUCTION

## Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien les êtres humains. L'ensemble de ses organes forme une usine productrice, des milliers de substances qui sont différentes sur le plan structural ainsi que biologique. Cette usine utilise le CO<sub>2</sub> dégagé dans l'atmosphère et l'H<sub>2</sub>O comme matières premières par le biais de la photosynthèse pour produire la première matière organique qui est C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>. Toutes les catégories de molécules sont synthétisées par la suite, chacune selon sa voie de biosynthèse (Madi, 2010).

Les plantes aromatiques et médicinales ont des propriétés importantes, plusieurs médicaments pharmaceutiques ont été dérivés de plantes, ces derniers passent dans l'esprit de la population pour efficacité et tolérance du fait de son origine naturel faisant partie de la médecine douce (Hami et *al.*, 2011).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihák *al.*, 2007).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Un grand nombre de plantes, aromatiques, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très importantes, qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture (Bahorun, 1997).

Les recherches actuelles sur les molécules antimicrobiennes d'origine naturelle se concentrent principalement sur les plantes, car ils peuvent être achetés plus facilement et seront sélectionnés sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle (Yano et *al.*, 2006)

# Introduction

---

Présente étude s'inscrit dans cet objectif et elle a porté sur :

- l'identification de certains groupes chimiques bioactifs contenus dans les extraits éthanoliques des plantes étudiées : *Marrubium vulgaire*, *Thymus ciliatus*, *Rosmarinus officinales* et *Buxus Dioica*.
- l'évaluation l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé des extraits éthanoliques des plantes étudiées..

Ce travail sera présenté comme suit :

- ❖ Dans le premier chapitre, nous présentons une analyse bibliographique décrivant les notions essentielles sur les plants étudiées (les plantes médicinales, classification et intérêt des métabolites secondaires ,le activité antimicrobiennes, ),
- ❖ deuxième chapitre Évaluation qualitative et quantitative des propriétés antibactériennes des extraits préparés.(le activité antimicrobiennes et dosage de polyphénols
- ❖ troisième chapitre résultat et discussion

# **CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Généralités sur les plantes médicinales :

**1-1- *Thymus ciliatus* : l'origine du nom sujette à diverses interprétations :** Thym proviendrait du mot latin "thymus" qui signifie "parftimé".Thym à partir du mot grec "thumus" qui signifie "courage" (anonyme 1). Le thym appartient à la famille des labiées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde (Ebrahimi et *aL*, 2008).

**1-2-Description morphologique de *Thymus ciliatus* :** Le *Thymus ciliatus* est une espèce spontanée, c'est un arbrisseau de petite taille, mais pouvant former des touffes bien étalées sur le sol ; les feuilles florales sont différentes des feuilles caulinaires, en général fortement dilatées à leur portion inférieure. Rencontrée dans les broussailles, matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocaillieux et bien drainés, la plante se répartit sur (Benabid, 2000)

**1-3- Classification de *Thymus ciliatus*** slon, Quezel et Sant En 1963

Embranchement.....Phanérogames

Sous Embranchement..... Angiospermes

Classe..... Dicotylédones

Sous Classe..... Gamopétales

Série ..... Gamopétales Hypogynes

Sous Série.....Division Bicarpétalées

Ordre.....Tubiflorales

Sous Ordre.....Lamiales

Famille.....Labiées

Tribu.....Saturiés

Genre..... *Thymus*

Espèce ..... *Thymus ciliatus*

**1- 4-Composition chimique :** Les principaux métabolites secondaires du genre *Thymus* sont les flavonoïdes. Le genre *Thymus* appartient à la sous-famille des *Nepetoideae* réputée pour stocker des flavonoïdes polyméthoxylés, (Ismaili et *al.*, 2001 ; Haraguchi et *al.*, 1996).

La lutéoline et la 6-hydroxylutéoline sont des chémomarqueurs des espèces *Thymus*, la thymusine (5,6- dihydroxy-7, 8,4'-triméthoxyflavone) est aussi caractéristique de cette sous-famille. L'huile essentielle de *Thymus ciliatus* est composée principalement de thymol, de  $\beta$ -Eocimène et d' $\alpha$ -terpinène accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : linalol,  $\delta$ -3-carène, 1,8-cinéole et carvacrol (Benabid, 2000).

**1- 5- Usage traditionnel du Thym :** C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires (Djerroumi et Nacef, 2004).

- 1- Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (Hans, 2007).

## **I -2-Rosmarinus officinalis L :**

**2-1- Habitat et description:** Originaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semi ou de boutures au printemps. Le *Rosmarinus officinalis* L. dont le nom rose de mer vient simplement du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mer (Iserin et *al.*, 2007). C'est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé (feuilles en forme d'éguilles blanchâtres et duveteuses par dessous) (Hans, 2007).

### **2-2- Position systématique :**

Sous règne..... Cormophytes

Embranchement.....Spermaphytes

Sous embranchement..... Angiospermes

Classe ..... Eudicots

Série : super ovaire .....Tétracyclique

Ordre..... Lamiales

Famille..... Lamiacées

Genre espèce..... Rosmarinus officinalis

### 2-3- Composition chimique :

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont : Les acides phénoliques : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique (Ibañez et al, 2003 ; Ramirez et al, 2004 ; Caverio et al, 2005 ; Herrero et al, 2005 ; Muchuweti et al, 2007 ; Pérez et al, 2007)

Les flavonoïdes : genkwanine, cirsimaritrine (Ibañez et al ,2000; Caverio et al, 2005), ériocitrine, hespérédine, diosmine, lutéoline (Okamura et al, 1994 ; Del Baño et al, 2004), apigénine (Yang et al ,2008)

**2-4-Utilisation de Romarina :** Le romarin est une plante méditerranéenne ayant des qualités et propriétés stimulantes, antiseptiques et insecticides. Il sert à la fabrication des parfums il fut utilisé en médecine contre les débilités de tout genre. Il calme les nerfs surtout au moment de la ménopause. Il est en même temps diurétique( SEDJELMASSI ,. 1993).

### 3-1-Marrubium vulgare

Le *Marrube vulgaire* est une Arbuste, d'aspect blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués, a feuilles petites en coin à la base et portant quelque dents au sommet, fleurs en petites glomérules à l'aisselle des paires de feuilles, corolle petite par rapport au calice tubuleux, celui-ci s'accroissant considérablement par sa partie supérieure en formant autour du fruit une auréole membraneuse (Ozenda, 2004).

**3-2-Classification taxonomique** Selon Judd et al., (2002) la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est :

Règne..... Végétale

Embranchement..... Angiosperme.

Classe..... Eudicotylédones.

Sous-classe..... Gamopétale.

Ordre..... Lamiales.

Famille..... Lamiacées.

Genre..... *Marrubium*.

Espèce..... *Marrubium vulgare* L.

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth (Quezel et Santa, 1963), Merrîwt au Maroc (Bellakhdar, 1997), Marroubia en Tunisie (Boukef, 1986). En Anglais : Harehound, en Italien : Marrubbio. Selon (Bonnier, 1909),

### **3- 3-Composition chimique**

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgarol, du marrubénol et du marrubiol. Il y a également des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, mais aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique. En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique, (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique). Toutefois la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% :  $\alpha$ -pinène, camphène, limonène) (Wichtlet, Anton, 2003).

### **2-4-Utilisation de Marrubium vulgare**

Les Grecs de l'Antiquité l'utilisaient contre les morsures de chiens enragés. En médecine ayurvédique (Inde), chez les aborigènes d'Australie et les Amérindiens d'Amérique du Nord, le Marrube servait à traiter les infections des voies respiratoires. Selon la commission allemande, elle est utilisée dans le traitement des dyspepsies et la perte d'appétit. (DJ, 2014)

### **4-1-BUXACÉES**

Arbustes toujours verts, à feuilles opposées ovales très entières, sans stipules. Inflorescences sessiles, en glomérules axillaires. Fleurs unisexuées par avortement, munies



d'une bractée. Sépales 4, inégaux. Fleurs mâles à 4 étamines, les femelles à 3 styles. Ovaire biloculaire. Capsule loculicide à 3 valves. (Quezel et al., 1963).

