

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie - Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des
extraits phénoliques d'*Urtica dioica* L.**

Travail réalisé par :

M^{elle} : KHATI Lila

M^{elle} : TADJENANT Dehbia

Devant le jury :

Président : M^r DJENANE DJ. Professeur à l'UMMTO

Promoteur : M^r OUELHADJ A. Maitre de conférences A à l'UMMTO

Examineur : M^r BOUAZZA B. Maitre de conférences B à l'UMMTO

Examineur : M^r MOUALEK I. Maître assistant A à l'UMMTO

Année universitaire : 2015 - 2016

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu le bon Dieu de nous avoir donnés la santé, la volonté, la foi et le courage pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier également toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus en particulier :

*Notre promoteur : **Monsieur OUELHADJ. A : Maitre de conférences A à l'UMMTO**, pour avoir accepté de diriger notre travail par ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.*

***Monsieur DJENANE. DJ : Professeur à l'UMMTO**, pour avoir accepté de présider le jury.*

***Monsieur BOUAZZA. B : Maitre de conférences B à l'UMMTO**, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

***Monsieur MOUALEK. I : Maitre-assistant A à l'UMMTO**, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Liste des abréviations

AG : Acide gallique.

AM /AX: Amoxycilline.

ANOVA : Analyse de la variance.

ATB : Antibiotique.

ATCC: American Type Culture Collection.

ATP: Adénosine triphosphate.

CAT : Catalase.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CN: Gentamycine.

CP : Composés phénoliques.

DO : Densité optique.

DPPH : 1.1- diphényl-2-picryl-hydrazyl.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EQ : Equivalent de quercétine.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

FOX: Céfoxitine.

GPX : glutathion peroxydase.

IC 50 : Concentration inhibitrice 50.

MH: Muller-Hinton.

MS: Matière sèche.

O: Oxytétracycline.

PF: Poids frais.

PPT : Polyphénols totaux.

QS: Quorum sensing.

R: Rendement.

RSA: Radical Scavenger Activity.

SOD: Superoxyde dismutase.

SXT: Trimethoprim /Sulfamethoxazole.

Index des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	page
Tableau I	Tableau récapitulatif des principales sources alimentaires des polyphénols	3
Tableau II	Les principales classes des composés phénoliques	5
Tableau III	Activités biologiques de quelques composés phénoliques	15
Tableau IV	Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote	20
Tableau V	Antibiotique, début d'utilisation et date d'apparition des résistances	31
Tableau VI	La composition chimique des différentes parties de l'ortie	33
Tableau VII	Produits chimiques et milieux de culture utilisés	43
Tableau VIII	Les souches microbiennes utilisées	45
Tableau IX	Les antibiotiques et l'antifongique utilisés	45
Tableau X	Aspect, couleur et rendement des trois extraits d' <i>Urtica dioica</i> L. (n=3)	53
Tableau XI	Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits exprimées en mg EAG/g MS (n=2)	56
Tableau XII	Pourcentage de piégeage du radical DPPH (n=2)	57
Tableau XIII	Antibiogramme des germes étudiés en présence des différents antibiotiques (diamètre de la zone d'inhibition en mm)	60
Tableau XIV	Activité antimicrobienne des extraits bruts d' <i>Urtica dioica</i> L. (diamètre des zones d'inhibition en mm) (n=3)	61

Index des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure 1	Structure du noyau phénol	2
Figure 2	Structure de base des stilbènes (trans ou cis)	7
Figure 3	Squelette de base des flavonoïdes	8
Figure 4	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	11
Figure 5	Effets biologiques des polyphénols	14
Figure 6	Le piégeage des ERO par les flavonoïdes	18
Figure7	Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants	21
Figure 8	Les différentes origines de la résistance aux antibiotiques	27
Figure 9	Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries	30
Figure 10	Parties aériennes de l'ortie « <i>Urtica dioica</i> L. » (Tadmaït,Tizi-Ouzou)	42
Figure 11	Schéma du protocole d'extraction des polyphénols	46
Figure 12	Réduction du radical DPPH par un antioxydant	48
Figure 13	Rendement d'extraction en (%) des différents extraits d'ortie	54
Figure 14	Courbe d'étalonnage à l'acide gallique	55
Figure 15	Teneur en polyphénols totaux des extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.	56
Figure 16	Pourcentage de réduction du radical DPPH par l'acide ascorbique et les différents extraits d' <i>Urtica dioica</i> L.	58
Figure 17	Valeurs d'IC 50 des trois extraits d'ortie et du standard	59
Figure 18	Témoins positifs réalisés avec les antibiotiques : SXT : Trimethoprim/Sulfamethoxazole ; O : Oxytétracycline ; CN :Gentamycine; AM /AX : Amoxicilline ; FOX : Céfoxitine sur les cinq bactéries testées	62
Figure 19	Témoins positifs réalisés par l'antifongique (Amphotéricine B) sur les deux souches fongiques testées	62
Figure 20	Témoins négatifs réalisés avec le méthanol sur les microorganismes testés	63
Figure 21	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits d' <i>Urtica dioica</i> L. (160 mg/ml)	64

Figure 22	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits d' <i>Urtica dioica</i> L. (500 mg/ml)	64
Figure 23	Effet des extraits aqueux et à l'acétate sur <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Figure 24	Effet de l'extrait aqueux sur <i>Candida albicans</i>	66
Figure 25	Effet de l'extrait éthanolique sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	66
Figure 26	Effet de l'extrait éthanolique sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	66
Figure 27	Résistance d' <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 aux différents extraits testés	67
Figure 28	Résistance d' <i>Aspergillus niger</i> aux différents extraits testés	67
Figure 29	Effet de l'extrait éthanolique sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	67

SOMMAIRE

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Index des tableaux et des figures

Introduction 1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Composés phénoliques 2

1.1. Généralités..... 2

1.2. Principales sources alimentaires..... 3

1.3. Classification des composés phénoliques 5

1.3.1. Polyphénols simples 6

1.3.1.1. Les acides phénoliques..... 6

1.3.1.1.1. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)..... 7

1.3.1.1.2. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)..... 7

1.3.1.2. Les flavonoïdes 8

1.3.1.3. Alcools phénoliques 9

1.3.2. Polyphénols complexes (sous forme de polymères) 9

1.3.2.1. Tanins 9

1.3.2.2. Lignines et subérines 10

1.4. Principales voies de biosynthèse des composés phénoliques..... 10

1.5. Extraction des polyphénols 11

1.5.1. Extraction des polyphénols sur la base de leur polarité 12

1.5.2. Extraction des polyphénols sur la base de leur acidité..... 12

1.5.3. Extraction des polyphénols sur la base de leur volatilité 13

Sommaire

1.5.4. Extraction des polyphénols sur la base de leur taille	13
1.5.5. Autres méthodes d'extraction.....	13
1.6. Intérêts et propriétés biologiques des polyphénols	13
1.6.1. Intérêts des composés phénoliques chez les végétaux, les humains et à l'échelle industrielle	14
1.6.2. Propriétés biologiques des polyphénols	17
1.6.2.1. Activité antimicrobienne	17
1.6.2.2. Activité antivirale	18
1.6.2.3. Activité antioxydante	18
Chapitre 2 : Stress oxydatif.....	20
2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	20
2.2. Principales sources des ERO.....	21
2.3. Dommages oxydatifs aux lipides, protéines et ADN	22
2.4. Défenses antioxydantes	22
2.4.1. Définition d'un antioxydant	22
2.4.2. Antioxydants endogènes	23
2.4.2.1. Antioxydants enzymatiques	23
2.4.2.2. Antioxydants non enzymatiques	23
2.4.3. Antioxydants exogènes	23
2.4.3.1. Vitamine E.....	24
2.4.3.2. Vitamine C	24
2.4.3.3. Antioxydants phénoliques	24
2.4.3.4. Sélénium.....	25

Sommaire

2.4.3.5. Zinc.....	25
2.4.4. Mécanismes d'action d'un antioxydant.....	26
Chapitre 3 : Résistance microbienne et moyens de lutte....	27
3.1. Résistance bactérienne	27
3.1.1.. Définition de la résistance	28
3.1.2. Bases génétiques de la résistance	28
3.1.2.1. Résistance naturelle.....	28
3.1.2.2. Résistance acquise.....	29
3.2. Résistance aux antifongiques	31
3.3. Résistance aux antiviraux.....	32
3.4. Moyens de lutte contre l'antibiorésistance.....	32
3.4.1. Recherche de nouvelles cibles.....	32
3.4.2. Recherche de composés non antibiotiques.....	33
3.4.3. Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques	33
Chapitre 4 : Plante : Ortie...	36
4.1. Classification et appellations.....	36
4.2. Description botanique et origine d' <i>Urtica dioïca</i> L	37
4.3. Habitat	37
4.4. Composition chimique	37
4.5. Propriétés et utilisations	38
4.5.1. Indications de l'ortie en phytothérapie.....	39
4.5.2. Utilisations non thérapeutiques de l'ortie.....	40
4.5.2.1. En cuisine	40

Sommaire

4.5.2.2. Valorisation des fibres d'ortie	40
4.5.2.3. Au jardin.....	40
4.5.2.4. En industrie	41
4.5.2.5. Usage fourrager	41

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes..... 42

1.1. Matériel	42
1.1.1. Matériel végétal.....	42
1.1.2. Matériel de laboratoire	43
1.1.3. Appareillage	44
1.1.4. Souches microbiennes utilisées.....	44
1.1.5. Molécules de référence utilisées : antibiotiques et antifongique.....	45
1.2. Méthodes	45
1.2.1. Extraction des polyphénols par macération	45
1.2.2. Dosage des polyphénols totaux	47
1.2.3. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode au DPPH.....	48
1.2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	50
1.2.4.1. Activité antibactérienne.....	50
1.2.4.2. Activité antifongique.....	51
1.2.5. Analyse statistique.....	52

Chapitre 2 : Résultats et discussion... 53

2.1. Rendement d'extraction des polyphénols	53
2.2. Teneur en polyphénols totaux des extraits d'ortie	55
2.3. Mise en évidence de l'activité antioxydante et pourcentage de piégeage du radical DPPH.....	57
2.4. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	60
2.5. Discussion générale.....	68
Conclusion.....	77

Références bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante.

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par de nouveaux concepts, celui du « stress oxydant » incriminé dans diverses maladies.

Aussi le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, qui est une menace pesant sur la santé mondiale ont conduit à un engouement pour les produits naturels et à la purification d'extraits végétaux à usage antioxydant.

Les chercheurs sont nombreux à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. Celles-ci répondent à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (ELQAJ *et al.*, 2007).

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Urtica*, communément appelé Ortie, ce dernier est largement distribué surtout dans le Tell Algérien. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle, pour soulager les douleurs articulaires (rhumatismes, arthrose, foulures, tendinites, ...), parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Urtica dioica* Linn.

Cette plante adaptogène qualifiée « d'alicament » a fait l'objet de plusieurs recherches (NENCU *et al.*, 2012 ; ILIES *et al.*, 2012 ; INCE *et al.*, 2014 ; GHAEDI *et al.*, 2015 ; DAOUDI *et al.*, 2015), qui ont révélé sa richesse diversifiée en plusieurs composés secondaires qui lui procurent des propriétés biologiques : antioxydante, antimicrobienne, anti inflammatoire et bien d'autres.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'extraire les molécules bioactives, les polyphénols, avec la détermination de leur concentration, évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des différents extraits aqueux et organiques (à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol) de l'ortie cueillie dans la région de Tizi-Ouzou « Tadmait ».

PREMIÈRE PARTIE

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

1. Composés phénoliques

1.1. Généralités

Les composés phénoliques (CP), sont des molécules du métabolisme secondaire spécifiques du règne végétal, produits à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides et acides nucléiques). Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (BRUNETON, 1999 ; MACHEIX *et al.*, 2006).

A l'heure actuelle, plus de 10000 molécules ont été isolées et identifiées (TAO et LAMBERT, 2014). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (figure 1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (MACHEIX *et al.*, 2006).

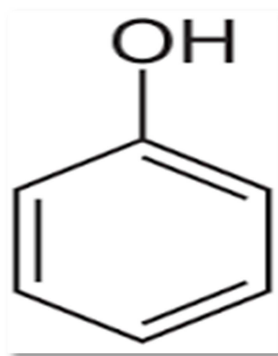


Figure 1: Structure du noyau phénol (MACHEIX *et al.*, 2006).

La désignation « polyphénols » est fréquemment utilisée dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, elle devrait être réservée aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale CP concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (COLLIN *et al.*, 2011).

Ils sont présents dans les vacuoles des tissus, participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnement UV...) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme et

amertume). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement (GRESELLE *et al.*, 2011).

1.2. Principales sources alimentaires

Les polyphénols sont répartis de façon ubiquitaire dans les fruits et les légumes qui en constituent les principales sources alimentaires, avec de fortes variations selon les espèces.

Ainsi, la concentration en polyphénols totaux peut varier de 140 mg/kg de poids frais (PF) pour la pomme de terre à 5,5 g/kg de PF pour la cerise (SCALBERT *et al.*, 2005).

Le tableau ci-après résume les principales sources alimentaires des polyphénols.

Tableau I: Tableau récapitulatif des principales sources alimentaires des polyphénols

Classe de polyphénols	Sources alimentaires	Références bibliographiques
Les stilbènes	-le raisin et son jus ; -les baies, le chou rouge, les épinards et certaines plantes médicinales ; -les cacahuètes et le beurre de cacahuètes ; -vin rouge.	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000). (CROZIER <i>et al.</i> , 2009).
Les flavones	-persil, céleri et le poivron rouge ; -les glycosides de flavones sont également présents dans les céréales (mil, blé) ; -sous forme glucuronidée, la lutéoline 7-diglucuronide est présente dans l'infusé de verveine odorante ; -la peau des agrumes ; -des huiles essentielles (huile essentielle de mandarine).	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Les flavonols	-l'oignon, le chou frisé, le poireau, le vin rouge, le thé noir et le thé vert.	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Les flavanones	-les rutinosides de flavanones dans les citrons, les mandarines, les oranges ;	

Synthèse bibliographique

	-les pamplemousses et les oranges amères ; -les glycosides de flavanones dans le jus d'orange ; -la tomate et certaines plantes aromatiques comme la menthe.	(TOMAS-BARBERAN <i>et al.</i> , 2000).
Isoflavones	-soja (les graines, la farine, le lait de soja) ; -le processus de fermentation hydrolysant les glycosides, ces composés seront principalement retrouvés sous forme d'aglycones stables dans ces aliments.	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000).
Chalcones dihydrochalcones	-la tomate (la peau, le ketchup) ; -la pomme (peau, chair et pépins).	(BRUNETON, 2009).
(épi) catéchine	-l'abricot et la cerise, les pêches, les prunes, les fraises, les pommes et les poires ; -le chocolat ; -le thé vert ;	D'ARCHIVIO <i>et al.</i> , 2007).
Proanthocyanidines	-le raisin, les pêches, les kakis ou les pommes ; -le vin, le cidre, le thé et la bière.	(SANTOS-BUELGA et SCALBERT, 2000). (GERHAUSER, 2008).
Les anthocyanes	-baies comme le cassis ou les mures ; -fruits rouges comme les myrtilles, fraise ou la cerise ; -les vins.	(CLIFFORD, 2000). (MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Les lignanes	-graines de lin ; -céréales (le triticale et le blé) ; -fruits (les poires et les prunes) ; -certains légumes (ail, asperge et carottes) ; -légumineuses comme les lentilles.	ADLERCREUTZ et MAZUR, 1997).

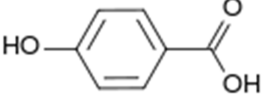
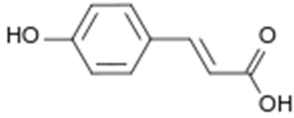
Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. Pendant longtemps, ces composés ont été considérés métaboliquement inactifs.

1.3. Classification des composés phénoliques

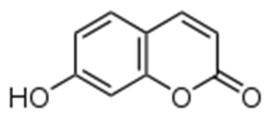
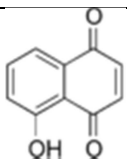
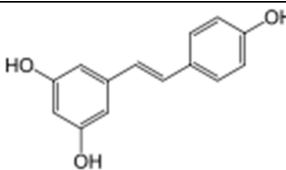
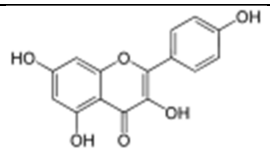
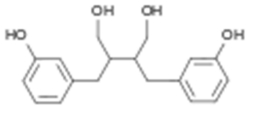
D'après MOTILVA *et al.* (2013), il n'existe pas de classification universelle de polyphénols. De nombreux auteurs ont donc proposé leur propre segmentation. Par exemple, CROZIER *et al.* (2010) ont séparé ces composés en deux catégories : les flavonoïdes et les non flavonoïdes. MANACH *et al.* (2004) distinguent six sous classes de flavonoïdes.

La classification des CP est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (tableau II).

Tableau II: Les principales classes des composés phénoliques (BRUNETON, 2009)

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	Structure de base	Plantes
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol, hydroquinone		Busserole
7	C ₆ -C ₁	Acides Phénols benzoïques	Acide gallique, Acide salysalique, Vanilline		Artichaud Saule
8	C ₆ -C ₂	Acétophénone	3-acétyl6-Méthoxybenzaldehyde Gallacétophénone	/	Saule
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphenylacétique	/	/
9	C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinamique	Acide coumarique, Acide caféique		Romarin Marronnier d'inde

Synthèse bibliographique

9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculétine		Carotte Coriandre
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Shikonine		Drosera spp
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Bellidifoline, Mangocétine	/	Racine de gentiane, Centauree
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Hydrangénol, Pinosylvine		Raisin, pin
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine Roténoïde		Ginkgo Thym Camomille
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Matairésinol		Chardon
30	(C ₆ -C ₃ - C ₆) ₂	Bi flavonoïdes	Amentoflavone Hinokiflavone	/	Carcinia Hypericum
N	(C ₆ -C ₃ -C ₆) n	Tanins condensés proanthocyanidols	Aesculitanins	/	Marronnier d'inde, vigne

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et complexes.

1.3.1. Polyphénols simples

1.3.1.1. Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acides phénoliques ; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. La concentration de l'acide hydroxybenzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents (MACHEIX *et al.*, 2006).

1.3.1.1.1. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides. Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (MACHEIX *et al.*, 2006).

1.3.1.1.2. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (COLLIN *et al.*, 2011).

a) Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base (C6-C3) dérivant des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anti-coagulantes (COLLIN *et al.*, 2011).

b) Les stilbènes

Plus de 30 stilbènes et glycosides de stilbènes sont produits par les plantes en réponse à des attaques bactériennes, fongiques (comme le mildiou) ou virales. Ils dérivent aussi des acides hydroxycinnamiques, leur structure chimique de base est composée de deux cycles aromatiques joints par un pont méthylène. Les deux isomères (cis et trans) ont des propriétés biologiques différentes (figure 2). Les principales molécules de cette famille sont le resvératrol et son dérivé glycosylé (BRUNETON, 2009).

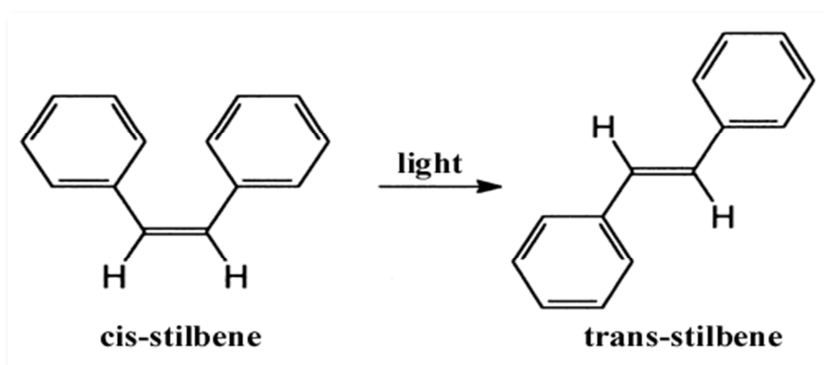


Figure 2 : Structure de base des stilbènes (trans ou cis) (BRUNETON, 2009).

1.3.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone ($C_6-C_3-C_6$), constitués de deux noyaux aromatiques (A et B) liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (figure 3). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV et les attaques microbiennes. Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...) (BRUNETON, 2009 ; COLLIN *et al.*, 2011).

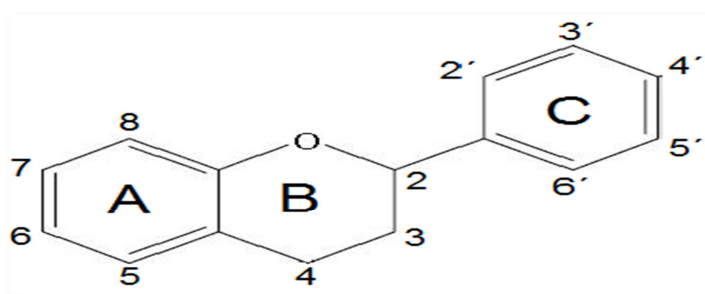


Figure 3: Squelette de base des flavonoïdes (MACHEIX *et al.*, 2006).

D'après MACHEIX *et al.* (2006), il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont : les flavonols, les flavones, les flavanoides et les anthocyanines/anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides.

a) Flavonols

D'après CROZIER *et al.* (2009), les flavonols se caractérisent par un hétérocycle oxygéné relativement oxydé (présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double liaison (C2-C3)).

b) Flavones et flavanoides

Les flavones et flavanoides possèdent également la structure de base $C_6-C_3-C_6$. Les flavonoïdes se polymérisent au départ de 3,4-flavanediols (ou flavan-4-ols) et de flavan-3-ols (MANACH *et al.*, 2004).

c) (Prényl) chalcones et dihydrochalcones

Les prénylchalcones sont des structures ouvertes de flavonoïdes ne possédant pas d'hétérocycle central. Les dihydrochalcones sont des molécules ouvertes ne possédant pas la double liaison conjuguée au carbonyle (COLLIN *et al.*, 2011).

d) Anthocyanidines / anthocyanines

Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavonoïdes » chargé positivement, ce dernier portera le nom d'anthocyanine ou d'anthocyanidine suivant qu'il soit glycosylé ou non (CLIFFORD, 2000 ; MANACH *et al.*, 2004).

D'après GERHAUSER (2008), ces molécules jouent un rôle prépondérant dans la coloration de nombreux aliments (cerises, myrtilles, raisins rouges, cacao).

1.3.1.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe (MACHEIX *et al.*, 2006).

Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide lénoléique. Le principal alcool phénolique de l'olive (responsable de l'amertume du fruit) est l'oleuropéine (ALTIOK *et al.*, 2008).

1.3.2. Polyphénols complexes (sous forme de polymères)

1.3.2.1. Tanins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles. Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines, d'où leur capacité à tanner le cuir (YAO *et al.*, 2004 et 2010).

En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, ils sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité et de certaines boissons (vin, cidre, thé,... etc) et de l'amertume du chocolat (FERRUZI, 2010). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : tanins hydrolysables et tanins condensés :

a-Tanins hydrolysables : Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés en particulier l'acide ellagique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (BRUNETON, 2009).

b-Tanins condensés : Dénommés aussi tanins catéchiques ou proanthocyanidines qui se différencient fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes.

Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader (YAO *et al.*, 2004 et 2010).

1.3.2.2. Lignines et subérines

Ce sont des précurseurs de polymères pariétaux des plantes constituant des facteurs de défense contre les agents pathogènes. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation de trois alcools phénylpropéniques (BRUNETON, 2009).

1.4. Principales voies de biosynthèse des composés phénoliques

D'après BRUNETON (2009), les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

- a) La voie de l'acide shikimique, conduit des oses aux amino-acides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à leurs dérivés.
- b) La voie de l'acide acétique, conduit à des poly- β -cétoesters (polyacétates) de longueur variable, qui engendrent par cyclisation ou condensation, des composés souvent polycycliques : les flavonoïdes et les tanins condensés.

La figure ci-dessous résume les différentes voies de biosynthèse des polyphénols :

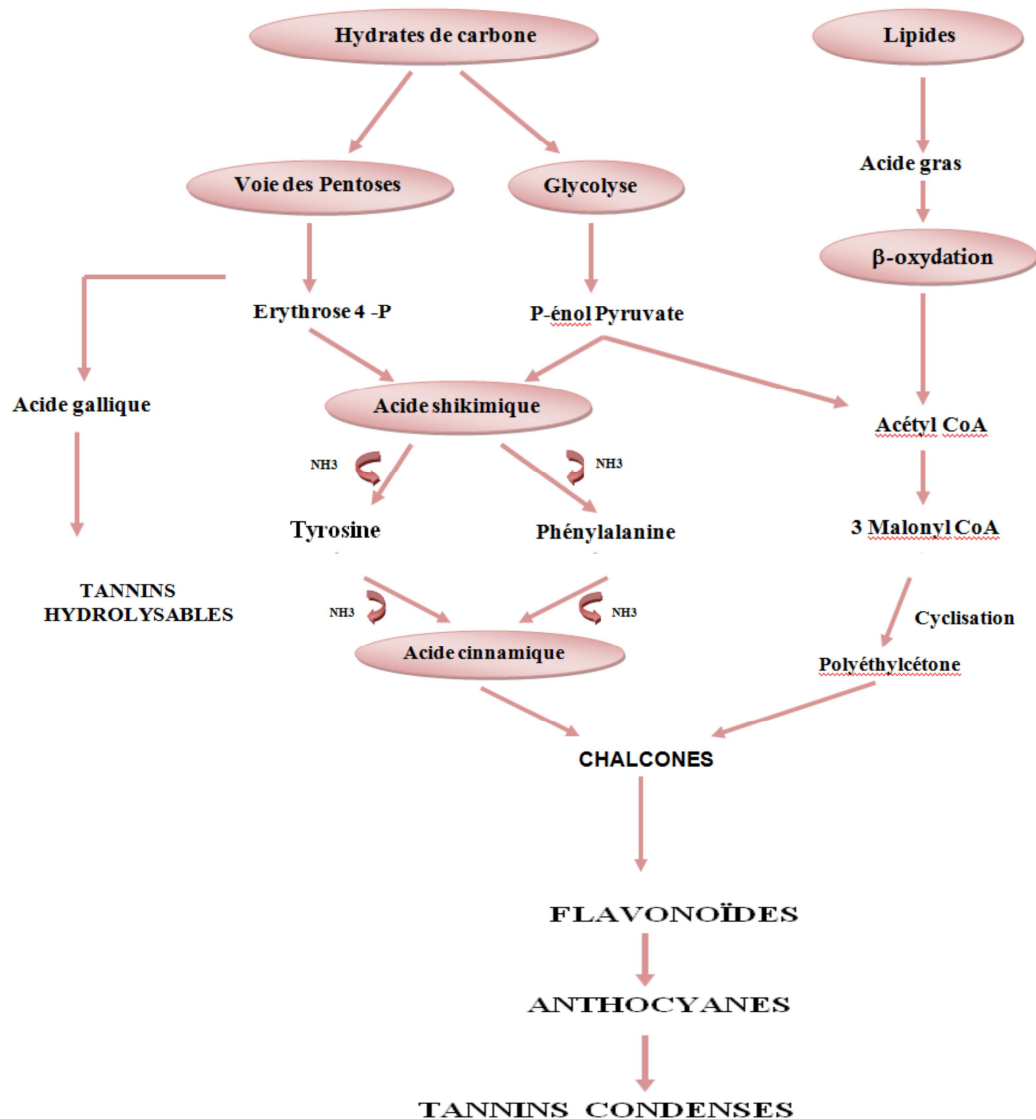


Figure 4 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (BRUNETON, 2009).

1.5. Extraction des polyphénols

Les solvants d'extraction jouent un rôle capital en assurant le transfert de phase du produit à extraire. Au départ, la matière première (solide végétal ou liquide de fermentation), qui est un mélange hétérogène, est soumise au contact d'un solvant (liquide le plus souvent) afin d'obtenir un extrait primaire complexe utilisable directement. C'est le cas des extraits fluides et des teintures pharmaceutiques (VERCAUTEREN et CHEZE, 1998).

Il peut être également soumis à des échanges liquide-liquide pour aboutir à un produit pur ou à un ensemble de composés de même famille chimique, dans ce cas, il s'agit principalement d'interactions moléculaires entre le solvant et le soluté. L'extraction solide-liquide met en jeu des mécanismes plus complexes et moins bien connus. En effet, le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et le soluté doit ressortir du solide (VERCAUTEREN et CHEZE, 1998).

Les composés phénoliques à extraire sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides, composés inorganiques, ...). C'est pourquoi un solvant ne sera pas nécessairement choisi en fonction de la plus grande solubilité du composé à extraire (HEMINGWAY et LAKS, 2012).

