



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

*GACEM Moussa & DERRADJ Ouassim*

### *Thème*

**Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique  
des feuilles de *Lawsonia inermis***

Soutenu le: 23 / 06 / 2024

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>KARBACHE Fatima</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>BOUTELDJA Razika</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>LIBDIRI Farid</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2023-2024

## ***Remerciements***

*Nous commençons par remercier **ALLAH** pour nous avoir aidés et guider durant nos études.*

*Nous remercions ensuite madame **BOUTELDJA RAZIKA** pour nous avoir proposé et aider durant ce travail avec ses conseils, ses encouragements et son aide précieuse. Nous la remercions pour sa patience, sa disponibilité et pour la qualité de son enseignement et de sa correction de ce mémoire. Merci pour vos efforts et votre aide tout au long de l'année et pour vos années d'enseignements que vous nous avez donné.*

*Nous souhaitons également remercions tous nos professeurs pour leurs durs labeurs et leurs années d'enseignements, nous remercions tous nos professeurs en particulier monsieur **HANSALI KHALEF**, monsieur **HAMZA MOUSSA** et monsieur **MAIZ MOHAMED YACINE** pour leurs aides, leurs disponibilités à nous aider et à répondre à nos questions.*

*Nos vifs remerciements aux membres de jurys pour leurs intérêts portés à notre travail et leurs évaluations.*

*Enfin nous remercions nos familles et nos amis pour leurs soutiens, leurs gentillesse et l'amour qu'ils nous ont donné*

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes parents.*

*A ma mère **MALIKA**, qui a œuvré à ma réussite tous au long de ma vie, qui m'a éduquée, guidée, conseillée et aimée pendant toute sa vie depuis mon enfance et qui a beaucoup sacrifié au nom de mes études.*

*A mon père **FARID** qui m'a toujours aimé, qui a toujours été fier de moi et m'a soutenu.*

*Puisses Dieu bénir et protéger mes parents dans cette vie comme dans la suivante.*

*A mon frère **YACINE** qui à travers sa présence laisse Dieu apporter sa grâce et sa bénédiction à notre foyer.*

*A mes amis qui m'ont aidé et soutenu durant mes études et qui ont voulu me voir réussir.*

*-GACEM Moussa*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mon père **DERRADJ BRAHIM** qui m'a aidé et soutenu et a fait des efforts pour m'offrir une merveilleuse vie.*

*A ma mère **TAHRAOUI HADDA** qui m'a aimé pendant toute sa vie et est très fier de moi et a tant attendu mon succès.*

*A mon frère et ma sœur **TAYAB** et **HAYAT ZOHRA OUMAIMA** qui m'ont aimé et aider et guider*

*A ma tante **TAHRAOUI NAIMA** qui est comme une mère pour moi et ses enfants **KHAOULA, IMANE, AFFAFE, DJAMILA, MOHAMED** et **MALAK** qui sont comme des frères et des sœurs pour moi.*

*A mon oncle **TAHRAOUI ADEL** pour son soutien et sa gentillesse et sa femme **BOUDJEMA ASMA***

*Et enfin à mes amis et mes collègues, à mes professeurs et à tous ceux qui m'ont éduqué, aimer, soutenu et ont voulu me voir réussir.*

*-DERRADJ Ouassim*

## Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur *Lawsonia inermis*.....04

I.1. Historique de l'utilisation de *Lawsonia inermis*.....04

I.2. Description de *Lawsonia inermis*.....05

I.3. Distribution géographique en Algérie.....07

I.4. Les effets pharmacologiques de la plante.....08

I.5. Effets secondaires et risques d'utilisation du henné.....09

II. Les polyphénols.....09

II.1. Historique de la découverte des polyphénols.....09

II.2. Présentation des polyphénols.....10

II.3. Les méthodes d'extraction des polyphénols.....11

### Chapitre II : Matériels et méthodes

I. Matériels.....13

I.1. Matière végétale.....13

I.2. Réactifs chimiques.....13

I.3. Réactifs microbiologiques.....13

II. Méthodes.....13

II.1. Préparation de la poudre végétale.....13

II.2. Macération de la poudre.....14

II.3. Séchage et récupération de l'extrait sec.....14

II.4. Calcul du rendement.....16

II.5. Dosage des polyphénols totaux.....16

II.5.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....16

II.5.2. Mesure de l'absorbance de nos extraits.....17

II.5.3. Calcul de la concentration des polyphénols totaux.....18

II.6. Mesure de l'activité antibactérienne.....18

II.6.1. Revivification des souches.....18

II.6.2. Mesure de l'activité antibactérienne par la technique des puits.....20

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>I. Rendement d'extraction.....</b>	<b>23</b>
<b>II. Teneur en polyphénols totaux.....</b>	<b>23</b>
<b>III. Activité antibactérienne.....</b>	<b>25</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>27</b>

**Références bibliographiques**

**Résumé**

### Liste des abréviations :

- mm : Millimètre.
- da : Dalton.
- $\mu\text{l}$  : Microlitre.
- $\mu\text{g}$  : Microgramme.
- mg : Milligramme.
- g : Gramme.
- EAG : Equivalent Acide Gallique.
- Cm : centimètre.
- Mm : millimètre.

## Listes des figures

Figure 01 : Utilisation du henné dans les tatouages traditionnels.....	04
Figure 02 : Représentation de <i>Lawsonia inermis</i> .....	05
Figure 03 : Les effets pharmacologiques de <i>Lawsonia inermis</i> .....	07
Figure 04 : Sensibilité bactérienne face à différents extraits de <i>Lawsonia inermis</i> .....	08
Figure 05 : Allergie au henné sur un enfant de 9 ans.....	09
Figure 06 : La classification des polyphénols.....	10
Figure 07 : Poudre végétale tamisé.....	13
Figure 08 : Macération de la poudre.....	14
Figure 09 : Evaporation de l'éthanol dans l'évaporateur rotatif.....	15
Figure 10 : Extraits secs à la fin du séchage.....	15
Figure 11 : Les étapes de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	17
Figure 12 : Gélose Chapman non pure contenant <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
Figure 13 : Gélose Chapman et <i>Staphylococcus aureus</i> (à gauche) et gélose EMB contenant <i>Escherichia coli</i> (à droite).....	20
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	23
Figure 15 : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux.....	24
Figure 16 : Gélose Mueller-Hinton montrant l'activité de notre extrait et des antibiotiques...25	



## Liste des tableaux

Tableau 01 : Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	17
Tableau 02 : L'absorbance mesuré pour chaque tube.....	20
Tableau 03 : Masse des extraits secs et rendement d'extraction des feuilles.....	23
Tableau 04 : Mesures des diamètres des zones d'inhibitions.....	25
Tableau 05 : Activité antimicrobienne de l'extrait de feuilles de <i>Lawsonia inermis</i> contre les bactéries testées (zone d'inhibition en mm).....	26

# *Introduction*

## Introduction :

Pendant des siècles la médecine traditionnelle a utilisé des plantes comme sources de remèdes et de médicaments, la science moderne a aussi permis de confirmer l'efficacité de nombreux remèdes traditionnels. La médecine traditionnelle chinoise a pendant longtemps utilisé les herbes médicinales et comme antiinflammatoire (Pan et al. 2011). Au Sri Lanka certaines herbes sont utilisés comme antioxydants ou anticancéreux (Waisundara and Watawana 2014). De très nombreux antibiotiques et autres remèdes ont également été synthétisés à partir de plantes.

En Algérie certaines plantes tel que l'arbousier a montrés leurs propriétés curatives (Bouزيد et al. 2017). L'Algérie de sa part sa diversification des climats du nord vers le sud et sa situation géographique, offre une grande variété de plantes pouvant être étudiés et utiliser dans différents traitements parmi les plantes traditionnellement étudiés et utiliser en Algérie à des fins thérapeutiques nous avons *Lawsonia inermis*.

*Lawsonia inermis* est une plante connue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Ses feuilles sont utilisées pour leurs propriétés antioxydants (Hsouna et al. 2011). Sa composition chimique permet aussi son utilisation comme anticancéreux (Singh & Luqman, 2014.). Une fois broyé et extrait certains de ses composés chimiques ont aussi une activité antidiabétique (Choubey et al. 2010).

Le but de notre travail est de tester *in vitro* l'effet antibactérien d'un extrait de *Lawsonia inermis* récupéré à partir du broyage des feuilles de la plante, de calculer son taux de polyphénols et de confirmer son effet inhibiteur sur différentes souches bactériennes.