### 4-2-Position systématique :

Règne .....Plante  
Embranchement.....Spermatophyta (Angiospermae)  
Classe .....Dicotyledones  
Ordre .....Celastrales  
Famille.....Buxaceae  
Genre.....Buxus

**4-3- utilisation du katam :** Le katam permet de foncer les teintes obtenues avec le henné et de donner de l'éclat aux cheveux, il a la particularité de couvrir les cheveux blancs. Proche de l'indigo, lorsqu'il est mélangé au henné il donne une palette de couleur allant du châtain clair au châtain foncé (brun chocolat) selon la couleur de base, le temps de pose et le nombre de hennés présents sur le cheveu.

## II. Activités biologiques des extraits

Le rôle physiologique des extraits pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés.

**1- Activité antimicrobienne :** De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne (Bousbia, 2004). Les constituants des extraits sont actifs contre une large gamme de bactéries levures et champignons.

**1-1- Activité antifongique :** Le pouvoir antifongique des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (Billerbeck et al., 2002 ; KOTHE et al., 2004 ; Oussou et al., 2004) et contre les dermaphytes et les

# **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE**

champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure) (Teixeiraduarte, 2005)

**1-2- Activité antibactérienne :** Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leur propriété antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de micro-organisme. Ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains (Remmal, 1993; Chami, 2005; CVALLO et al, 2006)

### III. Les polyphénols :

Ils sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ces molécules sont présentes dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont généralement impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot., 2006)

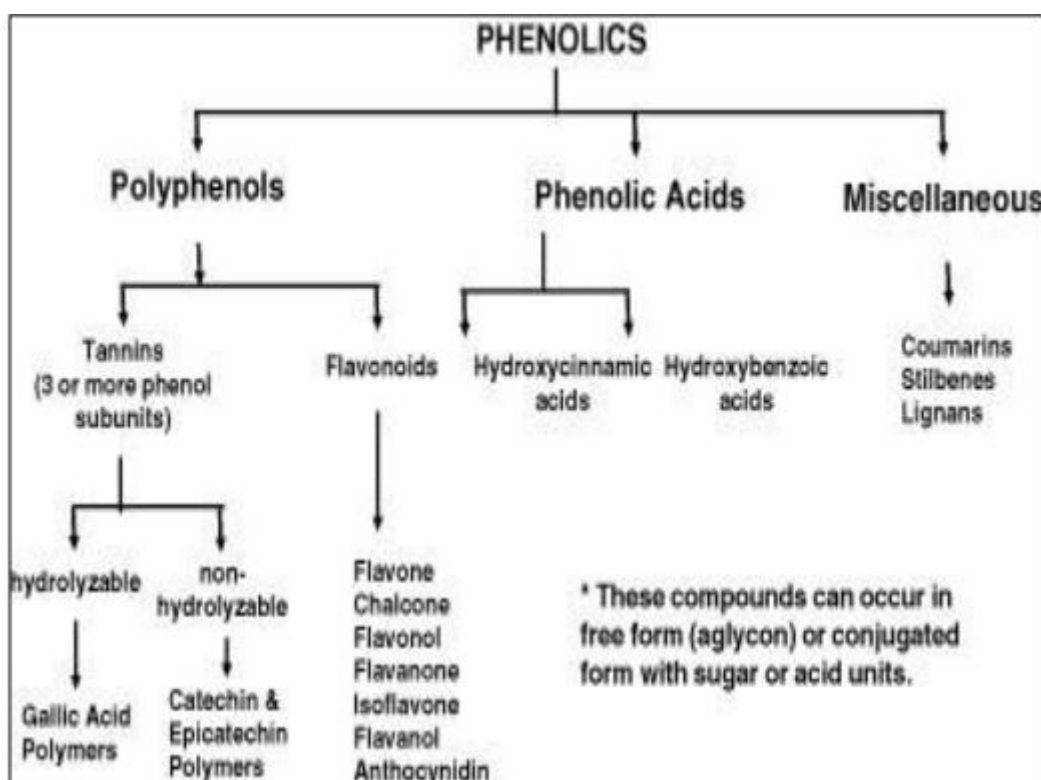


Figure01 classification des composés phénoliques (luthria.,2006)

## MATERIEL ET METHODE

### I. Matériel végétal :

#### 1. Identification les plantes *Marrubium vulgaire*, *Thymus ciliatus*

#### *.Rosmarinus officinales. Buxus dioica :*

L'identification des plantes médicinales *Marrubium vulgaire*, *Thymus ciliatus* .*Rosmarinus officinales* et *Buxus dioica* a été fait par les enseignant (Sarri Djamal), (Bendif hamdi) et (Rabah Bounar) botanistes de la faculté des sciences, Département SNV, Université Mohamed Boudiaf M'sila.

#### 2. Récolté du matériel végétal :

La récolte des plantes *Marrubium vulgaire*, *Thymus ciliatus*, *Rosmarinus officinales* et *Buxus dioica* a été en mai 2015 effectuée dans la région d'OULED AISSA commune rabta wilaya BORJ BOU ARRERIDJ.

#### 3. Broyage :

Les différentes parties des plantes étudiées sont broyées directement à l'aide un Mortier afin d'obtenir des poudres, cette dernier constituent le matériel végétal final qui utilisé pour la préparation des extraits.

#### 4. Conservation :

Les broyats sont stockés dans sachets .



Figure 02 : matériel végétal

## II. Préparation des extraits :

Extraction par les solvants organiques à polarité , en utilisant un solvants à polarité croissante éthanol , méthode décrite par ( Bendif et *al.*, 2017) . La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale dont nous disposons (dans notre cas, 200 ml de solvant pour 20 g de poudre). L'extraction est effectuée sous agitation continue et à température ambiante durant 24 heures.



Figure 03: Agitation et filtration Des 'extraits éthanolique de *Marrubium vulgare*,

*Thymus ciliatus* .*Rosmarinus officinales* et *Buxus Dioica*

Après filtration, le résidu est ensuite concentré par évaporation rotative dans un Rotavapeur puis séché à poids constant à l'air pendant mois (figure0 3).