Quatre propriétés peuvent être exploitées pour extraire les polyphénols d'une matrice complexe : leur polarité, leur acidité, leur volatilité ou leur taille.

1.5.1. Extraction des polyphénols sur la base de leur polarité

COUNET et COLLIN (2003), ont montré qu'un mélange acétone/eau/acide acétique (70/28/2, V/V) était optimal pour l'extraction des flavanoides, surtout s'il s'agissait d'oligomères. Quand le méthanol est utilisé, il est déconseillé d'y ajouter de l'eau.

HEMINGWAY et LAKS (2012), suspectent une dépolymérisation des proanthocyanidines en présence de méthanol. Des solvants de polarité analogue sont généralement employés pour récupérer les flavonols et les prénylflavonoides.

Étonnamment, malgré sa polarité plus faible, le resvératrol est mieux extrait par un mélange éthanol/eau (80/20, V/V, 60 °C) que par un mélange acétone/eau (CALLEMIEN *et al.*, 2005). Pour les anthocyanidines, le méthanol acidifié (1% HCl) et l'acétone aqueux (70/30) sont les solvants les plus fréquemment utilisés. Le second semble toutefois préférable pour éviter la formation de pyrano-anthocyanidines.

1.5.2. Extraction des polyphénols sur la base de leur acidité

Avec leur pKa proche de 10, il est possible de faire passer les phénols de la phase aqueuse vers le solvant organique, ou l'inverse, selon le pH (CALLEMIEN et COLLIN, 2010). Ceci peut être très intéressant lorsque l'on veut séparer les phénols d'intérêt d'autres molécules de même polarité.

1.5.3. Extraction des polyphénols sur la base de leur volatilité

Les arômes appartiennent à la famille des phénols volatils peuvent être extraits d'une matrice complexe par distillation sous vide (FRITSCH et SCHIEBERLE, 2003).

D'après JERKOVIC *et al.* (2008), les flavonoïdes, les stilbènes et les chalcones ne sont par contre pas assez volatils pour être extraits de cette manière. Toutefois, ils peuvent le devenir après dérivatisation.

1.5.4. Extraction des polyphénols sur la base de leur taille

Diverses méthodes ont été développées pour étudier les polyphénols de plus grandes tailles. La dialyse peut être exploitée pour séparer les gros oligomères de proanthocyanidines de plus petits analogues. La chromatographie d'exclusion ou perméation sur gel permet un fractionnement selon le poids moléculaire (YANAGIDA *et al.*, 2002 et 2003).

1.5.5. Autres méthodes d'extraction

D'après PINELO *et al.* (2006), des enzymes attaquant les polysaccharides permettent parfois d'améliorer le taux de récupération des polyphénols. La température d'extraction est également un paramètre à optimiser (25-60 °C). Une température de 60 °C permet ainsi d'accroître le rendement de récupération des stilbènes (CALLEMIEN *et al.*, 2005).

Pour certains phénols, on recommande de travailler à l'abri de la lumière (en particulier pour les stilbènes et les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques).

1.6. Intérêts et propriétés biologiques des polyphénols

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou en partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine (figure 5).

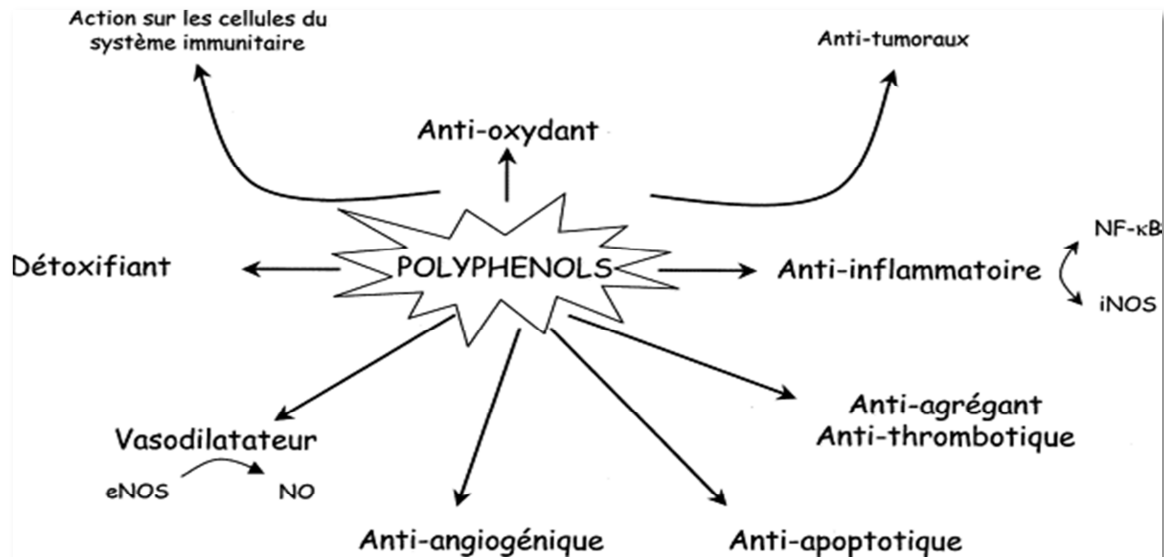


Figure 5: Effets biologiques des polyphénols (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).

1.6.1. Intérêts des composés phénoliques chez les végétaux, les humains et à l'échelle industrielle

Les composés phénoliques, sous forme d'extraits complexes ou purifiés, sont omniprésents dans notre quotidien : ils soignent, donnent du goût, de la couleur, ..., ils concernent aussi la pharmacologie, l'agro-alimentaire et la cosmétique.

a) Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les oiseaux et les insectes, résistance aux UV) (RENAULT-ROGER *et al.*, 2008 ; BIDEI *et al.*, 2011).

D'après CAUSSE (2004), les polyphénols ont un rôle lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des

traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (DUFOUR et DUPIN, 2015).

b) Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (WATSON *et al.*, 2013). Spécifiquement, on attribue aux différents composés phénoliques plusieurs activités biologiques (voir tableau III).

Tableau III: Activités biologiques de quelques composés phénoliques selon (HENNEBELLE *et al.*, 2007 ; HABAUZIT et HORCAJADA, 2008 ; BONDIA-PONS *et al.*, 2009 ; GRESELLE *et al.*, 2011)

Composés phénoliques	Activité biologique
Acides Phénols	Antibactérienne, antifongique et antioxydante.
Tanins	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur.
Flavonoïdes	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique.
Coumarines	Anticoagulante, antioxydante, protectrice vasculaire et antioedémateuse.
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, antioxydant.
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumoraux, antifongiques et anti-inflammatoires.
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes.
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques.

Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome (MEDART, 2009). Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères).

D'après MORAND (2013), les aliments riches en flavan-3-ols ont des effets bénéfiques sur la santé métabolique et cardiovasculaire. En particulier la consommation de thé vert réduit le LDL-cholestérol, et celle de cacao améliore la fonction endothéliale et la sensibilité à l'insuline.

Les polyphénols sont faiblement absorbés, et leur passage dans le cerveau est plus efficace s'il s'agit des polyphénols naturels de l'alimentation. Les plus consommés sont les catéchines des boissons chaudes (thé et café), les flavonoïdes de nombreux fruits (agrumes, fruits rouges) et les polyphénols présents dans le chocolat, les noix et les amandes ou encore le vin rouge. N'étant pas stockés, c'est leur ingestion régulière et continue qui exercera un effet bénéfique sur le cerveau et la santé mentale (SABLONNIERE, 2016).

c) Usage industriel des polyphénols

Les polyphénols de pomme sont des additifs alimentaires très utilisés en charcuterie, alors que ceux du thé sont introduits comme antioxydants naturels dans les aliments.

Les flavonoïdes des plantes fourragères, biotransformées par la vache, font du lait et des produits laitiers une source de polyphénols, avec perspective de protection des acides gras polyinsaturés. L'apport des polyphénols dans l'alimentation des animaux a un effet bénéfique sur la lipoperoxydation des tissus musculaires (DE REYNAL et MULTON, 2009).

D'après DJENANE *et al.* (2012), l'oleuropeine et l'extrait brut des feuilles d'olivier exercent une activité antibactérienne sur des escalopes de dinde préalablement inoculées avec différentes souches bactériennes.

GHARBY *et al.* (2014), ont démontré que l'huile de tournesol a acquis une meilleure résistance à l'oxydation suite à l'ajout de 100 ppm des polyphénols extraits des margines au cours d'un stockage de 35 jours à 60 °C.

Les polyphénols sont également destinés pour les applications cosmétiques : rendus lipophiles par estérification avec des acides gras, les polyphénols dérivés, libérés par action

des estérases, pénètrent l'épiderme où ils exercent l'activité antioxydante et piègent les radicaux libres. Les polyphénols du cacao sont concentrés en un extrait à 85 % pour des applications cosmétiques (PELLI et LYL, 2003).

1.6.2. Propriétés biologiques des polyphénols

1.6.2.1. Activité antimicrobienne

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne (TIM et ANDREW, 2005). Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens (HARBONE et WILLIAM., 2000).

De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des CP :

- d'après YAKHLEF *et al.* (2011), les extraits bruts de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis* ont témoigné une forte activité antimicrobienne vis-à-vis de souches multirésistantes aux antibiotiques. Leur effet inhibiteur sur la levure *Candida albicans* est spectaculaire, il est beaucoup plus important que celui de la nystatine (antifongique) ;
- dans une étude faite par DJENANE *et al.* (2012), l'oleuropeine et l'extrait brut des feuilles d'olivier exercent une activité antimicrobienne in vitro vis-à-vis de certaines bactéries responsables de toxi-infections alimentaires ;
- BASLI *et al.* (2012), dans leur étude ont démontré que tous les flavonoïdes d'*Origanum glandulosum* ont un effet inhibiteur plus prononcé sur les bactéries Gram positif que sur les Gram négatif ;
- les tanins extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. semblent posséder un pouvoir antibactérien important sur les germes responsables des maladies infectieuses (DJAHRRA *et al.*, 2013) ;
- l'étude faite par GHAZI *et al.* (2015), a mis en évidence une activité antifongique des extraits bruts d'*Artemisia mesatlantica* sur différentes souches de *Candida albicans* ;
- une activité antifongique des extraits de *Punica granatum* Linn sur *Candida albicans* et *Rhodotorula* spp a été démontrée par KANOUN *et al.* (2016) ;

- il a été montré que les catéchines des feuilles du thé inhibent la croissance de micro-organismes en altérant des fonctions membranaires des pathogènes, les détruisant à plus ou moins long terme (MORAND, 2013).

Le mécanisme d'action des polyphénols est sans doute très complexe, parmi les hypothèses avancées:

- l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ;
- la séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer ;
- l'inhibition du métabolisme microbien (MILA et SCALBERT, 1994).

1.6.2.2. Activité antivirale

En l'absence de vaccin contre le sida, les microbicides topiques susceptibles de bloquer la transmission du virus pourraient s'avérer très utiles. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée du VIH-1 qui peuvent être isolés par adsorption sur de l'amidon de maïs.

L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires. L'extrait de grenade pourrait donc être utilisé pour la production d'un microbicide efficace et bon marché (NEURATH *et al.*, 2004).

1.6.2.3. Activité antioxydante

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences. A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important (PELLI et LYL, 2003 ; MEDART, 2009).

Il est connu que la plupart des effets biologiques des CP, tels que l'activité anti-inflammatoire et anti-tumorale, sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. La figure suivante illustre le mode d'action des flavonoïdes.

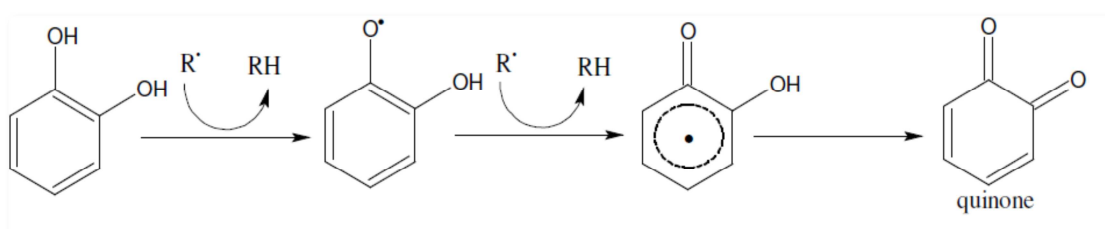


Figure 6: Le piégeage des ERO par les flavonoïdes (MARFAK, 2003)

Synthèse bibliographique

Plusieurs études ont montré une activité antioxydante des extraits de plantes médicinales :

- d'après EDEAS (2010), le jus de grenade est le plus efficace pour diminuer l'oxydation des LDL et inhiber le stress oxydatif cellulaire dans les macrophages ; du fait de sa richesse en antioxydants (polyphénols solubles, tanins et anthocyanes) qui détruisent les espèces réactives et aident à protéger l'ADN contre diverses dégradations ;
- l'étude de REZAEIZADEH *et al.* (2011), a démontré que l'extrait de *Momordica charantia* est une source importante des composés phénoliques qui ont une très bonne activité antioxydante ;
- les polyphénols totaux extraits des feuilles d'olivier sauvage et cultivé sont dotés d'un pouvoir anti-radicalaire très élevé comparé à celui de la vitamine E (ARAB *et al.*, 2013) ;
- d'après BHUWAN *et al.* (2015), *Urtica dioica*.L est riche en composés phénoliques et peut être une bonne source d'antioxydants ;
- l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* possèdent des propriétés antioxydantes du fait de sa richesse en tanins, les flavonoïdes, les stérols et triterpènes, les coumarines et les saponosides (YOUGBARE-ZIEBROU *et al.*, 2015) ;
- l'étude in vitro de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré une grande capacité de piéger ce radical pour *Rosmarinus officinalis* et *Thymus satureioides*, elles sont dotées d'une haute activité antiradicalaire (FADILI *et al.*, 2015).

CHAPITRE II

STRESS OXYDATIF

2. Stress oxydatif

La vie en aérobiose se traduit au niveau cellulaire par l'existence d'une chaîne respiratoire mitochondriale nécessaire au stockage de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Celle-ci est une succession de phénomènes d'oxydoréduction au cours desquels il existe des transferts d'électrons qui peuvent réagir avec une molécule avoisinante pour aboutir à la formation d'un radical libre (PANDEY et RIZVI, 2011 ; KALAM *et al.*, 2012).

2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Un radical libre est une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbite électronique la plus externe tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$) et le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$).

Par ailleurs, il existe d'autres dérivées oxygénées réactives dont leur toxicité est très importante tel que l'oxygène singulet, l'ozone, le peroxyde d'hydrogène, et le peroxy-nitrite, qui ne sont pas des radicaux libres (Tableau IV), mais peuvent être des précurseurs des radicaux. De point de vue terminologique, l'ensemble des radicaux libres et des espèces réactives non radicalaires est souvent connue sous le nom des espèces réactives de l'oxygène ou ERO (LEV *et al.*, 2007).

Tableau IV : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (VALKO *et al.*, 2007)

Radicaux libres	Non radicaux libres
Superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	Oxygène singulet (1O_2)
Radical Hydroxyle ($OH^{\bullet}$)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$)	Ozone (O_3)
Dioxyde d'azote ($NO_2^{\bullet}$)	Acide hypochloreux ($HOCl$)
Peroxyle, alkoxyle ($ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$)	Peroxy-nitrite ($ONOO^-$)
Peroxyle lipidique ($LOO^{\bullet}$)	Peroxyde lipidique ($LOOH$)

2.2. Principales sources des ERO

Les ERO peuvent apparaître ou se former suite à des facteurs exogènes ou endogènes (Figure 7). Le métabolisme aérobie de chaque cellule produit d'une façon permanente des ERO. Ils sont principalement des sous-produits de la chaîne respiratoire mitochondriale, qui constitue la source endogène majeure de cette production (WU et CEDERBAUM, 2003).

Les ERO, notamment l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, sont aussi produites au cours des différentes réactions enzymatiques catalysées par le NADH oxydases, xanthine oxydase, cytochrome P450 et les peroxydases (DRÖGUE, 2002). En présence des métaux de transition (ions du fer et de cuivre), les peroxydes d'hydrogène sont convertis en radicaux hydroxyles très réactives par la réaction de Fenton.

La production exogène des ERO peut résulter aussi suite à l'exposition, aux rayons ionisants (UV, visible, gamma, X), aux métaux de transition, à l'oxygène en quantité excessive, à l'ozone, aux xénobiotiques, au tabac, à l'alcool et à certains médicaments (KALAM *et al.*, 2012).

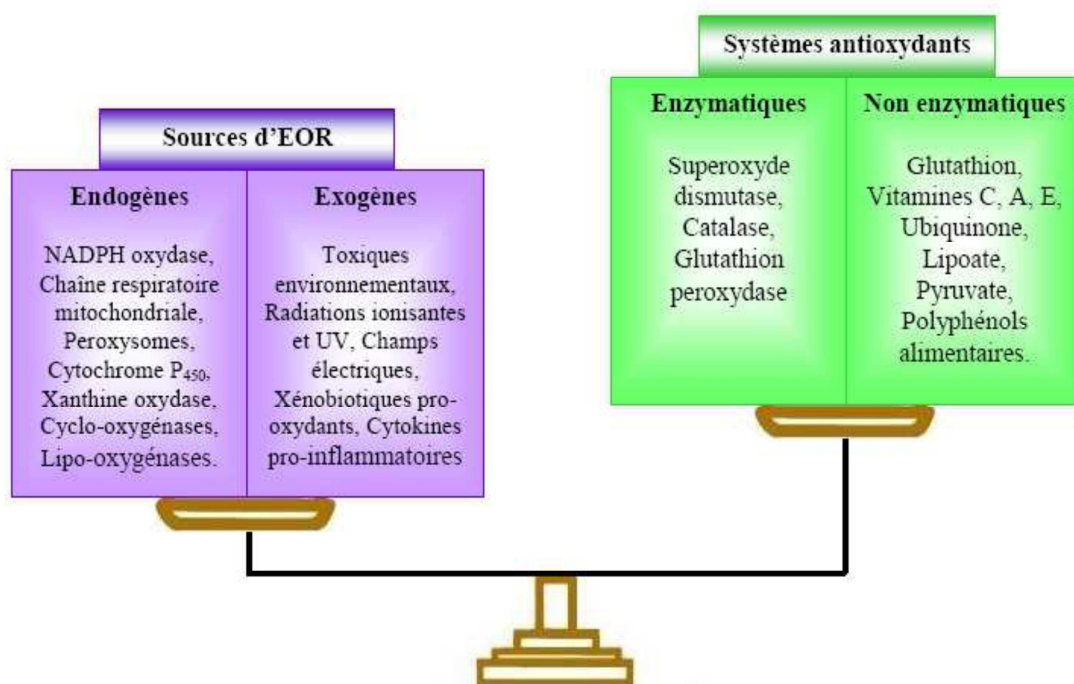


Figure7: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (FAVIER, 2003)

2.3. Dommages oxydatif aux lipides, protéines et ADN

Dans les conditions physiologiques, les ERO sont produites en permanence dans l'organisme et à des faibles concentrations. Ils ont des rôles physiologiques très importants au sein des cellules en agissant sur le fonctionnement de certaines enzymes, la transduction de signaux cellulaires, la défense immunitaire, la destruction par apoptose des cellules tumorales, la régulation de la dilatation capillaire, et sur la régulation des gènes (FAVIER, 2003).

Cependant, la rupture de l'équilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des ERO entraîne des lésions biochimiques au niveau cellulaire du fait de leurs effets sur le plan moléculaire. Parmi ces effets, on peut citer l'altération des protéines, l'apparition de cassures au niveau d'ADN, ou des atteintes des membranes cellulaires par l'induction de ce qu'on appelle la peroxydation lipidique (ALEXANDROVA et BOCHEV, 2007).

Le stress oxydant est responsable des dommages cellulaires liés à plusieurs maladies tel que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'influenza, le syndrome de Down, les hépatites, l'arthrite rhumatoïdes, les désordres du système nerveux, l'ulcère, la pneumonie ainsi que le vieillissement. Il réfère à une rupture dans la balance oxydant/antioxydant cellulaire durant laquelle, la génération des oxydants est parfaitement maîtrisé par les systèmes de défense antioxydants, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (PHAM-HUY *et al.*, 2008 ; PANDEY et RIZVI, 2011).

Cette rupture peut être due soit à la surproduction des radicaux libres (oxydants) et/ou par un déficit en antioxydants (ALEXANDROVA et BOCHEV, 2007).

2.4. Défenses antioxydantes

2.4.1. Définition d'un antioxydant

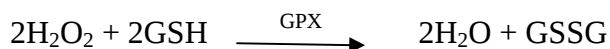
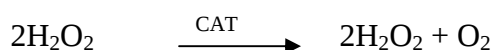
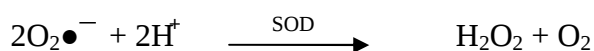
On désigne par antioxydant toute substance, qui lorsqu'elle est présente en faible concentration dans la cellule, est capable de retarder, de neutraliser ou de réduire l'oxydation et les dommages causés par les radicaux libres sur les composés cellulaires (RAHMAN, 2007). L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction des ERO. Ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et réagissent en synergie afin de protéger les cellules vis-à-vis des ERO.

2.4.2. Antioxydants endogènes

La production physiologique des ERO est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques.

2.4.2.1. Antioxydants enzymatiques

Les principaux enzymes antioxydants impliqués dans la neutralisation des ERO dans les cellules sont : le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GPX) (MATÉS *et al.*, 1999). Ces enzymes forment un système de protection très efficace puisqu'ils ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente et permettre l'élimination de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en catalysant les réactions suivantes :



2.4.2.2. Antioxydants non enzymatiques

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine etc. (PHAM-HUY *et al.*, 2008).

De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (FAVIER, 2003).

2.4.3. Antioxydants exogènes

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes sont également d'importantes sources d'antioxydants. L'organisme peut tirer profit de nombreux antioxydants exogènes naturels présents dans son alimentation (PHAM-HUY *et al.*, 2008 ;

KALAMet *al.*, 2012). Bien que non indispensables à la vie, ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant. Les plus importantes parmi eux sont : les vitamines (E et C), les caroténoïdes, les polyphénols les acides gras (oméga-3 et oméga-6) ainsi que des traces des métaux (sélénium, manganèse, et zinc).

Contrairement aux antioxydants enzymatiques, ces substances ne permettent l'élimination que d'un seul radical libre à la fois. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, ces antioxydants doivent être donc régénérés par d'autres systèmes (PHAM-HUY *et al.*, 2008).

2.4.3.1. Vitamine E

La vitamine E, cette vitamine liposoluble recouvre plusieurs substances : quatre tocophérols. L'alpha-tocophérol est la forme majoritaire dans le sang humain. Mais le gamma-tocophérol est la forme que l'on trouve le plus souvent dans l'alimentation.

Cette vitamine est un antioxydant qui protège toutes les graisses du rancissement. Elle protège ainsi les membranes et notamment la paroi des vaisseaux sanguins diminuant ainsi le risque de maladies cardiovasculaires. Elle diminue aussi les inflammations en s'opposant à la production de composés inflammatoires ; elle fluidifie le sang et stimule l'immunité (CAUSSE, 2004).

2.4.3.2. Vitamine C

La vitamine C, cette vitamine hydrosoluble est l'antioxydant qui agit le plus rapidement. C'est notre défense principale contre de nombreuses maladies liées au vieillissement : cataracte, maladies cardiovasculaires, cancers... La vitamine C est la première à réagir avec les radicaux libres pour les neutraliser et ainsi éviter leurs effets toxiques. Mais elle n'agit pas seule. Elle est le premier maillon de tout un système très efficace de protection contre le stress oxydatif. Si le taux de vitamine C dans le sang est trop bas (cas des fumeurs et des asthmatiques), ce système devient moins efficace et les radicaux libres peuvent agresser les cellules saines (CAUSSE, 2004).

2.4.3.3. Antioxydants phénoliques

L'intérêt pour les antioxydants naturels particulièrement les polyphénols s'explique aussi par leur rôle potentiel *in vivo* vis-à-vis des radicaux libres, via l'alimentation ou la pharmacologie.

Les sources les plus intéressantes sont les épices et les herbes aromatiques telles que le thym, le clou de girofle, le gingembre, le romarin et la sauge. On y relève des teneurs importantes en acides phénoliques (notamment en acide rosmarinique). Leurs huiles essentielles sont riches en monophénols et sont par ailleurs dotées de propriétés antiseptiques (MACHEIX *et al.*, 2005).

2.4.3.4. Sélénium

Le sélénium est un oligo-élément essentiel qui joue un rôle clé pour la santé de l'organisme, il est réputé pour son action antioxydante, indispensable à la protection des défenses naturelles de l'organisme. Il interviendrait également dans le processus de fabrication des hormones thyroïdiennes et jouerait, à cet effet, un rôle pour la santé de la glande thyroïde (GREFF, 2012).

Le sélénium intervient dans d'autres enzymes antioxydantes, la glutathion peroxydase (GPX-Se), chaque molécule de glutathion peroxydase contient 4 molécules de sélénium, qui en synergie avec la vitamine E, contribue à préserver les cellules de l'oxydation par les radicaux libres, notamment celles pour lesquelles l'élimination des toxines est indispensable à leur bon fonctionnement (les cellules cérébrales par exemple).

Les peroxydases et les transférases sont sélénium dépendantes. Les cellules carencées en sélénium ou en glutathion peroxydase sont beaucoup plus sensibles à l'action des peroxydes (GREFF, 2012).

2.4.3.5. Zinc

Le zinc est un oligo-élément qui joue un rôle essentiel dans de nombreux processus vitaux : synthèse de l'ADN, coagulation sanguine, défenses immunitaires, croissance, régulation de l'humeur... (MEDART, 2009).

D'après GREFF (2012), le zinc exerce une action antioxydante par le biais de plusieurs mécanismes :

- il protège de l'oxydation les groupes sulfhydryls de certaines protéines (enzymes) ;
- il peut avoir un effet antioxydant direct en captant les radicaux $\text{OH}^\bullet$;
- il a une action antioxydante directe en entrant en compétition avec le fer et le cuivre ;

- il joue aussi un rôle fondamental dans la structure d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase. Le zinc associé au cuivre fait partie du site actif de cette enzyme.

2.4.4. Mécanismes d'action d'un antioxydant

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante (BOUZID *et al.*, 2011) sont :

- le piégeage direct des ERO ;
- l'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des ERO ;
- la protection des systèmes de défense antioxydants.

D'après NIKI (2010), les polyphénols peuvent agir selon ces divers mécanismes. Les propriétés antioxydantes des polyphénols varient en fonction de leur structure chimique, les positions et degrés d'hydroxylation jouent une part importante dans l'activité antioxydante des polyphénols.

L'enzyme polyphénol oxydase a été identifiée en tant que principe antioxydant chez *Urtica dioica* L. dans une étude faite sur des souris (UPTON, 2013).

CHAPITRE III

RÉSISTANCE MICROBIENNE ET MOYENS DE LUTTE

3. Résistance microbienne et moyens de lutte

3.1. Résistance bactérienne

L'emploi des antibiotiques est assez large et couvre aussi bien le domaine de la santé humaine et animale que le domaine agroalimentaire ou environnemental. Leur recours, souvent abusif, a entraîné l'apparition de phénomènes d'antibiorésistance qui se traduisent par la capacité d'un microorganisme à résister aux effets des antibiotiques entraînant leur inefficacité. La figure suivante résume quelques origines de la résistance aux antibiotiques.