Notre travail entre donc dans un projet de valorisation de la phytothérapie algérienne et de la recherche d'alternatives aux antibiotiques standard dans un monde où la résistance bactérienne face aux antibiotiques est de plus en plus croissante (Theuretzbacher 2013).

Notre mémoire se sépare 2 parties :

- Une première partie qui contiendra une étude bibliographique et une description botanique de l'espèce *Lawsonia inermis*, sa répartition géographique en Algérie et ses composés biologiques.
- Une deuxième partie qui traitera du matériel et de la méthodologie utilisés pour notre étude et cette partie contiendra :

- L'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de *Lawsonia inermis*.
- La quantification de ces composés phénoliques.
- L'étude de l'activité antibactérienne par la réalisation d'un antibiogramme.

*Chapitre I : Synthèse  
bibliographique*

## I. Généralités sur *Lawsonia inermis*:

### I.1. Historique de l'utilisation de *Lawsonia inermis*:

*Lawsonia inermis* est une plante arbuste cultivé en perse (Iran actuel), en Inde, et sur les côtes africaines de la méditerranée et notamment en Algérie, au Maroc et en Tunisie (Malekzadeh 1968).

Le henné serait entré au Maghreb daterait de l'Egypte pharaonique bien avant les conquêtes islamiques mais c'est bien avec ces derniers que son utilisation courante va se répandre que ce soit au Mali, au Maghreb ou en Andalousie (Espagne et Portugal) (Gast 2000).

De nos jours le henné est utilisé en pates à des fins cosmétiques, comme teinture pour cheveux, comme tatouages et dans des buts thérapeutiques.



Figure 01 : Utilisation du henné dans les tatouages traditionnels (Morgan and Cartwright-Jones 2010)

## I.2. Description de *Lawsonia inermis* :

*Lawsonia inermis* est une plante arbuste doté d'une écorce blanchâtre ou rose pâle et mesurant 2 à 6m de haut, c'est un arbre glabre avec des rameaux épineuses et des feuilles avec 4 sépales et un tube calice de 2mm avec des lobes étalés de 3mm. Les fruits sont des petites capsules brunâtres, contenant 32 à 49 graines par fruit et s'ouvrant de manière irrégulière à 4 fentes (Kumar 2013). Les feuilles de *Lawsonia inermis* sont composées de lawsone qui est une molécule donnant la couleur rouge-orange caractéristique du henné lorsqu'il est utilisé dans les tatouages ou comme teintures. (Ashnagar 1941)

*Lawsonia inermis* est également connu sous de nombreux noms scientifiques différents tel que : *Lawsonia speciosa*, *Lawsonia alba* ou *Lawsonia spinosa* et bien d'autres noms.



Figure 02 : Représentation de *Lawsonia inermis*. (Morgan and Cartwright-Jones 2010)

C'est surtout sous ses noms vernaculaires dans les différentes langues que la majorité de la population peuvent reconnaître cette plante :

- Français : henné, mignonette.
- Anglais : Henna, hina, henna tree, mignonette tree, Egyptian privet.
- Allemand : Hennastrauch.
- Italien : henna, alcanna.
- Espagnol : alheña, arjeña.
- Grec : Kúpros.
- Turc : Kına.
- Tamazigh : Ḥenni.
- Tamâhaq : Anella.
- Persan : Khina, râqun.
- Amharique : የ ሂ ና (yehīna).
- Égyptien antique : Ḥnw.
- Copte : Koupr.
- Hébreux : Kopher.
- Hindou : Mēhēdi, Mindi.
- Arabe : الحناء (Al-ḥinnā').
- ❖ La classification de *Lawsonia inermis*.
  - Règne : Plantae (Végétal)
  - Super-division : Embryophyta
  - Division : Tracheophyta (plantes vasculaires)
  - Subdivision : Spermatophytina (spermatophytes, phanérogames)
  - Classe : Magnoliopsida
  - Superordre : Rosanae
  - Ordre : Myrtales
  - Famille : Lythraceae
  - Genre : Lawsonia
  - Espèce : *Lawsonia inermis* (Ghédira and Goetz 2017)

Son nom scientifique moderne vient du botaniste Carl Linnaeus qui en 1737 le nomma en référence à son assistant Issac Lawson auquel il ajouta inermis qui est un mot latin signifiant “non-amer”.



### I.3. Distribution géographique en Algérie :

Selon la Direction des Services Agricoles (DSA) plus de 150 hectares sont utilisés de manière régulière pour la culture de henné dans tout le territoire national. La production de henné dans la région de Biskra représente les deux tiers de la production nationale, plus précisément la plus grande production se fait dans la commune de Zribet Eloued (Henna Zribiya) puis Loutaya. (Labeled et al. 2016)

### I.4. Les effets pharmacologiques de la plante :

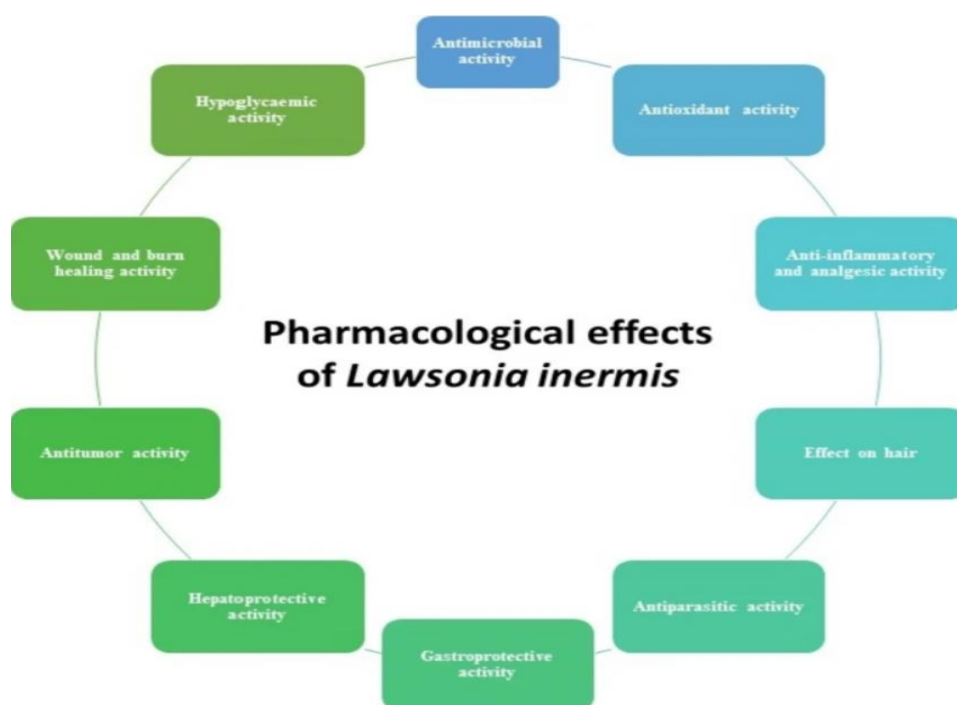


Figure 03 : Les effets pharmacologique de *Lawsonia inermis*(Gull et al. 2013)

Grâce à ses composés *Lawsonia inermis* est doté de nombreuses activités pouvant se résumer à :

- Activité antifongique : Les extraits éthanoïques de *Lawsonia inermis* possèdent une activité fongicide (toxique contre les champignons) tel que le *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*. (Rahmoun et al. 2013)
- Activité antivirale : Les graines de *Lawsonia inermis* ont une activité antivirale très puissante comparée à d'autres plantes lorsqu'elles sont broyées et misent dans une solution d'éthanol. (Abid et al. 1991)

- Activité de stérilisation des blessures : Les feuilles de henné mélangés avec de l'eau et du chloroforme ont une activité stérilisante sur les blessures et aident à la guérison des plaies. (Muhammad and Muhammad 2005)
- Rôle dans la régulation du taux de sucre dans le sang : Les extraits éthanoliques de *Lawsonia inermis* ont un rôle important dans la régulation du diabète de type 2 en réduisant le taux de sucre dans le sang (Chikaraddy et al., 2012.)
- Activité anti-inflammatoire : Lorsque testé sur des rats l'extrait éthanolique a offert une activité anti-inflammatoire très importante. (B.H. Ali et al., 1995.)
- Activité anti tumorale : Les extraits des feuilles de *Lawsonia inermis* ont un effet significatif sur la baisse des tumeurs. (Raja et al. 2009)
- Activité antibactérienne : De très nombreuses bactéries montre une sensibilité face aux différents extraits alcooliques des feuilles broyées de *Lawsonia inermis*.