figure0 4 : Rotavapeur de types BUCHI R-120

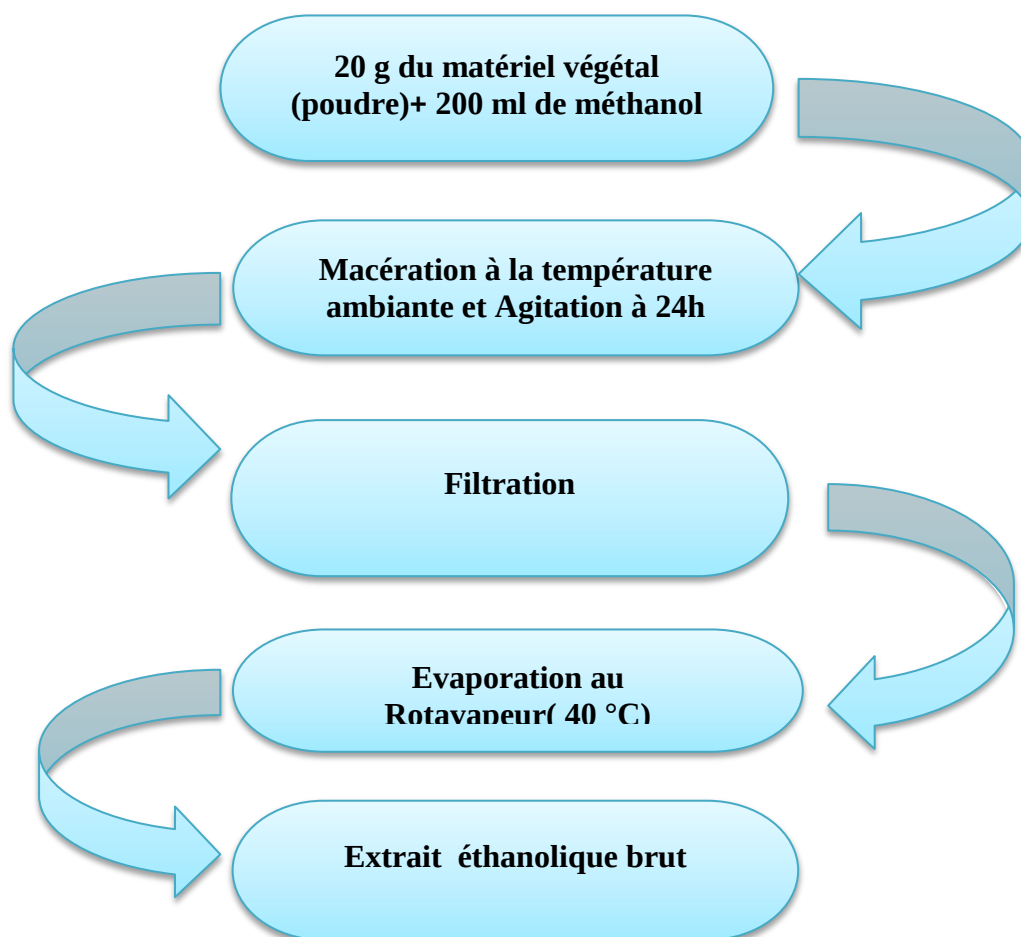


Figure 05 : Protocole de préparation d'extrait éthanolique par macération.

( Bendif et al., 2017 )

### III. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique

Cinq souches bactériennes et Deux souches fongiques (Tableau n° 1) ont été choisies pour leur pathogénicité et leur multi résistance. Ce sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et . Elles sont activées à 37 °C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton(MH) .

Tableau0 1 :Liste des souches bactériennes et fongique.

| Souche                        | Référence   | Gram    |
|-------------------------------|-------------|---------|
| <i>Escherichia coli</i>       | ATCC25922   | Négatif |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC27853   | Négatif |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | ATCC25923   | Positif |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | ATCC 104588 | Négatif |
| <i>Bacillus cereus</i>        | ATCC 13569  | Positif |
| <i>Aspargillus niger</i>      | //          | //      |
| <i>Candida albican</i>        | ATCC 10231  | //      |

Ces souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) ont tous été fournis par le laboratoire de microbiologie, université D' Msila

#### 1. Milieu de culture

- ✓ bouillon nutritif (milieu de repiquage)
- ✓ Gélose nutritive (milieu de dénombrement)
- ✓ Gélose Mueller Hinton (milieu de l'activité antibactérienne )

#### 2. Conservation des souches :

Les souches sont conservées à 6°C dans des Boites de pétrie stériles contenant milieu de Culture (gélose nutritive)

#### 3. Préparations des prés cultures

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées dans le bouillon nutritif puis incubées à 37 °C pendant 72

### 4. Préparation de l'inoculum :

Chaque souche est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive, pour obtenir une culture de 18 à 24 h. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées sont mis en suspension dans un bouillon nutritif (ou en eau physiologique à 0,9 % NaCl). Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 108 UFC/ ml (CA-SFM, 2010).

### 5. Dilution des extrait des plantes étudiées :

Chaque 50mg de extraite déjà Préparé diluée dans 1ml DMSO avec la ajutation a l'aide la fortax

### 6. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide :

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage à partir d'un inoculum dilué au 1/10 (environ 107 UFC/ml) (CA-SFM, 2010). À l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, réaliser des stries parallèles et aussi serrées que possible à la surface d'une boîte de Pétri préalablement coulée avec la gélose de Mueller- Hinton (pour un flacon 180ml gélose de Mueller-Hinton ajouté 3.6g glucose et 90mg bleu de méthylène pour activité de *Candida albicans* comme méthode standard.

Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.

Des disques de papier filtre, de 6 mm de diamètre, sont préparés et stérilisés. Ils sont ensuite imprégnés de 10  $\mu$ l de l'extrait testé dilué dans du DMSO pur, et déposés à la surface de la boîte de Pétri ensemencée. , l'opération est répétée trois fois.

Un disques témoins négative est déposés sur la même boîte ; un disque contenant 10  $\mu$ l de DMSO pur .

Les boîtes de Pétri sont laissées sur la paillasse au moins 15 min pour une prédiffusion de l'extrait avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h. ( Gulluce et al., 2007)



#### IV. Dosage des polyphénols totaux

Le Dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles *thymus ciliatus* ; *marrubium vulgare* ; *buxus dioca* et *Rosmarinus officinales* Le réactif de Folin Ciocalteu a été employé pour déterminer la teneur en phénols totaux des extraits d'échantillons selon la méthode de Singleton et al1999

. Le complexe produit absorbe fortement à une longueur d'onde de l'ordre de 765nm.

Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux

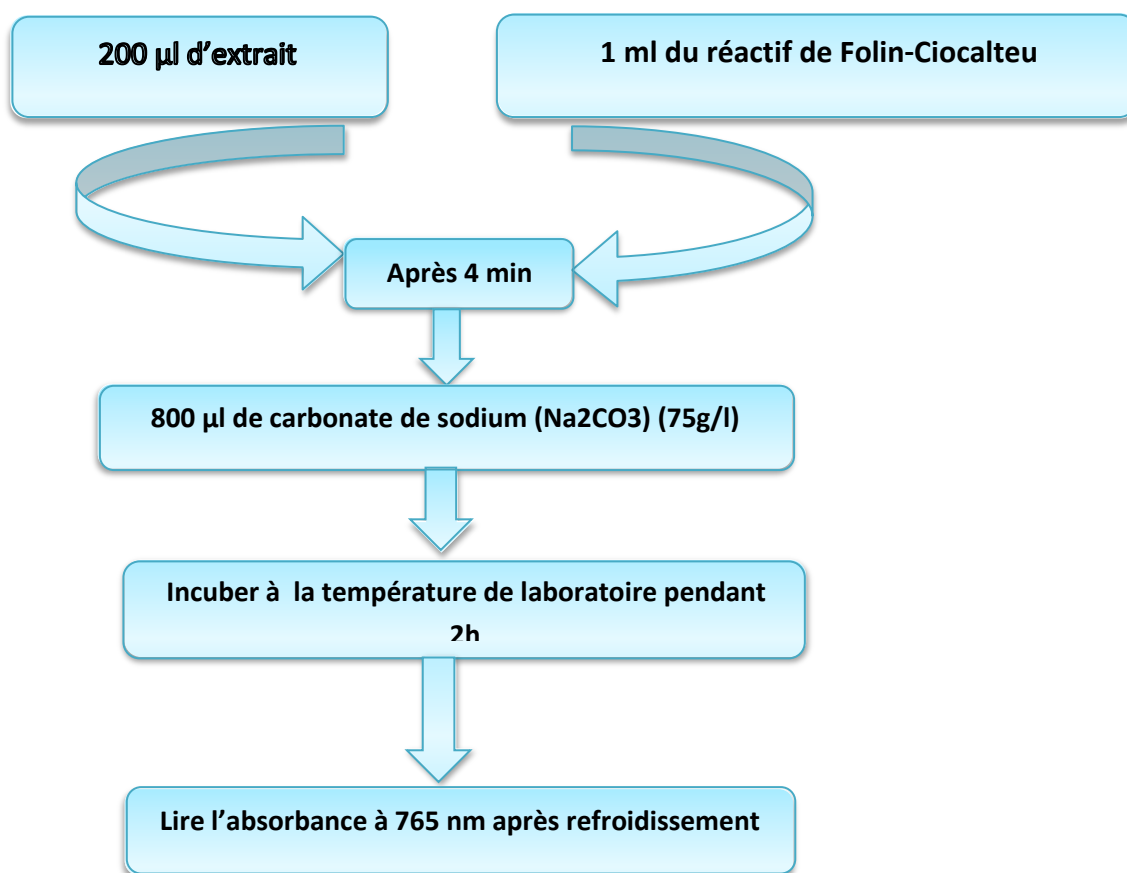


Figure06 : Protocole de dosage des composés phénoliques (Singleton et al1999)