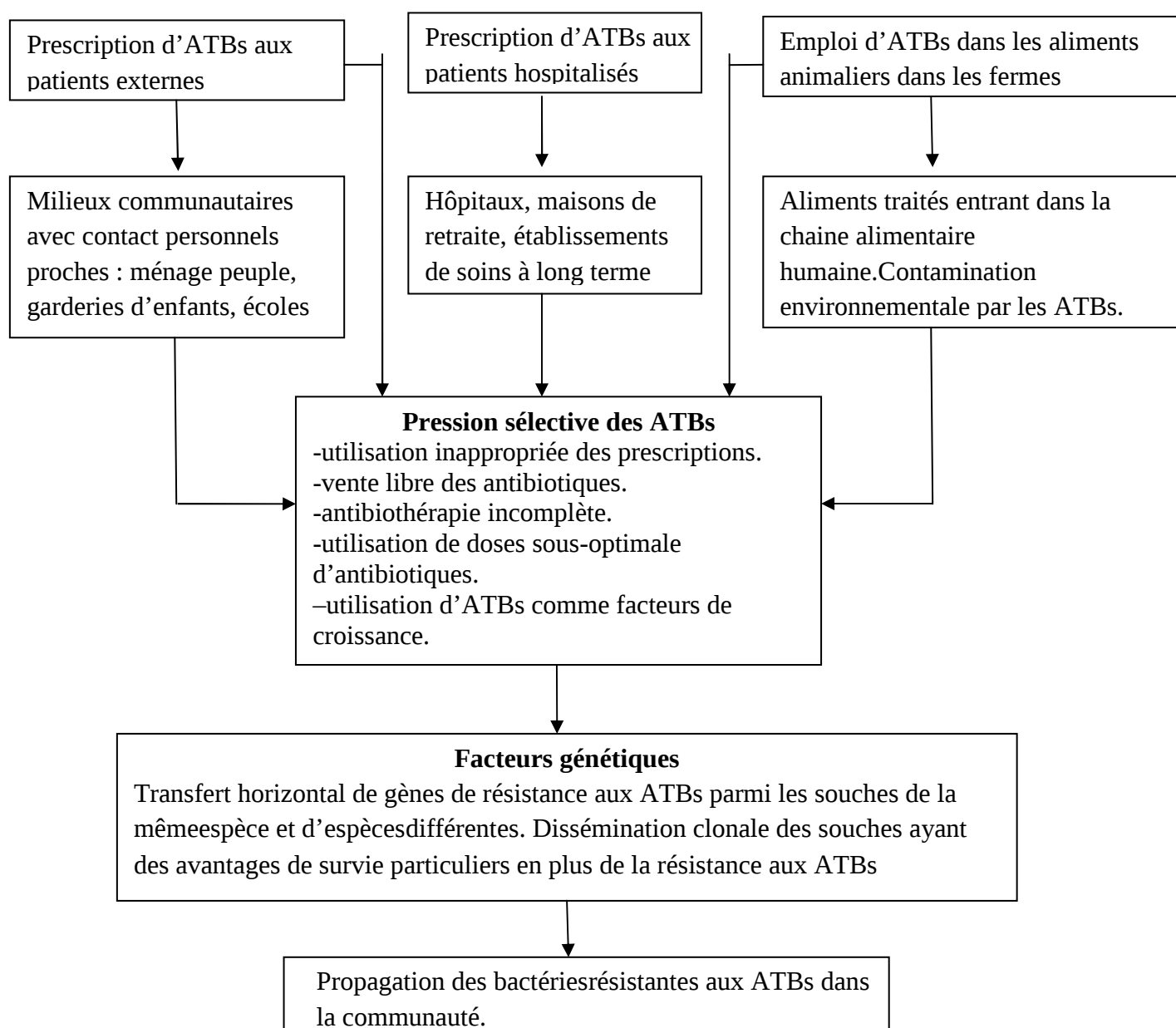


Figure 8 : Les différentes origines de la résistance aux antibiotiques (PRESCOTT *et al.*, 2010).

3.1.1.. Définition de la résistance

Un micro-organisme est considéré résistant lorsque sa concentration minimale inhibitrice CMI est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (TORTORA *et al.*, 2011).

Cette définition bactériologique de la résistance doit être complétée par deux autres : Une clinique qui associe la notion de succès et d'échec clinique (qui échappe au traitement). L'autre génétique, correspond à la présence de gènes de résistance au sein de la bactérie, détectés par des techniques biophysiques et ou génétiques (SINGLETON, 1999 ; PRESCOTT *et al.*, 2010 ; TORTORA *et al.*, 2011).

Parfois, la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée. Les bactéries sont dites multi-résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques (TORTORA *et al.*, 2011 ; BRIAND, 2012).

3.1.2. Bases génétiques de la résistance

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome, soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons. La résistance peut être soit naturelle ou acquise (TORTORA *et al.*, 2011).

3.1.2.1. Résistance naturelle

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. L'expression d'un caractère inné, partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne, rend inappropriée l'utilisation de certains antibiotiques (BRIAND, 2012).

Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs, qui conditionnent la résistance naturelle, c'est l'exemple des bactéries du genre *Mycoplasma*. Dépourvus de cet élément constitutif, les mycoplasmes présentent une résistance intrinsèque aux β -lactames, dont le mode d'action consiste en une inhibition de la synthèse du peptidoglycane (PRESCOTT *et al.*, 2010 ; TORTORA *et al.*, 2011).

D'après TORTORA *et al.* (2011), la résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale), mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale). La résistance naturelle constitue un critère d'identification.

3.1.2.1. Résistance acquise

La résistance acquise survient lorsque, seules, quelques souches d'une même espèce, normalement sensibles à un antibiotique, deviennent résistantes. Cette résistance peut être acquise par mutation spontanée ou par transfert de gènes (NAUCIEL et VILDE, 2005 ; BRIAND, 2012).

a) Mutation chromosomique spontanée

Elle constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Une mutation n'affecte qu'un caractère et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action. Ces derniers ne sont pas des agents mutagènes mais ils contribuent à sélectionner, de manière spontanée, des mutants résistants au sein d'une population bactérienne. La cause principale de l'évolution et de l'extension des résistances aux antibiotiques est leur prescription à grande échelle en thérapeutique humaine. L'utilisation d'antibiotiques, nécessitant de longues périodes de traitement ou à large spectre d'action, est aussi un facteur de risque pour la propagation des résistances (MADIGAN et MARTINKO, 2007 ; TORTORA *et al.*, 2011).

La résistance due à une mutation, se transmet seulement verticalement et non horizontalement.

b) Acquisition de gènes de résistance

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries Gram positif que Gram négatif. Elle peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles tels que les plasmides R et les transposons qui se transmettent verticalement ou horizontalement par transduction, conjugaison ou transformation (MADIGAN et MARTINKO, 2007) (figure 9).

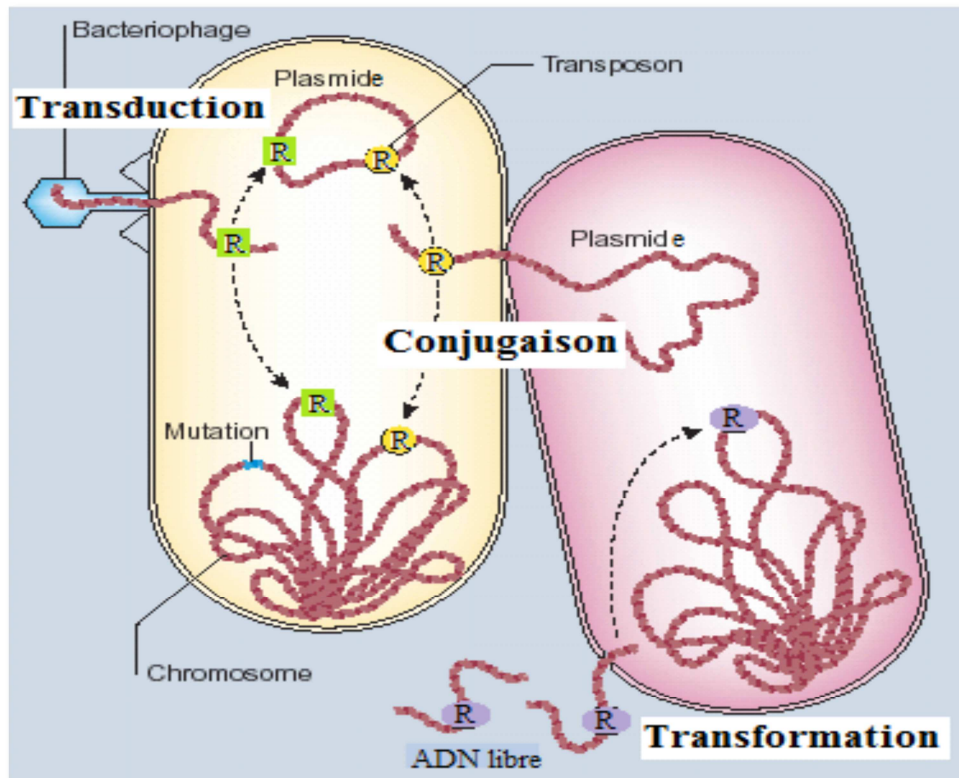


Figure 9: Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (LEVY et MARSHALL, 2004)

La dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques peut s'effectuer au sein d'une même espèce mais aussi d'une espèce bactérienne à l'autre. Ainsi, les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la vancomycine (SARV) auraient acquis ce caractère suite au transfert plasmidique de l'opéron *van A*, réalisé par conjugaison avec *Enterococcus faecalis*.

D'après GUALERZI *et al.* (2014), le phénomène de résistance est ancien, mais lors des dernières années le risque est accentué vu la conjugaison de deux facteurs:

- la diminution du nombre de nouveaux antibiotiques ;
- la diminution considérable du temps qui sépare l'introduction d'un antibiotique en thérapeutique et l'apparition de souches résistantes à cet antibiotique. Pour certains antibiotiques, l'apparition de souches résistantes était presque concomitante à la mise sur le marché (Imipénème, Quinupristine).

Le tableau V donne une idée sur le temps écoulé entre le début d'utilisation de certains antibiotiques et l'apparition de germes résistants.

Tableau V : Antibiotique, début d'utilisation et date d'apparition des résistances
(PALUMBI, 2001 ; ROBICZEK, 2006)

Antibiotique	Début d'utilisation	Apparition des résistances
Sulfonamides	Les années 1930	Les années 1940
Pénicilline	1943	1946
Streptomycine	1943	1948
Chloramphénicol	1947	1959
Néomycine	1949	1950
Erythromycine	1952	1988
Vancomycine	1956	1988
Meticilline	1960	1961
Ampicilline	1961	1973
Clindamycine	1969	1970
Piperacilline	1980	1981
Imipénème	1985	1985
Ciprofloxacine	1987	1987
Quinupristine	1999	2000
Linezolide	2000	2002

3.2. Résistance aux antifongiques

La résistance aux antifongiques continue à croître et à évoluer, compliquant ainsi la prise en charge des malades. Divers mécanismes sont impliqués. Pour le genre *Candida*, largement isolé en clinique, la résistance aux dérivés azolés intervient par un mécanisme influant l'efflux médié par des pompes membranaires. La résistance à l'échinocandine intervient par une mutation modifiant la cible moléculaire de cet antifongique (PFALLER, 2012).

Parmi les stratégies proposées pour pallier à la résistance des champignons, on peut citer la recherche de nouvelles molécules, l'étude approfondie de la relation champignon-hôte et l'étude génomique. Ceci peut mettre en évidence de nouvelles possibilités de traitements, et permet par la même occasion la détection de nouvelles cibles (VANDEPUTTE *et al.*, 2011).

3.3. Résistance aux antiviraux

Pour les agents antiviraux, le traitement qui est déjà de longue durée crée un climat favorable pour le développement des résistances et conduit le plus souvent à l'échec des thérapies. Un moyen pour pallier à cette éventualité est la pratique de test de sensibilité avant la prescription des traitements ou lorsqu'on constate l'absence d'amélioration après l'administration d'un traitement donné. Une autre solution pour vaincre la résistance est l'association de plusieurs molécules antivirales efficaces et dirigées contre des cibles cellulaires différentes. Ces résistances sont plus élucidées lorsqu'il s'agit de virus impliqués dans des maladies endémiques. Par ailleurs, l'HIV reste le virus où la résistance est un défi pour l'intelligence humaine. Des chercheurs signalent que parmi les risques majeurs induits par l'émergence de la résistance est celui lié à la continuation dans un traitement de première ligne qui a échoué. Il s'agit de l'accumulation des mutations virales qui vont même compliquer la prise en charge par les thérapies de deuxième ligne (SIGALOFF *et al.*, 2011).

3.4. Moyens de lutte contre l'antibiorésistance

Dans un contexte où la résistance aux antibiotiques est un phénomène de plus en plus préoccupant, une analyse systématique des autres options thérapeutiques semble fondamentale en pathologie infectieuse.

Parmi les stratégies envisageables, il y a la recherche de nouvelles cibles, la découverte de nouvelles molécules et le sondage de composés non-antibiotiques pouvant soigner les infections.

3.4.1. Recherche de nouvelles cibles

Les biologistes caractérisent sans cesse de nouveaux gènes ou enzymes essentiels à la survie des bactéries ou à leur virulence. C'est à partir de ces cibles moléculaires que les laboratoires de recherche envisagent les antibiotiques du futur, qu'il s'agisse des modifications de molécules actuelles ou de molécules radicalement nouvelles (TAYGAT *et al.*, 2009).

L'exploration des processus métaboliques essentiels des bactéries et la caractérisation des enzymes qui les catalysent constituent donc des voies importantes pour la recherche de nouveaux points d'attaque potentiels. Cela permet d'espérer la mise au point de nouveaux antibiotiques contre lesquels les bactéries n'ont encore développé aucune résistance. Autrefois

empirique, la démarche des laboratoires devient donc plus rationnelle: c'est à partir des protéines cibles parfaitement connues que des molécules inhibitrices sont recherchées, et certaines de ces molécules deviendront probablement les antibiotiques de demain (FALCONER et BROWN, 2009).

Un exemple de cette démarche est le cas de la platensimycine et de la platencine, deux molécules isolées de *Streptomyces platensis*, qui s'attaquent à une cible non encore exploitée à savoir l'inhibition des voies de synthèse d'acides gras de type II (WRIGHT et REYNOLDS, 2007).

3.4.2. Recherche de composés non antibiotiques

Une des stratégies efficaces de limiter l'apparition de la résistance serait d'utiliser des composés «attaquant» les bactéries différemment. C'est l'exemple des anticorps poly puis monoclonaux qui représentent une piste thérapeutique majeure avec le développement d'anticorps dirigés contre les systèmes de virulence spécifiques. La modulation du quorum-sensing (QS) et des facteurs de virulence en dépendant est une approche en plein développement en pathologie aiguë comme dans les infections chroniques. Enfin, les bactériophages ou les probiotiques peuvent aussi constituer une solution de recours dans divers tableaux infectieux (KIPNIS *et al.*, 2012).

A la différence des antibiotiques, l'inhibition du QS n'a pas d'action directe sur la croissance bactérienne, mais sur la virulence (RUIMY et ANDREMONT, 2004). Il est ensuite nécessaire que le système immunitaire du patient élimine les microorganismes rendus moins virulents (GEDDES, 2005). Cette voie thérapeutique ne sera cependant efficace que si la souche responsable de l'infection exerce une virulence principalement contrôlée par le QS.

3.4.3. Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques

L'initiative nécessite de disposer des méthodes d'évaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes et des composés purs.

Les méthodes les plus couramment utilisées sont la microdilution qui permet de déterminer la CMI et la diffusion sur agar permettant de mesurer le diamètre d'inhibition.

Si ces méthodes classiques permettent d'évaluer l'effet antimicrobien des composés testés, une fois l'activité établie, des méthodes plus élaborées sont requises pour élucider le mécanisme d'action de ces composés.

Les nouveaux composés actifs peuvent être recherchés dans les plantes médicinales, car celles-ci constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques. En effet, de nombreux composés d'origine végétale ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes. Ils agissent selon plusieurs mécanismes à savoir, la formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides inhibant ainsi leurs fonctions (polyphénols), la rupture de membranes microbiennes (flavonoïdes lipophiles, terpénoïdes, défensines) et l'inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (polypeptides) (MACHEIX *et al.*, 2005).

Les plantes médicinales fournissent également des composés qui n'ont pas nécessairement un effet direct sur les microorganismes, mais qui augmentent ou restaurent l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance. Ces composés appartiennent à diverses classes phytochimiques et agissent comme inhibiteurs des pompes à efflux (flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes), inhibiteurs des PBP 2a (quinones, terpénoïdes), provoquant la perméabilité des membranes bactériennes (terpénoïdes) et inhibiteurs des bêtalactamases (alkyls gallates).

En plus des mécanismes d'action et des classes phytochimiques auxquelles appartiennent les composés actifs présentés ci-dessus, il y a lieu d'ajouter quelques résultats importants publiés récemment comme :

- une macrolactone contenant le D-xylose et le L-rhamnose, la pescaprérine, a montré un effet inhibiteur sur les pompes à efflux des MRSA, augmentant ainsi l'action de la norfloxacin (ESCOPEDO-MARTINEZ *et al.*, 2010) ;
- l'extrait aqueux d'un mélange de cinq drogues, présente une double action, d'une part il inhibe la formation des biofilms chez *Pseudomonas aeruginosa* et d'autre part il tue les microorganismes se trouvant dans la matrice (WANG *et al.*, 2011) ;
- la liaison de deux triterpènes, l'acide oléanolique et l'acide ursolique, augmente l'activité de bêtalactames vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* (KUREK *et al.*, 2012) ;

- les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum* inhibent la formation des biofilms chez *Candida albicans* (KHAN et AHMAD, 2012) ;
- d'après WOJNICZ *et al.* (2012), tous les extraits de plantes testés dans leur étude (dont celui d'*Urtica dioica*) ont montré une activité vis-à-vis d'*Escherichia coli* uropathogène et/ou réduction de la masse du biofilm ;
- dans une étude faite dans le but de déterminer l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles, AOUNI *et al.* (2013), ont constaté son effet bactéricide vis-à-vis d'une douzaine de souches microbiennes testées. Ainsi, la diversité des composés actifs à pouvoir antimicrobien au niveau d'une huile essentielle rend la résistance difficile, voire impossible puisque les souches microbiennes ne peuvent pas opérer des mutations conduisant à des résistances simultanées vis-à-vis de toutes les molécules bioactives.

CHAPITRE IV

PLANTE : ORTIE

4. Plante : Ortie

L'ortie est une des rares plantes que l'on peut reconnaître les yeux fermés. Qui ne s'est jamais laissé surprendre par son contact irritant ? Cette « mauvaise herbe », véritable « or vert » est pourvue de nombreuses vertus médicinales.

De nombreuses études ont été menées ces dernières années afin de mieux comprendre ses activités ainsi que ses mécanismes d'action.

4.1. Classification et appellations

Règne : Plantae

Embranchement : Phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Urticales

Famille : Urticaceae

Genre : *Urtica*

Espèce : *Urtica dioïca* L.

D'après BERTRAND (2002) ; BEAUDEOIN *et al.* (2009), plusieurs noms vernaculaires sont attribués à cette plante:

Noms français : Ortie dioïque, grande ortie, ortie piquante, ortie élevée.

Noms anglais: Nettle, common nettle, stinging nettle, tall nettle, slender nettle, greater nettle.

Noms arabes: Harayig, bent ennar.

Noms berbères: Azegtouf, tizmi.

Le terme *Urtica* vient de « urere » qui signifie « bruler » en latin ; ce qui fait référence aux poils brulants et irritants portés par la plante. Le terme *dioïca* signifie « dioïque ». Il qualifie une espèce de plante dont les fleurs males et les fleurs femelles sont portées par deux pieds différents (deux plantes différentes) à l'inverse de « monoïque » où les fleurs males et femelles sont portées par la même plante (BRUNETON, 2002 ; BEAUDEOIN *et al.*, 2009).

4.2. Description botanique et origine d'*Urtica dioïca* L.

L'ortie est une plante herbacée dioïque, nitrophile, vivace par un rhizome ramifié. La tige dressée de 50 à 120 cm, porte des feuilles d'un vert sombre, opposées, acuminées et dentées à stipule libre. Les fleurs unisexuées tétramères sont en grappe ramifiée, plus longue que le pétiole. Feuilles et tige sont couvertes de poils très urticants, particulièrement abondants au niveau du pétiole. L'effet irritant de l'ortie provient de ces derniers qui renferment de l'acide formique (BERTRAND, 2002 ; AIT YOUCEF, 2006 ; ROMBI et ROBERT, 2007).

Au microscope, on voit les poils urticants monocellulaires en forme de pointe aiguë, sur un bulbe basilaire renflé pluricellulaire ; fragiles, ces poils se brisent aisément et se vident de leur contenu très irritant (ROMBI et ROBERT, 2007). La graine est ovoïde et aplatie.

4.3. Habitat

L'espèce est présente dans presque toutes les régions du monde: l'Europe, l'Afrique du Nord, l'Asie ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud. Plante commune dans tout le Tell algérien.

Présente jusqu'à 2400 mètres d'altitude, l'ortie est une plante inféodée au voisinage des habitations, les décombres et lieux incultes. Elle pousse sur les terres humifères et légères. On la rencontre dans les haies, au bord des chemins, dans les champs et les jardins (BERTRAND, 2002 ; DELILLE, 2010).

4.4. Composition chimique

Tableau VI : La composition chimique des différentes parties de l'ortie

Partie de la plante	Composition chimique	Références bibliographiques
Racine	Des composés phénoliques : -En C6-C3 (acides phénols, scopolétol, aldéhydes, alcools) ; - En C6-C2 (alcoolhomovanilique libre et glycosylé) ; - des tanins, des lignanes, des hétérosides stéroïdiques dérivés du sitostérol ; -Une fraction polysaccharidique	(LEFIEF-DELCOURT, 2012).

Synthèse bibliographique

	composée de glycanes, des céramides, des acides gras ainsi qu'une lectine ; - Présence de l'acide p-coumarique et l'acide férulique.	(KRAUSHOFER et SONTAG, 2002).
Les parties aériennes	- Très fortement minéralisées, (notamment en fer, en silicium organique, calcium, et potassium) ; - une source de chlorophylle ; - Renferment également des caroténoïdes, des vitamines (A et C) ; - De l'acide caféique, chlorogénique et caféylmalique, duscopolétol, du sétostérol, des acides phénols et de nombreux flavonoïdes ; - Riches en protéines complètes ; - Les poils urticants contiennent de l'histamine, de l'acétylcholine, de la sérotonine, des leucotriènes et de l'acide formique ; - L'huile essentielle est riche en terpènes.	(LEFIEF-DELCOURT, 2012).
Les graines	- Riches (25-33%) en lipides à acides gras insaturés (acide linoléique, environ 80 %) avec un peu de δ -tocophérol et des caroténoïdes.	(GUIL-GUERRERO <i>et al.</i> , 2003).

4.5. Propriétés et utilisations

L'ortie dioïque appartient au monopole pharmaceutique. Elle est inscrite sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la pharmacopée Française. Aujourd'hui, les propriétés médicinales de l'ortie sont reconnues de tous. Cette plante rentre dans la composition d'une multitude de médicaments allopathiques ou homéopathiques et les recherches se poursuivent et viennent confirmer certaines utilisations empiriques.

L'utilisation de l'ortie est multiple. On l'emploie en agriculture, en alimentation, en cosmétique, en teinturerie, dans l'industrie du textile et à des fins médicinales.

4.5.1. Indications de l'ortie en phytothérapie

Plusieurs propriétés médicinales lui sont attribuées :

a) Usage interne

Adaptogène, nutritive, astringente, tonique, antiasthmatique, stimulante et dépurative. On la conseille soit en infusion, en capsules ou sous forme de jus frais pour tonifier et redonner de l'énergie, en traitement ou en prévention des calculs rénaux, contre l'anémie, l'insuffisance cardiaque et le rhume des foins (BEAUDEOIN *et al.*, 2009).

Contre l'inflammation des voies urinaires, une décoction d'ortie augmente le débit d'urine, tandis que le jus a augmenté l'écoulement d'urine (dû à la teneur en potassium des feuilles d'ortie) associé à une diminution du poids corporel, de l'œdème, et la réduction de la pression artérielle systolique (UPTON, 2013).

BNOUHAM *et al.* (2003) ont enregistré un effet anti hyperglycémiant de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica*, une inhibition significative de l'absorption du glucose dans l'intestin grêle chez les rats sous anesthésie par une action sur la sécrétion de l'insuline par les îlots de Langerhans, par contre ils ont constaté l'absence d'effet hypoglycémiant d'une solution aqueuse d'ortie.

Tous les composés d'*Urtica dioica* sont susceptibles de posséder une puissante activité anti microbienne (GHAEDI *et al.*, 2015). Les huiles essentielles riches en terpènes possèdent une activité antibactérienne.

L'ortie seule ou en association avec d'autres plantes entre dans la composition de plusieurs produits pharmaceutiques. Par ailleurs, depuis le début des années 1980, la racine d'ortie est utilisée pour traiter l'hyperplasie bénigne de la prostate, grâce à la présence de β -sitostérol qui semble agir sur certains tissus prostatiques où il interfère avec les prostaglandines (PFEIFER, 2006).

b) Usage externe

L'ortie est aussi utilisée pour traiter les entorses, la tendinite et la névralgie, ainsi que pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales (UPTON, 2013).

On la retrouve dans certains produits pour traiter les maladies de peau comme l'eczéma, le psoriasis, l'acné et les infections (PIERRE et LYS, 2007). Il a été montré que des capsules d'ortie lyophilisée ont montré une légère amélioration dans le traitement de la rhinite allergique (UPTON, 2013).

L'ortie est également utilisée dans plusieurs cosmétiques comme les shampoings, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux, elle permet de traiter la chute des cheveux, les cheveux gras et les pellicules.

L'extrait d'ortie qui provient des racines contient des composés polycycliques actifs sur l'enzyme intervenant dans la sébogénèse (BEAUDEOIN *et al.*, 2009).

4.5.2. Utilisations non thérapeutiques de l'ortie

4.5.2.1. En cuisine

Les jeunes feuilles sont excellentes cuites, en potage, en salade ou comme légume, compte tenu des acides gras essentiels (n-3) et les caroténoïdes qu'elles contiennent. Elles perdent d'ailleurs leur propriété urticante lorsqu'elles sont cuites, séchées ou transformées (GUIL-GUERRERO *et al.*, 2003 ; LEFIEF-DELCOURT, 2012).

4.5.2.2. Valorisation des fibres d'ortie

Auparavant, l'ortie était utilisée comme colorant naturel vert en raison de sa haute teneur en chlorophylle. Les fibres de sa tige servaient à fabriquer du papier de grande qualité, des cordes, des filets et des tissus dans le nord de l'Europe (LEFIEF-DELCOURT, 2012).

Durant la première guerre mondiale, les Allemands ont utilisé les fibres d'ortie pour fabriquer des tentes, des sacs à dos, les maillots de corps et des chaussettes, 85 % de leurs vêtements étaient fait de fibres d'ortie (BEAUDEOIN *et al.*, 2009).

4.5.2.3. Au jardin

Au jardin, l'ortie est considérée comme une plante essentielle. On l'utilise en purin comme tonique universel, en pulvérisation foliaire sur les plantes. Le purin d'ortie a aussi l'avantage de renforcer les défenses naturelles des plantes et d'avoir un certain effet répulsif sur les insectes et les maladies. Ajoutée au compost sous forme de préparât, l'ortie a pour effet d'aider le processus de décomposition. Plantée près de l'angélique, de la valériane, de la sauge ou de la menthe, l'ortie aurait le pouvoir d'augmenter leur contenu en huiles essentielles et en principes actifs (BEAUDEOIN *et al.*, 2009).

4.5.2.4. En industrie

La grande ortie est utilisée pour l'extraction industrielle de la chlorophylle qui est employée comme colorant alimentaire (E 140) et également comme agent aromatisant dans certains dentifrices et chewing-gums (TEUSCHER *et al.*, 2005).

4.5.2.5. Usage fourrager

L'ortie est également utilisée comme aliment d'élevage pour le bétail et la volaille. Ce sont les Scandinaves qui les premiers l'ont utilisée comme fourrage pour leur bétail. Donner de l'ortie aux animaux était un gage de bonne santé. Les maquignons le savaient, c'est pourquoi ils donnaient des graines d'orties à leurs chevaux afin de leur donner un poil brillant, et de les rendre plus fringant quelques temps avant une vente (DELVAILLE, 2013).

L'ortie a l'avantage d'être un fourrage précoc. L'ortie sèche a une teneur en protéines supérieure à celle du foin avec 12,8 % contre 5,4 % (TISSIER, 2011).

DEUXIÈME PARTIE

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I

MATÉRIEL ET

MÉTHODES

1. Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau des laboratoires communs I et II d'analyses physico-chimiques et le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERI de Tizi Ouzou, durant la période allant du mois de Mars au mois de Mai de l'année 2016.

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel végétal

La plante *Urtica dioica* L. a été collectée le matin au mois de Mars 2016 dans la région de Tadmait, une commune de la wilaya de Tizi Ouzou, en Kabylie (Algérie), située à 18 Km à l'ouest de Tizi Ouzou et à 85 Km à l'est d'Alger, et à 63 m d'altitude.



Figure 10: Parties aériennes de l'ortie « *Urtica dioica* L. » (Tadmait, Tizi-Ouzou)

Matériel et méthodes

Les parties aériennes de la plante (feuilles et graines) ont été soumises à un rinçage à l'eau de robinet afin d'éliminer les impuretés, égouttées puis séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant quinze jours.