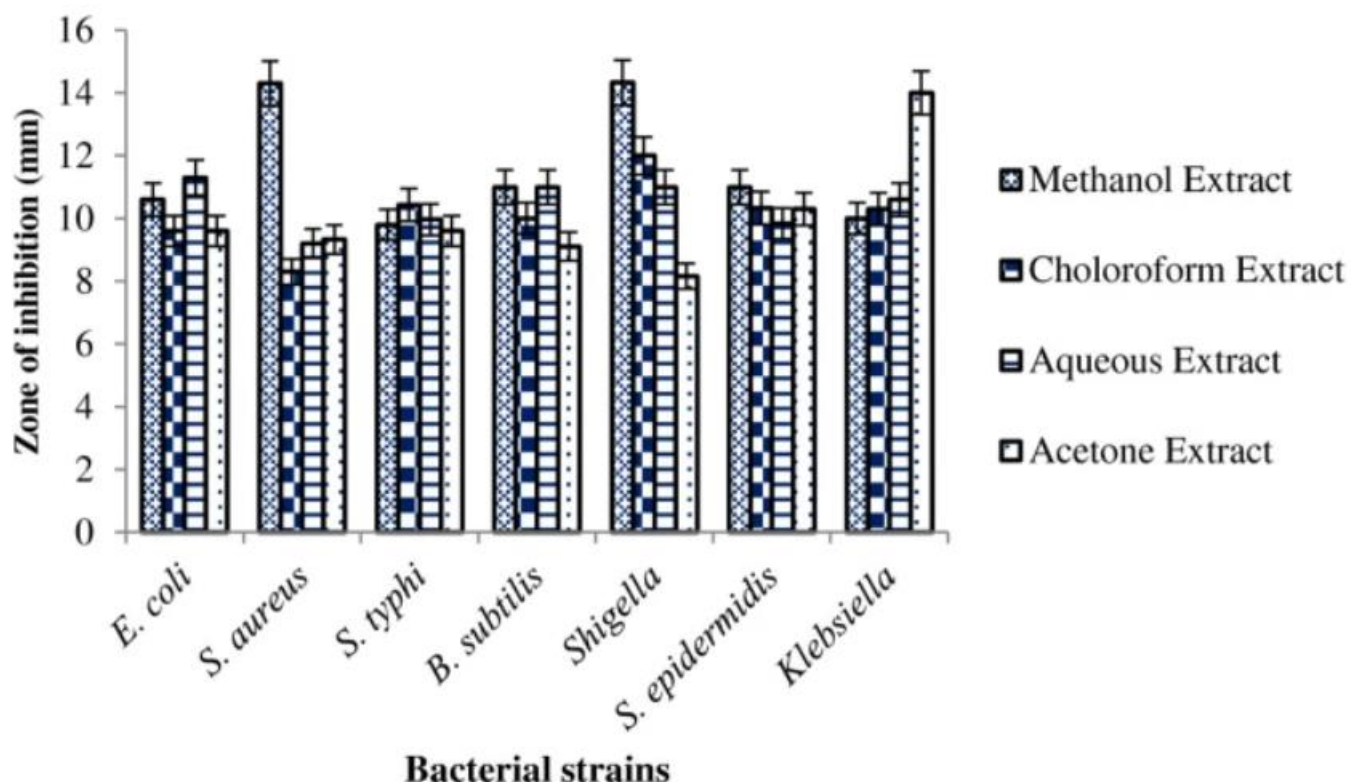


Figure 04 : Sensibilité bactérienne face à différents extraits de *Lawsonia inermis* (Gull et al. 2013)

### I.5. Effets secondaires et risques de l'utilisation du henné :

Malgré les nombreux effets positifs du henné et de *Lawsonia inermis* il y'a des effets secondaires à ne pas négliger, ces effets secondaires incluant : des inflammations sur la peau lors de l'application des tatouages en cas d'allergies, des nécroses musculaires lors des

ingestions pouvant conduire à la mort. Bien souvent ces problèmes ne proviennent pas du henné lui-même mais de certains produits ajoutés pouvant contenir de la paraphenylenediamine provoquant la majorité de ces effets secondaires (Kazandjieva et al. 2007)



Figure 05 : Allergie au henné sur un enfant de 9 ans. (Jovanovic and Slavkovic-Jovanovic 2009)

## II. Les polyphénols :

### II.1. Historique de la découverte des polyphénols :

Avant d'être appelé polyphénols tous les composés végétaux étaient appelé "tannins végétaux". La première mention de ces composés date de Grèce antique avec Théophraste d'Eressos dans son ouvrage "*Historia Plantae*". Durant les siècles le terme de "tannins végétaux" continuera à être utilisé.

Au 20ème siècle cependant l'étude des polyphénols comme métabolites secondaires et de ses effets va s'accélérer, en 1957 Theodore White va définir les tannins comme les composés polys phénoliques de masse moléculaire entre 500 et 3000 Da excluant les autres composés et les nommant polyphénols. De nos jours le terme polyphénols est largement répandu pour désigner certains composés issus des plantes (Quideau et al. 2011).

## II.2. Présentation des polyphénols :

Parmi les différents composés chimiques des feuilles de *Lawsonia inermis* nous avons les polyphénols qui ont utilité thérapeutique très particulières. Les polyphénols sont un groupe de molécule (composés de plus de 8000 molécules) ayant pour point commun la présence d'un cycle de 6 carbones avec fonction hydroxyle OH (leurs nombres et leurs structures varient) (Hennebelle et al. 2004).

Ils se divisent en de nombreuses classes chimiques :

- Les acides phénoliques : ce sont des composés contenant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.
- Les flavonoïdes : ce sont les polyphénols les plus nombreux (5000) ils se divisent eux-mêmes en plusieurs groupes (les flavonoïdes stricto sensu, anthocyanes, et les flavan-3-ols).
- Les non-flavonoïdes : qui sont moins nombreux et qui se divisent en 3 (stilbènes, lignanes et autres) (Rambaran, 2020).

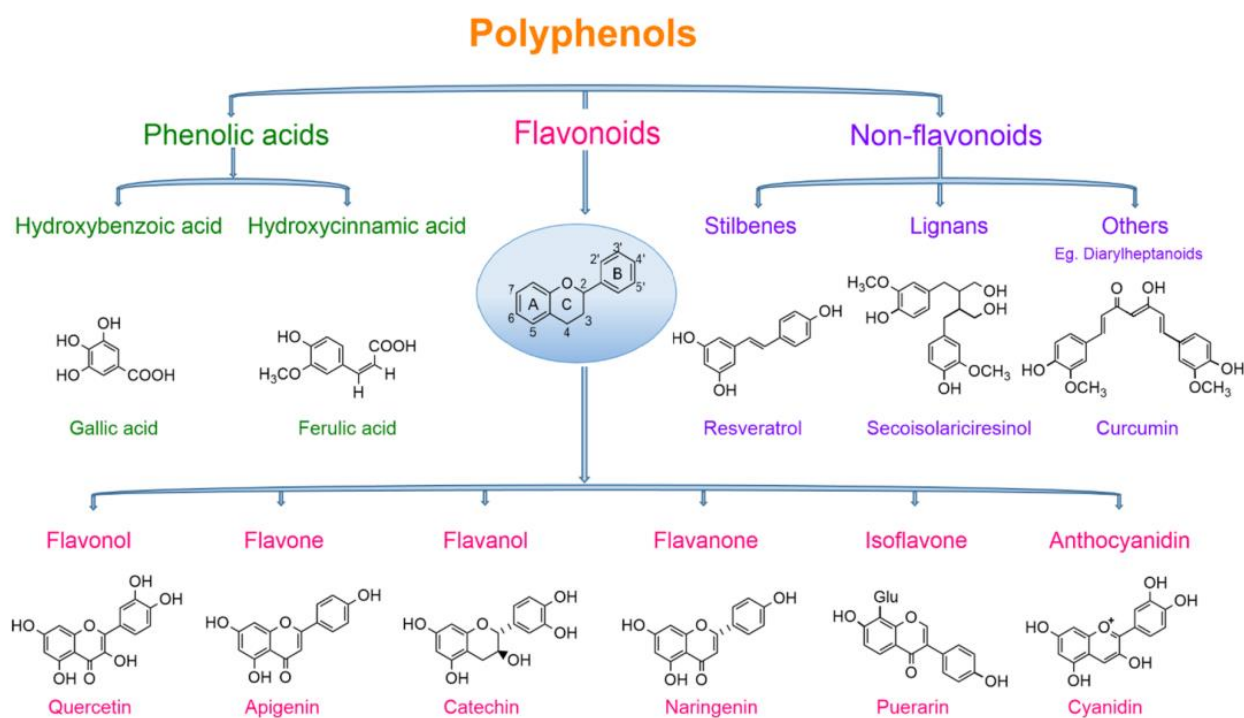


Figure 06 : La classification des polyphénols (Rambaran 2020).