#### V. Analyse statistique :

Les données de l'analyse de l'activité antimicrobienne des extraits, ont été analysées par le logiciel SAS 9. Les moyens de traitements pour chaque expérience ont été comparés en utilisant le test de Duncan au seuil de probabilité de 5 %. Sur le tableau, chaque moyenne est affectée d'une lettre et les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

# **CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION**

### I. Détermination du rendement :

Rendement Les extrait éthanolique de *Marrubium vulgaire*, *Thymus ciliatus*, *Rosmarinus officinales*, *Buxus Dioica* a été quantifié selon la formule suivante:

$$R\% = \frac{PE}{PMV}$$

R : rendement

PE : poids de l'extrait (g)

PMV : poids de matière végétale (g)

Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau0 2: Rendement des extraits éthanoliques des plantes *Marrubium vulgaire*, *Thymus ciliatus*, *Rosmarinus officinales*, *Buxus Dioica*

| matière végétale 20g          | Poids de l'extrait (g) | rendement (%) |
|-------------------------------|------------------------|---------------|
| <i>Thymus ciliatus</i>        | 5                      | 25            |
| <i>Rosmarinus officinales</i> | 7                      | 35            |
| <i>Marrubium vulgaire</i>     | 3.70                   | 18            |
| <i>Buxus Dioica</i> (10g)     | 1.5                    | 7.5           |

### II. Activité antimicrobienne des extraits des plantes

Le pouvoir antifongique et antibactérien des quatre substances naturelles extraites des parties aérien de *Marrubium vulgare* ; *Thymus ciliatus* ; *Rosmarinus officinales* et *Buxus Dioica* a été déterminé sur milieu : gélose de Muller Hinton : et Pour ce faire, nous avons utilisé la technique de diffusion sur milieu solide selon (Gulluce et al., 2007).

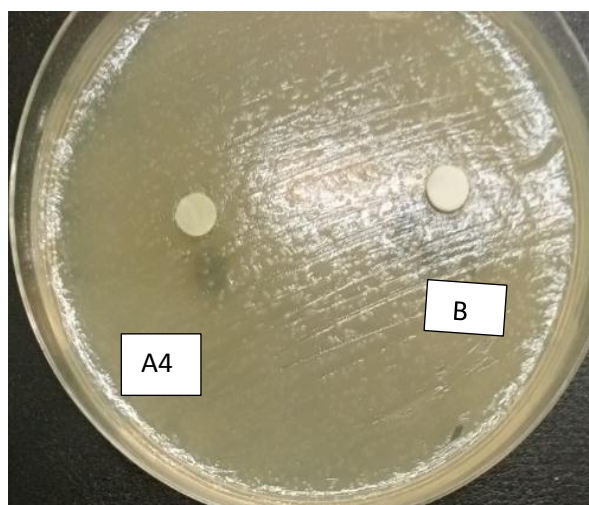


Figure 08 : Exemples de l'activité antibactérienne de extrait testés : cas d'*E.coli*

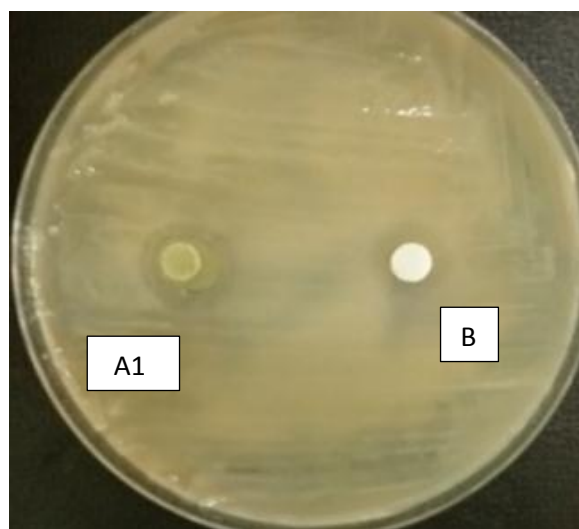


Figure 09: Exemples de l'activité antibactérienne de extrait testé :cas *Pseudomonas aeruginosa*

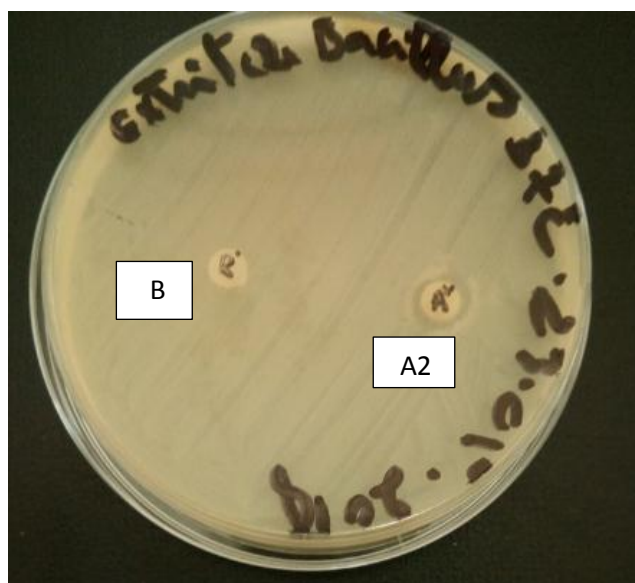


Figure 10: Exemples de l'activité antifongique de extrait testé : cas *Bacillus cereus*

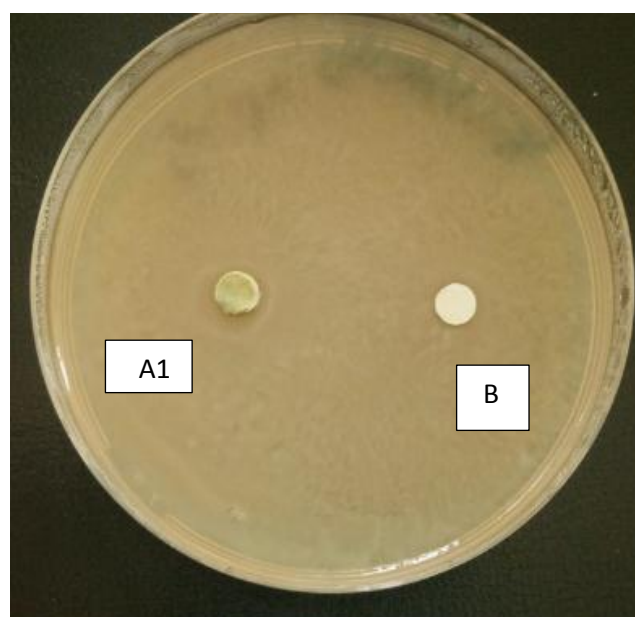


Figure11: Exemples de l'activité antibactérienne de extraits testé s cas *Staphylococcus aureus*

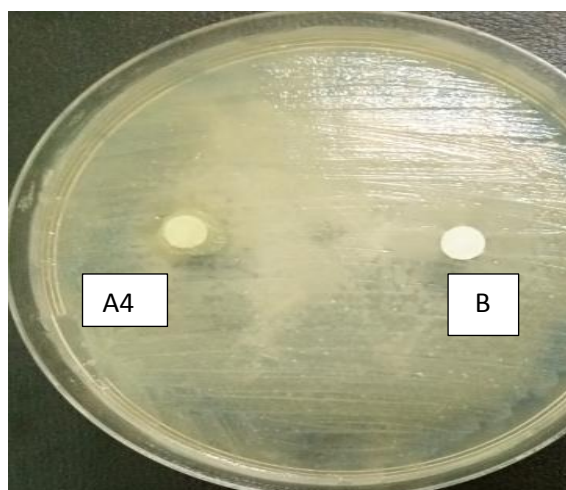


Figure 12: Exemples de l'activité antibactérienne de extrait testé : cas *Proteus mirabilis*