Une fois séchées, les feuilles et graines ont été réduites en une poudre fine prête à l'emploi. La poudre obtenue est conservée dans des flacons en verre à l'abri de la lumière afin de faire l'objet d'extraction des polyphénols totaux (PPT).

1.1.2. Matériel de laboratoire

Tableau VII: Produits chimiques et milieux de culture utilisés

		Source	Utilisation
Solvants	Acétate d'éthyle	Biochem Chemopharma France	Extraction des polyphénols
	Ethanol	Sigma Aldrich Allemagne	
	Méthanol	Sigma Aldrich Allemagne	Solubilisation et conservation des extraits
Réactifs	Folin-Ciocalteu	Sigma Aldrich Allemagne	Dosage des polyphénolstotaux
	Carbonate de Sodium (Na ₂ CO ₃)	Sigma Aldrich Allemagne	
	1-1-diphenyl-2-picryl- hydrazyl (DPPH')	Sigma Aldrich Allemagne	Activité antioxydante
	Acide gallique	Biochem Chemopharma Québec	Polyphénol standard
	Acide ascorbique	Biochem Chemopharma Québec	Antioxydant standard
Sels	Chlorure de Sodium (NaCl)	Fluka Analytical Allemagne	Préparation de l'eau physiologique

Matériel et méthodes

Milieux de culture	Milieu Mueller-Hinton (MH)	Conda Pronadisa Espagne	Repiquage des souches bactériennes et Aromatogramme
	Milieu Sabouraud + Chloramphénicol	Institut Pasteur Algérie	Repiquage des souches fongiques

Voir annexe 1 pour la préparation des milieux de culture utilisés.

1.1.3. Appareillage

- Spectrophotomètre: Vis-7220G. Biotech Engineering. Management CO.LTD (UK).
- Etuve : BINDER. Allemagne.
- Balance de précision : KERN 770. Allemagne.
- Centrifugeuse : HettichUniversal / K2S.
- Autoclave : WEBECO. Allemagne.
- Four Pasteur : BINDER. Allemagne.
- Bain Marie : MEMMERT. Allemagne.
- Agitateur à barreau magnétique non chauffant : GERHARDT. Allemagne.
- Broyeur électrique : KRUPS 75. Allemagne.
- Réfrigérateur : ENIEM. Algérie.

1.1.4. Souches microbiennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées (tableau VIII) sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37 °C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH).

Trois des souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC).

Les souches fongiques sont des espèces pathogènes responsables de mycoses chez l'homme, repiquées sur milieu Sabouraud + Chloramphénicol (un antibiotique qui va empêcher les bactéries de se développer sur ce milieu) et incubées à 28 °C.

Matériel et méthodes

Tableau VIII: Les souches microbiennes utilisées

Souches bactériennes	<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	Gram négatif	Provenance Laboratoire de microbiologie de la FSBSA de Tizi Ouzou
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC43300)	Gram positif	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	Gram négatif	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	Laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi Ouzou
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram négatif	
Souches fongiques	<i>Candida albicans</i>	Levure	Laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi Ouzou
	<i>Aspergillus niger</i>	Moisissure	

1.1.5. Molécules de référence utilisées : antibiotiques et antifongique

Tableau IX: Les antibiotiques et l'antifongique utilisés

	Nom	Abréviation	Dose	Compagnie
Antibiotiques	Gentamycine	CN	10 µg/disque	Bioanalyse Inde
	Amoxycilline	AMX- AX- AM	25µg/disque	
	Oxytétracycline	O	30 µg/disque	
	Trimethoprim / Sulfamethoxazole	SXT	1,25 µg/disque / 23,75µg/disque	
	Céfoxitine	FOX	30 µg/disque	
Antifongique	Amphotéricine B Fungizone®	/	10%	Haupt Pharma Allemagne

1.2.Méthodes

1.2.1. Extraction des polyphénols par macération

Pour extraire les PPT des différentes parties aériennes (feuilles et graines) de l'ortie par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par MAHMOUDI *et al.* (2013), en y apportant quelques modifications : 20 g de la poudre fine d'ortie sont macérés à température

Matériel et méthodes

ambiante (25 °C) pendant 2 h avec 100 ml de : eau distillée, éthanol 70 % V/V et acétate d'éthyle, séparément.

Après filtration sur un tissu mousseline, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 t/min à température ambiante, filtrés sur papier filtre N°1 et conservés à 4 °C, puis reconstitués dans du méthanol juste avant utilisation (voir annexe 5).

La figure ci-après représente le schéma qui résume le protocole d'extraction suivi :

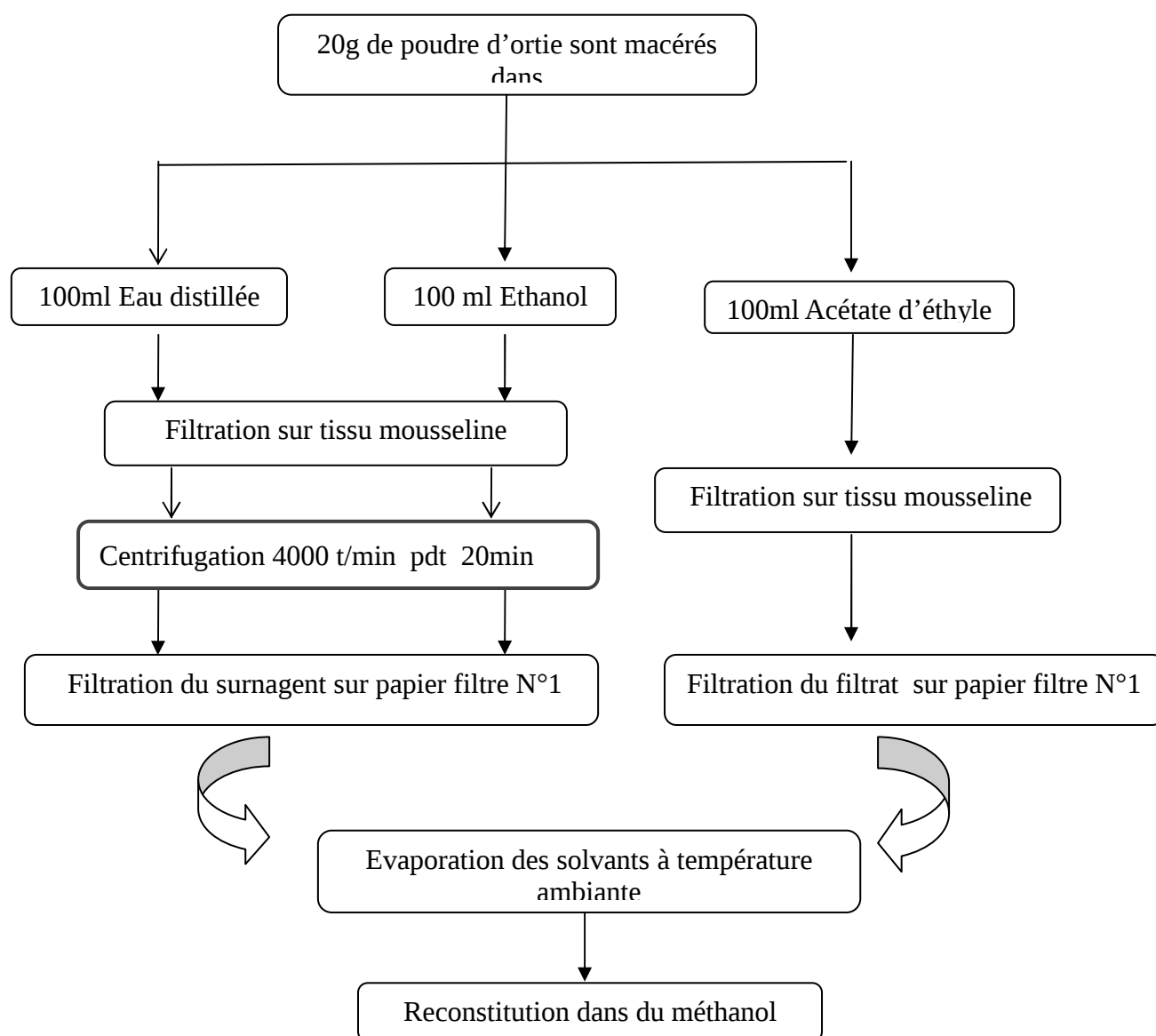


Figure 11: Schéma du protocole d'extraction des polyphénols (MAHMOUDI *et al.*, 2013).

- Détermination du rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon l'équation suivante décrite par (MAHMOUDI *et al.*, 2013) :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

Où :

R est le rendement en % ;

M_{ext} est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg ;

M_{éch} est la masse de la matière sèche végétale en mg.

1.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux (PPT) est effectué pour les trois extraits d'ortie : aqueux, acétique et éthanolique selon le protocole décrit par (TALBI *et al.*, 2015).

1 ml du réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 760 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (AG) selon l'équation suivante :

$$T = C \cdot V / M$$

T : Total des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V : Volume de l'extrait (ml) ;

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g).

Elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g de matière sèche « MS »).

1.2.3. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode au DPPH

a) Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (SANCHEZ-MORENO, 2002).

On peut résumer la réaction par l'équation représentée dans la figure suivante :

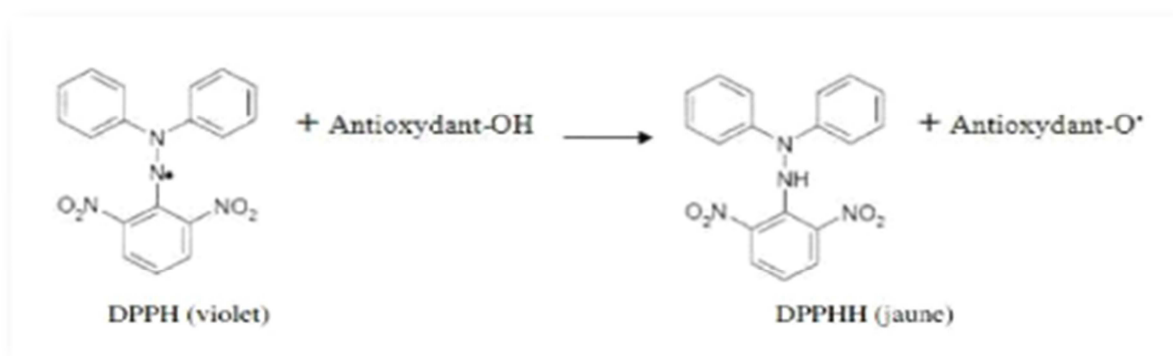


Figure 12: Réduction du radical DPPH par un antioxydant (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995)

L'antioxydant-OH représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995).

b) Mode opératoire

2ml de la solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) sont ajoutés à 50µl de la solution d'extraits et standard, le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes.

Le blanc est représenté par le méthanol, le témoin négatif est composé de 2 ml de la solution méthanolique de DPPH. Le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard: l'acide ascorbique.

La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 517 nm.

c) Evaluation du potentiel antiradicalaire

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées : d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de DPPH, et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction (SANCHEZ-MORENO *et al*, 1998 ; SCHERER et GODOY, 2009).

Dans la première approche, l'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage % RSA (Radical Scavenger Activity), où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t, selon l'équation décrite par (TALBI *et al.*, 2015) :

$$\% \text{ RSA} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Où : « **Abs** » est l'absorbance des échantillons à 517 nm.

Les résultats sont la moyenne de deux mesures séparées $\pm$ écart type.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), les antioxydants synthétiques comme le BHT (butyl-hydroxy-toluène), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (MOLYNEUX, 2004).

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par l'IC 50 (Concentration inhibitrice 50), appelée également EC 50 (Efficient concentration 50), qui correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés et du standard (TORRES *et al.*, 2006).

1.2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

1.2.4.1. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose décrite par OUELHADJ *et al.* (2014). Des boîtes de Pétri contenant 15 ml du milieu gélosé Mueller-Hinton en surfusion sont laissées solidifiées et séchées à une température de 25 °C/ 30 min. 100 µl de la solution standardisée d'inoculum (10^6 à 10^7 UFC/ml) est versé dans chaque boîte puis uniformément répartie avec un râteau. Toutes les boîtes sont laissées séchées pendant cinq minutes. Des disques stériles en papier Wattman (6 mm) préalablement imbibés de 15 µl de chaque extrait ont été déposés au milieu de la gélose.

a) Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum. Les souches fongiques ont été repiquées de la même manière, l'incubation est faite à 28 °C.

a) Préparation des pré-cultures

A partir des géloses nutritives inclinées pour les souches ATCC et des boîtes de Pétri (antibiogramme) pour les souches cliniques, nous avons effectué des repiquages des souches bactériennes sur gélose Mueller-Hinton (MH) afin d'avoir une culture jeune de 18h à 24h en phase exponentielle de croissance.

b) Préparation et standardisation de l'inoculum

Après incubation, des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique stérile, bien homogénéisées, leur opacité doit être équivalente à une densité optique (DO) de 0,08 à 0,10 lue à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à une concentration de 10^6 à 10^7 germes/ml.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

c) Aromatogramme (test de sensibilité)

100 µl de la suspension bactérienne standardisée ont été étalés uniformément avec un râteau à la surface du milieu gélosé MH. Des disques stériles en papier Wattman (6 mm de diamètre) ont été imprégnés respectivement avec 15 µl des différents extraits d'ortie (extraits aqueux, à l'acétate d'éthyle et éthanolique préalablement reconstitués dans du méthanol) puis déposés délicatement au centre de la gélose MH.

Chaque essai a été répété trois fois.

Un disque de papier Wattman imprégné de méthanol a servi de témoin négatif.

Le témoin positif est représenté par les différents antibiotiques standards utilisés.

Les boîtes de Pétri sont maintenues pendant 2 h à 4 °C pour une meilleure diffusion des substances bioactives, puis incubées à 37 °C/24 heures.

d) Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure des diamètres des zones claires (en millimètres) qui se forment autour des disques. Le diamètre de ces zones d'inhibition inclut le diamètre du disque.

D'après MOREIRA *et al.* (2005), la sensibilité des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition : $\emptyset < 8$ mm : bactérie non sensible ; $9 < \emptyset < 14$ mm : bactérie sensible ; $15 < \emptyset < 19$ mm : bactérie très sensible et $\emptyset > 20$ mm : bactérie extrêmement sensible.

1.2.4.2. Activité antifongique

La même technique a été entreprise pour *Candida albicans* et *Aspergillus niger* avec l'utilisation du milieu Sabouraud + Chloramphénicol. La standardisation de l'inoculum fongique a été effectuée en utilisant une cellule de comptage (cellule de Mallassez) (voir annexe 7), et ajuster la suspension fongique jusqu'à une charge de 10^6 à 10^7 germes/ml.

L'incubation est faite à 28 °C pendant 24 à 48 h pour *Candida* et 7 jours pour *Aspergillus*.

1.2.5. Analyse statistique

Les résultats ont été présentés par la moyenne suivie de l'écart-type (n=2) ou (n=3) pour chaque extrait en utilisant le test de Student.

L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel Statistica version 7.1 en utilisant le test de l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur. Ce test nous permet de vérifier si les échantillons sont issus de la même population ou présentant des différences significatives.

S'il existe une différence significative, le test de l'ANOVA est suivi par le test complémentaire de Newman-Keuls afin d'établir les différents groupes homogènes. Le niveau de signification était de 5 %.

CHAPITRE II

RÉSULTATS ET

DISCUSSION

2. Résultats et discussion

Urtica dioica L. est une plante médicinale de la famille des Urticacées, elle est utilisée en phytothérapie pour ses nombreuses vertus.

De multiples études phytochimiques de cette espèce (GUIL-GUERRERO *et al.*, 2003 ; GÜLÇİN *et al.*, 2004 ; LAPINSKAYA et KOPY'KO, 2008 ; NENCU *et al.*, 2012 ; ILIES *et al.*, 2012 ; ORČIĆ *et al.*, 2014 ; INCE *et al.*, 2014 ; GHAEDI *et al.*, 2015 ; DAOUDI *et al.*, 2015, ABDULKARIM-SALIH, 2015 ; BOBIS *et al.*, 2015 ; BELŠČAK-CVITANOVI *et al.*, 2015 ; CHANDRA- JOSHI *et al.*, 2015 ; BILEN *et al.*, 2016), ont révélé la présence de polyphénols, flavonoïdes, tanins, des huiles essentielles ; ce qui confère à cette plante de nombreuses propriétés biologiques.

2.1. Rendement d'extraction des polyphénols

Le processus d'extraction des polyphénols correspond à la libération des composés phénoliques à partir généralement des structures vasculaires et leur diffusion, après rupture des tissus, vers le milieu extérieur.

Notre extraction nous a permis d'obtenir trois extraits : l'extrait aqueux (Aq), l'extrait d'acétate d'éthyle (AcEt) et l'extrait d'éthanol (Et-OH).

Les différents rendements de l'extraction (en moyenne $\pm$ écart type) obtenus en pourcentage (%), ainsi que la couleur, l'aspect des trois extraits (voir figures 1, 2 et 3 de l'annexe 4) sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau X: Aspect, couleur et rendement des trois extraits d'*Urtica dioica* L. (n=3)

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement%
Aq	Pâte collante	Brune	9,82 $\pm$ 1,59
AcEt	Pâteux	Verte foncée	2,5 $\pm$ 0,7
Et-OH	Pâte collante	Verte	6,5 $\pm$ 1,41

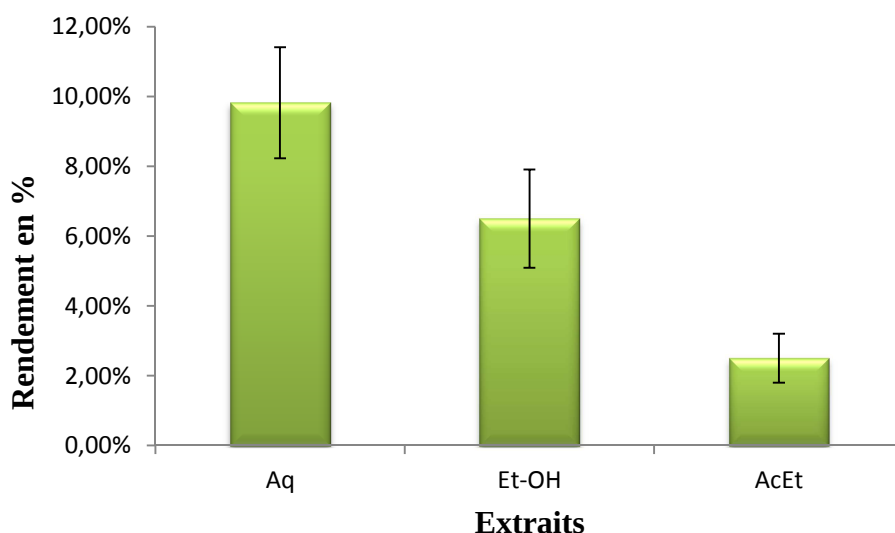


Figure 13: Rendement d'extraction en (%) des différents extraits d'ortie.

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction de la figure 13, que l'eau distillée donne le meilleur rendement d'extraction soit une moyenne de $9,82 \pm 1,59$ %, suivi par l'éthanol $6,5 \pm 1,41$ % et enfin l'acétate d'éthyle $2,5 \pm 0,7$ %.

Le test de l'analyse de la variance (ANOVA) a donné une $p\text{-value} < 0,05$, donc il existe une différence significative, ce qui veut dire que le solvant utilisé influence le rendement d'extraction. Le test complémentaire de Newman-keuls a classé les solvants en deux groupes homogènes (voir figure 1 de l'annexe 3).

Dans leur étude sur trois espèces différentes du genre *Urtica* du Maroc, DAOUDI *et al.* (2015), ont rapporté que le rendement de l'extraction est différent d'une espèce à une autre et dépend du solvant d'extraction utilisé. Leurs résultats montrent que la fraction aqueuse représente le rendement le plus élevé pour *Urtica urens* et *Urtica piluliferae*, ce qui est similaire avec notre résultat où nous avons obtenu le rendement le plus élevé avec l'eau distillée ($9,82 \pm 1,59$ %).

Dans la même étude, en deuxième position vient la fraction n-butanolique pour *Urtica urens* et la fraction d'acétate d'éthyle pour *Urtica piluliferae*. Par contre, pour *Urtica membranacea* la fraction n-butanolique représente le rendement le plus élevé suivi par la fraction aqueuse. La fraction d'acétate d'éthyle pour *Urtica membranacea* a donné le rendement le plus faible avec $0,50 \pm 0,22$ % et $2,56 \pm 0,38$ % pour *Urtica urens* ce qui est identique avec notre résultat ($2,5 \pm 0,7$ %).

2.2. Teneur en polyphénols totaux des extraits d'ortie

Le dosage des PPT des parties aériennes d'ortie (feuilles et graines) a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin- Ciocalteu décrite par TALBI *et al.* (2015).

Le réactif de Folin- Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir des différents extraits (aqueux, acétique et éthanolique) a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique (figure 14) à différentes concentrations (20-200 $\mu g/ml$) (WONG *et al.*, 2006), et exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche).

Les résultats obtenus pour le dosage des PPT en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'AG sont rapportés dans le tableau XI. Les valeurs sont les moyennes $\pm$ l'écart type de deux répétitions.

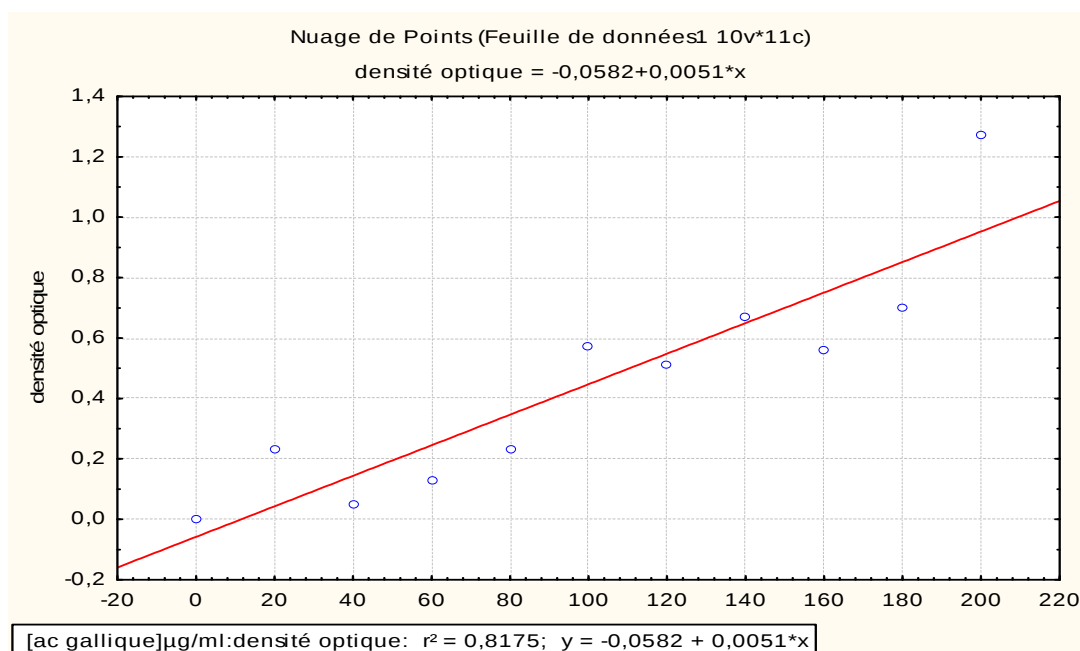


Figure 14: Courbe d'étalonnage à l'acide gallique.

Résultats et discussion

Tableau XI: Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits exprimées en mg EAG/g MS (n=2)

Extraits	Teneur en PPT en mg EAG / g MS
Aq	8,44 ± 0,44
AcEt	1,41 ± 0,025
Et-OH	1,02 ± 0,021

Le test de l'ANOVA a donné une p-value < 0,05, ce qui révèle une différence significative : le type de solvant utilisé influence la teneur en polyphénols totaux des différents extraits. Le test complémentaire de Newman-keuls les a classés en deux groupes homogènes (voir figure 2 de l'annexe 3).

La figure 15 illustre les teneurs en PPT des différents extraits d'*Urtica dioica* L.

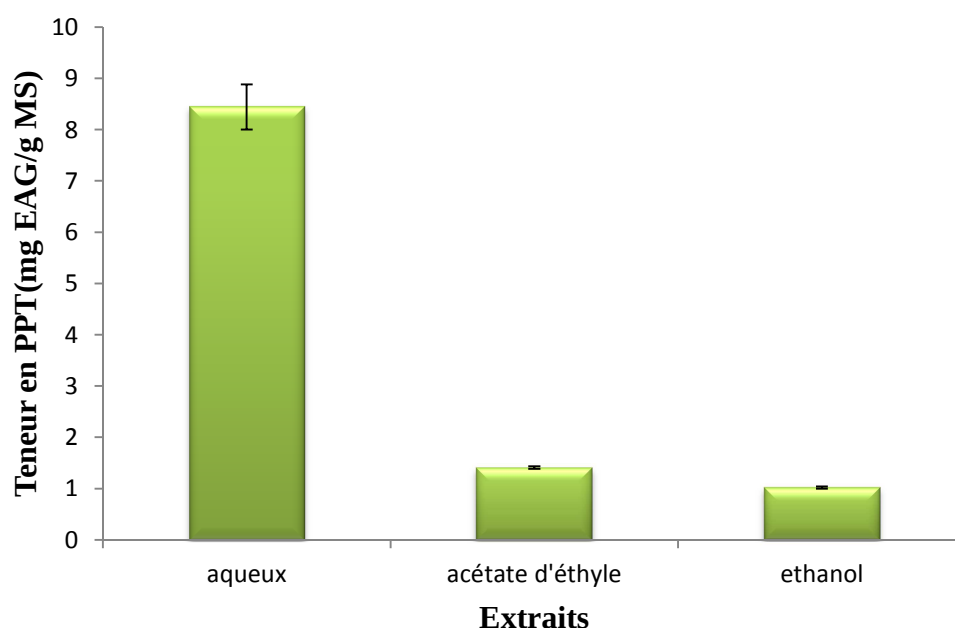


Figure 15: Teneur en polyphénols totaux des extraits d'*Urtica dioica* L.

Pour la plante étudiée, nous avons remarqué, à partir du tableau XI et la figure 15 une variabilité des teneurs en PPT. La teneur la plus élevée est enregistrée pour l'extrait aqueux (8,44 ± 0,44 mg EAG/g MS), suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle (1,41 ± 0,025 mg EAG/g MS), puis l'extrait éthanolique (1,02 ± 0,021 mg EAG/g MS).

Résultats et discussion

INCE *et al.* (2014) dans leur étude sur *Urtica dioica* L. (Turquie) ont obtenu un taux en PPT de l'extraction aqueuse assistée par micro-ondes de l'ordre de $24,64 \pm 2,36$ mg EAG/g MS, contre un taux pour l'extraction aqueuse classique (macération) qui était de $21,54 \pm 0,01$ mg EAG/g MS, ces résultats sont supérieurs au notre ($8,44 \pm 0,44$ mg EAG/g MS) car leur extraction a été faite à 40 °C avec une homogénéisation permanente ce qui a faciliter la lixiviation des composés phénoliques.

L'étude faite par CHANDRA-JOSHI *et al.* (2015) sur la même espèce en Inde montre que la teneur en PPT de l'extrait acétique était de $13,06 \pm 0,15$ mg EAG/g MS contre $1,06 \pm 0,031$ mg EAG/g MS pour l'extrait éthanolique, ce dernier est proche de notre résultat ($1,02 \pm 0,021$ mg EAG/g MS).

2.3. Mise en évidence de l'activité antioxydante et pourcentage de piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des plantes, car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (BOZIN *et al.*, 2008).

Le tableau XII regroupe les différents pourcentages de piégeage du radical libre DPPH après 30 minutes d'incubation pour différentes concentrations des extraits d'*Urtica dioica* L. et de l'acide ascorbique (standard).

Tableau XII: Pourcentage de piégeage du radical DPPH (n=2)

Les extraits	Concentration (µg/ml)				
	50	100	150	200	250
Aq	$25,44 \pm 0,62$ %	$35,02 \pm 0,028$ %	$36,52 \pm 0,24$ %	$36,64 \pm 0,5$ %	$47,67 \pm 0,24$ %
AcEt	$18,27 \pm 1,03$ %	$29,34 \pm 2,34$ %	$31,72 \pm 0,77$ %	$35,52 \pm 0,9$ %	$45,61 \pm 0,7$ %
Et-OH	$41,95 \pm 1,32$ %	$46,82 \pm 0,028$ %	$66,30 \pm 0,28$ %	$67,29 \pm 0,25$ %	$69,07 \pm 0,25$ %
Standard	$86,31 \pm 0,97$ %	$94,62 \pm 0,76$ %	$95,52 \pm 0,34$ %	$95,59 \pm 0,084$ %	$95,70 \pm 0,6$ %

La forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la coloration de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire (EBRAHIMZADEH *et al.*, 2010).