### II.3. Les méthodes d'extractions des polyphénols :

Il existe plusieurs méthodes pouvant être utilisés pour extraire les polyphénols d'une plante tel que *Lawsonia inermis* parmi ces méthodes nous avons :

- La macération : C'est une méthode d'extraction consistant à mettre une dose précise de feuilles ou de parties de plantes broyées en y ajoutant un solvant tel que l'éthanol ou le méthanol, puis de le faire agiter avec un barreau magnétique, avant de filtrer le mélange et de retirer le solvant pour obtenir un extrait sec.
- La décoction : Comme la macération c'est une des méthodes standard pour extraire les polyphénols. C'est une méthode qui consiste à faire porter les feuilles à ébullition dans un solvant pendant 30 minutes dans le bain marie puis filtrer puis les extraits sont récupérés et centrifugés. (Tahar et al. 2022)

*Chapitre II :*  
*Matériels et méthodes*

## I. Matériels :

### I.1. Matière végétale :

Des feuilles de *Lawsonia inermis* ont été prélevés depuis la région de Biskra et apporté au laboratoire au mois de mars 2024.

### I.2. Réactifs chimiques :

Pour notre travail nous avons eu besoin des réactifs et des produits suivants : Ethanol (dilué à 70%), bicarbonate de sodium ( $\text{NaCO}_3$ ), folin-ciocalteu, l'eau distillé.

### I.3. Réactifs microbiologiques :

Les produits utilisés pour l'étude de l'activité antibactérienne sont : Milieu Mueller-Hinton, milieu gélose et bouillon Chapman, milieu gélose EMB, gélose de conservation, bouillon nutritif, eau physiologique.

## II. Méthodes :

### II.1. Préparation de la poudre végétale :

Une quantité de 100 g de feuilles de *Lawsonia inermis* prélevé ont été lavés puis sécher pour enlever toute trace de poussières. Après séchage les feuilles ont été broyées dans un "Pulverisateur FRITSCH Premium Line" puis tamiser afin d'obtenir une poudre très fine qui a été conservé dans des boites en plastiques à l'abri de l'humidité.



Figure 07 : Poudre végétale tamisé

## II.2. Macération de la poudre :

Dans le but d'extraire les polyphénols nous avons réalisé une macération en mélangeant 25g de poudre végétale préalablement tamisé avec 150ml d'éthanol dilué à 70% dans un erlenmeyer que nous avons recouvert d'aluminium puis poser sur un rotateur de la marque "Heating Magnetic Stiver" pour une agitation à froid à 700 RPM pendant 48h.



Figure 08 : Macération de la poudre

Après 48h le contenu de l'erlenmeyer a été filtré et une deuxième macération a été lancée en ajoutant 50ml d'éthanol et en relançant la macération pendant 24h pour obtenir un deuxième extrait.

## II.3. Séchage et récupération de l'extrait sec :

Les deux extraits obtenus ont été étiquetés et placés dans l'évaporateur rotatif (Rotavapor) de la marque "Stuart digital water bath" jusqu'à retirer la majorité de l'éthanol.





Figure 09 : Evaporation de l'éthanol dans l'évaporateur rotatif.

Après avoir lancé l'évaporateur rotatif pendant 1h30 nous avons récupéré les extraits dans des boîtes de pétri propre et nous l'avons laissé à l'air libre pendant 24h afin qu'ils finissent de sécher.

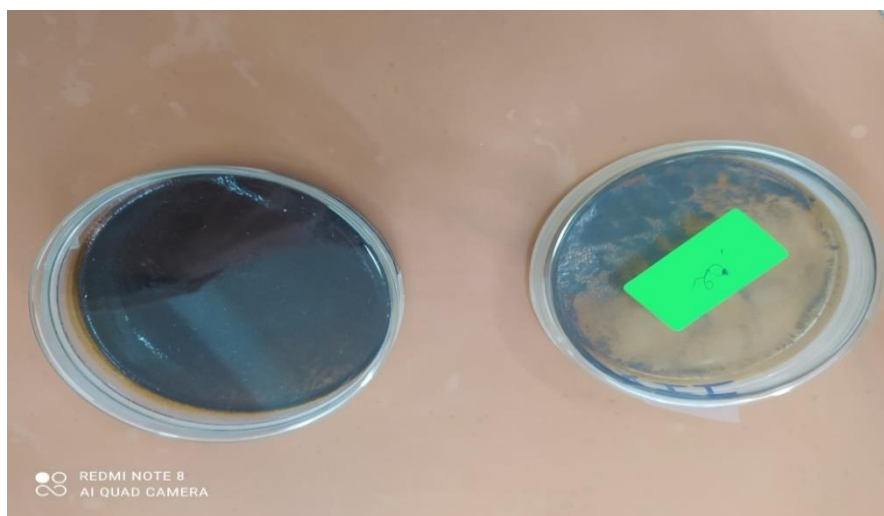


Figure 10 : Les extraits à la fin du séchage.

## II.4. Calcul du rendement :

Nous avons procédé au calcul du rendement d'extraction pour se faire nous avons utilisés l'équation suivante

$$R(100\%) = \frac{M1 - M0}{M} \times 100$$

- Avec R (%) : rendement en %.
- M0 : masse de la boite de pétri vide (g).
- M1 : masse des boites de pétri pleines (contenant notre extrait) (g).
- M : masse de la poudre sèche utilisé (g).

## II.5. Dosages des polyphénols totaux :

### II.5.1 Réalisation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

Afin de calculer le taux de polyphénols que contient notre extrait nous avons réalisé la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Pour ce faire nous avons commencé par préparer nos réactifs :

- Folin-ciocalteu: dilué à 1/10 (1 ml de folin dans 9ml d'éthanol)
- Carbonate de sodium (NaCO<sub>3</sub>) : 1.875g dans 25ml d'eau distillé.
- Acide gallique : 2mg dans 10ml d'eau distillé.

Selon (Blouin et al., 2017.) les composés phénoliques réduisent le mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolybdique en oxydes bleus de tungstène et de molybdène ce qui donne la couleur bleue. Le mélange bleu produit a une absorbance maximale de 765 nm. Dans notre travail le mélange a été dilué puis nous avons mesuré l'absorbance dans un spectrophotomètre "OPTIZEN POP-UV/Vis Spectrophotometer". Une fois les différentes absorbances mesurées nous avons réalisé une courbe de la concentration par rapport à l'absorbance.

Tableau 01 : Gamme d'étalonnage de l'acide gallique

N° des tubes	Blanc	1	2	3	4	5	6
Volume pris de la solution mère (µl)	0	100	200	300	400	500	750
Volume d'eau ajouté (µl)	1000	900	800	700	600	500	250

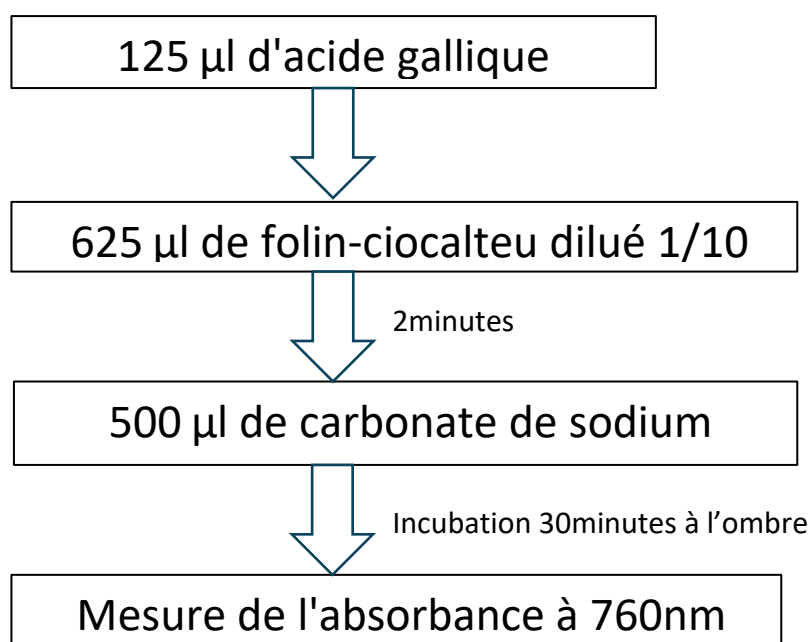


Figure 11 : Les étapes de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

### II.5.2. Mesure de l'absorbance de nos extraits :

Nous avons calculé l'absorbance de nos extraits dans les mêmes conditions et les mêmes mesures utilisés pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique en remplaçant l'acide gallique par notre extrait.