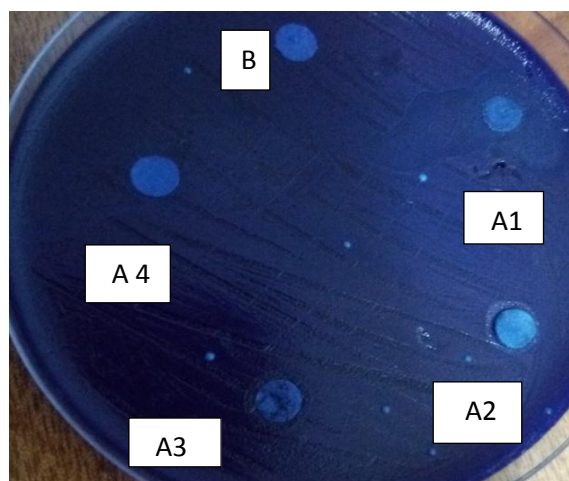


Figure 13 : Exemple de l'activité antifongique des extraits testés cas : *Candida albicans*

A1 : Un disque de extrait de de partie aérienne de *Rosmarinus Officinalis*

A2 : Un disque de extraits de partie aérienne de *Thymus ciliatus*

A3 : Un disque de extrait de de partie aérienne *Marrubium vulgaire*

A4 : Un disque de extrait de partie aérienne de *buxus dioica*

B : Un disque témoins négative D

### III. Evaluation de l'activité antimicrobienne

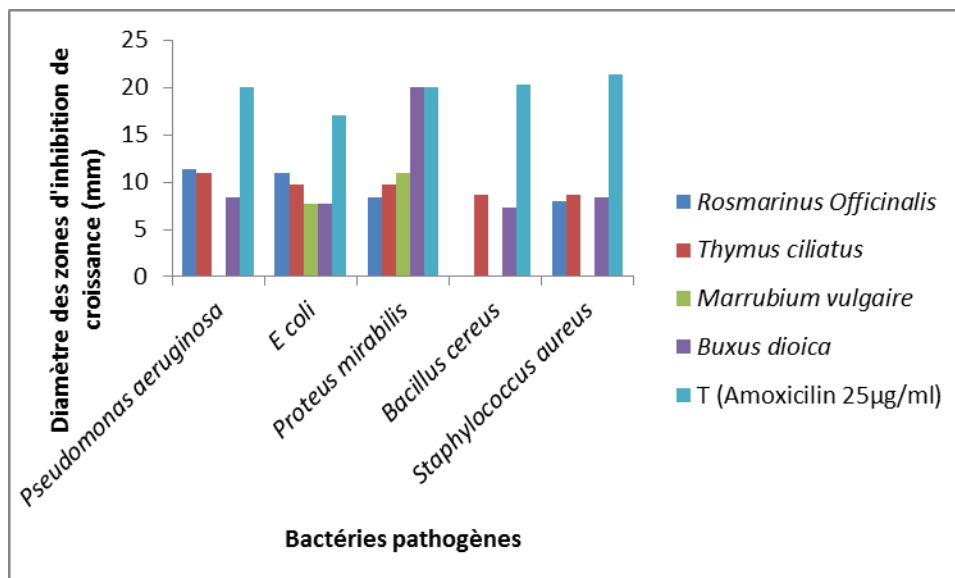


Figure14 : Les zones d'inhibition des extraits sur les souches bactéries étudiées

On peut considérer une activité antimicrobienne si le diamètre de la zone d'inhibition observé autour du disque de papier Wattman est supérieur ou égal à 6 mm. Généralement les diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les bactéries gram positifs sont plus importants que ceux obtenus avec les bactéries gram négatifs.

Tableau03:activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées

| Extrait<br>méthanolique<br>des plantes | Diamètre des zones d'inhibition de la croissance (mm) |                           |                          |                             |                              |                         |                          |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                                        | Bactéries à Gram négatif                              |                           |                          | Bactéries à Gram positif    |                              | Levure                  | Champignon filamenteux   |
|                                        | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                         | <i>E coli</i>             | <i>Proteus mirabilis</i> | <i>Bacillus cereus</i>      | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Aspergillus niger</i> |
| <i>Rosmarinus Officinalis</i>          | 11,33±1,53 <sup>b</sup>                               | 11,00 ± 0,00 <sup>b</sup> | 08,33±0,58 <sup>b</sup>  | 0<br>6,00±0,00 <sup>d</sup> | 08,00±0,00 <sup>b</sup>      | 22,33±0,58 <sup>a</sup> | 11,33±3,21 <sup>ba</sup> |
| <i>Thymus ciliatus</i>                 | 11,00±1,73 <sup>b</sup>                               | 09,67 ± 1,15 <sup>b</sup> | 09,67±2,08 <sup>b</sup>  | 08,67±1,15 <sup>b</sup>     | 08,67±1,15 <sup>b</sup>      | 13,00±3,46 <sup>b</sup> | 10,00±1,00 <sup>ba</sup> |
| <i>Marrubium vulgaire</i>              | 06,00±0,00 <sup>d</sup>                               | 07,67 ± 0,58 <sup>c</sup> | 11,00±1,73 <sup>b</sup>  | 0<br>6,00±0,00 <sup>d</sup> | 0<br>6,00±0,00 <sup>c</sup>  | 08,00±1,73 <sup>b</sup> | 06,00±0,00 <sup>c</sup>  |
| <i>Buxus dioica</i>                    | 08,33±1,53 <sup>c</sup>                               | 07,67 ± 1,11 <sup>c</sup> | 20,00±5,20 <sup>a</sup>  | 07,33±0,58 <sup>c</sup>     | 08,33±0,58 <sup>b</sup>      | 26,67±5,77 <sup>a</sup> | 09,00±0,00 <sup>b</sup>  |
| Amoxicilin 25µg/ml                     | 20,00±1,00 <sup>a</sup>                               | 17,00 ± 0,00 <sup>a</sup> | 20,00±1,00 <sup>a</sup>  | 20,33±0,58 <sup>a</sup>     | 21,33±0,58 <sup>a</sup>      | -                       | -                        |
| Amphotéricine B                        | -                                                     | -                         | -                        | -                           | -                            | 22,33±0,58 <sup>a</sup> | 12,67±0,58 <sup>a</sup>  |

### **pour Bactéries à Gram négatif :**

- ***Pseudomonas aeruginosa***, L'antibiotique Amoxicilin suivi à la moyenne **a** . les extraits *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus ciliatus* suivi à la même moyenne **b**, donc ne sont pas significativement différentes. L'extrait de *Buxus dioica* suivi à la moyenne **c** . *Marrubium vulgaire* suivi à la moyenne **d** absence l'activité ( $06,00 \pm 0,00$ ) .
- ***E coli***, L'antibiotique Amoxicilin suivi à la moyenne **a** ; L'extrait *Rosmarinus Officinalis* et L'extrait *Thymus ciliatus* suivi à la même moyenne **b** ; et L'extrait *Marrubium vulgaire* et L'extrait *Buxus dioica* suivi à la même moyenne **c**
- ***Proteus mirabilis***, L'antibiotique Amoxicilin et L'extrait *Buxus dioica* suivi à la même moyenne **a** donc on constate une très forte inhibition d'extrait *Buxus dioica* sur *Proteus mirabilis*  $20,00 \pm 5,20$  mm

### **pour Bactéries à Gram positif :**

- ***Bacillus cereus*** L'antibiotique Amoxicilin suivi à la moyenne **a**, *Thymus ciliatus* suivi à la moyenne **b** ; *Buxus dioica* suivi à la moyenne **c** *Rosmarinus Officinalis* et *Marrubium vulgaire* suivi à la moyenne **d**
- ***Staphylococcus aureus***, L'antibiotique Amoxicilin suivi à la moyenne **a** . *Rosmarinus Officinalis*, *Thymus ciliatus* et *Buxus dioica* suivi à la même moyenne **b** *Marrubium vulgaire* suivi à la moyenne **c**

**Pour Un seul Levure : *Candida albicans*** ; L'antibiotique Amphotéricine B , l'extrait *Rosmarinus Officinalis* et l'extrait *Buxus dioica* suivi à la même moyenne **a** donc la méthode de diffusion en milieu solide les deux extraits *Buxus dioica* et *Rosmarinus Officinalis* ont montré une activité antibactérienne plus élevée sur *Candida albicans* que les autres extraits , les zones d'inhibition ont été  $26,67 \pm 5,77^a$  mm et  $22,33 \pm 0,58^a$  mm respectivement. *Marrubium vulgaire* et *Thymus ciliatus* suivi à la moyenne **b**



**Pour Champignon filamenteuse : *Aspergillus niger*** Amphotéricine B suivi à la moyenne **a**. *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus ciliatus* suivi au même moyen **ab** . *Buxus dioica* suivi à la moyenne **b**, *Marrubium vulgaire* suivi à la moyenne **c**

#### IV. Teneur des polyphénols totaux :

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant L'équation:

$$Y=100,88x \quad ; \quad R^2 =0.9628$$

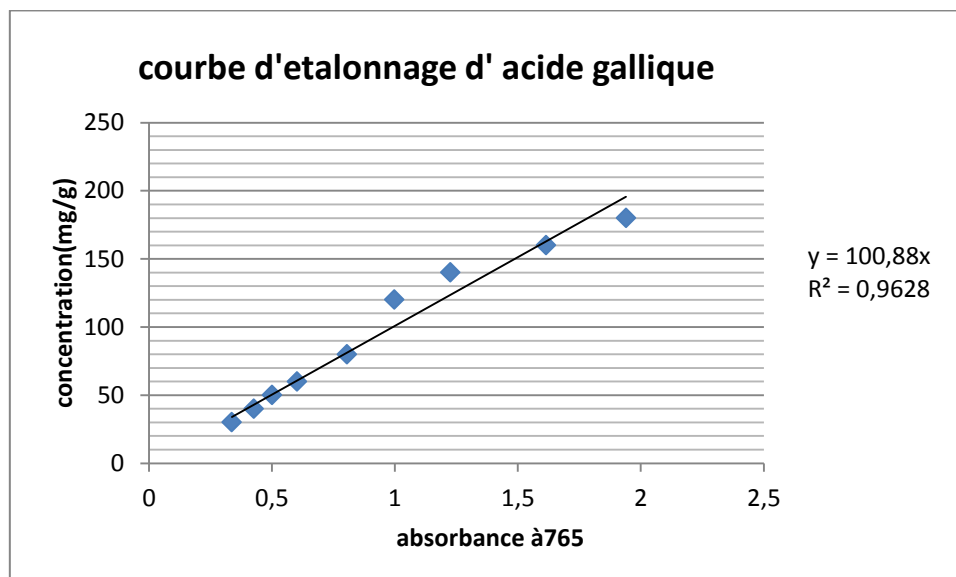


Figure15 : courbe d'étalonnage d'acide gallique

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EA g/mg Ps). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux des extraits

Tableau04 : Teneur en polyphénols totaux (mg/g de poids sec de la plante).

| matière végétale              | teuneur de polyphénole<br>(mg EA g/mg Ps) |
|-------------------------------|-------------------------------------------|
| <i>Thymus ciliatus</i>        | 44.6                                      |
| <i>Rosmarinus officinales</i> | 45.597                                    |
| <i>Marrubium vulgaire</i>     | 13.5                                      |
| <i>Buxus Dioica</i>           | 40.7                                      |

Suivant le Tableau ci-dessus, on a enregistré en équivalent acide gallique 45.597 mg ;44.6mg ; 40.7mg et13.5mg par g de matériel végétal sec, respectivement avec les extraits *Rosmarinus officinales* ; *Thymus ciliatus* et *Buxus Dioica* . Les extraits représentent la teneur la plus élevée en polyphénols, sauf l'extrait de *Marrubium vulgaire* représente faible teneur en polyphénole.

# CONCLUSION

## Conclusion

---

### Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

L'activité antimicrobienne de quatre plantes médicinales (*Thymus ciliatus*, *Rosmarinus officinales*, *Marrubium vulgaire* et *Buxus Dioica*) a été déterminée sur cinq souches bactériennes pathogènes et deux souches fongiques pathogènes, selon la méthode de diffusion disque. Les résultats indiquent que les trois extraits *Thymus ciliatus*, *Rosmarinus officinales* et *Buxus Dioica* possèdent une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées ;sauf extrait *Marrubium vulgaire* qui ne manifeste pas une activité sur tous les souches testées.

L'étude phytochimique des extraits éthanoliques des plantes étudiées montre la présence des polyphénols totaux avec des différentes concentrations *Thymus ciliatus* 44.6 (mg EA g/mg Ps) ; *Rosmarinus officinales* 45.597 (mg EA g/mg Ps) ;*Buxus Dioica* 40.7 (mg EA g/mg Ps) ; *Marrubium vulgaire* 13.5 (mg EA g/mg Ps). Cette présence de polyphénols avec des différentes concentrations est probablement la cause de l'activité antimicrobienne. Les extraits éthanoliques de ces plantes médicinales peut être une alternative des antibiotiques. Ces résultats préliminaires pourraient permettre de justifier l'usage de nos plantes dans la médecine traditionnelle en Algérie.

# LISTE DE REFERENCES

## Références

---

- **Abderrazak M. et Joël R. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. (2007). pp 177.**antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ouMarrubium vulgare L. Belgique. Paris. pp. 25-26.
- **Benabid A., (2000).** Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Édition Ibis Press, 159-161.
- **BILLERBECK G, (2002).** Les contaminations biologiques des biens culturels : Essai d'utilisation d'huile essentielle en traitement de l'aire. Ed : Elsevier.357-365.
- **Boizot N., Charpentier J-P (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra -
- **BONNIER G., (1909) .** La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et
- **BOUSBIA N., (2003).** Extraction et identification de quelque huile essentielle (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de magister. I. N. A. Alger. P : 38-115
- CA-SFM. 2010. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>
- **CAVERO S., JAIME L., MARTIN-ÁLVAREZ P. J., SEÑORANS F. J., REGLERO G. ET IBAÑEZ E. (2005).** In vitro antioxidant analysis of supercritical fluid extracts from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). European food research and technology ., 221: 478-486.
- **CVALLO J. D., CHARDON H., CHIDIAC., CHOUTET P., COURVALIN P., DABERNAT H., DRUGEON H., DUBREUIL L., GOLDSTEIN F., JARVALIER V., NICOLAS-CHANOINE., PNILIPON A., QUENTIN C., ROUVEIX B., SIROT J., et SOUSSY C.J., (2006).** Communiqué de la comité française de l'antibiogramme. Société Française de Microbiologie. Ed : de janvier.
- **DEL BAÑO M. J., LORENTE J., CASTILLON J., BENAVENTE-GRACIA O., MARIN M. P., DEL RIO J. O., ORTUÑO A. ET IBARRA I. (2004).** Flavonoid distribution during the developpement of leaves, flowers, stems and roots of

## Références

---

- Rosmarinus officinalis, postulation of a biosynthetic pathway. Journal of agricultural and food chemistry., 52 (16) : 4987-4992.
- **DJAHRA A .Boutlelis.,(2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne.pp14
  - **DJERROUMI A., ET NACEF M., (2004).** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.
  - **EBRAHIMI N. S., HADIAN J., MIRJALILI M.H., SONBOLI A. ET YOUSEFZADI M., (2008).** Essential oil composition and antimicrobial activity of Thymus caramanicus at différent phonological stages. Food chemistry., 110 : 927-931
  - **HARBORNE J.B., BAXTER H., (1999).**The handboôk of natural flavonoids, Vols 1 and 2. Chichester,UK: John Wiley and Sons. human health. Current Médicinal (Jhemisly. 8 1-182.
  - **Herrero M., Arráez-Román D., Segura A., Kenndler E., Gius B., Raggi M. A., Ibáñez E. et Cifuentes A. (2005).** Pressurized liquid extraction–capillary electrophoresis-mass spectrometry for the analysis of polar antioxidants in rosmar extracts. Journal of chromatography A., 1084 : 54-62.
  - **Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G., (2000).** Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (Rosmarinus officinalis L). Journal of Agricultural and Food chemistry ., 48 (9) : 4060-4065.
  - **Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F. J., Cavero S., Reglero G. et Hawthorne S. B. (2003).** Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosmar Plants. Journal of Agricultural and Food Chem., 51 (2) : 375-382.
  - **Iserin P., Masson M et Restellini J P,(2007).** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, pp14
  - **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., (2002).** Botanique systématique: Une LEDDET V., MABROUKI F., OLIVIER E., CHERIF J.K., TRABELSI
  - **Kansole, M.M.R., ( 2009).**Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques l,amiaceae du Burkina Faso: cas de Leucas martinicansis (Jacquin) R. Brown, Hoslundia oppossta vahl et Orthosiphon pallidus royle ex benth.

## Références

---

- Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- **KOTHE H., (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed : Terre édition. P 7-13
  - Lutge U., Kluge M., Bauer G. Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. (2002), pp 211.
  - luthria D Significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86(14) :2266-2272
  - **Muchuweti M., Kativu E., Mupure C. H., Chidewe C., Ndhlala A. R. et Benhura M. A. N., (2007).** Phenolic composition and antioxidant proprieties of some species. American journal of food technolgy., 2 (5) : 414-420.
  - **Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K. et Yaghi A. 1994.** Flavonoids in Rosmarinus officinalis leaves. Phytochemistry., 37 (5) : 1463-1466.
  - **Ozenda P., (2004 ).** Flore et végétation des sahara. 3ème Ed : CNRS édition. Paris. pp.399-402. P : 1073-1080.
  - **PEREZ M. B., Calderón N. L., et Croci C. A. (2007).** Radiation–induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (Rosmarinus officinalis L). Food chemistry., 104 : 585-592.
  - **QUEZEL P., ET SANTA S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed Centre National de la recherche scientifique.
  - **Rahman A., Reza S. M., Kanga S. C., (2009).** In vitro inhibition of foodborne pathogens by volatile oil and organic extracts of Poncirus tr/oliata Rafin. Seeds. J Sci Food Agric 2009, 89,876-881.
  - **REMMAL A., BOUCHKHI T., RHAYOUK., ETTAYBI M et TANTOUIELRAKI., (1993).** Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium.J.ESS.Oil Res.5 (2). 179-184.
  - **SEDJELMASSI A., (1993)-** Les plantes médicinales du Maroc, Najah et El Djadida Casa pp.201-203.
  - **SINGLETON VL., ORTHOFER R., LAMUELA-RAVENTOS RM (1999)** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol 299: 152–78



## Références

---

- **WICHTL M., ANTON R., (2003).**Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2e Ed : TEC & DOC. Paris. pp. 1-364.
- **YANG R. Y., LIN S. ET KUO G.,(2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition., 17 (S1) : 275-279.

## ANNEXE

### annexe 01 : Les composants de milieu de culture

| Milieu de culture | Constituant                                                  | Quantité                 |
|-------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Bouillon nutritif | Extrait de viande<br>Peptone<br>Chlorure de sodium           | 05g<br>10g<br>05g        |
| Muller Hinton     | Extrait de viandes<br>Hydrolisation acide de caseine<br>Agar | 03g<br>17,5g<br>16g      |
| Gélose nutritive  | Extrait de viande<br>Peptone<br>Chlorure de sodium<br>Agar   | 05g<br>10g<br>05g<br>15g |

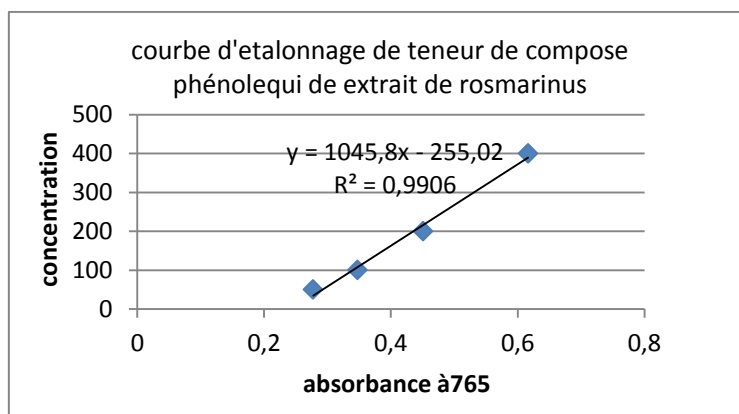
### ANNEXE02 : dosage de acide gallique selon la méthode (*singleton et al1999*)

| C (ag)ug/ml   | 1      | 2     | 3     | 4     | 5     | 6      | 7     | 8     | 9     |
|---------------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| dosage1       | 0.341  | 0.424 | 0.495 | 0.608 | 0.820 | 0.999  | 1.222 | 1.628 | 1.990 |
| dosage2       | 0.335  | 0.429 | 0.506 | 0.599 | 0.790 | 0.990  | 1.230 | 1.616 | 1.910 |
| dosage3       | .0.334 | 0.426 | 0.502 | 0.601 | 0.804 | 0.996  | 1.221 | 1.600 | 1.919 |
| moyenne       | 0.336  | 0.426 | 0.501 | 0.602 | 0.804 | 0.9975 | 1.225 | 1.614 | 1.939 |
| concentration | 30     | 40    | 50    | 60    | 80    | 120    | 140   | 160   | 180   |

### ANNEXE03 : dosage de extrait éthanoïque de Rosmarinus officinales

| EXTRAIT1<br>C(mg/ml) | 0.5mg/ml | 1mg/ml | 2mg/ml | 4mg/ml |
|----------------------|----------|--------|--------|--------|
| dosage1              | 0.274    | 0.350  | 0.444  | 0.610  |
| dosage2              | 0.281    | 0.345  | 0.458  | 0.623  |
| moyenne              | 0.2775   | 0.3475 | 0.451  | 0.6165 |
| concentration        | 50       | 100    | 200    | 400    |

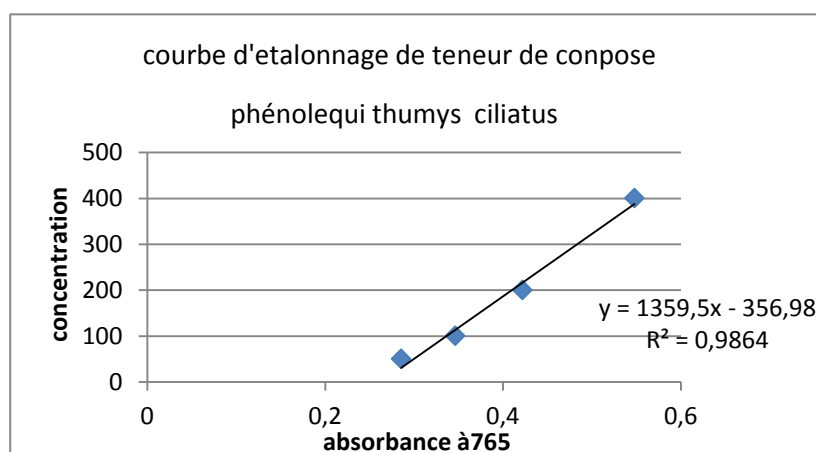
## ANNEXE



ANNEXE04 :teneur des polyphénols de *de Rosmarinus officinales*

ANNEXE 05 :dosage de extrait éthanoïque de *Thymus ciliatus*

| EXTRAIT 2<br>C(mg/ml) | 0.5mg/ml | 1mg/ml | 2mg/ml | 4mg/ml |
|-----------------------|----------|--------|--------|--------|
| dosage1               | 0.290    | 0.353  | 0.424  | 0.540  |
| dosage2               | 0.281    | 0.340  | 0.420  | 0.556  |
| Moyenne               | 0.2855   | 0.3465 | 0.422  | 0.548  |
| concentration         | 50       | 100    | 200    | 400    |

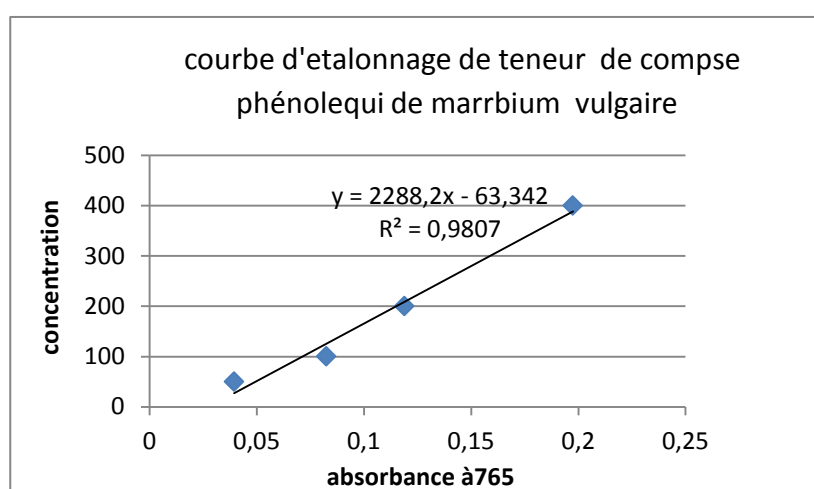


ANNEX06 : teneur des polyphénols de *Thymus ciliatus*

## ANNEXE

### ANNEXE 0 6: dosage de extrait éthanoïque de *Marrubium vulgare*

| EXTRAIT3<br>C(mg/ml) | 0.5mg/ml | 1mg/ml | 2mg/ml | 4mg/ml |
|----------------------|----------|--------|--------|--------|
| dosage1              | 0.041    | 0.079  | 0.125  | 0.195  |
| dosage2              | 0.038    | 0.086  | 0.113  | 0.200  |
| moyenne              | 0.0395   | 0.0825 | 0.119  | 0.1975 |
| concertation         | 50       | 100    | 200    | 400    |



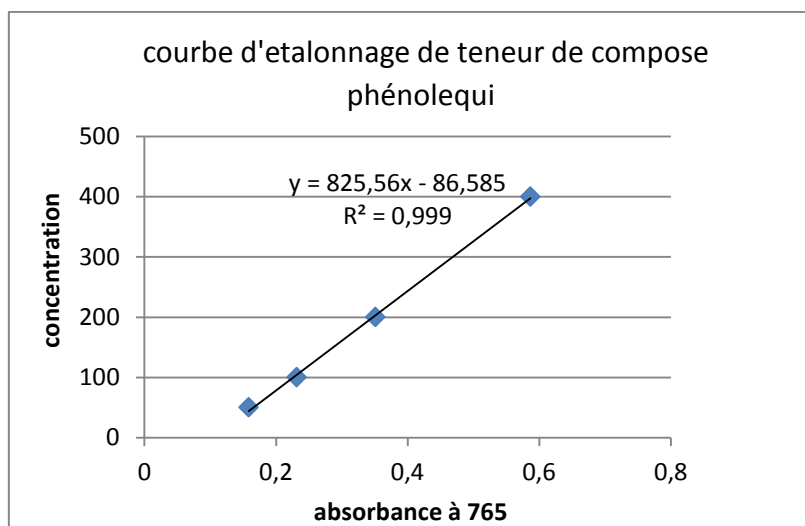
Annexe07 :teneur des polyphénols de *Marrubium vulgare*

### ANNEXE 0 8 :dosage d'extrait éthanoïque de *Buxus Dioica*

| EXTRAIT4<br>C(mg/ml) | 0.5mg/ml | 1mg/ml | 2mg/ml | 4mg/ml |
|----------------------|----------|--------|--------|--------|
| dosage1              | 0.156    | 0.228  | 0.345  | 0.592  |
| dosage 2             | .0161    | 0.235  | 0.358  | 0.581  |
| Moyenne              | 0.1585   | 0.2315 | 0.3515 | 0.5865 |
| concertation         | 50       | 100    | 200    | 400    |

## ANNEXE

---



ANNEXE 09:Teneur compose phénolique de *Buxus Dioica*

---

## Résumé

### Résumé :

l'activité antimicrobienne de quatre plantes médicinales *Thymus ciliatus* ; *Rosmarinus officinalis* et *Marrubium vulgaire* (Lamiacées) et *Buxus dioica* (Buxacées) , sur cinq souches de bactéries et deux souches fongiques (*Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Staphylococcus aureus* ; *Proteus mirabilis* ; *Bacillus cereus* ; *Aspergillus niger* ; *Candida albicans* ) a été évaluée par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide. Une très forte inhibition d'extrait éthanolique de *Buxus dioica* sur *Proteus mirabilis*  $20,00 \pm 5,20$  mm et *Candida albicans*  $26,67 \pm 5,77$  mm a été observée. Les polyphénols totaux déterminés par la méthode ciocalteu- foiln , a montré que le teneur polyphénol est variable d'une espèce à l'autre. En effet, les concentrations des polyphénols dans les extraits éthanoliques sont : *Thymus ciliatus* 44.6 (mg EA g/mg Ps) ; *Rosmarinus officinales* 45.59 (mg EA g/mg Ps) ; *Marrubium vulgaire* 13.5 (mg EA g/mg Ps) ; *Buxus Dioica* 40.7 (mg EA g/mg Ps). Globalement, l'activité antimicrobienne de *Buxus dioica* et *Thymus ciliatus* sont plus importante que celle de *Rosmarinus officinalis* et *Marrubium vulgaire*.

**Mots clés :** Activité antimicrobienne ; *Thymus ciliatus* ; *Rosmarinus officinalis* ; *Buxus dioica* ; *Marrubium vulgaire* ; polyphénols

### ملخص :

النشاطية المضادة للميكروبات لى اربع نباتات طبية *Rosmarinus officinalis* ; *Thymus ciliatus* ; *Marrubium vulgaires* ( عائلة الشفويات ) و *Buxus dioica* ( شمشاديات ) , على خمسة سلالات بكتيرية و سلالتين فطرية (*Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Staphylococcus aureus* ; *Proteus mirabilis* ; *Bacillus cereus* ; *Aspergillus niger* ; *Candida albicans* ) (تم تقييمها عن طرف طريقة انتشار بواسطة القرص صلب . الاكثر ثبيطا مستخلصا لاثانولي *Buxus dioica* على *Proteus mirabilis*  $20,00 \pm 5,20$  mm وعلى *Candida albicans*  $26,67 \pm 5,77$  mm تم ملاحظته . متعدد الفينول تم تحديده من طرف طريقة ciocalteu , وينهرن محتوى متعدد الفينول تغير من نوع الى اخرى , تأثير تركيز لى متعدد الفينول فى المستخلصات الاثنانولية : *Thymus ciliatus* 44.6 (mg EA g/mg Ps) ; *Rosmarinus officinales* 45.59 (mg EA g/mg Ps) ; *Marrubium vulgaire* 13.5 (mg EA g/mg Ps) ; *Buxus Dioica* 40.7 (mg EA g/mg Ps). عموما النشاطية المضادة للميكروبات عند *Thymus ciliatus* و *Buxus dioica* اكثر اهمية من *Rosmarinus officinalis* / *Marrubium vulgairs*

الكلمات المفتاحية : النشاطية المضادة للميكروبات ; *Thymus ciliatus* ; *Rosmarinus officinalis* ; *buxus dioica* ; *Marrubium vulgair* ; متعدد الفينول