Résultats et discussion

Le pouvoir antiradicalaire des différents extraits et du standard est illustré dans la figure ci-après :

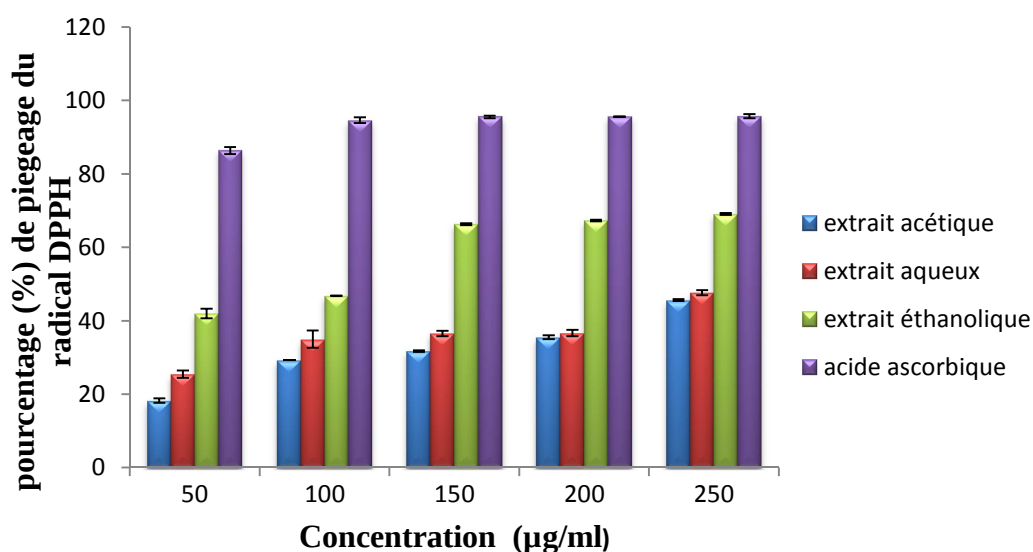


Figure 16: Pourcentage de réduction du radical DPPH par l'acide ascorbique et les différents extraits d'*Urtica dioica* L.

L'activité antioxydante des extraits est différente, elle était de : 69,07%, 47,67%, 45,61% pour l'extrait Et-OH, Aq et AcEt, respectivement. Celle de l'acide ascorbique était maximale avec 95,7% avec une IC 50 de $28,6 \pm 0,41$ µg/ml.

La figure 16 montre que l'activité antioxydante des différents extraits est dose dépendante, elle diffère selon le type du solvant utilisé pour l'extraction organique et la concentration des extraits, plus la concentration augmente, plus le pourcentage de piégeage du radical DPPH est élevé (voir figures 1,2 et 3 de l'annexe 6).

Le test de l'ANOVA a donné une p-value $< 0,05$, donc il existe une différence significative, le test complémentaire de Neuwman-keuls a classé les extraits en trois groupes homogènes (voir figure 3 de l'annexe 3).

Cette représentation (figure 16) illustre bien la différence de l'activité anti-radicalaire entre les différents extraits testés. Pour pouvoir bien les comparer, des courbes de régression ont été établies pour calculer la concentration efficace pour réduire 50 % de DPPH (IC 50), (voir annexe 2). Il est clairement établi que l'acide ascorbique possède un pouvoir anti DPPH plus important.

Résultats et discussion

Les valeurs d'IC 50 sont données dans la figure suivante :

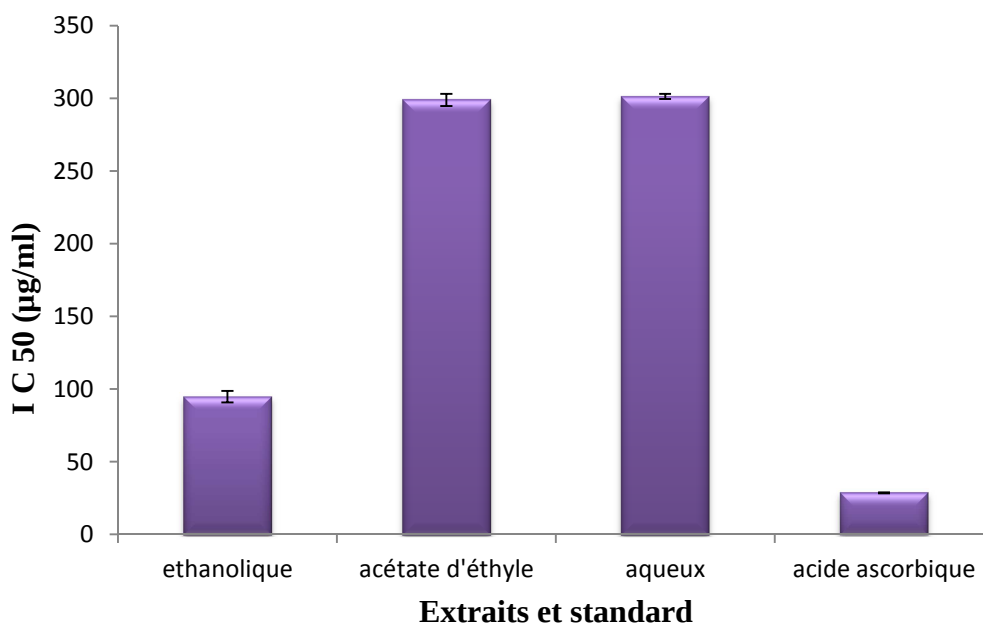


Figure 17: Valeurs d'IC 50 des trois extraits d'ortie et du standard.

La différence de l'activité anti-radicalaire est mise en évidence en utilisant ce paramètre (IC 50) qui est inversement proportionnel au potentiel anti-radicalaire d'un antioxydant, une valeur d'IC 50 faible correspond à une activité antioxydante élevée.

Des figures 16 et 17, nous pouvons conclure que le pouvoir antiradicalaire diffère selon le type de solvant utilisé pour l'extraction des composés phénoliques. Il paraît que les extraits éthanoliques sont d'excellents piègeurs de radicaux libres avec des pourcentages avoisinant les 70 % et une IC 50 de $94,73 \pm 3,95 \mu\text{g/ml}$, suivi des extraits aqueux (presque 48 % et une IC 50 de $301,32 \pm 1,73 \mu\text{g/ml}$ puis les extraits à l'acétate d'éthyle (environ 45 % et une IC 50 de $298,84 \pm 4,25 \mu\text{g/ml}$). Il serait intéressant d'arriver à une meilleure purification de l'extrait éthanolique pour son utilisation ultérieure comme antioxydant.

D'après ces résultats, il paraît que l'activité antioxydante des extraits testés n'est pas en corrélation avec les teneurs en composés phénoliques enregistrées, cela pourrait être dû aux variations qualitatives en ces composés influencées par le type de solvant utilisé.

KUKRIĆ *et al.* (2012) ont noté une bonne activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'*Urtica dioica* L. récoltée en Turquie, un résultat qui concorde avec le nôtre. Ces auteurs ont obtenu une valeur d'IC 50 de $31,38 \pm 0,102 \mu\text{g/ml}$.

Résultats et discussion

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-alcoolique de l'ortie récoltée en Iran a montré une IC 50 de $88,33 \pm 2,88 \mu\text{g/ml}$ qui est élevée par rapport à celle du standard, l'acide ascorbique qui a donné une IC 50 de $2,8 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$ (VERTIKA *et al.*, 2012).

Les valeurs d'IC 50 des différents extraits (éther de pétrole, acétate d'éthyle, n-butanol et éthanol) d'*Urtica dioica* étaient de l'ordre de $215,96 \pm 0,066 \mu\text{g/ml}$, $78,99 \pm 0,171 \mu\text{g/ml}$, $168,24 \pm 0,346 \mu\text{g/ml}$ et $302,90 \pm 0,141 \mu\text{g/ml}$, respectivement en comparaison à l'acide ascorbique utilisé comme standard avec une IC50 de $26,24 \pm 0,193 \mu\text{g/ml}$ (CHANDRA-JOSHI *et al.*, 2015).

2.4. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

Ce travail vise à montrer la présence ou l'absence d'une activité antimicrobienne des extraits d'*Urtica dioica* L. et de la comparer ensuite à celles des antibiotiques standards utilisés (tableau XIII).

Tableau XIII: Antibiotogramme des germes étudiés en présence des différents antibiotiques (diamètre de la zone d'inhibition en mm)

Microorganismes	ATB					
	SXT	O	CN	AM	AX	FOX
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	30	22	20	7	NT	NT
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC43300)	32	25	21	16	NT	NT
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	NT	9	19	8	30	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	20	7	7	NT	NT
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	28	17	18	8	NT	NT
	Antifongique : Amphotéricine B					
<i>Candidaalbicans</i>	25					
<i>Aspergillus niger</i>	20					
NT : non testé.						

SXT: Trimethoprim /Sulfamethoxazole; O: Oxytétracycline;CN:Gentamycine;
AM /AX:Amoxycilline;FOX:Céfoxitine.

Résultats et discussion

Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries, de *Candida albicans* et *Aspergillus niger* testées sont mesurés et résumés dans le tableau XIV.

TableauXIV: Activité antimicrobienne des extraits bruts d'*Urtica dioica* L. (diamètre des zones d'inhibition en mm) (n=3)

Microorganismes	1 ^{ère} concentration (160 mg/ml)			2 ^{ème} concentration (500 mg/ml)		
	Aq	AcEt	Et-OH	Aq	AcEt	Et-OH
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	8 ± 1,4	7 ± 0	6 ± 00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	7 ± 1,4	6,5 ± 0,7	6,5 ± 0,7	8 ± 0	7,6 ± 1,1	10,6 ± 1,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	14 ± 1,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,5 ± 2,1	9,3 ± 2,3	6,5 ± 0,7	10,3 ± 4,5	11 ± 1,4	8 ± 2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,5 ± 0,7	6 ± 00	6 ± 00	9,6 ± 4,7	6 ± 00	11 ± 1,7
<i>Candida albicans</i>	15,5 ± 2,1	6 ± 00	6 ± 00	19 ± 1,4	6 ± 00	6 ± 00
<i>Aspergillus niger</i>	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00	6 ± 00

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

Les mesures des halos d'inhibition (diamètre du disque inclus) nous ont permis de classer les microorganismes suivant leur degré de sensibilité aux différents extraits :

- Ø < 8 mm : bactérie non sensible ;
- 9 < Ø < 14 mm : bactérie sensible ;
- 15 < Ø < 19 mm : bactérie très sensible ;
- Ø > 20 mm : bactérie extrêmement sensible (MOREIRA *et al.*, 2005).

Résultats et discussion

Six (06) antibiotiques standards sont testés sur cinq souches bactériennes Gram (+) et Gram (-), nous avons observé que les différentes souches réagissent différemment aux antibiotiques étudiés (figure 18).

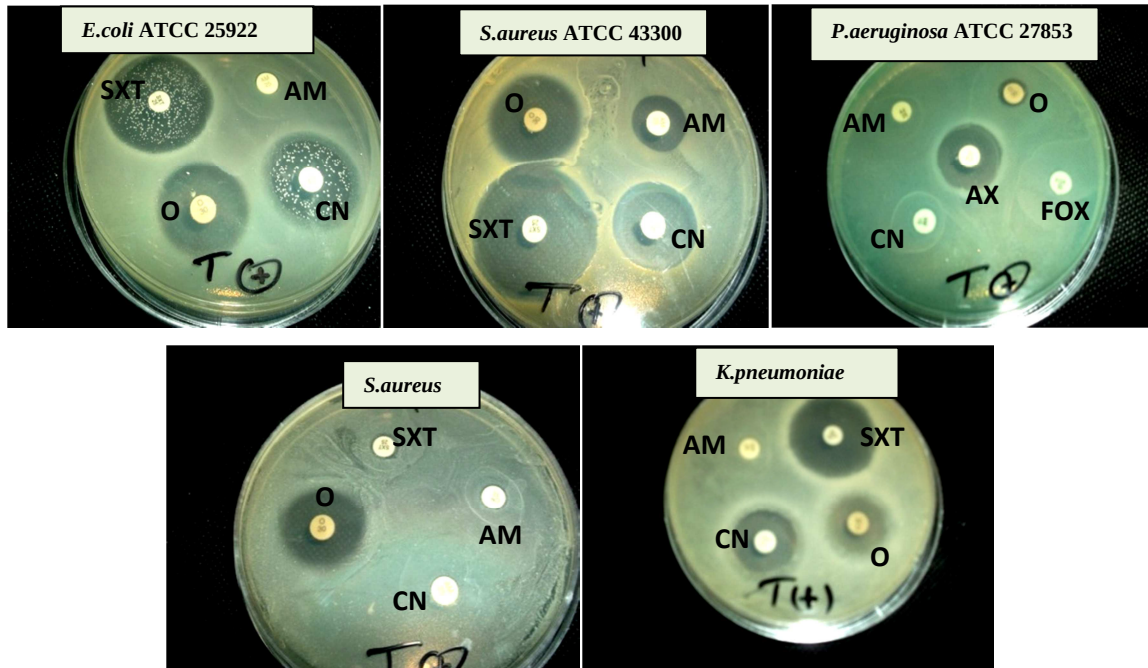


Figure 18: Témoins positifs réalisés avec les antibiotiques : **SXT**: Trimethoprim/ Sulfamethoxazole ; **O**: Oxytétracycline ; **CN**:Gentamycine; **AM /AX**: Amoxycilline ;

FOX: Céfoxitine sur les cinq bactéries testées.

Plus un antifongique testé sur les deux souches fongiques (figure 19).

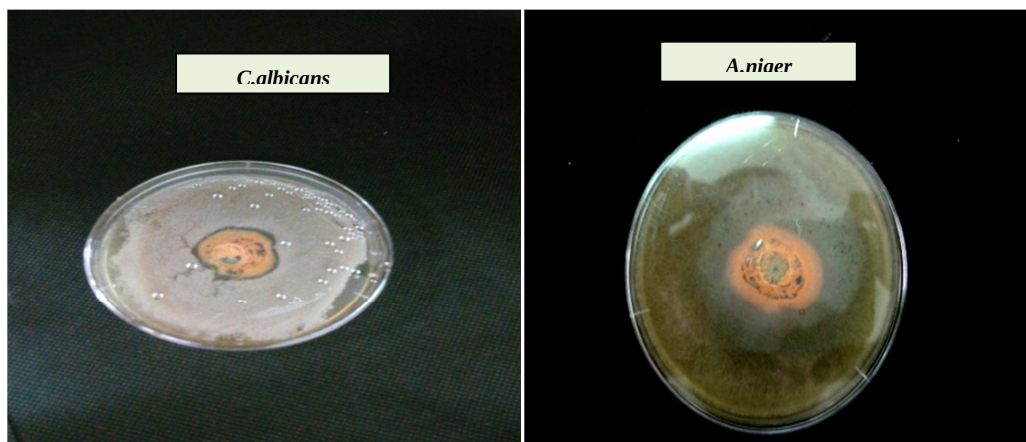


Figure 19: Témoins positifs réalisés par l'antifongique (Amphotéricine B) sur les deux souches fongiques testées.

Résultats et discussion

Le solvant utilisé pour la reconstitution des différents extraits était le méthanol, ce dernier n'a présenté aucune inhibition vis-à-vis des microorganismes testés (c'est le témoin négatif).

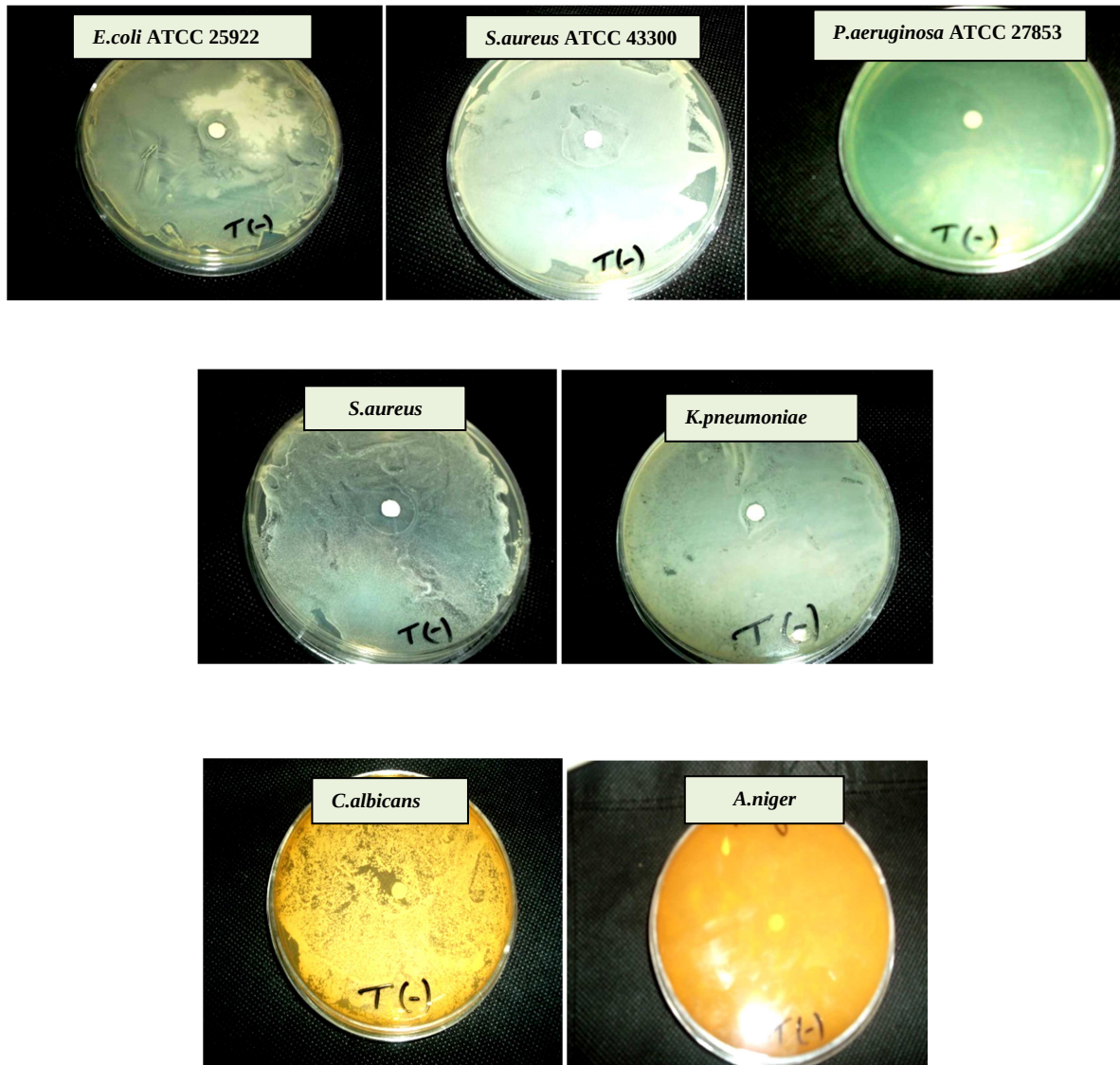


Figure20: Témoins négatifs réalisés avec le méthanol sur les microorganismes testés.

Résultats et discussion

Les figures (21 et 22) illustrent les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les différents extraits (160 mg/ml) et (500 mg/ml) respectivement, pour les différentes souches microbiennes testées.

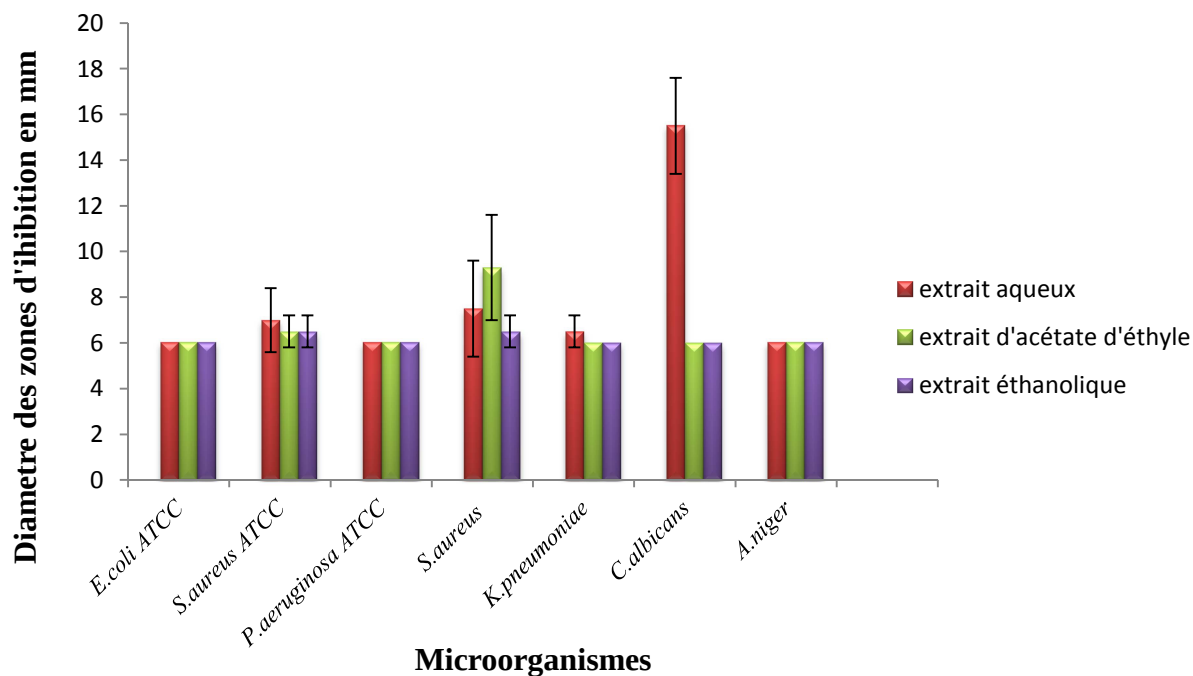


Figure 21: Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits d'*Urtica dioica* L. (160 mg/ml).

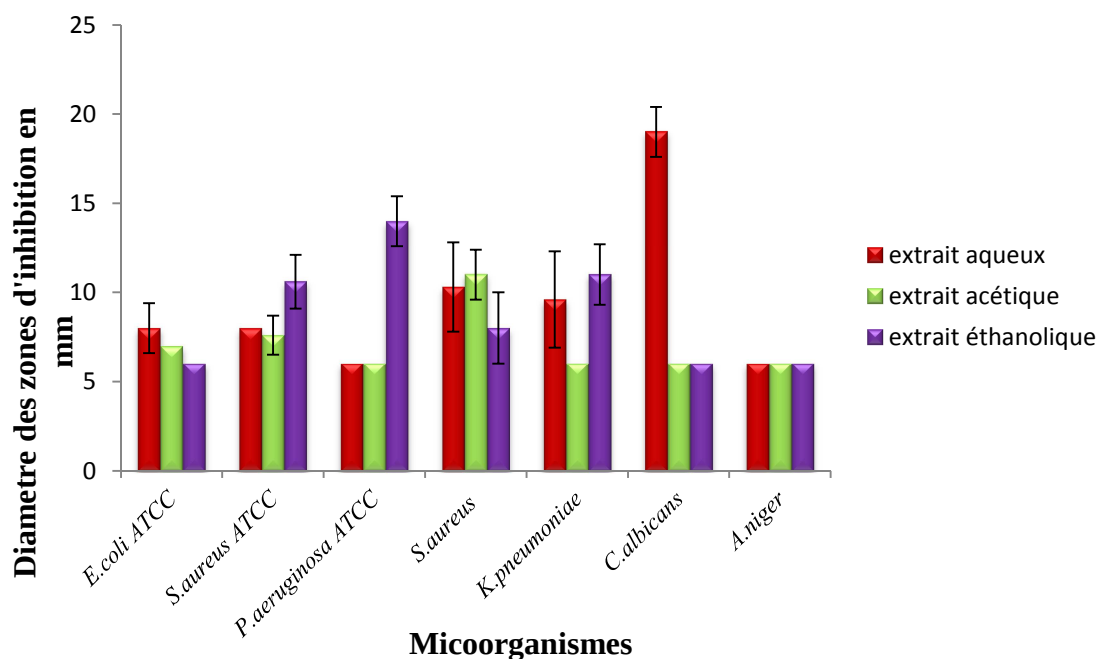


Figure 22: Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits d'*Urtica dioica* L. (500 mg/ml).

Résultats et discussion

Il ressort à travers l'observation des zones d'inhibition répertoriées dans les figures 21 et 22, que la plupart des microorganismes testés (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 43300, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* et *A. niger*) s'avèrent résistants aux extraits d'ortie (aqueux, à l'acétate d'éthyle et éthanolique) à une concentration de 160 mg/ml.

Nous avons noté une sensibilité modérée de *S. aureus* avec un diamètre de $11 \pm 1,4$ mm vis-à-vis de l'extrait à l'acétate d'éthyle contre $10,3 \pm 4,5$ mm pour l'extrait aqueux. Cette bactérie était résistante à tous les antibiotiques standards testés à l'exception de l'oxytétracycline avec un $\varnothing = 20$ mm.

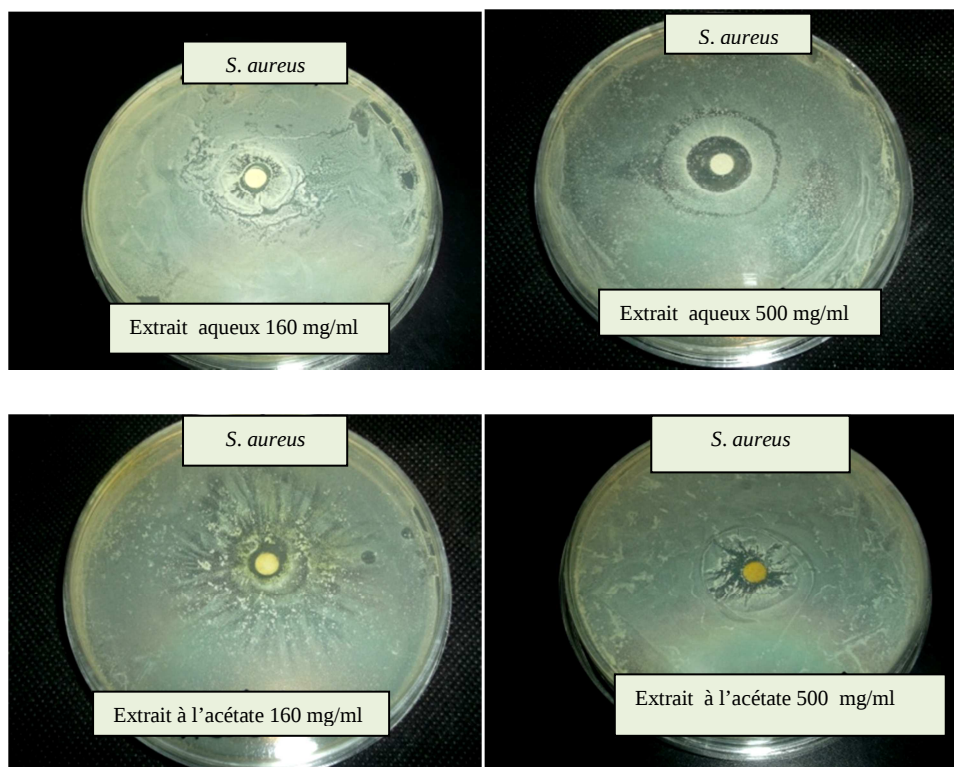


Figure 23: Effet des extraits aqueux et à l'acétate sur *Staphylococcus aureus*.

Une sensibilité importante est notée chez *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de $15,5 \pm 2,1$ mm à 160 mg/ml et $19 \pm 1,4$ mm à 500 mg/ml pour l'extrait aqueux comme le montre la figure 23. Ce diamètre de la zone d'inhibition était proche de celui obtenu avec l'antifongique testé ($\varnothing = 25$ mm).