### II.5.3. Calcul de la concentration des polyphénols totaux :

Après la réalisation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique nous avons utilisés la loi suivante pour calculer les polyphénols totaux :

$$TPC = \frac{C \times V}{m} \times FD$$

- TPC : Total Polyphenol Content (Teneur Total en polyphénol) est exprimé en mg équivalent acide gallique par mg (mgEAG/mg).
- V : Volume d'extrait (ml).
- FD : Facteur de Dilution.
- m : Masse de la poudre utilisé (mg).
- C : Concentration qui est calculé à partir de l'équation de la courbe.

Après réalisation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique nous mesurons l'équation de la courbe sous forme  $y = ax + b$  dans le but de calculer la concentration avec l'équation :

$$C = \frac{A-b}{a}$$

- A : Absorbance de notre extrait.

## II.6. Mesure de l'activité antibactérienne :

### II.6.1. Revivification des souches :

Des souches bactériennes d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* ont été transportées depuis Bejaia dans une gélose de conservation. Des bouillons liquides ont été préparés (bouillon nutritif pour *Escherichia coli* et bouillon Chapman pour *Staphylococcus aureus*) puis la gélose de conservation a été raclé avec une anse de platine stérile dans la zone du bec bunsen pour éviter toute contamination avant de mettre les bactéries recueillis dans le bouillon respectif à chaque bactérie puis le bouillon a été incubé à 37°C pendant 24h. Après 24h une goutte a été prélevée avec une micropipette du bouillon nutritif pour être posé sur la gélose et ensemercer à l'écouvillon puis une autre incubation de 24h à 37°C a été réalisé.

Nous avons utilisé des milieux sélectifs pour l'ensemencement de nos souches qui sont le milieu EMB pour *Escherichia coli* et Chapman pour *Staphylococcus aureus*.



Figure 12 : Gélose Chapman contenant *Staphylococcus aureus* avant repiquage

Une fois les boîtes de pétri récupéré les colonies apparues n'étant pas pures, un repiquage a été fait en prélevant 2 à 3 colonies isolés de la première boîte de pétri vers d'autres contenant les mêmes milieux sélectifs et une autre incubation de 24h à 37°C a été réalisé. Des colonies pures ont été trouvées sur les boîtes.

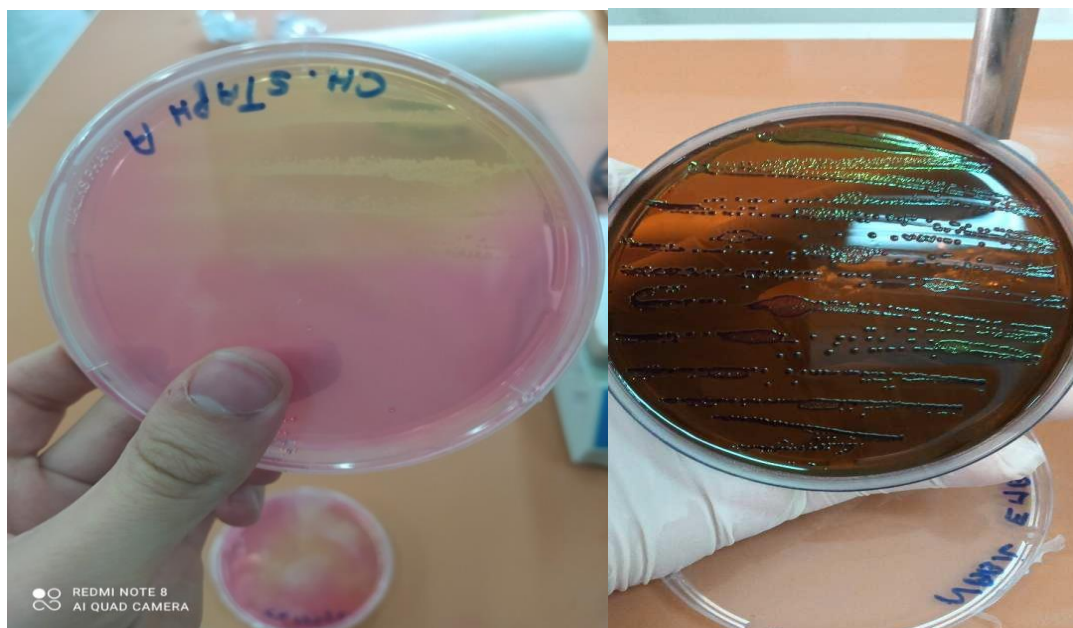


Figure 13 : Gélose Chapman contenant *Staphylococcus aureus* (à gauche) et gélose EMB contenant *Escherichia coli* (à droite).

### II.6.2. Mesure de l'activité antibactérienne de notre extrait par la technique des puits:

Une fois les souches bactériennes revivifiées nous avons préparé le milieu Mueller-Hinton pour tester l'activité de notre extrait.

Après avoir coulé les boîtes nous avons réalisé des trous dans la gélose avec des embouts stériles que nous avons remplis avec 50ul de notre extrait mélangé à l'eau distillée à différentes concentrations (50mg/ml, 100mg/ml, 200mg/ml), nous avons également mis des disques d'antibiotiques d'oxacilline et d'amoxicilline afin de comparer l'efficacité de notre extrait à l'effet des antibiotiques. Nous avons préparé la suspension en prélevant des colonies d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* que nous avons mis dans 5ml d'eau physiologique et nous avons mesuré la densité optique à 620nm et nous avons obtenu les résultats suivants :

Tableau 02 : L'absorbance mesurée pour chaque tube.

Espèce bactérienne	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Absorbance	0.23	0.18

Les souches ont étéensemencées par écouvillonnage avec des stries serrées sur les boîtes de pétri puis les boîtes ont été mises au frigo à 4°C pendant 18h afin de permettre à notre extrait de bien se diffuser dans la gélose puis après 18h nous avons incubé les boîtes à 37°C pendant

24h et nous avons utilisé un pied à coulisse doté d'une incertitude de  $\pm 0,05$  mm pour mesurer le diamètre des zones d'inhibitions que nous avons ensuite comparé avec les résultats d'autres études.

*Chapitre III :*  
*Résultats et discussion*



### III.1. Rendement d'extraction :

Le calcul du rendement se fait pour 25g de poudre végétale utilisé lors de la macération (poudre issue du broyage des feuilles) et de la différence de masse entre une boîte de pétri en verre vide et celle contenant notre extrait.

Tableau 03 : Masse d'extrait secs et rendement d'extraction des feuilles de *Lawsonia inermis*.

Extrait	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement (%)
Extrait 1	4.01	16.04
Extrait 2	0.98	3.92

Les résultats apportés par (Jeyaseelan et al., 2012) lors de leurs macérations des feuilles de *Lawsonia inermis* à l'éthanol est de 8.13%, nous pouvons constater que notre macération a donné un plus grand rendement pour l'extrait 1.