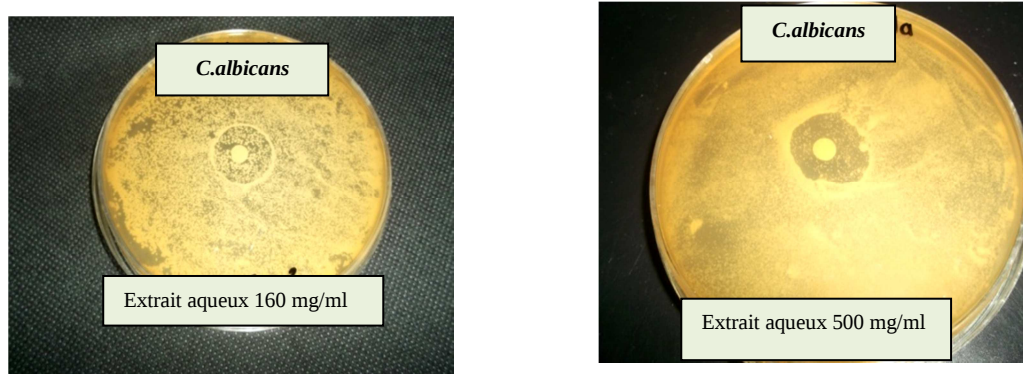


Figure 24: Effet de l'extrait aqueux sur *Candida albicans*.

Avec une concentration plus élevée de 500 mg/ml (figure 21), nous avons enregistré une augmentation des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* ATCC 43300, *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *Candida albicans*.

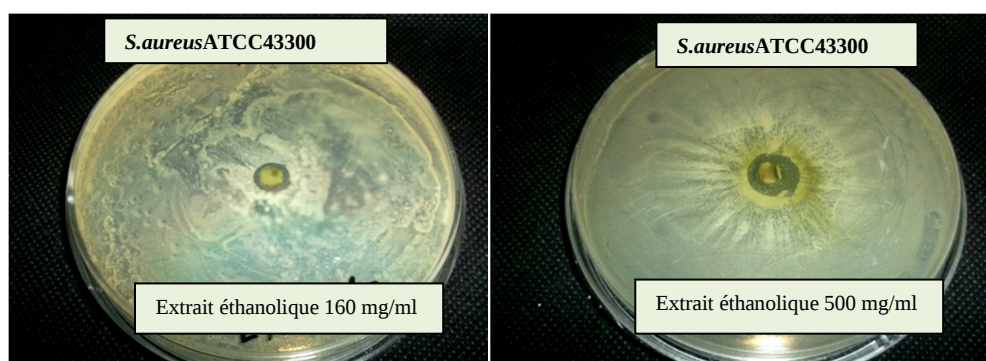


Figure 25: Effet de l'extrait éthanolique sur *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

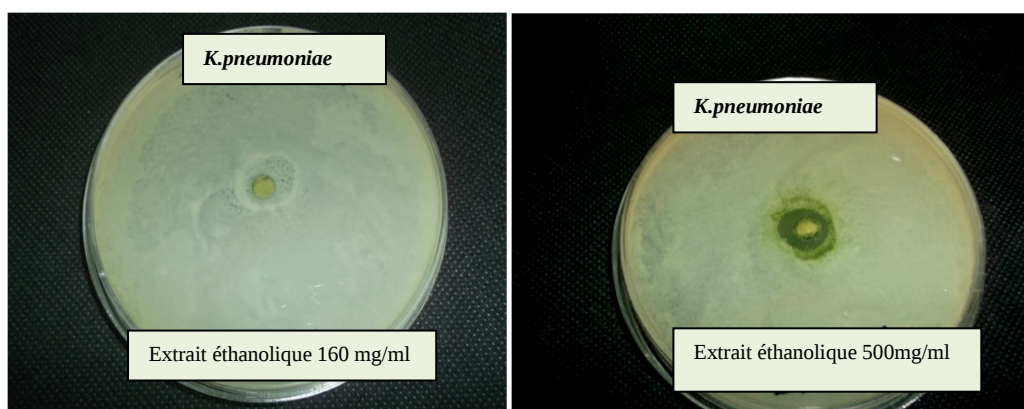


Figure 26: Effet de l'extrait éthanolique sur *Klebsiella pneumoniae*.

Résultats et discussion

A l'exception d'*E.coli* et *A. niger* qui demeurent résistants. Pourtant *E. coli* était sensible à la majorité des antibiotiques testés ($\varnothing = 30$ mm pour SXT, $\varnothing = 22$ mm pour O et $\varnothing = 20$ mm pour CN). *A. niger* a enregistré un diamètre de la zone d'inhibition de 20 mm vis-à-vis de l'amphotéricine B.

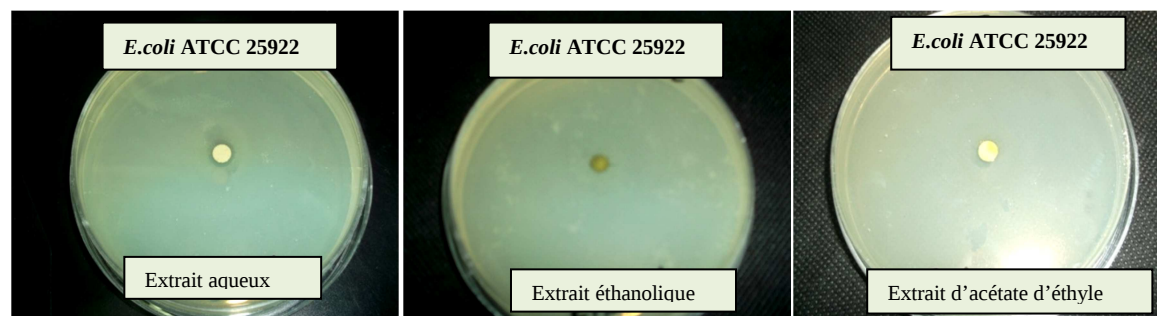


Figure 27: Résistance d'*Escherichia coli* ATCC 25922 aux différents extraits testés.

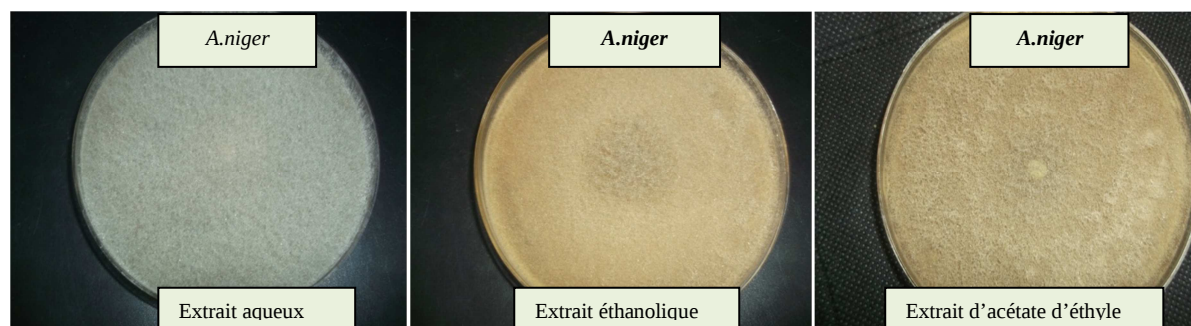


Figure 28: Résistance d'*Aspergillus niger* aux différents extraits testés.

P. aeruginosa ATCC 27853a montré une sensibilité modérée vis-à-vis de l'extrait éthanolique à 500 mg/ml ($\varnothing = 14 \pm 1,4$ mm) après avoir été résistant à la concentration de 160 mg/ml.

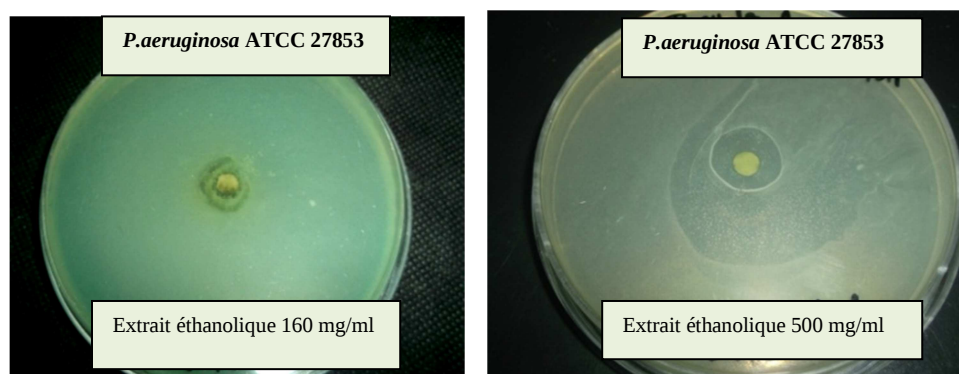


Figure 29: Effet de l'extrait éthanolique sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Résultats et discussion

Le test de l'ANOVA a donné une p-value > 0,05, donc statistiquement il n'existe pas de différence significative, c'est-à-dire que la nature du solvant utilisé n'influence pas le diamètre des zones d'inhibition, c'est-à-dire l'activité antimicrobienne (voir figures 4 et 5 de l'annexe 3).

GHAEDI *et al.* (2015) ont rapporté que l'extrait d'*Urtica dioica* à une concentration de 25 et 50 µg/ml a montré une activité modérée vis-à-vis d'*E. coli* (ATCC 25922) Ø = 10,34 et 15,18 mm, *P. aeruginosa* (ATCC 9027) Ø = 8,70 et 9,90 mm et *S. aureus* (ATCC 6538) Ø = 8,50 et 10,80 mm, tout en ayant une faible activité contre *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) Ø = 6,80 et 10,90 mm, respectivement. L'augmentation de la concentration de l'extrait à 100 µg/ml a eu une amélioration significative de l'activité contre *E. coli* (Ø = 16,50 mm) et *B. subtilis* (Ø = 11,50 mm), une activité modérée contre *P. aeruginosa* (Ø = 11,30 mm) et *S. aureus* (Ø = 10,90 mm).

Une autre étude relative à *Urtica dioica* L. a montré son activité antimicrobienne notamment avec l'extrait brut, qui par exemple à 100 µg/ml était actif contre plusieurs souches bactériennes (*Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Micrococcus* sp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi* et *Saccharomyces cerevisiae*) (MODARRESI-CHAHARDEHI *et al.*, 2012).

2.5. Discussion générale

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille (lié aux propriétés génétiques des plants, à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte), mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant (LEE *et al.*, 2003).

Selon ALTIOK *et al.* (2008), les hauts rendements sont habituellement obtenus avec l'éthanol et le méthanol et leurs mélanges avec l'eau. En effet, l'eau joue un rôle important dans le processus d'extraction des polyphénols en augmentant leur diffusion dans les tissus végétaux.

Résultats et discussion

En plus de ces aspects quantitatifs, quelle que soit la méthode d'extraction appliquée, elle doit tenir compte de la qualité de l'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs.

D'après DJAHRA *et al.* (2013), la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ces constituants.

La décoction permet d'extraire les tanins condensés connus par leur action fongicide et la macération par le méthanol paraît favorable pour l'extraction des flavonoïdes (MAHMOUDI *et al.*, 2013).

AOUCHICHE et BOUMEGHAR (2015) dans leur étude sur le laurier et les sous-produits oléicoles ont montré que les extraits organiques à l'éthanol présentent un meilleur rendement par rapport à l'acétate d'éthyle, ce résultat est en accord avec le nôtre (AcEt avec $2,5 \pm 0,7$ % et Et-OH avec $6,5 \pm 1,41$ %).

Une étude faite par NENCU *et al.* (2012) a démontré que les feuilles d'ortie sauvage récoltées en Turquie au mois de Mars contenaient 4,2295 % d'acide chlorogénique et 0,6237 % de rutine. Le contenu en composés phénoliques diminue de mars à Septembre à la fois dans les échantillons sauvages et cultivés. Ces différences sont dues à l'origine de la matière première (la culture ou la flore spontanée). La nouvelle méthode HPLC pour l'analyse des polyphénols est reproductible.

DAOUDI *et al.* (2015) dans leur étude sur d'autres espèces du genre *Urtica* ont constaté que les taux en composés phénoliques et en flavonoïdes sont variables. Dans les extraits méthanoliques, les taux les plus élevés de composés phénoliques se rencontrent dans l'extrait d'*Urtica piluliferae* ($2,313 \pm 0,3$ mg EAG/30 g MS) et *Urtica membranacea* ($1,498 \pm 0,09$ mg EAG/30 g MS), par contre *Urtica urens* présente un taux très faible par rapport aux deux autres ($0,06 \pm 0,029$ mg EAG/30 g MS).

La fraction aqueuse d'*Urtica piluliferae* a montré un taux élevé en composés phénoliques avec ($2,313 \pm 0,298$ mg EAG/30 g MS), *Urtica membranacea* avec ($0,453 \pm 0,05$ mg EAG/30 g MS) un taux élevé que celui d'*Urtica urens* qui est de l'ordre de $0,098 \pm 0,002$ mg EAG/30 g MS. Ces résultats montrent principalement que les composés phénoliques ne sont pas abondants au niveau des fractions alcooliques ce qui revient probablement à la solubilité relative des polyphénols présents dans les plantes étudiées.

Résultats et discussion

En effet, la solubilité des polyphénols est conditionnée par le type de solvant utilisé. Pour une haute récupération de polyphénols, le méthanol est le solvant approprié (FALLEH *et al.*, 2008).

Une étude qualitative des CP d'*Urtica dioica* faite par ORČIĆ *et al.* (2014), a mentionné que le composé abondant contribuant jusqu'à 3,6 % d'extrait par poids était l'acide 5-O caféoylquinique (communément appelé acide chlorogénique), suivi par la quercétine 3-O-rhamnosyl-glucoside (rutine) et 3-O- glucoside (isoquercitrine). La plus forte teneur de ces composés a été enregistrée dans les extraits de l'inflorescence.

Les précurseurs de l'acide chlorogénique, l'acide quinique et l'acide caféique étaient aussi importants dans les parties aériennes. Tous les autres composés détectés étaient présents en quantités infimes, leur contenu total ne dépassant pas 0,19 % d'extrait en poids.

La composition des racines était différente, avec la détection des composés suivants : acide p-coumarique, l'acide quinique et scopolétine, leur teneur totale ne dépassant pas 0,086% d'extrait en poids.

Des macérats alcoolisés d'*Urtica dioica* ont donné une teneur en polyphénols totaux de l'ordre de $326,84 \pm 10,25$ mg EAG/g MS, des flavones et flavonols ($18,34 \pm 2,41$ mgEQ/g MS) et des flavonoïdes totaux($112,04 \pm 4,38$ mgEQ/g MS) dans l'étude réalisée par BOBIS *et al.* (2015).

BOUDHRIOUA *et al.* (2009) ; VASILEIOS *et al.* (2010), ont rapporté que les variations en teneur de polyphénols est dépendante des conditions climatiques et géographiques, des conditions de culture et le degré de maturité, mais aussi de l'état physiologique et l'âge de la plante (DE LEONARDIS *et al.*, 2008).

L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols par modulation de la polarité du solvant organique. Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons hydrogènes dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (MOHAMMEDI, 2011).

ALTIOK (2010) dans son étude a démontré que la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, du poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique du squelette de base. Plusieurs facteurs influencent l'extraction des

Résultats et discussion

composés phénoliques à partir de la matière végétale tels que le type et le volume du solvant utilisé, la taille des particules de l'échantillon, le temps d'extraction, les conditions de stockage de l'échantillon, le pH et la température.

Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (TAWAHA *et al.*, 2007).

En outre, certaines substances, telles que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés phénoliques, peuvent en réduisant le complexe phosphotungstique-phosphomolybdique interférer et conduire à une surestimation de la teneur en CP (GOMEZ-CARAVACA *et al.*, 2006). En fait, cette méthode donne un aperçu sur la qualité réductrice d'un ensemble de composés en plus des polyphénols.

Le test au DPPH n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger ce radical et ainsi d'apprécier les variations qualitatives des composés phénoliques. L'évaluation de l'activité antiradicalaire doit être interpréter avec précaution du fait que l'absorbance du DPPH à 517nm diminue sous l'action de la lumière, de l'oxygène, en fonction du pH et le type du solvant additionné à l'antioxydant.

Tous les extraits de *Capparis spinosa* L. ont montré un effet antioxydant. L'extrait méthanolique des bourgeons à fleur, fleurs et des fruits immatures de cette plante a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (78,34 %) suivi par l'extrait aqueux avec une activité de 74,47 %, valeurs supérieures à celles obtenues par deux antioxydants de référence : la rutine (73,76 %) et l'acide gallique (76,59 %) (MEDDOUR *et al.*, 2013).

Dans l'étude faite par INCE *et al.* (2014), les activités antioxydantes des extraits obtenus par différentes méthodes ont montré des différences statistiquement significatives. Pour l'extraction assistée par micro-ondes, l'activité antioxydante de l'extrait d'ortie obtenu était de $4,16 \pm 0,02$ mg DPPH/g MS, significativement plus élevée que celle obtenue par la méthode classique ($3,86 \pm 0,01$ mg DPPH/g MS) également exprimée en pourcentage de piégeage des radicaux DPPH avec 57,19 % et 63,82 % respectivement, ces deux pourcentages sont statistiquement significativement différents. Ils ont conclu qu'il n'y avait aucune corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en PPT.

Une autre étude faite aussi en Iran sur deux autres extraits mais dans des périodes de développement différentes a montré que pendant la floraison, la plante a un pouvoir de

Résultats et discussion

piégeage des radicaux libres plus fort qu'après la floraison, avec des IC 50 de $8,4 \pm 0,1$ mg/ml pour l'extrait aqueux pendant la floraison, $11,7 \pm 0,2$ mg/ml après la floraison, $12,4 \pm 0,1$ mg/ml pour l'extrait d'éther pendant la floraison et $22,5 \pm 0,2$ mg/ml après la floraison.

Le standard a donné une IC 50 de $5 \pm 0,2$ mg/ml (MONFARED *et al.*, 2011).

Les résultats de pourcentage d'inhibition du radical DPPH obtenus, révèlent que les extraits d'ortie possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante. En effet, KANG *et al.* (2003) ont suggéré que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires montrent une activité anti radicalaire élevée.

Ce résultat est confirmé par DAMAK *et al.* (2008), qui ont rapporté que la concentration en PPT est corrélée significativement avec la capacité antioxydante.

Six Lamiaceae aromatiques de l'Algérie occidentale ont fait l'objet de l'étude de TAMERT et LATRECHE (2015), parmi elles trois plantes possèdent une activité antioxydante importante, il s'agit d'*Origanum vulgare*, *Mentha pulegium* et *Thymus vulgaris* dont les IC 50 enregistrées pour les trois extraits éthanolique, décocté et infusé sont respectivement comme suit : $0,74 \pm 0,05$ mg/ml, $0,32 \pm 0,025$ mg/ml et $1,29 \pm 0,057$ mg/ml ; $0,76 \pm 0,015$ mg/ml, $0,65 \pm 0,028$ mg/ml et > 2 mg/ml ; $1,07 \pm 0,013$ mg/ml, $1,06 \pm 0,014$ et $1,72 \pm 0,1$ mg/ml. Alors que les extraits de *Satureja calamintha* ont exprimé un pouvoir antioxydant modéré.

L'acide ascorbique a enregistré une faible IC 50 ($0,43 \pm 0,013$ mg/ml). En la comparant avec celles enregistrées avec les extraits, ils ont remarqué que l'extrait décocté d'*Origanum vulgare* était plus puissant que le standard analysé. Ce qui approuve l'efficacité antioxydante de l'extrait de l'origan.

Les valeurs de l'IC 50 obtenues pour l'acide ascorbique et l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* étaient de $6,71 \pm 0,19$ et $9,86 \pm 0,37$ µg/ml, respectivement dans l'étude faite par IRATNI *et al.* (2015) sur cette plante.

L'activité antimicrobienne d'un extrait de plante est probablement due à la présence de synergie entre le nombre de composants qui lorsqu'ils sont séparés deviendraient inactifs individuellement (RIOS et RECIO, 2005). De plus la méthode d'extraction et les solvants utilisés pour l'extraction pourraient être à l'origine de ces résultats.

Résultats et discussion

Tous les extraits testés dans notre étude ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées, ce qui confirme que la plante *Urtica dioica* L. est douée de propriétés antimicrobiennes.

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne obtenus par KÖRPE *et al.* (2013) ont démontré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Urtica pilulifera* avait une activité contre 9 agents pathogènes d'origine alimentaire sur 11 souches testées, et 4 agents pathogènes transmis des plantes sur 5 souches testées. En outre, les extraits méthanoliques des graines d'*Urtica dioica* et *Urtica pilulifera* avaient une activité contre 11 sur 16 et 9 des souches testées respectivement.

La même étude a montré que l'extrait méthanolique des graines d'*U. pilulifera* était très efficace contre *Enterococcus gallinarum* ($\varnothing = 14,8$ mm), alors que l'extrait méthanolique de racine avait la plus forte activité contre *Streptococcus pyogenes* ($\varnothing = 20,0$ mm). Ces deux extraits étaient également efficaces contre les trois phytopathogènes testés *Clavibacter michiganensis* « $\varnothing = 31,8$ mm et $14,7$ mm respectivement », *Pseudomonas tomatoe* et *Erwinia caratovara* avec un $\varnothing = 12,3$ mm et $\varnothing = 10,3$ mm pour l'extrait de racine respectivement. En outre, l'extrait méthanolique des graines d'*U. dioica* était très efficace contre *Xanthomonas vesicatoria* ($\varnothing = 27,3$ mm).

L'étude de BOBIS *et al.* (2015) sur différentes plantes dont *Urtica dioica* a montré que cette dernière est dotée d'un effet antibactérien sur les souches bactériennes testées, et les diamètres des zones d'inhibition étaient : $18 \pm 0,5$ mm pour *S. aureus* ATCC 6538P, $11 \pm 0,4$ mm pour *Bacillus cereus* ATCC 14579, $6 \pm 0,3$ pour *E. coli* FV 755-0139, $6 \pm 0,2$ mm pour *P. aeruginosa* ATCC 27853 et $6 \pm 0,3$ mm pour *S. typhimurium* ATCC 14028.

Les extraits phénoliques des trois espèces du genre *Urtica* dans la région de Meknès recèlent une diversité en métabolites secondaires : des tanins galliques, des flavonoïdes, des stérols, des triterpènes et des leucanthocyanes (DAOUDI *et al.*, 2015). L'activité antimicrobienne de ces extraits phénoliques testés vis-à-vis des germes pathogènes : *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida* et *Klebsiella pneumoniae* n'ont aucun effet inhibiteur sur ces dernières.

Par ailleurs, l'absence d'effet bactériostatique ou bactéricide sur ces souches testées pourrait être due soit à la résistance de celles-ci ou bien à l'insuffisance du volume et de la concentration utilisés.

Résultats et discussion

TREKI *et al.* (2009) dans leur étude sur *Thymus hirtus*, ont montré que parmi les souches Gram positif, *Bacillus amyloliquefaciens* était la plus sensible pour la phase acétique avec un $\varnothing = 17,5$ mm, comparativement à *Staphylococcus sp* au contenu des phases acétate et n-butanol de la plante étudiée. Par ailleurs *Pseudomonas sp* présente une inhibition marquée par rapport à toutes les bactéries Gram négatif vis-à-vis du contenu flavonique de la phase acétate avec un $\varnothing = 15,5$ mm. Alors que l'extrait flavonique de la phase n-butanol était actif sur les trois souches Gram négatif : *E. coli*, *Pseudomonas sp* et *Proteus vulgaris*.

Les différents extraits apolaires de *Thymus vulgaris* témoignent d'une très forte activité bactériostatique (YAKHLEF *et al.*, 2011). Les deux extraits à l'éther de pétrole et au dichlorométhane étaient actifs sur : *S. aureus* $\varnothing = 42,2 \pm 1,5$ mm et $37,6 \pm 1,2$ mm ; *S. aureus* ATCC 25923 $\varnothing = 45,9 \pm 1,6$ mm et $39,1 \pm 1,4$ mm ; *E. coli* $\varnothing = 33,6 \pm 1,0$ mm et $28,3 \pm 0,3$ mm ; *E.coli* ATCC 25922 $\varnothing = 42 \pm 1,5$ mm et $36,1 \pm 0,8$ mm ; *P. aeruginosa* ATCC 27853 $\varnothing = 23,6 \pm 0,4$ mm et $19,5 \pm 0,5$ mm ; *Salmonella typhimurium* $\varnothing = 32,1 \pm 0,5$ mm et $28,8 \pm 0,7$ mm, respectivement.

De même, une puissante activité a été enregistrée vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 2071 avec des $\varnothing = 64,1 \pm 1,8$ mm et $63,9 \pm 1,8$ mm pour les deux extraits respectifs.

Alors que l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* était inactif sur toutes les souches testées à l'exception de *S. aureus* ATCC 25923 qui était sensible avec un diamètre de $15,7 \pm 0,5$ mm.

En comparaison avec les extraits de *Laurus nobilis* qui étaient moins actifs, où les extraits à l'éther de pétrole et au dichlorométhane ont donné des diamètres de $13,2 \pm 0,2$ mm et $17,2 \pm 0,3$ pour *S. aureus* ; $14,5 \pm 0,5$ mm et $16,4 \pm 0,3$ pour *C. albicans* respectivement.

E. coli a donné un diamètre de $21,1 \pm 0,5$ mm pour l'extrait méthanolique et $12,4 \pm 0,3$ mm pour l'extrait au dichlorométhane.

DJENANE *et al.* (2012) ont obtenu des diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis de *Salmonella* Enteritidis de l'ordre de $16,20 \pm 1,2$ mm et $13,7 \pm 2,10$ mm respectivement pour l'oleuropéine et l'extrait brut de feuilles d'olivier. Cependant, les diamètres d'inhibition vis-à-vis de *S. aureus* étaient de $30,18 \pm 2,10$ mm et $16,33 \pm 1,80$ mm pour l'oleuropeine et l'extrait brut respectivement. Alors que ceux obtenus pour *P. aeruginosa* étaient de $15,57 \pm 2,15$ mm et $15,29 \pm 1,9$ respectivement.

MEDDOUR *et al.* (2013) ont montré que l'extrait méthanolique de *Capparis spinosa* L. s'est révélé inactif sur toutes les souches étudiées quelle que soit la dose utilisée.

Résultats et discussion

L'extrait aqueux est sans action sur les souches *E. coli* et *P. aeruginosa* et cela indépendamment de la dose. Cependant, à une dose de 1 g/ ml cet extrait est actif sur *S.aureus* avec un diamètre de $9,5 \pm 0,5$ mm. L'extrait éther de pétrole possède un effet inhibiteur de la croissance bactérienne dose dépendante avec *S. aureus* (à 1 g/ml le diamètre était de $12,38 \pm 0,88$ mm).

De même, l'extrait dichlorométhane a montré une activité anti *S. aureus* dose dépendante, mais cette activité disparaît avec la dose 125 mg/ml. Cet extrait s'est révélé actif sur *E. coli* et la zone d'inhibition mesurée était de $11,75 \pm 0,35$ mm avec une dose de 500 mg/ml.

Les résultats obtenus dans l'étude faite par KANOUN *et al.* (2015) sur quatre souches fongiques ont montré que *C. albicans* ATCC 1231 était la souche la plus sensible à 50 mg/ml de l'extrait méthanolique de feuilles de grenade en produisant la plus grande zone ($24,33 \pm 1,53$ mm). Toutes les autres souches testées ont développé le caractère d'intermédierité vis-à-vis du même extrait, sauf pour *Rhodotorula* spp qui a développé un caractère de résistance à 3,125 mg/ml de même extrait.

Par ailleurs, ils ont observé aussi que *C. albicans* ATCC 1231, *Rhodotorula* spp et *C. albicans* IP 444 étaient les souches les plus sensibles aux extraits testés avec des diamètres d'inhibition respectivement de $24,33 \pm 1,53$ mm, 23 ± 00 mm et $22, 1 \pm 2$ mm pour l'extrait méthanolique des feuilles de grenade et $25,5 \pm 0,5$ mm, $24,5 \pm 0,5$ mm et $24 \pm 0,5$ mm pour l'extrait éthanolique à 50 mg/ml d'extrait testé.

Pour la souche *C. albicans* clinique la plus résistante, elle a présenté des diamètres d'inhibition respectifs de 21 ± 00 mm et 20 ± 00 mm pour l'extrait méthanolique et éthanolique à 50 mg/ml.

L'étude effectuée sur cinq souches de *C. albicans* a montré que ces dernières étaient sensibles aux extraits organiques et aqueux d'*Artemisia mesatlantica* (GHAZI *et al.*, 2015).

En effet, HAYOUNI *et al.* (2007) ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antimicrobienne des composés phénoliques des plantes. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

Résultats et discussion

D'autres études ont rapporté que les huiles essentielles ont la plus grande efficacité dans le traitement des pathologies infectieuses (RIOS et RECIO, 2005). Ceci est confirmé par une étude réalisée par BENMILOUD (2014), qui a porté sur la révélation de l'activité antimicrobienne des extraits d'une plante *Nepeta amethystina* (aqueux, éthanolique, éthérique et l'huile essentielle) vis-à-vis de trois souches de *Candida albicans* (IPP 444, ATCC 26790 et ATCC 10231). Ses résultats montrent l'absence d'effet inhibiteur des différents extraits testés à l'exception de l'huile essentielle qui a donné des zones d'inhibition importantes qui sont respectivement de 37,40 mm et 45 mm.