### III.2. Teneurs en polyphénols totaux :

Parmi les constituants végétaux nous avons les polyphénols qui sont réputés pour leurs rôles propriétés antioxydants, antifongique, antibactérienne et anti tumorale (Zeng et al., 2019). Par ce fait de très nombreuses recherches se concentre sur l'étude et la quantification de ces polyphénols dans les différents végétaux dans le but de les utiliser dans la médecine ou comme alternative aux antibiotiques ou autre traitement. Dans ce but nous avons réalisé l'étude de la quantité de polyphénols contenus dans nos extraits secs venant des feuilles de *Lawsonia inermis*, pour ce faire nous avons tracé la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

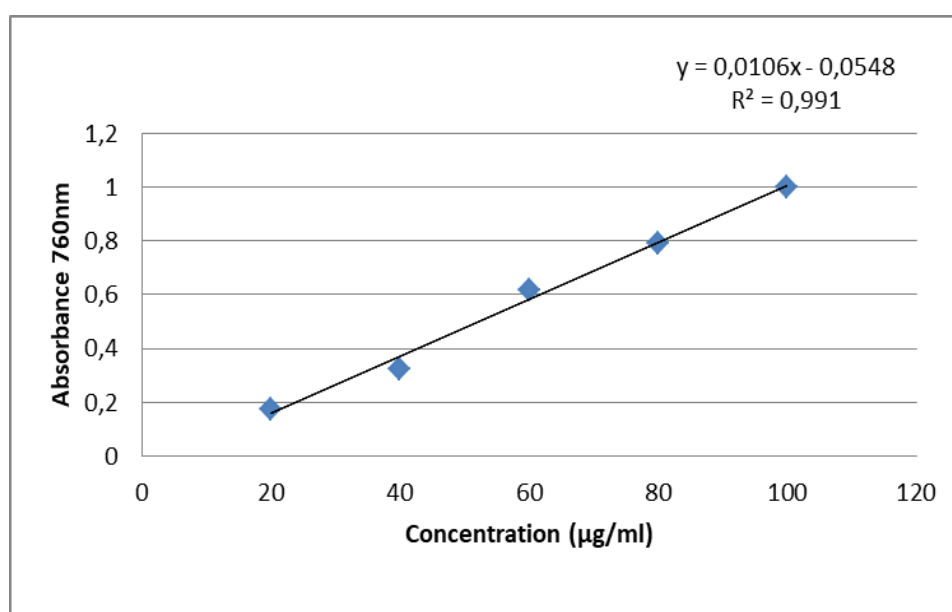


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

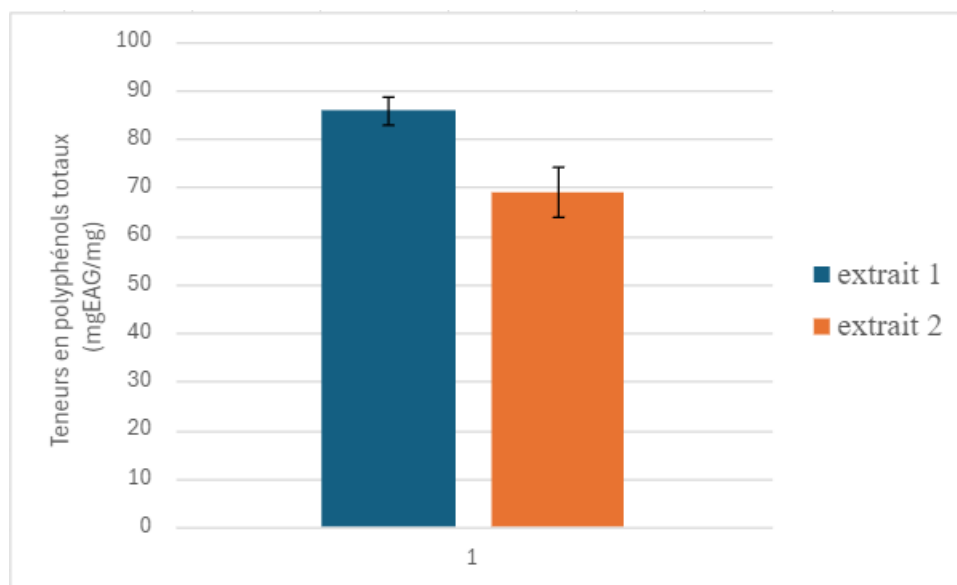


Figure 15 : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux.

La teneur en polyphénols dépend de la méthode d'extraction et de l'origine de notre extrait ainsi comparé à (Moulazadeh et al. 2021) qui ont trouvé un taux de polyphénols de  $96.76 \pm 3.34$  mgEAG/mg nous avons trouvés une dose inférieure à  $85.93 \pm 2.99$  mgEAG/mg pour notre extrait 1 et  $69.04 \pm 5.14$  mgEAG/mg pour notre extrait 2. Les deux valeurs étant des moyennes basées sur trois répétitions d'absorbance mesuré dans le spectrophotomètre "OPTIZEN POP UV/Vis Spectrophotometer".

### III.3. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne *in vitro* a été comparée en utilisant 2 antibiotiques standard oxacilline et amoxicilline en mesurant la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

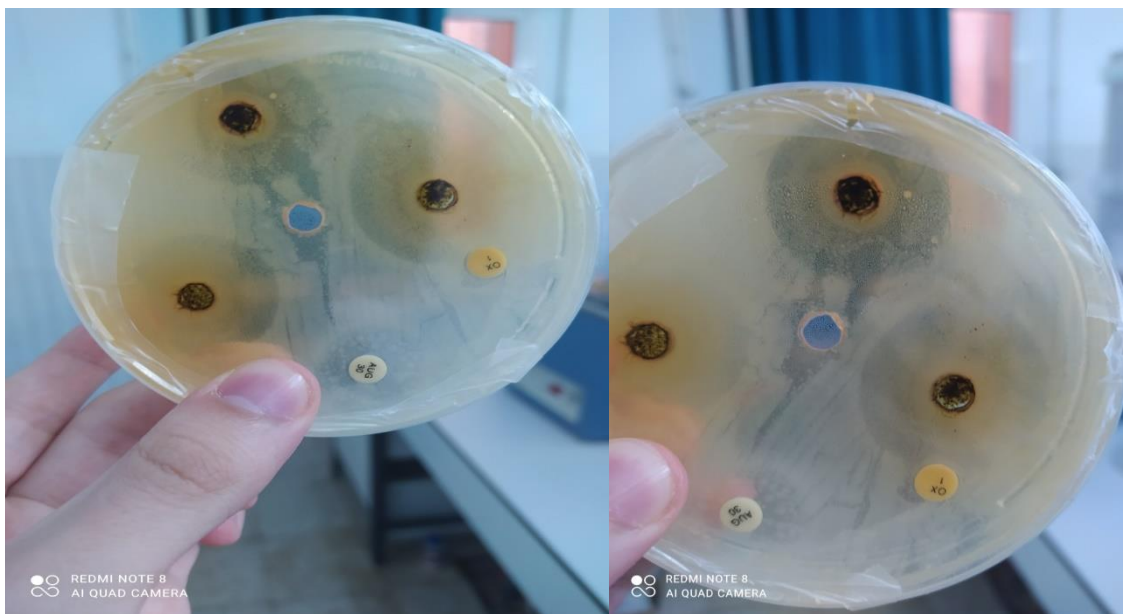


Figure 16 : Gélose Mueller-Hinton montrant l'activité antibactérienne de notre extrait et des antibiotiques.

Les résultats montrent que nos deux souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) sont résistante à l'oxacilline et sensible à l'amoxicilline ainsi qu'à notre extrait végétal montrant l'effet antibactérien des polyphénols présent dans les feuilles de *Lawsonia inermis*. La mesure de la zone d'inhibition de l'amoxicilline a donné un diamètre de  $1.4\text{cm} \pm 0.05\text{mm}$  pour les deux souches bactériennes tandis que pour notre extrait nous avons obtenu des zones de tailles différentes en fonction de la concentration utilisés.

Tableau 04 : Mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

	Oxacilline	Amoxicilline	Extrait 50mg/ml	Extrait 100mg/ml	Extrait 200mg/ml
Zone de lyse pour <i>Escherichia coli</i> ( $\text{cm} \pm 0,05 \text{ mm}$ )	0	1.2	0	2.3	2.5
Zone de lyse pour <i>Staphylococcus aureus</i> ( $\text{cm} \pm 0,05 \text{ mm}$ )	0	1.2	0	2.3	2.5

Nous pouvons constater de ces résultats que les polyphénols sont plus efficaces que certains antibiotiques mais qu'il convient d'utiliser une dose minimale de 100mg/ml ou supérieur pour obtenir une activité antibactérienne. Cette efficacité des polyphénols vient des

différents mécanismes utilisés par ces derniers pour inhiber la croissance bactérienne. Tel que montré par (Papuc et al., 2017) plusieurs hypothèses sont étudiées dans le but d'expliquer le mécanisme exact par lequel les polyphénols inhibent les bactéries. Parmi ces hypothèses nous pouvons citer :

- Inhibition de la paroi cellulaire : La paroi cellulaire des bactéries consiste en une large couche de peptidoglycane pour les Gram+ et d'une fine couche de peptidoglycane suivi d'une membrane externe pour les Gram-. Les polyphénols peuvent agir sur la paroi cellulaire rendant les bactéries très sensibles et provoquant des chocs osmotiques, la paroi étant très importante dans la protection des bactéries.
- Effet contre la membrane plasmique : Comme pour la paroi les polyphénols peuvent agir sur les protéines et les phospholipides se trouvant dans la membrane provoquant des perturbations dans la perméabilité de la cellule, l'échange des ions et la respiration de la cellule bactérienne.
- Inhibition des protéines : Une recherche réalisée par (Ulrey et al. 2014) montrée que les polyphénols étaient capables d'inhiber deux protéines de *Pseudomonas aeruginosa* impliquées dans la synthèse de l'ATP et certaines autres protéines impliquées dans la transcription de l'ADN en ARN, bloquant ainsi le métabolisme bactérien provoquant l'inhibition des bactéries.

Enfin il est tout à fait possible que tous ces mécanismes soient impliqués en même temps.

En étudiant les résultats obtenus par (Raja and Ovais 2013) qui ont testés l'activité antibactérienne en utilisant la technique des disques ces derniers ont obtenus les résultats suivants :

Tableau 05 : Activité antimicrobienne de l'extrait de feuilles de *Lawsonia inermis* contre les bactéries testées (zone d'inhibition en mm) (Raja and Ovais 2013)

Concentration de l'extrait	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Kleb. pneumoniae</i>	<i>Ps. pseudoalcaligenes</i>
100mg/ml	14.0	9.9	16.0	10.2	10.0
50mg/ml	12.0	8.5	9.0	9.5	8.5
75mg/ml	9.0	8.0	8.5	9.0	8.0
25mg/ml	8.0	7.5	7.0	7.0	6.0

En comparant les résultats du tableau 05 à ceux que nous avons obtenus dans le tableau 04 nous pouvons constater qu'à 50mg/ml nous avons obtenu des résultats bien inférieurs à ceux obtenus par l'étude ci-dessus, nos résultats indiquant une résistance face à notre extrait que nous pouvons supposer être liés à la concentration. La concentration n'étant pas assez forte pour provoquer une inhibition là où dans l'étude citée ci-dessus la concentration de 50mg/ml a été suffisante pour provoquer une zone d'inhibition et empêcher la croissance des bactéries.

A la concentration supérieure de 100 mg/ml cependant nous pouvons constater que nos résultats sont bien supérieurs aux résultats obtenus et montrés dans le tableau, cette différence peut être due à la technique utilisée, la technique des puits permettant une plus grande diffusion dans la gélose contrairement aux disques. La technique d'extraction peut également jouer sur la quantité des polyphénols obtenus et donc sur l'effet antibactérien de ces dernières.

L'effet antibactérien des polyphénols des feuilles de *Lawsonia inermis* pourrait avoir un impact très important sur la médecine comme traitement alternatif aux antibiotiques si les patients ne présentent pas d'allergie ou autres effets secondaires.

*Conclusion et  
perspectives*

## Conclusion et perspectives :

Le but de notre étude était d'évaluer l'activité antibactérienne de notre extrait végétale venant des feuilles de *Lawsonia inermis*. Dans ce but nous avons effectués une macération à l'éthanol des feuilles de la plante ce qui nous a permis de déterminer que ces dernières étaient riches en polyphénols.

L'étude de l'activité antibactérienne a quant à elle révélé l'efficacité de nos extraits dans l'inhibition des bactéries et le potentiel de pouvoir les utiliser et d'obtenir des résultats supérieurs à ceux obtenus lors de l'utilisation de certains antibiotiques standard. Les polyphénols présents dans la plante jouent sans aucun doute un rôle important pour protéger de certaines attaques par certains microorganismes indésirables. Ces polyphénols une fois extraits et concentrés peuvent donc s'avérer très efficaces et ouvrir la porte à de nouvelles méthodes de traitements car ils représentent une alternative efficace aux antibiotiques qui eux s'avèrent de moins en moins efficaces à cause de l'augmentation critique du phénomène d'antibiorésistance.

En perspectives nous pouvons compléter et étoffer ces résultats par l'étude de plusieurs aspects complémentaires, en plus des objectifs de notre étude, tel que :

- L'étude d'autres méthodes d'extractions et leurs comparaisons entre elles dans le but d'obtenir des rendements plus élevés en polyphénols.
- L'optimisation des différents paramètres influençant l'extraction des polyphénols (durée de la macération, type du solvant, température utilisé...etc)
- Evaluation des autres effets de *Lawsonia inermis* (effet antiparasitaire, antifongique, antioxydant...etc)
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice pouvant être utilisée dans le cadre de l'activité antibactérienne.
- Evaluation de l'activité antibactérienne sur d'autres souches bactériennes.

# Références bibliographiques



## Références bibliographiques :

### A

- Abid, M. M., Khan, A., Jain, D. C., Bhakuni, R. S., Zaim, M., and Thakur, R. S.** (1991). *Occurrence of some antiviral sterols in Artemisia annua. Plant Science.*
- Ashnagar, A.** (1941). *Isolation and characterization of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (lawsone) from the powdered leaves of henna plant marketed in Ahwaz city of Iran. Article in International Journal of ChemTech Research.*

### B

- Blouin, J., Llorca, L., Montreal), F. R., and Dufour, J. H.** (n.d.). *ETUDE DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LA DETERMINATION DES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX PAR LE REACTIF DE FOLIN-CIOCALTEU* *Chambre d'Agriculture de la Gironde.*
- Bouزيد, A., Chadli, R., and Bouزيد, K.** (2017). Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytotherapie*, **15**(6), 373–378.

### C

- Chikaraddy, A., Maniyar, Y., and Mannapur, B.** (2012.). *Arati chikaraddy\*et al Int J Pharm Bio Sci HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF LAWSONIA INERMIS LINN. (HENNA) IN ALLOXAN INDUCED DIABETIC ALBINO RATS.*
- Choubey, A., Ojha, M., Mishra, A., Mishra, S., and Patil, U. K.** (2010). HYPOGLYCEMIC AND ANTIHYPERGLYCEMIC EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF WHOLE PLANT OF LAWSONIA INERMIS (HENNA) IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC RATS. *IJPSR*, **1**.

### G

- Gast, M.** (2000). Henné. *Encyclopédie berbère*, (22), 3437–3440.
- Ghédira, K., and Goetz, P.** (2017). Le henné *Lawsonia inermis* L. (Lythraceae). *Phytotherapie*, **15**(2), 85–90.
- Gull, I., Sohail, M., Aslam, M. S., and Amin Athar, M.** (2013). *Phytochemical, toxicological and antimicrobial evaluation of lawsonia inermis extracts against clinical isolates of pathogenic bacteria.*

## H

**Hennebelle, T., Sahpaz, S., and Bailleul, F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **2(1)**, 3–6.

**Hsouna, A. Ben, Trigui, M., Culioli, G., Blache, Y., and Jaoua, S.** (2011). Antioxidant constituents from Lawsonia inermis leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chem*, **125(1)**, 193–200.

## J

**Jeyaseelan, E. C., Jenothiny, S., Pathmanathan, M. K., and Jeyadevan, J. P.** (2012). Antibacterial activity of sequentially extracted organic solvent extracts of fruits, flowers and leaves of Lawsonia inermis L. from Jaffna. *Asian Pac J Trop Biomed*, **2(10)**, 798–802.

**Jovanovic, D. L., and Slavkovic-Jovanovic, M. R.** (2009). Allergic contact dermatitis from temporary henna tattoo. *Journal of Dermatology*, **36(1)**, 63–65.

## K

**Kazandjieva, J., Grozdev, I., and Tsankov, N.** (2007). Temporary henna tattoos. *Clin Dermatol*, **25(4)**, 383–387.

**Kumar, A.** (2013). *Essential perspectives of Lawsonia inermis*.

## L

**Labed, A., Moumimi, N., Aoues, K., and Benchabane, A.** (2016). Solar drying of henna (Lawsonia inermis) using different models of solar flat plate collectors: An experimental investigation in the region of Biskra (Algeria). *J Clean Prod*, **112**, 2545–2552.

## M

**Malekzadeh, F.** (1968). *Antimicrobial Activity of Lawsonia inermis L.* *Appl Microbiol*.

**Morgan, A., and Cartwright-Jones, C.** (2010). *Library of Congress Cataloging-in-Publication Data*.

**Moulazadeh, A., Kouhpayeh, S. A., Ranjbar, R., Ardestani, A. D., Hekmat, M., Azarnia, S., and Najafipour, S.** (2021). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of lawsonia inermis and haplophyllum vermiculare. *Physiology and Pharmacology (Iran)*, **25(3)**, 261–269.

**Muhammad, H. S., and Muhammad, S.** (2005). The use of Lawsonia inermis linn. (henna) in the management of burn wound infections. *Afr J Biotechnol*, **4(9)**, 934–937.

## P

**Pan, M. H., Chiou, Y. S., Tsai, M. L., and Ho, C. T.** (2011). Anti-inflammatory activity of traditional chinese medicinal herbs. *J Tradit Complement Med*, **1**(1), 8–24.

**Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., and Stefan, G.** (2017). Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, **16**(6), 1243–1268.

## Q

**Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., and Pouységu, L.** (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie - International Edition*.

## R

**Rahmoun, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Benabdallah, M., and Choukchou-Braham, N.** (2013). Antifungal activity of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Pharm Biol*, **51**(1), 131–135.

**Raja, W., Agrawal, R. C., and Ovais, M.** (2009). *Chemopreventive action of Lawsonia inermis Leaf Extract on DMBA-induced skin papilloma and B16F10 Melanoma Tumour. Pharmacologyonline.*

**Rambaran, T. F.** (2020). Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Appl Sci*, Springer Nature.

**Raja, W., and Ovais, M.** (2013). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Lawsonia inermis* leaf extract.

## S

**Singh, D. K., and Luqman, S.** (2014.). *Lawsonia inermis* (L.): A perspective on anticancer potential of Mehndi/Henna. *Biomedical Research and Therapy*, **2014**(4), 112–120.

## T

**Tahar, M., Moussa, B., Cherif, R. A., Lekhal, S., Bounab, A., Hadeif, Y., and Cinerea Vis, B.** (2022). *Dosage of phenolic compounds and determination of the antioxidant activity of methanolic extracts of Brocchia cinerea VIS in Algeria (South-East) MOTS CLÉS. Algerian journal of pharmacy.*

**Theuretzbacher, U.** (2013). Global antibacterial resistance: The never-ending story. *J Glob Antimicrob Resist*, Elsevier Ltd.

## U

**Ulrey, R. K., Barksdale, S. M., Zhou, W., and Van Hoek, M. L.** (2014). Cranberry proanthocyanidins have anti-biofilm properties against *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Complement Altern Med*, **14**(1).

## W

**Waisundara, V. Y., and Watawana, M. I.** (2014). The classification of Sri Lankan medicinal herbs: An extensive comparison of the antioxidant activities. *J Tradit Complement Med*, **4**(3), 196–202.

## Z

**Zeng, X., Xi, Y., and Jiang, W.** (2019). Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, Taylor and Francis Inc.

## Résumé

*Lawsonia inermis* est une plante utilisée depuis des siècles dans les tatouages comme teintures ou comme remèdes naturels à différentes maladies. Dans le cadre de notre travail nous nous sommes intéressés à un des composants des feuilles de la plante qui sont les polyphénols car ces derniers présentent des vertus et des caractéristiques très intéressantes pour la santé. Pour ce faire nous avons effectué une macération à l'éthanol d'une quantité des feuilles pour obtenir deux extraits secs d'un rendement de 16.04% et 3.92%. Nous avons procédé après ça au calcul de la teneur en polyphénols totaux par la réalisation d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Le résultat de ces calculs nous ont permis de trouver pour notre premier extrait  $85.93 \pm 2.99$  mgEAG/mg et pour notre deuxième extrait  $69.04 \pm 5.14$  mgEAG/mg. Par la suite nous avons procédé à l'étude de l'activité antibactérienne en réalisant la technique des puits et en comparant les zones d'inhibitions à celle de deux disques d'antibiotiques standard, ce qui nous a permis de déterminer l'efficacité de notre extrait. Celui-ci nous a donné en moyenne une zone d'inhibition de  $2.3 \text{ cm} \pm 0.05 \text{ mm}$  à une concentration de 100mg/ml et une moyenne de  $2.5 \text{ cm} \pm 0.05 \text{ mm}$  à une concentration de 200mg/ml face à *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* contre une zone d'inhibition moyenne de  $1.2 \text{ cm} \pm 0.05 \text{ mm}$  pour l'amoxicilline. A la lumière de ces résultats nous ne pouvons que proposer les polyphénols présents dans les feuilles de *Lawsonia inermis* comme alternatives aux antibiotiques.

Mots clés: *Lawsonia inermis*, polyphénols, activité antibactérienne.

## Abstract

*Lawsonia inermis* is a plant used for centuries in tattoos as dyes or as natural remedies for various illnesses. As part of our work we were interested in one of the components of the leaves of the plant which are polyphenols because the latter have very interesting virtues and characteristics for health. To do this we carried out maceration with ethanol of a quantity of leaves to obtain two dry extracts with a yield of 16.04% and 3.92%. We then proceeded to calculate the total polyphenol content by producing a gallic acid calibration curve. The result of these calculations allowed us to find for our first extract  $85.93 \pm 2.99$  mgEAG/mg and for our second extract  $69.04 \pm 5.14$  mgEAG/mg. Subsequently, we proceeded to study the antibacterial activity by carrying out the well technique and comparing the inhibition zones to that of two standard antibiotic disks, which allowed us to determine the effectiveness of our extract. This gave us on average an inhibition zone of  $2.3 \text{ cm} \pm 0.05 \text{ mm}$  at a concentration of

100mg/ml and an average of  $2.5\text{cm}\pm 0.05\text{mm}$  at a concentration of 200mg/ml against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* against an average inhibition zone  $1.2\text{cm}\pm 0.05\text{mm}$  for amoxicillin. In light of these results we can only propose the polyphenols present in the leaves of *Lawsonia inermis* as alternatives to antibiotics.  
Key words: *Lawsonia inermis*, polyphenols, antibacterial activity.

### ملخص

لوسونيا إنيرميس هو نبات يستخدم لعدة قرون في الوشم كأصباغ أو كعلاجات طبيعية لمختلف الأمراض. كجزء من عملنا، كنا مهتمين بأحد مكونات أوراق النبات وهي مادة البوليفينول لأن الأخيرة لها فضائل وخصائص مثيرة للاهتمام للصحة. للقيام بذلك قمنا بإجراء النقع بالإيثانول لكمية من الأوراق للحصول على مستخلصين جافين بإنتاجية 16.04% و3.92%. ثم شرعنا في حساب إجمالي محتوى البوليفينول عن طريق إنتاج منحنى معايرة حمض الغاليك. سمحت لنا نتيجة هذه  $\text{mgEAG} / \text{mg} 5.14 \pm 69.04$  وللمستخلصنا الثاني  $\text{mgEAG} / \text{mg} 2.99 \pm 85.93$  الحسابات بإيجاد مستخلصنا الأول  $\text{mg} / \text{ml} 0.05 \pm 2.5$  ومتوسط  $0.05 \pm 2.5$  سم / مل وبتركيز 100 ملجم / مل وبتركيز 200 ملجم / مل ضد الإشريكية القولونية. بعد ذلك، شرعنا في دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من خلال تنفيذ تقنية البئر ومقارنة مناطق التثبيط مع قرصين قياسيين من المضادات الحيوية، مما سمح لنا بتحديد فعالية مستخلصنا. هذا أعطانا في المتوسط منطقة تثبيط تبلغ  $2.3 \pm$  سم  $0.05$  ملجم / مل وبتركيز 100 ملجم / مل وبتركيز  $0.05 \pm 2.5$  سم / مل وبتركيز 200 ملجم / مل ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية مقابل منطقة تثبيط متوسطة تبلغ  $1.2 \pm 0.05$  سم / مل للأموكسيسيلين. في ضوء هذه النتائج لوسونيا إنيرميس كبديل للمضادات الحيوية يمكننا فقط اقتراح مادة البوليفينول الموجودة في أوراق نبات

الكلمات المفتاحية: لوسونيا إنيرميس، البوليفينول، النشاط المضاد للبكتيريا