CONCLUSION

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacologie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, différents aspects d'*Urtica dioica* L. ont été étudiés: la teneur en polyphénols totaux, les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits aqueux, à l'acétate d'éthyle et éthanolique.

L'extraction des polyphénols totaux des parties aériennes (feuilles et graines) de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés : l'eau distillée, l'acétate d'éthyle et l'éthanol avec $9,82 \pm 1,59 \%$, $2,5 \pm 0,7 \%$ et $6,5 \pm 1,41 \%$ respectivement.

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par le réactif de Folin-Ciocalteu pour l'extrait aqueux, à l'acétate et éthanolique et les valeurs respectives étaient comme suit : $8,44 \pm 0,44$; $1,41 \pm 0,025$ et $1,02 \pm 0,021$ mg EAG/g de matière sèche.

L'activité antioxydante des différents extraits d'*Urtica dioica* L. a été évaluée par la méthode de réduction du radical libre DPPH. L'IC 50 a été estimée à : $301,32 \pm 1,73$ µg/ml pour l'extrait aqueux, $298,84 \pm 4,25$ µg/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle et $94,73 \pm 3,95$ µg/ml pour l'extrait à l'éthanol contre $28,6 \pm 0,41$ µg/ml pour le standard (acide ascorbique), ce qui confirme qu'*Urtica dioica* L. est douée d'un pouvoir antioxydant.

En effet, la capacité antioxydante la plus élevée a été observée dans l'extrait à l'éthanol (solvant polaire). Par contre elle est faible pour les deux autres extraits (aqueux et à l'acétate d'éthyle).

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes et deux souches fongiques, selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats indiquent que les trois extraits possèdent une activité antimicrobienne au moins sur une souche microbienne sauf *Aspergillus niger* et *E. coli* qui étaient résistants.

À la suite de ces résultats, certaines perspectives s'imposent :

- élargir le spectre d'étude en étudiant la plante d'autres régions à des fins comparatives;
- faire un screening phytochimique complet afin de révéler la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, saponosides, cires...etc) ;

- caractériser les composés actifs dans les différents extraits (étude qualitative) en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante;
- réaliser une étude toxicologique de cette plante ;
- étendre l'éventail des tests antioxydantset antimicrobiens et pourquoi pas tester les activités anti-inflammatoire et antidiabétique.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement actives, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de cette plante.

L'exploitation industrielle des sources naturelles d'antioxydants dépend de nombreuses exigences : concentration élevée en molécules actives, approvisionnement suffisant, régulier et si possible non saisonnier, bonne conservation de la matière première, coût raisonnable, facilité d'extraction, caractère faiblement aromatique des préparations, absence de toxicité des composés présents dans l'extrait, autorisation légale d'utilisation en industries alimentaire, pharmacologique ou cosmétique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **ABDULKARIM SALIH NADIA. (2015).** Effect of nettle (*Urtica dioica*) extract on gentamicin induced nephrotoxicity in male rabbits. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.*, 5 (9): 756-760.
- **ADLERCREUTZ H. et MAZUR W. (1997).** Phyto-œstrogens and western diseases. *Ann Med.*, 29: 95-120.
- **AIT YUCEF M. (2006).** Plantes Médicinales de Kabylie. Editions Ibis Press., Paris. 324-327.
- **ALEXandrova M-L et BOCHEV P-G. (2007).** Oxidative Stress in Stroke; in: «Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders». 1st ed. Elsevier BV. Amsterdam. 313-368.
- **ALTIOK E., DENIZ B., OGUZ B. et SEMRA U. (2008).** Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea*. L) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology.*, 62: 342-348.
- **ALTIOK E. (2010).** Recovery of phytochemicals (having antimicrobial and antioxidant characteristics) from local plants. These in Chemical Engineering. Izmir Institute of Technology.
- **AOUCHICHE R. et BOUMEGHAR N. (2015).** Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extrait de feuilles de laurier et de sous-produits de l'olivier. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Algérie.
- **AOUNI M., PELEN F. et SOULIMANI R. (2013).** Etude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie.*, 11 : 225-236.
- **ARAB K., BOUCHENAK O. et YAHIAOUI K. (2013).** Evaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science.*, 9 (3) : 159-166.
- **BASLI A., CHIBANE M., MADANI K. et OUKIL N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie.*, 10 : 2-9.
- **BEAUDEOIN G., OUELLET C et DUFRESNE C. (2009).** L'Ortie Dioïque : *Urtica dioica* : Guide de production sous régie biologique. Filière des plantes médicinales biologiques du Québec. Québec. 5-6.
- **BELŠČAK-CVITANOVIĆ., KOMES D., DURGO K., VOJVODIĆ. et BUŠIĆ A. (2015).** Nettle (*Urtica dioica* L.) extracts as functional ingredients for production of

Références bibliographiques

chocolates with improved bioactive composition and sensory properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (12): 7723-7734.

- **BENMILOUD K. (2014).** Criblage phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobienne des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzeia). Mémoire de master en chimie. Université Aboubakr Belkaid- Tlemcen. Algérie.
- **BERTRAND B. (2002).** Les Secrets de L'ortie. Edition de Terran, 7^{ème} édition. 128.
- **BHUWAN C-J., MINKY M. et SUSHMITA. (2015).** Antioxidant potential and total phenolic content of *Urtica dioica* (Whole plant). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7: 120-128.
- **BIDEL L., COUMANS M., BAISSAC Y., DOUMAS P. et ALLEMAND C-J. (2011).** Biological activity of phenolics in plant cells; in: « Recent Advances in Polyphenol Research » volume 2. Wiley-Blackwell. Singapore. 163-190.
- **BILEN S., ÜNAL S. et GÜVENSOY H. (2016).** Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanol extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 454: 90-94.
- **BNOUHAM M., MERHFOUR F.Z., ZIYYAT A., MEKHFI H., AZIZ M. et LEGSSYER A. (2003).** Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*, 74: 677-681.
- **BOBIS O., DEZMIREAN D.S., TOMOS L., CHIRILA F. et MARGHITAS L. AL. (2015).** Influence of phytochemical profile on antibacterial activity of different medicinal plants against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 1 (51) : 113-118.
- **BOIZOT N. et CHARPENTIER J-P. (2006).** Méthode Rapide d'Évaluation du Contenu en Composés Phénoliques des Organes d'un Arbre Forestier, INRA. Amélioration Génétique et Physiologie Forestières. Laboratoire d'Analyses Biochimiques. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*. 79-82.
- **BONDIA-PONS I., AURA A-M., VUORELA S., KOLEHMAINEN M., MYKKANEN H. et POUTANEN K. (2009).** Key phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereal Science*, 3 : 1-14.
- **BOUDHRIOUA N., BAHLOUL N., BEN SLIMEN I. et KECHAOU N. (2009).** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, 2/3 (29): 412-419.

Références bibliographiques

- **BOUZID W.,YAHYAI M., ABDAIDDEM M-C., ABERKANE A. et AYACHI. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'Aubépine monoxylé. *Lebanese Science Journal.*, 12 : 1-8.
- **BOZIN B., MIMICA-DUKIC N. et SAMOJLIK I. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*). *Food Chemistry.*, 111:925–929.
- **BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E. et BERSET C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel. Wissenschaft and Technology.*, 28: 25-30.
- **BRIAN-YVON MICHEL. (2012).** Aspects De La Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Edition L'Harmattan., Paris. 11-37
- **BRUNETON J. (2002).** Phytothérapie : Les Données de L'évolution. Lavoisier., Paris. 135-137.
- **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie. Lavoisier, 4^{ème} édition., Paris. 901-904.
- **CALLEMIEN D., JERKOVIC V., ROZENBERG R. et COLLIN S. (2005).** Hop as an interesting source of resveratrol for brewers: Optimization of the extraction and quantitative study by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 53: 424-429.
- **CALLEMIEN D., et COLLIN S. (2010).** Structure, organoleptic properties, quantification methods and stability of phenolic compounds in beer- a review. *Food Reviews International.*, 26 (1): 1-84.
- **CASSIDY A., HANLEY B. et LAMUELA-RAVENTOS R.M. (2000).** Isoflavones, lignans and stilbenes: origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*,348: 1230-1238.
- **CAUSSE C. (2004).** Les Secrets De Santé Des Antioxydants. Alpen Editions. Paris. 44-50.
- **CHANDRA-JOSHI., MUKHIJA M. et SEMWAL S. (2015).** Antioxidant potential and total phenolic content of *Urtica dioica* (Whole plant). *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, 2 (7): 120-128.
- **CLIFFORD M.N. (2000).** Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 8: 1063-1072.

Références bibliographiques

- **COLLIN S., COUNET C., CALLEMIEN D. et JERKOVIC V. (2011).** Nomenclature et voies de synthèse des principaux polyphénols ; in : « Polyphénols et Procédés : Transformation des polyphénols aux travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire ». Lavoisier., Paris. 5-25.
- **COUNET C. et COLLIN S. (2003).** Effect of the number of flavanol units on the antioxidant activity of procyanidin fractions isolated from chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 51: 6816-6822.
- **CROZIER A., JAGANATH I.B. et CLIFFORD M.N. (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports.*, 26: 1001-1043.
- **CROZIER A., DEL RIO D. et CLIFFORD M-N. (2010).** Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. Molecular Aspects of Medicine. *Phytochemicals and Cardiovascular Protection.* 31: 446-467.
- **DAMAK N., BOUAZIZ M., AYADI M., SAYADI S. et DAMAK M. (2008).** Effect of the maturation process on the phenolic fractions, fatty acids and antioxidant activity of the Chetoui olive fruit cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 56: 1560–1566.
- **DAOUDI A., SABIRI M., BAMMOU M., ZAIR T., IBIJBIJEN J. et NASSIRI L. (2015).** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences.*, 87 : 8094- 8104.
- **D'ARCHIVIO M., FILESI C. et DI BENEDETTO R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell' Istituto Superiore di Sanita.*, 43: 348-361.
- **DE LEONARDIS A., ACETINI A., ALFANO G., MACCIOLA V. et RANALLI G. (2008).** Isolation of a hydroxytyrosol rich extract from olive leaves (*Olea europea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology.*, 226: 653-659.
- **DELILLE L-A. (2010).** Les Plantes Médicinales d'Algérie. BERTI Editions, 2^{ème} édition., Alger. 188-189.
- **DELVAILLE A. (2013).** Toutes Les Vertus d'un Produit Miracle : l'Ortie. Artemis. Losange.

Références bibliographiques

- **DE REYNAL B. et MULTON J.L. (2009).** Additifs et Auxiliaires de Fabrication Dans les Industries Agroalimentaires. Edition Tec et Doc, 4^{ème} édition, Lavoisier. Paris. 194-200.
- **DJAHRA A.B., BORDJIBA O. et BENKHARARA S. (2013).** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie.*, 11 : 348-352.
- **DJENANE D., YANGUELA J., DERRICHE F., BOUARAB L. et RONCALES P. (2012).** Extrait de feuilles d'olivier ; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis et *Pseudomonas aeruginosa* ; application sur la viande de dinde. *Phytothérapie.*, 10-18.
- **DRÖGUE W. (2002).** Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews.*, 82: 47-95.
- **DUFOUR A. et DUPIN C. (2015).** Ma Bible de l'Alimentation Détox : Le livre de référence pour préserver votre santé. Leduc.s Editions. Paris. 59.
- **EBRAHIMZADEH M-A., NABAVI S-F., MAHMOUDI M., ESLAMI B. et DEHPOUR A-A. (2010).** Biological and pharmacological effects of *Delphinium elbursense*. *African Journal of Biotechnology.*, 9 (34): 5542-5549.
- **EDEAS M. (2010).** Polyphénols et jus de grenade. *Phytothérapie.*, 8: 16-20.
- **ELQAJ M., AHAMI A. et BELGHYTI D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- **ESCOPEDO-MARTINEZC., CRUZ-MORALES S., FRAGOSO-SERRANO M., RAHMAN M. M., GIBBONS S. et PEREDA-MIRANDA R. (2010).** Characterization of a xylose containing oligosaccharide, an inhibitor of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*, from *Ipomoea pes-caprae*. *Phytochemistry.*, 71(14-15):1796-1801.
- **FADILI K., AMALICH S., N'DEDIANHOUA S.K., BOUACHRINE M., MAHJOUBI M., EL HILALI F. et ZAIR T. (2015).** Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc : *Rosmarinus officinalis* et *Thymus satureioides*. *International Journal of Innovation and Scientific Research.*, 1(17) : 24-33.
- **FALCONER S. B., BROWN E. D. (2009).** New screens and targets in antibacterial drug discovery. *Current Opinion in Microbiology.*, 12(5):497-504.

Références bibliographiques

- **FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M. et ABDELLEY C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies.*, 331: 372-379.
- **FAVIER A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- **FERRUZI M.G. (2010).** The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea. *Physiology and Behavior.*, 100: 33-41.
- **FRITSCH H. et SCHIEBERLE P. (2003).** Changes in key aroma compounds during boiling of unhopped and hopped wort. *Proceedings of the Xth European Brewery Convention.*, 22: 1-22.
- **GEDDES A. (2005).** The future of infectious diseases. *Antibiotiques.* 7:75-76.
- **GERHAUSER C. (2008).** Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice and apple components. *Planta Medica Journal.*, 74: 1608-1624.
- **GHAEDI M., NAGHIHA R., JANNESAR R., DEHGHANIAN N., MIRTAMIZDOUST B. et PEZESHKPOUR V. (2015).** Antibacterial and antifungal activity of flower extracts of *Urticadioica*, *Chamaemelumnobile* and *Salviaofficinalis*: Effects of Zn [OH]₂ nanoparticles and Hp-2-minh on their property. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.*, 32: 353-359.
- **GHARBY S., HARHAR H., BOUZOUBAA Z., ROUDANI A., CHAFCHAOUNI I., KARTAH B. et CHARROUF Z. (2014).** Effet des polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol. *Journal of Materials and Environmental Science.*, 5 (2) : 464-469.
- **GHAZI S., ROUANI M., SEKKAT Z.L., IDRISSE I., ARAHOU M. et HASSIKOU R. (2015).** Activité anticandidosique de divers extraits d'*Artemisia mesatlantica* M. *Phytothérapie.* 1-11.
- **GOMEZ-CARAVACA A-M., GOMEZ-ROMERO M., ARRAEZ-ROMAN D., SEGURA-CARRETERO A. et FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*, 41: 1220-1234.
- **GREFF MICHEL. (2012).** Post'U FMC – HE. Springer Science and Business Media. Paris. 39.

Références bibliographiques

- **GRESELLE P., CERLETTI C., GUGLIELMINI G., PIGNATELLI P., DE GAETANO G. et VIOLI F. (2011).** Effect of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *Journal of Nutritional Biochemistry.*, 22: 201-211.
- **GUALERZI C.O., BRANDI L., FABBERETTI A. et PON C.L. (2014).** Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim. Germany. 73.
- **GUIL-GUERRERO J.L., REBOLLOSO-FUENTES M.M. et TORIJA ISASA M.E. (2003).** Fatty acids and carotenoids from Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 111-119.
- **GÜLÇİN I., KÜFREVİOĞLU O-I., OKTAY M. et BÜYÜKOKUROĞLU M-E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethno-Pharmacology.*, 90: 205-215.
- **HABAUZIT V. et HORCAJADA M-N. (2008).** Phenolic phytochemicals and bone. *Phytochemistry Reviews.*, 7: 313-344.
- **HARBONE J.B et WILLIAMS C.A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry.*, 55: 481-504.
- **HAYOUNI E-A., ABEDRABBA M., BOUIX M. et HAMDI M. (2007).** The effect of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* and *Juniperus phoenicea* L. fruits extracts. *Food Chemistry.*, 105 (3): 1126-1134.
- **HEMINGWAY R-W et LAKS P-E. (2012).** Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance (volume 59). Basic Life Science. New York. 901-902.
- **HENNEBELLE T. SAHPAZ S., SKALTSOUNIS A-L. et BAILLEUL F. (2007).** Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*. *Biochemical Systematics and Ecology.*, 35: 624-626.
- **ILIES D-C., TUDOR I. et RADULESCU V. (2012).** Chemical composition of the essential oil of *Urtica dioica*. *Chemistry of Natural Compounds.*, 3 (48) : 506-507.
- **INCE A-E., SAHIN S. et SUMNU G. (2014).** Comparison of microwave and ultrasound-assisted extraction techniques for leaching of phenolic compounds from nettle. *Journal of Food Science and Technology.*, 51 (10): 2776-2782.

Références bibliographiques

- **IRATNI AICHE-G., MOUALEK I., MESTAR GUECHAOUI-N., MEZAACHE AICHOIR S., ZERROUG M-M. et HOUALI K. (2015).** In vitro evaluation of biological activities of *Pistacia lentiscus* aqueous extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 11 (7): 133-139.
- **JERKOVIC V., NGUYEN F., TIMMERMANS A. et COLLIN S. (2008).** Stilbene extraction procedures for beer analysis. *Journal of the Institute of Brewing.*, 114 (2): 143-149.
- **KALAM S., SINGH R., MANI A., PATEL J., NAEM K.F. et PANDEY A. (2012).** Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal.*, 1: 18-34.
- **KANG D-G., YUN C-K. et LEE H-S. (2003).** Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology.*, 87: 231-236.
- **KANOUN K., ABOUNI B., BOUDISSA S., BOUHAFS N. et SEDDIKI M. (2016).** Etude de l'activité des extraits de feuilles de *Punica granatum* Linn sur *Candida albicans* et *Rhodotorula* spp. *Phytothérapie.*, 14 : 5-16.
- **KHAN M. S. et AHMAD I. (2012).** Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of Ethno-Pharmacology*. 140(2): 416-423.
- **KIPNIS E., DESSEIN R., FAURE K. et GUERY B. (2012).** Les thérapeutiques anti-infectieuses non antibiotiques. *Réanimation.*, 21 : 303-316.
- **KÖRPE D-A., İŞERİ Ö-D., SAHİN F-I., CABİ E. et HABERAL M. (2013).** High-antibacterial activity of *Urtica* ssp. seed extracts on food plant pathogenic bacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.*, 64 (3): 355-362.
- **KRAUSHOFER T. et SONTAG G. (2002).** Determination of some phenolic compounds in flax seed and nettle roots by HPLC with coulometric electrode array detection. *European Food Research and Technology*, 215: 529-533.
- **KUKRIĆ Z-Z., TOPALIĆ-TRIVUNOVIĆ L-N., KUKAVICA B-M., MATOŠ S-B., PAVIČIĆ S-S., BOROJA M-M. et SAVIĆ A-V. (2012).** Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta Periodica Technologica.*, 43: 257-272.

Références bibliographiques

- **KUREK A., NADKOWSKA P., PLISZKA S. et WOLSKA K. I. (2012).** Modulation of antibiotic resistance in bacterial pathogens by oleanolic acid and ursolic acid. *Phytomedicine*. 19 (6):515-519.
- **LAPINSKAYA E-S et KOPY'KO YA-F. (2008).** Composition of the lipophilic fraction of stinging nettle (*Urtica dioica* L. and *U. urens* L.) homeopathic matrix tinctures. *Pharmaceutical Chemistry Journal.*, 12 (42): 699-702.
- **LEE A.T., PROENC C., FERREIRA A.R., SERRALHEIRO M.L.M., NOGUEIRA J.M.F. et ARAUJO M.E.M. (2003).** Antioxidant and anti-acetylcholin esterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry.*, 103: 778-786.
- **LEFIEF-DELCOURT ALIX. (2012).** L'Ortie, C'est Malin : Santé, Beauté, Jardin, Maison... Toutes les vertus et les conseils pratiques de cette plante magique. Editions Leduc.s., Paris. 16-19.
- **LEV N., GILGUN-SHERKIY., OFFEN D. et MELAMED E. (2007).** The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: current state; in: « Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders ». Elsevier BV, 1st edition. Amsterdam. 283-295.
- **LEVY SB., et MARSHALL B. (2004).** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*. 10: 122-129.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses Polytechniques et Universitaires. Romandes. Lausanne. 145.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. et MANCHADO P.S. (2006).** Composés phénoliques dans la plante- structure, biosynthèse, répartition et rôles ; in : « Les Polyphénols En Agroalimentaire ». Edition Tec et Doc., Lavoisier., Paris. 3-26.
- **MADIGAN M. et MARTINKO J. (2007).** Brock Biologie Des Microorganismes. Edition Nouveaux Horizons-ARS, 11^{em} edition. Paris. 710-717.
- **MAHMOUDI S., KHALI M. et MAHMOUDI N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus* L.). *Nature et Technologie.*, 09 : 35-40.
- **MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., REMESY C. et JIMENEZ L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *AmJ.ClinNutr.*, 79:727-747.

Références bibliographiques

- **MARFAK A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes: étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools (Formation des depsides). Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie, Université de Limoges (France).
- **MARTIN S. et ANDRIANTSITOHAINA R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et Angéiologie*. 51 : 304-315.
- **MATÉS JM. (1999).** Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, 38: 595-603.
- **MEDART J. (2009).** Manuel Pratique De Nutrition : L'alimentation préventive et curative. De boeck, 2^{ème} édition., Bruxelles. 44-54.
- **MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N. et AYACHI A. (2013).** Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. 1 (14) : 49-60.
- **MILA I. et SCALBERT A. (1994).** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance.*, 381 (2) : 749-755.
- **MODARRESI-CHAHARDEHI A., IBRAHIM D., FARIZA-SULAIMAN S. et MOUSAVI L. (2012).** Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. *Revista de Biología Tropical*. 60: 1567-1576.
- **MOHAMMEDI ZOHRA (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarixaphylla* L. Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1 (2): 609-615.
- **MOLYNEUX P. (2004).** The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin. *Journal of Science and Technology.*, 26 (2): 211-219.
- **MONFARED M, KAMKAR A., GHAFARI-KHALIGH S., JEBELLI-JAVAN A., ASADI F., AKHUNDZADEH. et BASTI A. (2011).** Antioxidative effects of Iranian *Urtica dioica* L. extracts on the oxidation of sunflower oil. *Journal of Medicinal Plants Research.*, 5 (18): 4438-4445.
- **MORAND C. (2013).** Les polyphénols du thé et du cacao ont-ils des effets santé?. *Phytothérapie.*, 11 : 92-99.

Références bibliographiques

- **MOREIRA M.R., PONCE A.G., DEL VALLE C.E. et ROURA S.I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT- Food Science and Technology.*, 38: 565-570.
- **MOTILVA M-J., SERRA A. et MACIA A. (2013).** Analysis of food polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: An Overview. *Journal of Chromatography A, State of the art of (UHP) LC-MS (-MS). Techniques and their Practical Application.* 1292: 62-82.
- **NAUCIEL C et VILDE J-L. (2005).** Bactériologie Médicale : Connaissances et Pratique. Masson, 2^{ème} édition., Paris. 59-64.
- **NENCU IOANA., VLASE LAURIAN., ISTUDOR VIORICA., DUTU LIGIA-ELENA. Et GIRD CERASELA ELENA. (2012).** Preliminary research regarding the therapeutic uses of *Urtica dioica* L. Note I. The polyphénols evaluation. *Farmacia.*, 60 (4): 493- 500.
- **NEURATH A.R., STRICK N., LI Y.Y. et DEBNATH A.K. (2004).** *Punica granatum* (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infectious Diseases.*, 4: 41.
- **NIKI E. (2010).** Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine.*, 49: 503-515.
- **ORČIĆ D., FRANCIŠKOVIĆ M., BEKVALAC K., SVIRČEV E., BEARA I., LESJAK M et MIMICA-DUKIĆ N.(2014).** Quantitative determination of plant phenolics in *Urticadioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry.*, 143: 48-53.
- **OUELHADJ A., AMEL A., SIZINE K. et DJENANE D. (2014).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* récolté en Algérie. *Revue de Microbiologie Industrielle, sanitaire et Environnementale.*, 2 (8): 145-162.
- **PALUMBI S.R. (2001).** Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science.*, 293: 1786-1790.
- **PANDEY K.B et RIZVI S.I. (2011).** Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. *Biomedical Paper of Medecine Faculty- University PalackyOlomoucczech Republic.*, 155: 131-136.
- **PELLI K. et LYL Y M. (2003).** Les Antioxydants Dans l'Alimentation. Volume 3. *Biotechnologie Finlande.* Paris. 4-13.

Références bibliographiques

- **PFALLER M.A. (2012).** Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American journal of Medicine.*, 125 (1): S3-S13.
- **PFEIFER PATRICE. (2006).** Docteur, C'est La Prostate ? Tout sur la prostate, ses troubles, ses traitements. Editions Alpen., Paris. 53.
- **PIERRE MICHEL.et LYS MICHEL. (2007).** Secrets Des Plantes : Pour se soigner naturellement. Editions Artémis., Paris. 222.
- **PHAM-HUY L.A., HE H. et PHAM-HUY C. (2008).** Free radicals, antioxidant in disease and health. *International Journal of Biomedical Medicine.*, 4: 89-96.
- **PINELO M. ARNOUS A. et MEYER A-S. (2006).** Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology.*, 17: 579-590.
- **PRESCOTT., HARLEY., KLEIN., WILEY J.M., SHERWOOD L.M et WOOLVERTON C.J. (2010).** Microbiologie. De boeck.,Bruxelles. 849-856.
- **RAHMAN K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging.*, 2:219-236.
- **RENAULT ROGER C., PHILOGENE B. et VINCENT C. (2008).** Biopesticides d'Origine Végétale. Editions Tec et Doc, 2^{em} édition ., Lavoisier, Paris. 263-264.
- **REZAEIZADEH A., ZUKI ABZ., ABDOLLAHI M., GOH YM., NOORDIN MM. HAMID M. et AZMI TI. (2011).** Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. *African Journal of Biotechnology.*, 10 (24): 4932-4940.
- **RIOS J-L. et RECIO M-C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology.*, 100: 80-84.
- **ROBICZEK A., JACOBY G.A. et HOOPER D.C. (2006).** The worldwide emergence of plasmidmediated quinolone resistance. *The Lancet. Infectious diseases.*, 6: 629-640.
- **ROMBI M. et ROBERT D. (2007).** 120 Plantes Médicinales : Composition, Mode d'action et Intérêt Thérapeutique. Editions Alpen., Paris. 340-343.
- **RUIMY R., et ANDREMONT A. (2004).** Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. *Réanimation.* 13: 176-184.

Références bibliographiques

- **SABLONNIERE B. (2016).** Les Nouveaux Territoires Du Cerveau. Odile Jacob Sciences. Paris.
- **SANCHEZ-MORENO C., LARRAURI JOSE A. et SAURA-CALIXTO F. A. (1998).** Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76(2): 270-276.
- **SANCHEZ-MORENO C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*., 8: 121-137.
- **SANTOS-BUELGA C. et SCALBERT A. (2000).** Proanthocyanidins and tannin like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Science of Food and Agriculture*., 80: 1094-1117.
- **SCALBERT A., MANACH C. et MORAND C. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*., 45: 287-306.
- **SCHERER R., et GODOY H. T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*., 112: 654-658.
- **SIGALOFF K.C.E., RAMATSEBE T., VIANA R., RINKEDE WIT T.F., WALLIS C.L. et STEVENS W.S. (2012).** Accumulation of HIV Drug Resistance Mutations in Patients Failing First-Line Antiretroviral Treatment in South Africa. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 28(2):171-175.
- **SINGLETON PAUL. (1999).** Bactériologie. Edition Dunod, 4^{ème} édition., Paris. 339-351.
- **TALBI H., BOUMAZA A., EL-MOSTAFA K., TALBI J. et HILALI A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*., 6 (4): 1111-1117.
- **TAMERT A. et LATRECHE A. (2015).** Activité antioxydante des extraits de six *Lamiaceae* aromatiques de l'Algérie occidentale. *Phytothérapie*. 1-8.
- **TAO. et LAMBERT J.D. (2014).** Polyphenols in the Prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease, and Cancer. *Polyphenols in Human Health and Disease*., 2: 1191-1198.

Références bibliographiques

- **TAWAHA K., ALALI F-Q., GHARAIBEH M., MOHAMMAD M. et EL ELIMAT T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food. Chemistry.*, 104 (4): 1372-1378.
- **TAYGAT I., COLACINO E., TULKENS P. M., POUPAERT J. H., PREVOST M. et VAN BAMBEKE F. (2009).** DD-ligases as a potential target for antibiotics: past, present and future. *Current Medicinal Chemistry.* 16 (20): 2566-2580.
- **TEUSCHER E., ANTON R. et LOBSTEIN A. (2005).** Plantes Aromatiques : Epices, Aromates, Condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris.
- **TIM C.T.P et ANDREW J.L. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents.*, 26: 343-356.
- **TISSIER Y. (2011).** Les Vertus de L'ortie. Tredaniel. Le Courier du Livre. Paris.
- **TOMAS- BARBERAN., F.A. et CLIFFORD M.N. (2000).** Dietary hydroxybenzoic acid derivatives: nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 80: 1024-1032.
- **TORRES R., FAINI F., MODAK B., URBINA F., LABBE C. et GUERRERO J. (2006).** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry.*, 67: 984–987.
- **TORTORA GERARD J., FUNKE. BERDELL R et CASE. CHRISTINE L. (2011).** Introduction à La Microbiologie. ERPI Sciences, 2^{ème} édition., Pearson., Québec. 420-428.
- **TREKI S-A., MERGHEM R. et DEHIMAT L. (2009).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences et Technologie.* 29: 25-29.
- **UPTON ROY. (2013).** Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of Herbal Medicine.*, 3: 9-38.
- **VALKO M., LEIBFRITZ D., MONCOL J., CRONIN M.T., MAZUR M. et TELSER J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.*, 39: 44-84.
- **VANDEPUTTE P., FERRARI S. et COSTE A.T. (2011).** Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections. *International Journal of Microbiology.* 2012: 26.

Références bibliographiques

- **VASILEIOS Z., GEORGIA T-B., ATHANASSIOS M-A., GRIGORIOS D-B. et MILTIADIS V. (2010).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of phenolic extracts of olive fruits. *Food Chemistry.*, 120: 1097-1103.
- **VERCAUTERN J. et CHEZE C. (1998).** Polyphénols 96: 18th International Conference on Polyphenols. Les Colloques, N°87. *Institut National de la RechercheAgronomique (INRA)*. Paris. 11-89.
- **VERTIKA K., PRADEEP K., SHIKHAR V., ABHISHEK G., SHARAD S., AJAY K. et SINGH R. (2012).** Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica* L. *Pharmacognosy and Ethno-Pharmacology.*, 3 (3): 128-135.
- **WANG Y., WANG T., HU J., REN C., LEI H., HOU Y. et BRANTNER A. H. (2011).** Anti-biofilmactivity of TanReQing, a Traditional Chinese Medicine used for the treatment of acute pneumonia. *Journal of Ethno-Pharmacology.* 134 (1):165-170.
- **WATSON R-R., PREEDY V-R. et ZIBADI S. (2013).** Polyphenols in Human Health and Disease (volume 1). Press Academic, USA. 1-26; 201-270.
- **WONG J-G., ANDERSON R-A., GRAHAM G-M., CHU M-C., SAUER M-V., GUARNACCIA M-M. et LOBO R-A. (2006).** The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Fertil Steril.* 12: 12.
- **WRIGHT H. T. et REYNOLDS K. A. (2007).** Antibacterial targets in fatty acid biosynthesis. *Current Opinion in Microbiology.* 10(5): 447-453.
- **WU D et CEDERBAUM A. (2003).** Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alchol Research and Health.*, 27: 277-284.
- **YAKHLEF G., LAROUÏ S., HAMBABA L., ABERKANE M.C et AYACHI A. (2011).** Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie.*, 9 : 209-218.
- **YANAGIDA A., SHOJI T. et KANDA T. (2002).** Characterization of polymerized polyphenols by size-exclusion HPLC. *Bioscience. Biotechnology and Biochemistry.*, 66: 1972-1975.
- **YANAGIDA A., SHOJI T. et SHIBUSAWA Y. (2003).** Separation of proanthocyanidins by degree of polymerization by means of size-exclusion chromatography and related techniques. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods.*, 56: 311-322.

Références bibliographiques

- **YAO L. H., JIANG Y.M., SHI J., TOMAS-BARDERAN F.A., DATTA N., SINGANUSONG R. et CHEN S.S. (2004).** Flavonoids in food and their healthy benefits. *Plant Foods for Human Nutrition.*, 59: 113-122.
- **YAO J., WANG J.Y. et LIU L. (2010).** Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS-induced ulcerative colitis. *Archives of Medical Research.*, 41: 288-294.
- **YOUGBARE-ZIEBROU M.N., OUEDRAOGO N., LOMPO M., BATIONO H., YARO B., GNOULA C., SAWADOGO W.R. et GUISSOU I.P. (2015).** Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie.* 1-7.

ANNEXES

Annexe 1 :

Composition des solutions et milieux de culture utilisés

- **Eau physiologique stérile** (composition en g/l)
 - Chlorure de sodium(NaCl).....9g.
 - Eau distillée.....1000ml.
 - pH=7.
 - stérilisation à 120°C/15min.

- **Gélose Mueller Hinton** (composition en g/l)
 - Extrait de viande3g
 - Amidon1,5g
 - Hydrolysate acide de caséine17,5g
 - Agar.....18g
 - pH = 7,4

Annexe 2 : Courbes de régression de l'activité antioxydante qui ont servi au calcul de l'IC 50.

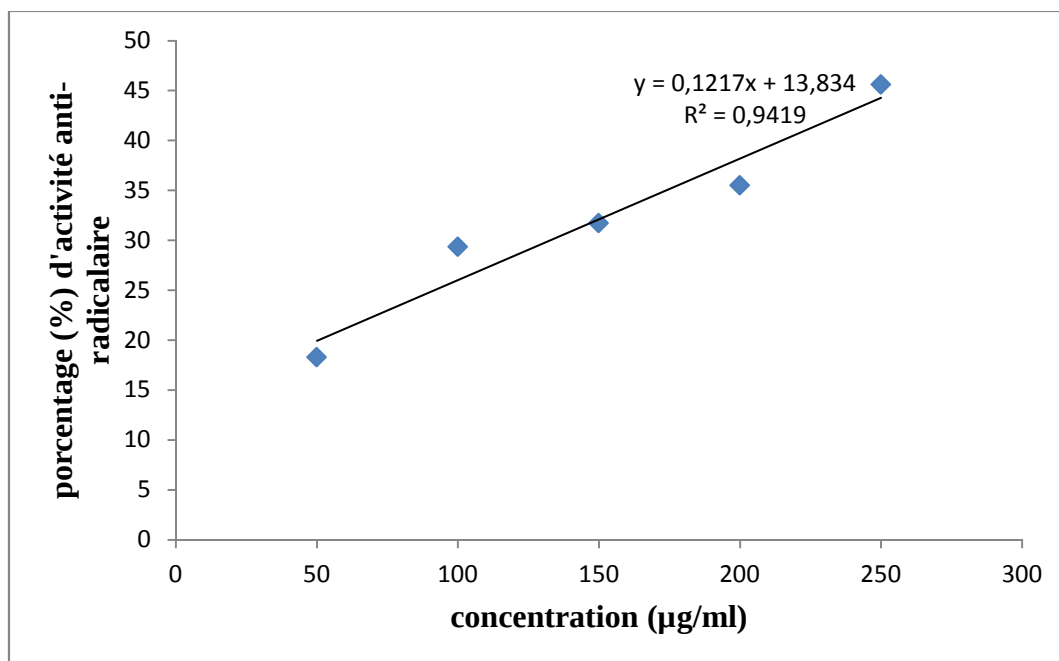


Figure 1 : Activité antioxydante de l'extrait de l'acétate d'éthyle

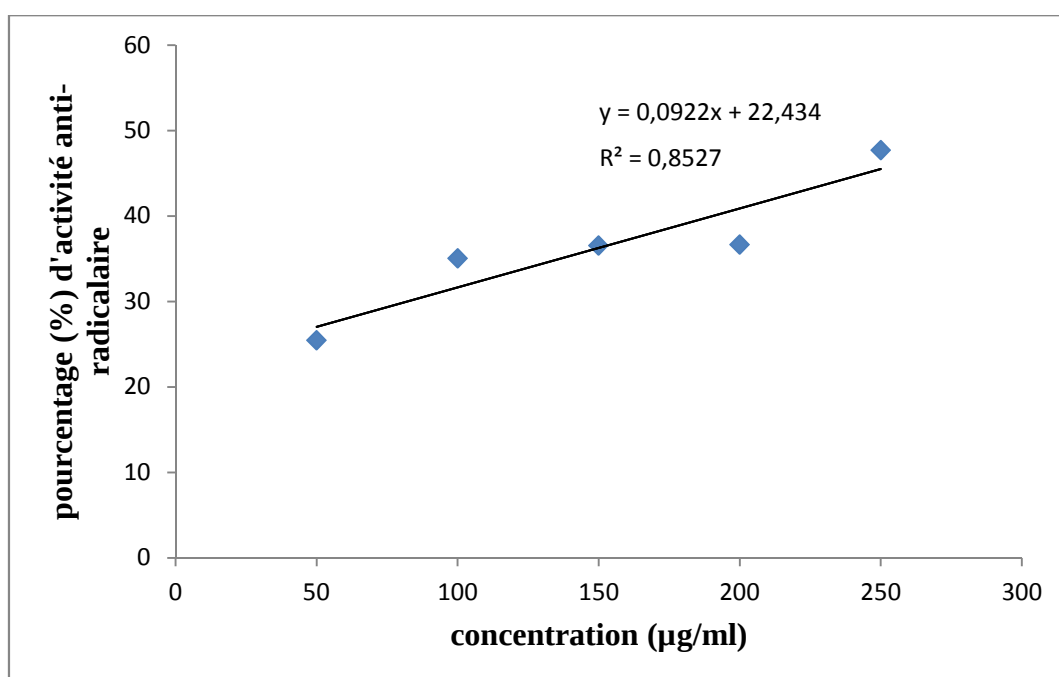


Figure 2 : Activité antioxydante de l'extrait aqueux

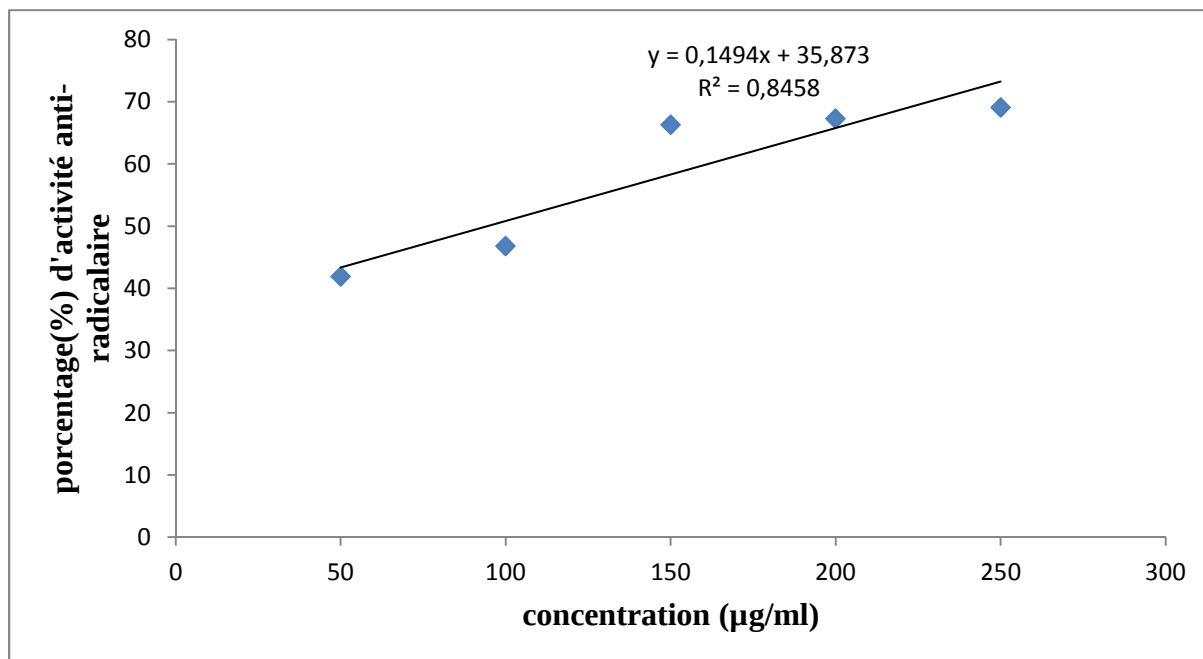


Figure 3 : Activité antioxydante de l'extrait éthanolique

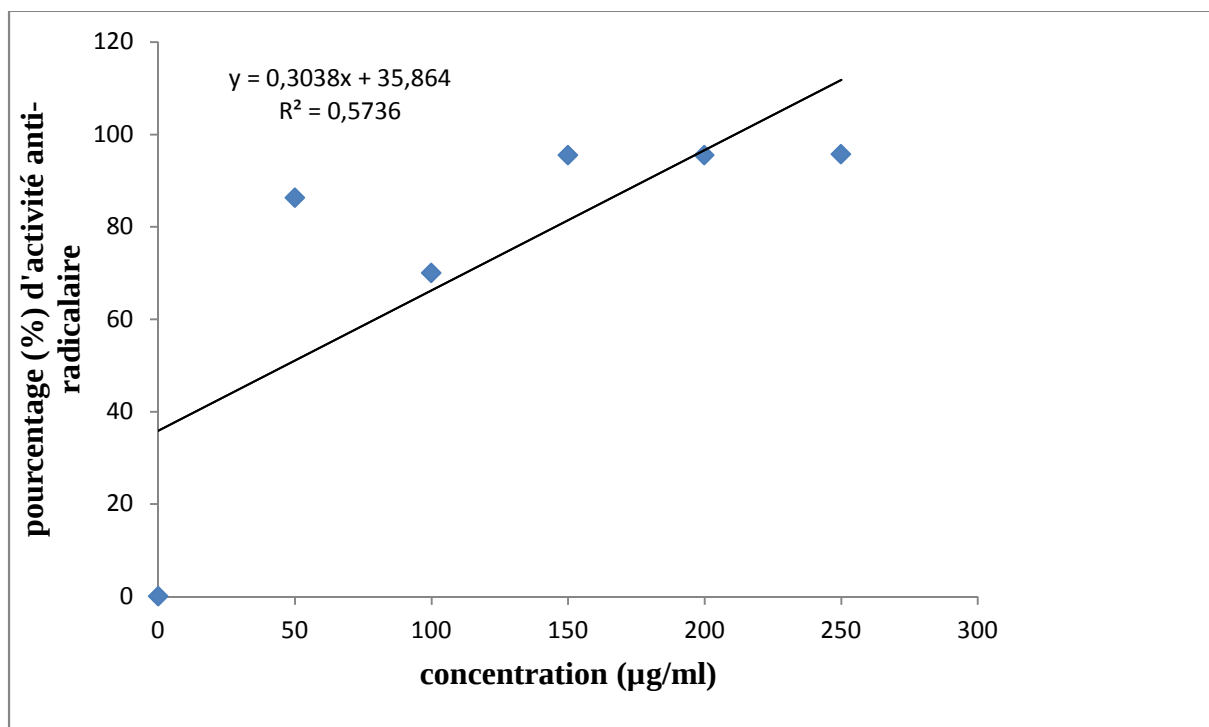


Figure 4 : Activité antioxydante du standard (l'acide ascorbique)

Annexe 3 : Résultats des tests statistiques

Tests Univariés de Significativité pour rendement(%) (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	223,8704	1	223,8704	102,8304	0,002043
extraits	61,6908	2	30,8454	14,1682	0,029621
Erreur	6,5313	3	2,1771		

Test de Newman-Keuls ; variable rendement(%) (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 2,1771, dl = 3,0000				
Cellule N°	extraits	rendement(%) Moyenne	1	2
2	acétique	2,000000	****	
3	éthanolique	6,500000	****	****
1	aqueux	9,825000		****

Figure 1 : tables de l'ANOVA et Newman Keuls pour les résultats du rendement d'extraction des polyphénols

Tests Univariés de Significativité pour teneur en PPT (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	78,77127	1	78,77127	1203,380	0,000053
extraits	69,67491	2	34,83745	532,208	0,000149
Erreur	0,19637	3	0,06546		

Test de Newman-Keuls ; variable teneur en PPT (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,06546, dl = 3,0000				
Cellule N°	extraits	teneur en PPT Moyenne	1	2
3	éthanolique	1,025000	****	
2	acétique	1,407500	****	
1	aqueux	8,437500		****

Figure 2 : tables de l'ANOVA et Newman Keuls pour les résultats du dosage des polyphénols totaux

Tests Univariés de Significativité pour % DPPH (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	60601,24	1	60601,24	708,5743	0,000000
extraits	11863,88	3	3954,63	46,2391	0,000000
Erreur	1368,41	16	85,53		

Test de Newman-Keuls ; variable % DPPH (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 85,526, dl = 16,000					
Cellule N°	extraits	% DPPH Moyenne	1	2	3
2	acétique	32,09200	****		
1	aqueux	36,25800	****		
3	éthanolique	58,28600		****	
4	standard	93,54800			****

Figure 3 : tables de l'ANOVA et Newman Keuls pour les résultats du pourcentage de piégeage de DPPH par les extraits et le standard

Tests Univariés de Significativité pour diametre (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	977,8519	1	977,8519	202,0355	0,000000
extraits(c1)	4,0181	2	2,0090	0,4151	0,666440
Erreur	87,1200	18	4,8400		

Figure 4 : table de l'ANOVA pour les résultats de l'activité antimicrobienne (C1=160 mg/ml)

Tests Univariés de Significativité pour diametre (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	1510,458	1	1510,458	136,3053	0,000000
extraits(c2)	22,447	2	11,223	1,0128	0,382984
Erreur	199,466	18	11,081		

Figure 5 : table de l'ANOVA pour les résultats de l'activité antimicrobienne (C2=500 mg/ml)

Annexe 4 :Couleurs et aspects des extraits obtenus



Figure 1 :Extrait aqueux : pâte collante, couleur brune



Figure 2 :Extrait éthanolique : pâte collante, couleur verte

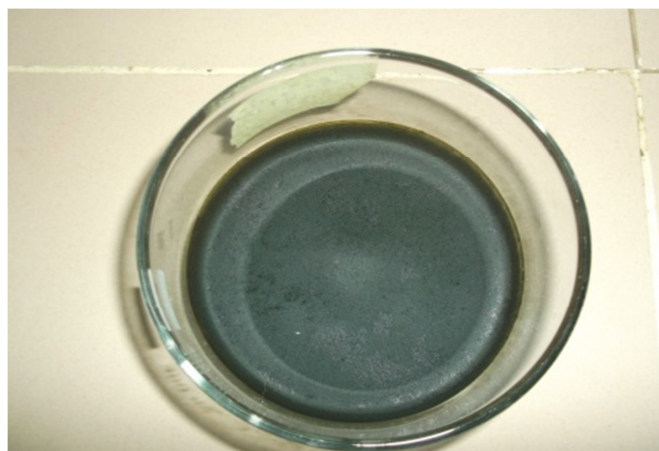


Figure 3 :Extrait à l'acétate d'éthyle : Pâteux d'un vert foncé

Annexe 5 : Les différentes étapes de l'extraction des polyphénols par macération



Figure 1 : Les parties aériennes sèches (Feuilles et graines) de l'ortie



Figure 2 : Poudre fine d'ortie



Figure 3 : Etape de macération



Figure 4 : Filtration sur tissu mousselin

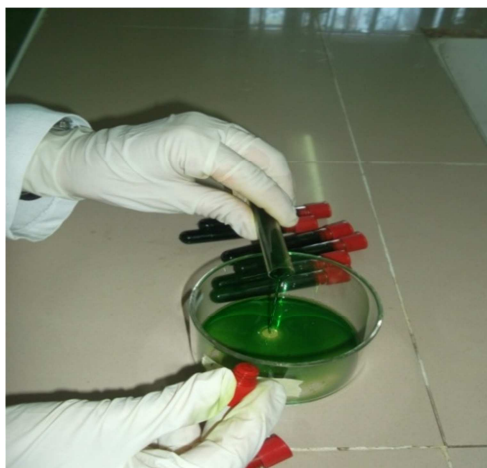


Figure 5 : Centrifugation des filtrats



Figure 6 : Filtration sur papier filtre N° 1

Annexe 6 : résultats de l'activité antioxydante

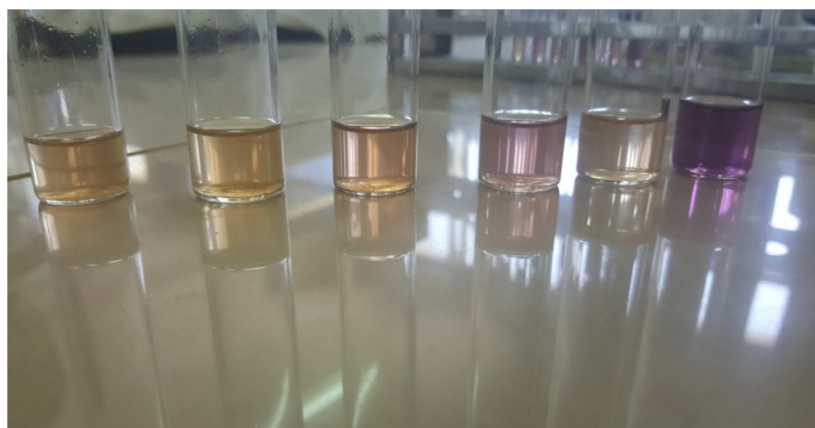


Figure 1 : extrait aqueux

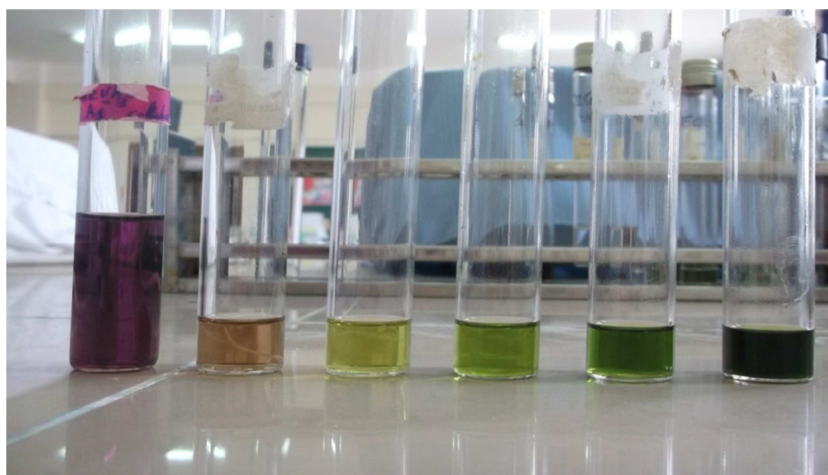


Figure 2 : extrait à l'acétate d'éthyle

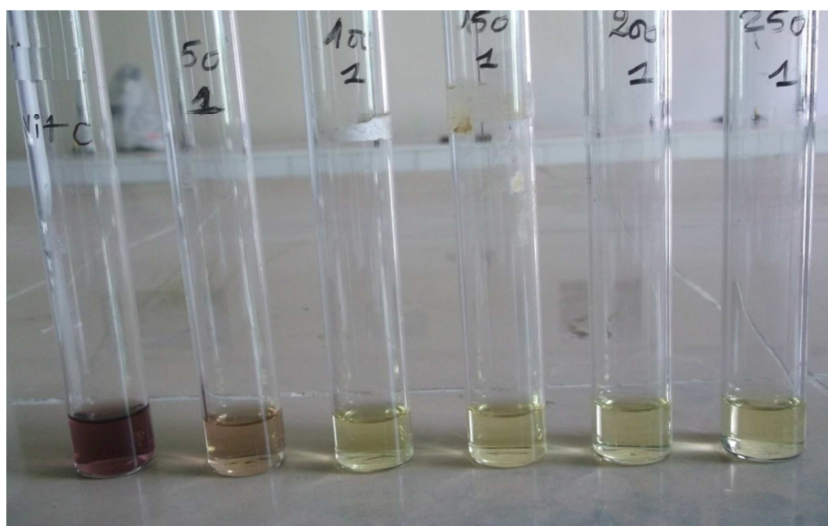


Figure 3 : acide ascorbique

Annexe 7 : Procédure de comptage avec la cellule de Malassez

La cellule de Malassez est une lame de verre épais qui porte à sa partie supérieure un réseau de lignes gravé perpendiculairement et qui délimite à leur croisement 100 rectangles d'égale surface :

- 25 rectangles divisés en 20 carrés
- 25 clairs
- 50 divisés (lignes horizontales)

Le quadrillage total de la cellule a un volume de 1 μl .

Mode opératoire

- On compte le nombre de cellules **N sur 10 petits rectangles** (sur 2 diagonales)
- On calcule le nombre de cellules **n** sur **un** rectangle $N/10$
- Le volume du petit rectangle est 0,01 μl
- On calcule le nombre de cellules sur toute la cellule (100 rectangles ou le grand rectangle) soit un volume total de 1 μl ($0,01 \mu\text{l} \times 100$) puis on rapporte au **ml de la suspension**.

Le nombre de cellules est calculé selon l'équation

$\text{Nombre de cellules /ml} = n \times 100 \times 10^3 = n \times$

Tenir compte du facteur de dilution

Résumé

Urtica dioica L. est une plante médicinale appartenant à la famille des Urticacées, cette espèce connue sous le nom de « Azegtouf », est très répandue dans le Tell algérien. Plante très utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus.

L'objectif de notre travail était d'extraire les polyphénols de l'ortie, de les doser et d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des différents extraits

Les extraits secs ont été obtenus par macération en utilisant l'eau distillée et deux solvants organiques : l'acétate d'éthyle et l'éthanol. Les rendements respectifs sont : $9,82 \pm 1,59$ % ; $2,5 \pm 0,7$ % et $6,5 \pm 1,41$ %.

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de $8,44 \pm 0,44$; $1,41 \pm 0,025$ et $1,02 \pm 0,021$ mg EAG/g de matière sèche dans les extraits aqueux, d'acétate d'éthyle et d'éthanol, respectivement.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du radical libre DPPH car elle est reconnue pour sa simplicité, sa rapidité et son efficacité en raison de la grande stabilité du radical. Les pourcentages de piégeage du DPPH et l'IC 50 respectivement ont été estimés à : $47,67 \pm 0,24$ % et $301,32 \pm 1,73$ µg/ml pour l'extrait aqueux, $45,61 \pm 0,7$ % et $298,84 \pm 4,25$ µg/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle, $69,07 \pm 0,25$ % et $94,73 \pm 3,95$ µg/ml pour l'extrait d'éthanol contre $95,70 \pm 0,6$ % et $28,6 \pm 0,41$ µg/ml pour l'acide ascorbique (standard), cela confirme le pouvoir antioxydant de la plante étudiée.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes et deux souches fongiques, selon la méthode de diffusion en milieu gélosé. Tous les extraits testés dans notre étude ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées, ce qui confirme que la plante *Urtica dioica* L. est douée de propriétés antimicrobiennes.

Mots clés : *Urtica dioica* L., extrait aqueux, extraits organiques, polyphénols, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Urtica dioica L. is a medicinal plant belonging to the Urticaceae family, this species known as « Azegtouf » is very widespread in the Algerian Tell. Plant widely used in traditional medicine for its many virtues.

The objectif of our work was to extract the polyphenols of the nettle, to dose and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of different extracts

The dried extracts were obtained by maceration using distilled water and two organic solvents: ethyl acetate and ethanol. The respective yields were: $9,82 \pm 1,59$ %, $2,5 \pm 0,7$ % and $6,5 \pm 1,41$ %.

The total content of phenolic compounds was determined using Folin-Ciocalteu reagent, it was: $8,44 \pm 0,44$; $1,41 \pm 0,025$ and $1,02 \pm 0,021$ mg GAE/g of dry weight of the aqueous extract, ethyl acetate and ethanol extracts respectively.

The antioxidant activity was evaluated using the free radical DPPH reduction method because it is known for its simplicity, speed and efficiency due to the stability of the radical.

DPPH sequestration percentages and the IC 50 respectively were estimated: $47,67 \pm 0,24$ % and $301,32 \pm 1,73$ µg / ml for aqueous extract, $45,61 \pm 0,7$ % and $298,84 \pm 4,25$ µg / ml for the ethyl acetate extract, $69,07 \pm 0,25$ % and $94,73 \pm 3,95$ µg / ml for the ethanol extract against $95,70 \pm 0,6$ % and $28,6 \pm 0,41$ µg / ml ascorbic acid (standard), this confirms the antioxidant power of plant studied.

The antimicrobial activity was determined in five bacterial strains and two fungal strains, according to the agar diffusion method. All samples tested in our study reacted positively at least one of the tested microbial strains, confirming that the *Urtica dioica* L. plant is endowed with antimicrobial properties.

Key words: *Urtica dioica* L., aqueous extract, organic extracts, polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity.