

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Intitulé du thème :

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

Présenté par : Mr Lebig Abdelmouhaimine

Mr Abdi Salem

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mr	Abbouni Bouziane	(Professeur/ UDL/SBA)
Examineur : Mme	Khaldi Amina	(M.C.A/ UDL/SBA)
Promoteur : Mme	El kadi Fatima Zohra	(M.C.A/ UDL/SBA)
Co-Promoteur : Melle	Bouyakoub Nesrine	(Doctorant/ UDL/SBA)

Année universitaire 2020 - 2021

Session : « Juin »

Remerciements

Tout d'abord, je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de la science comme je l'ai toujours souhaité.

Le travail présenté dans cette mémoire de master a été effectué sous la direction de Madame **El kadi Fatima Zohra**, maitre de conférences A à la faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Sidi Bel Abbés. Je tiens avant tout à exprimer ma sincère gratitude à mon encadreur Dr El kadi FZ pour son encadrement efficace et rigoureux. Merci pour votre confiance, vos encouragements, votre disponibilité et surtout votre patience. Votre esprit scientifique et votre compétence ont toujours suscité ma grande admiration. *Veillez bien accepter l'expression de ma gratitude et mon entière reconnaissance.*

Un remerciement particulier va à **M^{elle} Bouyakoub Nesrine** doctorante à la faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Sidi Bel Abbés, pour l'aide qu'elle nous a proposé dans les moments difficiles. Je la remercie pour sa bienveillance et ces conseils. *Je lui présente mes remerciements et ma grande reconnaissance.*

J'exprime mes plus vifs remerciements à Monsieur **Abbouni Bouziane**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbés, qui a bien voulu accepter de présider ce jury. *Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude et mon profond respect.*

Madame **Khaldi Amina**, Maitre de conférences A à l'université de Sidi Bel Abbés, me fait l'honneur d'examiner ce travail et de siéger dans ce jury. *Qu'elle trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.*

J'adresse mes chaleureux remerciements au personnel de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie pour la part active qu'ils ont entrepris dans la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation

Dédicaces

Je suis très honoré de dédier cet humble travail

*À la mémoire de mon père **Abdeslam** qui aurait été fière de moi
aujourd'hui*

*À la personne la plus chère au monde, **ma chère maman**, je ne
pourrais jamais atteindre mon objectif sans lui, que Dieu le
garde pour moi*

*À ma fiancée **Radjaa** dont la disponibilité fut sans égal, je dédie
mon frère **Hamed** et ma chère **Sœur Hayfa**.*

*Je dédie à mon partenaire de confiance **Salem** jusqu'à la fin, qui
a été à mes côtés.*

*À tous mes proches et amis : **Abdelhadi miloud bida**, **Bendida**,
Amine et **Naouel***

*Merci à tous les collègues et amis pour leurs suggestions et leur
précieux soutien.*

Abdelmouhaïmine...

Résumé

Introduction : le monde végétal est une excellente source de principes actifs, ce qui lui confère une activité antimicrobienne et antioxydant importante ; souvent recherché dans la médecine alternative et le domaine agroalimentaire. **Objectif :** Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles *urtica dioica L.* **Matériels et méthodes :** les extraits végétaux ont été obtenus par macération à froid en utilisant deux solvants : acétone (ACT) et éthanol (ETH) ainsi que par macération aqueuse en utilisant eaux distillée (ED). L'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes : (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilus*). **Résultats et discussion :** Selon la méthode de diffusion de disque l'évaluation de l'effet antibactérien des extraits phénolique (acétone et éthanol) des feuilles d'*urtica dioica L.* a permis d'affirmer qu'ils possèdent un pouvoir inhibiteur sur les souche bactériennes, contrairement a l'extrait aqueux qui n'a pas montré aucun pouvoir inhibiteur sur les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilus*). **Conclusion :** *Urtica dioica L.* représente une source importante de molécules bioactives et d'agents antibactériens naturels qui peuvent être une excellente alternative du traitement de la médecine moderne (antibiothérapie)

Mots clés : *urtica dioica L.*; extrait phénolique ; activité antimicrobienne. Aromatogramme ; CMI

Abstract

Introduction: The plant world is an excellent source of active principles, which gives it an important antimicrobial and antioxidant activity; often sought after in alternative medicine and the agri-food field. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of extracts from the leaves of *urtica dioica* L. **Materials and methods:** The plant extracts were obtained by cold maceration using two solvents: acetone (ACT) and ethanol (ETH) as well as by aqueous maceration using distilled water (ED). The antimicrobial activity was determined on four bacterial strains: (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilus*). **Results and discussion:** According to the disc diffusion method, the evaluation of the antibacterial effect of the phenolic extracts (acetone and ethanol) of the leaves of *Urtica dioica* L allowed us to affirm that they possess an inhibitory power on the bacterial strains, contrary to the aqueous extract which did not show any inhibitory power on the bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilus*). **Conclusion:** *Urtica dioica* L. represents an important source of bioactive molecules and natural antibacterial agents that can be an excellent alternative to the treatment of modern medicine (antibiotic therapy)

Key words: *urtica dioica* L; phenolic extract; antimicrobial activity. Aromatogram; MIC

الملخص

مقدمة: يعتبر عالم النبات مصدرًا ممتازًا للمكونات النشطة، مما يمنحه نشاطًا مهمًا كمضاد للميكروبات ومضاد للأكسدة؛ غالبًا ما يتم البحث عنه في الطب البديل ومجال الأغذية الزراعية. **هدف:** كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات أوراق نبات *urtica dioica L*. **المواد والأساليب:** تم الحصول على المستخلصات النباتية عن طريق النقع البارد باستخدام مذيبين: الأسيتون (ACT) والإيثانول (ETH) وكذلك عن طريق النقع المائي باستخدام الماء المقطر (ED). تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية: (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*). **النتائج والمناقشة:** وفقًا لطريقة نشر القرص ، سمح لنا تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات الفينولية (الأسيتون والإيثانول) لأوراق القريص أن نؤكد أنها تمتلك قوة مثبطة على السلالات البكتيرية ، على عكس المستخلص المائي الذي لم تظهر أي قوة مثبطة على السلالات البكتيرية (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*). **الإستنتاج:** يمثل *urtica dioica L* مصدرًا مهمًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا والعوامل المضادة للبكتيريا الطبيعية التي يمكن أن تكون بديلاً ممتازًا لعلاج الطب الحديث (العلاج بالمضادات الحيوية)

الكلمات الدالة: *urtica dioica L* ؛ مستخلص الفينول نشاط مضادات الميكروبات. أروماتوغرام. CMI

Listes des figures

Figure 1 : Vue dorsal de la feuille d' <i>Urtica dioïca</i> (REAUME. 2010)...	5
Figure 2 : Tige dressée d' <i>Urtica dioïca</i> (REAUME. 2010)	5
Figure 3 : Racines d' <i>Urtica dioïca</i> (REAUME. 2010)....	6
Figure 4 : Fleurs mâles et femelles d' <i>Urtica dioïca</i> (REAUME. 2010).....	6
Figure 5 : Fruit d' <i>Urtica dioïca</i> (REAUME. 2010) .	7
Figure 6 : Carte géographique de lieu de la récolte monts de Tessala	15
Figure 7 : Mode d'extraction de la plante ...	17
Figure 8 : Effet antibactérien des différents extraits des feuilles d' <i>Urtica dioïca</i> ...	20
Figure 9 : Effet d'extraits aqueux (EAM) des feuilles d' <i>Urtica dioïca</i> sur les souches bactérienne	22
Figure 10 : Effet inhibiteur dose dépendent de l'extrait macéré dans le éthanol sur les souches.....	23
Figure 11: Effet inhibiteur dose dépendent de l'extrait macéré dans l'acétone sur les souches...	23

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques organoleptiques des extraits végétaux	6
Tableau 2 : Aromatogramme des germes étudiés en présence des différents extraits d'Urtica dioïca.....	21
Tableau 3 : CMI des extraits macérés dans un solvant organique (mg/ml).....	22

Table des matières

Introduction

I. Description générale des Urticacées « <i>Urtica dioica</i> »	3
I.1. Dénominations de l'ortie	3
I.2. Origine et aire de répartition	3
I.3. Classification et Caractères Botaniques.....	4
I.4. Description de l'Ortie dioïque	4
I.4.1. Origine et aire de répartition	4
I.4.2. Appareil végétatif	4
I.4.3. Appareil reproducteurs.....	6
I.5. Utilisation d' <i>Urtica dioica</i>	7
I.5.1. Usages agricoles	8
I.5.2. Usages en cosmétique.....	8
I.5.3. Usages divers	8
I.5.4. Usages alimentaires	9
II. Activité antibactérienne.....	10
II.1. Généralités sur les bactéries.....	10
II.2. Culture des bactéries	10
II.3. Différents types de bactéries.....	10
II.3.1. Bactéries à Gram Négatif.....	10
II.3.2. Bactéries à gram positif.....	11
III.4. Antibiotiques.....	12
II.4.1. Définition	12
II.4.2. Classification	12
II.4.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques	13
II.4.4. Antibiogramme	13

II.5. Activité antibactérienne in-vitro	14
II.5.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	14
II.5.2. Concentration minimale bactéricide (CMB)	14

Matériels et méthodes

I. Matériel	15
I.1.1. Matériel végétal	15
I.1.2. Microorganismes utilisés	15
I.2. Matériel non biologique	16
II. Méthodes	16
II.1. Mode d'extraction de la plante	16
II.2. Extraits aqueux	17
II.3. Extraits par solvants organiques	17
II.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d' <i>Urtica dioïca</i>	18
II.4.1. Méthode de diffusion (Aromatogramme)	18
II.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	19
II.5.1. Méthode de dilution sur gélose	19

Résultats et discussion

I. Résultats	20
I.1. Caractéristiques organoleptiques	20
I.2. Etude de l'activité antibactérienne	20
I.3 Détermination de la CMI sur milieu gélosé	22
II. Discussion	23

Conclusion

Références bibliographiques.

Annexes.

Introduction

De tout temps et à travers les diverses civilisations, l'homme utilise plusieurs ressources trouvées dans son environnement, non seulement pour se nourrir mais aussi pour traiter et soigner certaines pathologies. En phytothérapie, les plantes médicinales sont les plus utilisées et la valeur médicinale de ces plantes est liée à leurs composés ou groupes phytochimiques (MOHAMED et al., 2009).

Pendant de nombreux siècles les plantes médicinales constituent une source d'une grande variété de composés biologiquement actifs, mais sont encore largement inexplorées (DAR et al., 2012).

D'autre part et à travers le monde, la médecine traditionnelle constitue soit le mode principal de soins de santé, soit un complément à ce dernier. L'OMS (2012) estime qu'environ 80% de la population africaine dépendent encore des médecines traditionnelles pour des soins de santé primaires. Et dans les pays industrialisés, c'est sous forme de thérapies complémentaires. En Europe et en Amérique du Nord, plus de la moitié de la population recourt à des compléments alimentaires à base de plantes, après l'Allemagne et le Canada.

L'Algérie, pays riche en patrimoine de plante disposant d'environ 3000 espèces botaniques variées utilisées pour soigner divers maladies (QUENZEL et SANTA, 1963). De nos jours, la médecine moderne dépend beaucoup des plantes et les laboratoires de biologie et de chimie investissent dans la recherche de nouveaux principes actifs et la compréhension de leurs modes d'action pour faire face aux diverses pathologies (CLEMENT, 2005). Actuellement environ 1/3 des médicaments sur le marché contiennent au moins une substance à base des plantes (NEWMAN et CRAGG, 2012). Une des singularités majeures de monde végétales ayant la capacité de produire des principes actifs très diversifiées. En effet des « métabolites primaires » (lipides, glucides, protides), et les « métabolites secondaires » qui n'ont pas essentiels à la vie des plantes (MACHEIX et al., 2005). On estime que Plus de 200 000 métabolites secondaires regroupés en trois grandes classes : les terpénoïdes, les alcaloïdes, et les molécules phénoliques (WINK, 2003 ; AHARONI et GALILI 2011). Ces derniers et principalement les flavonoïdes qui sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles : Une actions anti inflammatoires, antioxydantes, et antimicrobienne (LINDERSCHMIDT et al., 1986).

Actuellement, la résistance bactérienne aux antibiotiques est un grave problème de santé publique mondial, et la maîtrise des infections bactériennes devient très complexe à cause d'une utilisation anarchique, inadéquate des antibiotiques en santé humaine et animale. Et la problématique de cette résistance interpelle les communautés scientifiques à trouver de nouveaux agents antimicrobiens naturels en se référant aux plantes utilisées dans le traitement des maladies infectieuses en médecine traditionnelle (SAFFIDINE, 2015).

A la lumière de ces données, notre étude vise à réaliser une évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique (différentes méthodes d'extraction) d'une plante sauvage largement répondeuse en Algérie, l'ortie *Urtica doidica*

I. Description générale des Urticacées « *Urtica dioica* »

La famille des Urticacées comprend une cinquantaine de genres et après de 700 espèces réparties à travers le monde. Deux genres sont représentés dans nos pays septentrionaux: *Urtica* et *Parietaria*. On distingue les Urticacées avec poils urticants (genre *Urtica*) ou sans (genres *Parietaria* et *Boehmeria*).

Les principales espèces du genre *Urtica* sont :

- *Urtica dioica* L.
- *Urtica urens* L. (Ortie brûlante ou "petite ortie")
- *Urtica pilulifera* L. (Ortie romaine ou "ortie à pilules")
- *Urtica cannabina* L.
- *Urtica atrovirens* Req.
- *Urtica membranacea* Poiret.

Ce sont les espèces *U. dioica* et *U. urens* qui sont connues pour posséder des propriétés médicinales. *U. dioica* étant le sujet de cette étude. Les *Urticacées* sont des plantes herbacées élancées à feuilles stipulées opposées par deux et à petites fleurs unisexuées. Les fleurs mâles possèdent quatre sépales et quatre étamines, les fleurs femelles sont formées de quatre sépales et d'un carpelle, et donnent naissance à un fruit sec : un akène. (BERTRAND, BEZANGER-BEAUQUESNE et al., 1961).

I.1. Dénominations de l'ortie

D'après WICHTL et ANTON 1999, *Urtica dioica* L. est appelée :

- ✓ En français : Ortie commune, Grande ortie, Ortie vivace,
- ✓ En anglais: Nettle, Common Nettle, Stinging Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, California Nettle, Greater Nettle
- ✓ En arabe: حرايق, القراص

I.2. Origine et aire de répartition

Originnaire d'Eurasie, l'Ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud (BRISSE et al., 2003).

I.3. Classification et Caractères Botaniques

Le terme *Urtica* tire son nom du latin *uro* ou *urere* qui signifie "celle qui brûle", allusion à ses poils urticants dont le contact est très irritant. Le terme *dioica* vient de dioïque, ce qui signifie que les fleurs mâles et les fleurs femelles se trouvent sur des pieds séparés (RIOUX et al., 2009).

Selon (QUEZEL & SANTA, 1963). *Urtica dioica* L. appartient au :

- Règne : *plantae* (plantes).
- Sous-règne : *Tracheobionta* (plantes vasculaires).
- Embranchement : *Magnoliophyta* (phanérogames).
- Sous-embranchement : *Magnoliophytina* (angiospermes).
- Classe : *Rosidaeae*.
- Sous-classe : *Rosidaeae dialycarpellées*.
- Ordre : *Rosales*.
- Famille : *Urticaceae*.
- Genre : *Urtica* L.
- Genre espèce : *Urtica dioica* L.

I.4. Description de l'Ortie dioïque

L'Ortie dioïque est aussi appelée "Grande Ortie », "Ortie commune" ou "Ortie vivace". L'ortie est une plante herbacée vivace, vigoureuse et à longue durée de vie par un rhizome jaune rampant, nitrophile, couverte de poils crochus irritants elle peut atteindre 1,50 mètre de haut (BELOUED., 2001).

I.4.1. Origine et aire de répartition

Originnaire d'Eurasie, l'Ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud (BRISSE et al., 2003).

I.4.2. Appareil végétatif

Urtica dioica est constituée de feuilles simples charnues, tombantes dentelées, grossièrement en forme de cœur, et la tige sont recouverts de poils urticants blanc (Alternatine medicine review., 2007).

Les feuilles simples à long pétiole sont opposées deux à deux, de couleur vert foncé en raison de leur richesse en chlorophylle (SCHAFFNER., 1992 ; MOUTSIE., 2008)

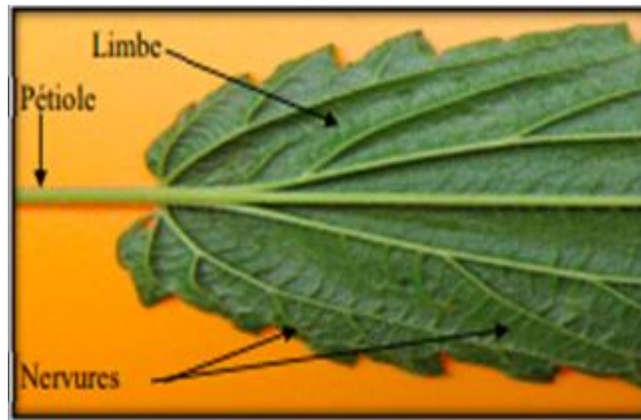


Figure 1 : Vue dorsale de la feuille d'*Urtica dioïca* (REAUME. 2010).

✓ Tiges

Elle est dressée, velue, non ramifiée et quadrangulaire portant des poils urticantes et des poils courts, très fibreuse porte des feuilles opposées ovales, acuminées fortement dentées sur les bords, à grosse dents ovales- triangulaires (SCHAFFNER., 1992).

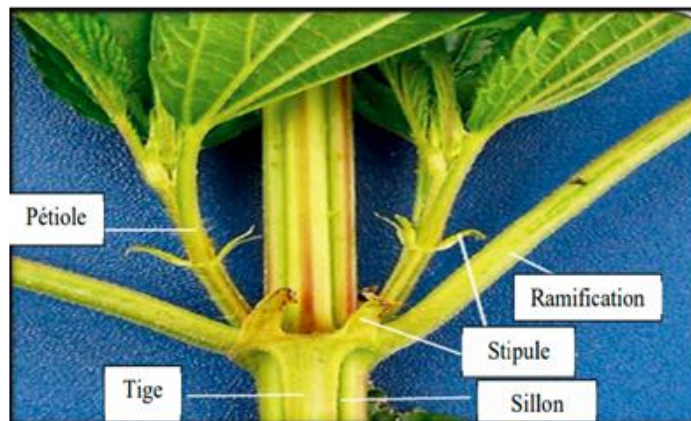


Figure 2 : Tige dressée d'*Urtica dioïca* (REAUME. 2010).

✓ Racines

Ce sont des rhizomes – tiges souterraines, jaunâtres, traçants et abondamment ramifiés qui développent chaque année de nouvelles pousses, d'où le caractère par fois envahissant de l'ortie ils fixent l'azote de l'air grâce à l'action de microorganismes (*Rhizobium frankia*) qui vivent en symbiose avec l'ortie (MOUTSIE., 2008)

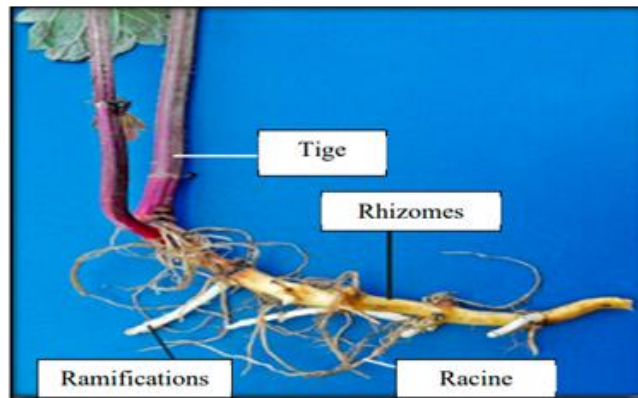


Figure 3 : Racines d'*Urtica dioica* (REAUME. 2010).

I.4.3. Appareil reproducteurs

Les orties peuvent se reproduire de deux manières (FLEURENTIN. 2008) :

-Reproduction sexuée par les fleurs mâles et femelles portées sur les pieds différents.
En raison des anthères explosives, la pollinisation est véhiculée par le vent (par le vent)
Déversement de pollen.

-En produisant une reproduction asexuée (formation de stolons) à partir de coureurs
Nœuds qui produisent de nouvelles plantes) ou des rhizomes.

✓ Fleurs

Elles sont déposées en grappes ramifiées, allongées et pendantes, les grappes se situent à l'aisselle des feuilles comme déjà dit, la grande ortie et dioïque car elle porte les fleurs femelles et male sur des plants différents (BOULLARD., 2001 ; FLEURENTIN., 2008).



Figure 4 : Fleurs mâles et femelles d'*Urtica dioica* (REAUME. 2010)

- Fleurs femelles : Elles ont 4 sépales et un ovaire velu de couler verdâtre, les grappes qui les portent pendent, en particulier lorsque les graines se forment, elles sont dépourvues de nectar (MOUTSIE., 2008)

- Fleurs males : Elles ont 4 sépales et 4 étamines, elles sont portées par longues grappes serrées très rameuses, développées par paires, à l'aisselle des feuilles. Chaque étamine libère environ 15000 graines de pollen jaune, à la réputation allergisante (MOUTSIE., 2008).

La floraison est estivale, soit du printemps jusqu'au début d'automne (FLETCHER., 2007).

✓ Fruit et la graine

Le fruit d'*Urtica dioica* L est constitué d'un akène, formé dans un calice persistant, contient une graine provenant des panicules à maturité, leur couleur sable à jaune – brun, de forme aplatie, ovoïde et pointue, mesure 1.0 à 1.5 mm de long sur 0.7 à 1.0 mm de large. Son extrémité pointue porte des restes de stigmates pénicillés. Ces fruits sont très souvent entourés de deux petites feuilles extérieurs, étroites, et de deux feuilles intérieures plus grandes, larges et de couleurs vertes ou de leurs restes (WICHTL et ANTON., 2003).

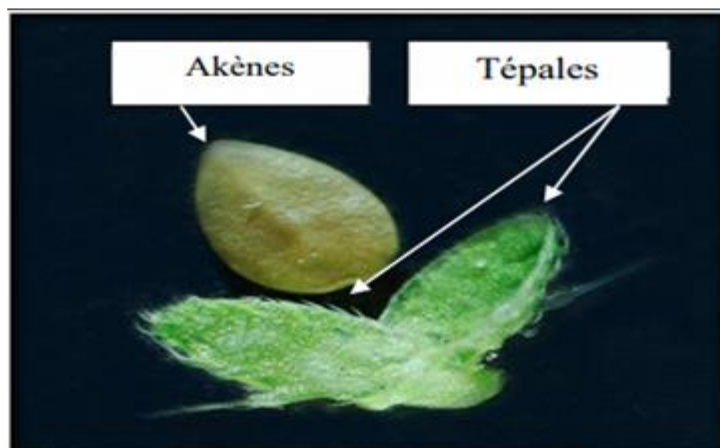


Figure 5 : Fruit d'*Urtica dioica* (REAUME. 2010).

I.5. Utilisation d'*Urtica dioica*

L'Ortie est une des rares plantes que l'on peut reconnaître les yeux fermés. Elle est considérée comme une « mauvaise herbe », mais en réalité c'est une plante riche en vitamines et minéraux et pourvue de nombreuses vertus. Son utilisation est multiple, elle est

employée à des fins médicinales en agriculture, en alimentation, en cosmétique, en teinturerie, dans l'industrie du textile (**BERTRAND et JEANNE., 2008**).

I.5.1. Usages agricoles

L'ortie nous plonge au tout début de l'agriculture. Car cette plante fut rapidement apprivoisée et devint une alliée précieuse du jardinier, qui peut, grâce à quelques applications simples, rendre son jardin plus productif (**TABARDEL., 2003**).

Il appréciera ses vertus fertilisantes et insecticides, et renforcera la vitalité de ses légumes. Mais c'est surtout pour le jardinier biologique qu'elle est un outil indispensable. C'est, entre autres, grâce à elle et à ses multiples utilisations que l'on peut sans difficulté se passer des traitements qui empoisonnent le jardin et notre santé. On note aussi que sa seule présence stimule la croissance des végétaux voisins, de plus elle protège le sol des accidents climatiques (**BERTRAND., 2007**).

Le purin d'ortie s'utilise soit comme fertilisant, soit en traitement préventif de certaines maladies ou invasions de parasites. Sa réputation est ancienne. On l'utilisait en agrobiologie sans même connaître les raisons scientifiques. Ce n'est que récemment que des chercheurs, intrigués par ces résultats, ont décidé de le soumettre à de rigoureuses expérimentations. Les travaux effectués en 1981, sont l'œuvre de ROIF Peterson, chercheur suédois. Ils confirment en tous points les travaux de terrain et donnent des arguments de poids aux fervents défenseurs de l'agriculture biologique (**PETERSON., 1986**). Sans oublier que c'est aussi un excellent accélérateur de compost (**BERTRAND., 2007**).

I.5.2. Usages en cosmétique

L'Ortie est également utilisée en cosmétique sous forme de shampoing, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux (les feuilles et les racines sont d'excellents toniques capillaires) et dans certains produits pour traiter les maladies de la peau comme l'eczéma et l'acné (**BINNS., 2006**).

I.5.3. Usages divers

L'Ortie est aussi utilisée pour certains colorants car elle a une haute teneur en chlorophylle. Ses teintes vont du jaune (racines) au vert (feuilles). On a extrait de la chlorophylle des colorants alimentaires (E140), des arômes utilisés pour des dentifrices et chewing-gums (**SYLVIE et GHISLAIN., 2005**). On retrouve également cette plante dans la fabrication du papier et dans la composition de billets de banque (**PETIOT et al., 2010**).

On cite aussi qu'en Normandie, l'ortie était utilisée pour enlever les taches de graisse récalcitrantes. En montagne, les bergers récuraient leur chaudron à fromage avec une poignée d'orties fraîches. Cette propriété bien réelle de l'ortie est due à la forte concentration de la plante en silice (dans les poils) et en cristaux de calcium (dans l'épiderme) (**BERTRAND., 2002**)

I.5.4. Usages alimentaires

« Il y en a des plus riches que moi qui ont mangé des orties ! » Dictionnaire populaire français. L'ortie dioïque fait sans doute partie de ces légumes primitifs. Consommés depuis la nuit des temps.

Les feuilles de cette plante sont comestibles, et peuvent être mangées crues (hachées en salade) ou en légumes, dans des gratins, en soupe, des quiches ou dans la potée aux orties. Le plus souvent elles sont consommées cuites à l'instar des épinards (**COUPLAN et STYNER., 2002**).

L'ortie est aussi cultivée à des fins alimentaires pour ensuite être vendue dans des magasins d'alimentation bio sous des présentations pratiques (**BERTRAND et JEANNE., 2000**).

C'est une plante extrêmement nutritive car elle est riche en chlorophylle et en minéraux, dont le fer, en protéines et en vitamines. Un taux de 4,8 mg de chlorophylle par gramme des feuilles sèches a été trouvé. Cultivée depuis des temps immémoriaux comme fourrage, l'ortie a l'avantage d'être présente autour de toute ferme.

Les agriculteurs mettent à profit toutes les parties de la plante pour alimenter le bétail, qu'il soit grand ou petit, de la poule à la vache. Fauchée, puis fanée et séchée, l'ortie perd son pouvoir urticant, et constitue un fourrage d'excellente qualité, particulièrement riche en éléments minéraux et en protéines. Elle peut être donnée à tous les animaux de la ferme. Celle-ci peut être consommée fraîche ou sèche, seule ou mélangée à d'autres aliments (**TABARDEL., 2003**).

La feuille d'ortie fraîche finement hachée est mélangée à du son et de la farine, servait à engraisser les dindonneaux, les poulets et les canards. Tandis que les chevaux, ânes et les ruminants apprécient la feuille d'ortie, quand elle est sèche (**LIEUTAGHI., 1996**).

II. Activité antibactérienne

II.1. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des microorganismes procaryotes, unicellulaire, observable uniquement au microscope. Le matériel génétique est présent dans le cytoplasme sous forme d'un chromosome unique et circulaire, en plus des autres organites tel que les ribosomes essentiels à la fabrication de protéines ou encore des organites responsables du fonctionnement métabolique (VINCENT et al., 2013).

Les bactéries se reproduisent par scissiparité (chaque division bactérienne donne naissance à deux bactéries filles identiques, un clone est en fait constitué). Elles sont capables d'échanger du matériel génétique (phénomène de conjugaison, transformation) et d'acquérir ainsi de nouveaux caractères par l'intermédiaire de plasmides ou de transposons. Cet échange du « matériel de résistance » est important pour comprendre l'apparition de cette résistance aux antibiotiques (EGAN, 2013).

II.2. Culture des bactéries

En général, des milieux de culture complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes sont utilisés pour la culture bactérienne. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. Le processus de la solidification est obtenu par l'addition de l'agar (un extrait d'algues) qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe), ce qui permet le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon. D'autre part, les bactéries sur milieu liquide se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène (NAUCIEL et VILDE, 2005).

II.3. Différents types de bactéries

II.3.1. Bactéries à Gram Négatif

✓ *Pseudomonas aeruginosa*

Sont des bactéries bacille pyocyanique, commensale des muqueuses et des téguments de l'homme et des animaux, saprophyte de l'air, de l'eau et du sol. Elle possède un pouvoir pathogène.

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae* qui est caractérisée par une forme bâtonnet, mobile par cils polaires, aérobie stricte et cultivable facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à température de 30°C. L'espèce de *P.aeruginosa* est capable de proliférer à 41°C et même 43°C, ce caractère étant utilisé pour le diagnostic.

Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie telles que les glucides, acides aminés, acides organiques, lipides, et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpénique (LECLERC, 1995).

✓ *Escherichia coli*

E. coli, un hôte commun de l'intestin de l'homme (10⁸/ g de selles) et des animaux, recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale dans l'eau et les aliments. Ce genre comprend 5 espèces, mais *Escherichia coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents.

Les bactéries de cette famille se cultivent facilement sur des milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie : sucres, acides aminés, acides organiques. Elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches (LECLERC, 1995).

II.3.2. Bactéries à gram positif

✓ *Staphylococcus aureus*

Etymologiquement, le terme staphylocoques, provient de grec (staphylos) qui signifie bactéries sphériques, se divisant sur plusieurs plans pour former des amas en grappe de raisin, immobiles. Des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutanomuqueuses des mammifères. Mais prédominante chez l'homme et autres mammifères dans les cavités nasale, sa niche préférentielle.

Elles se cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl allant jusqu'au 15% pour certaines. Les staphylocoques sont aérobies ou anaérobies facultatives (BENZEGGOUTA, 2005).

II.4. Antibiotiques

II.4.1. Définition

Les antibiotiques sont des produits naturels synthétisés par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et héli synthèse. Ils sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la prolifération des micro-organismes ou pour les détruire (MANGINI, 2016).

II.4.2. Classification

La classification des différents groupes d'antibiotiques est basée sur plusieurs critères. Parmi ces derniers, on cite :

▪ Site d'action spécifique

- Action sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones, sulfamides) et action sur les membranes (polymyxines, daptomycine)
- Inhibition de la synthèse protéique (aminosides, cyclines, phénicolés, acide).
- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine).

▪ Spectre antibactérien

Il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et ainsi ses limites.

- Les antibiotiques à spectre étroit : efficaces sur un nombre limité d'agents infectieux leur permettant de cibler une pathologie en particulier.
- Les antibiotiques à spectre large : efficaces sur un grand nombre d'agents pathogènes. En effet, sera actif sur une grande partie de tous les Cocci et tous les bacilles.

▪ Modalités d'action

- Un effet bactéricide qui cause la mort de l'agent pathogène,
- Un effet bactériostatique qui provoque une inhibition réversible de la croissance de l'organisme cible (DEMORE, 2012).

-

II.4.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylo-génétiquement liées (BOERLIN et WHITE, 2006).

✓ Résistance naturelle ou résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce (Faure, 2009).

✓ Résistance acquise

Elle est présente seulement chez certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger. (FAURE, 2009).

II.4.4. Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique ou un examen bactériologique de référence qui permet de cultiver les bactéries présentes dans un prélèvement, pour l'identification et ensuite tester sur les colonies obtenues divers antibiotiques.

Il permet d'une part, de prédire la sensibilité d'une bactérie à un ou plusieurs antibiotiques dans un but thérapeutique, mais aussi pour surveiller l'épidémiologie des résistances.

Cet examen se réalise dans des conditions de culture normalisées, qui sert à étudier l'effet des antibiotiques *in vitro* afin de déterminer des corrélations et d'apprécier l'efficacité *in vivo* de l'antibiotique. Donc, la réussite (ou l'échec) du traitement sur la base de données *in vitro* (DEMORE, 2012).

Les techniques pour l'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits

✓ Méthode des puits de diffusion

Pour réaliser ce test on utilise le milieu Muller-Hinton agar pour la culture des différentes souches bactériennes examinée. Le milieu est coulé dans des boîtes de pétri (9 cm de diamètre) avec une épaisseur de 4 mm. Puis les boîtes sont séchées à 37 °C pendant 30 min avant l'utilisation)

A partir de cultures bactériennes de 6 heures en bouillon nutritif avec agitation à 37°C, des dilutions sont faites en eau physiologique stérile (10-1,10-2), 5 ml de la dilution (10-2) de chaque souche sont versés sur le milieu solidifié et l'excès est éliminé après 2 à 3 min (méthode d'inondation). A la surface des boîtes inoculées on provoque 1 ou 3 puits de 8 mm et chacun est imprégné par 60 µl d'échantillon dissout dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) ou dans l'eau avec une concentration de 30mg /ml (1.8 m /puits).

Après un temps d'incubation (24 h) à 37°C. Les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres et comparées avec celles du DMSO ou H₂O comme contrôle négatif et d'un antibiotique comme contrôle positif (VARDAR UNLU et al. 2003)

✓ Méthode des disques de diffusion

De la même façon de la méthode des puits, à partir de cultures bactériennes de 6 heures en bouillon nutritif avec agitation à 37°C, des dilutions sont faites en eau physiologique stérile (10-1, 10-2), 5 ml de la dilution (10-2) de chaque souche sont versés sur le milieu solidifié et l'excès est éliminé après 2 à 3 min. A l'aide d'une pince stérile 1 ou 3 disques de diffusion sont placés à la surface des boîtes inoculées et chacun est injecté par 10 µl de l'huile essentielle, Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition sont mesurées en millimètres et comparées avec celle d'un antibiotique (GULLUCE et al. 2003).

II.5. Activité antibactérienne in-vitro

II.5.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

C'est une valeur indicatrice du pouvoir bactériostatique, c'est la concentration la plus faible d'un antibiotique qui empêche le développement d'un germe après 18 à 24h d'incubation à 35°C.

II.5.2. Concentration minimale bactéricide (CMB)

C'est une valeur indicatrice du pouvoir bactéricide, c'est la concentration la plus faible capable d'entraîner la mort d'au moins 99,9% des germes d'un inoculum standardisé (MANGINI, 2016).

On détermine ainsi l'activité intrinsèque d'un antibiotique selon le rapport CMB/CMI

- ✓ $CMB/CMI \leq 2$ Antibiotique bactéricide
- ✓ $CMB/CMI = 4 \text{ à } 16$ Antibiotique bactériostatique
- ✓ $CMB/CMI > 16$ Bactérie "tolérante" à l'antibiotique

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Le présent travail a été réalisé sur la partie aérienne (feuilles) de la plante sauvage *Urtica dioica*. Les feuilles d'ortie ont été récoltées dans la zone de TESSALA en mars 2021 (**Figure 6**), située à 25 kilomètres au nord-ouest de Sidi bel abbés. Les feuilles sont lavées, séchées et broyées. La poudre obtenue a été stocké à l'abri de la lumière.

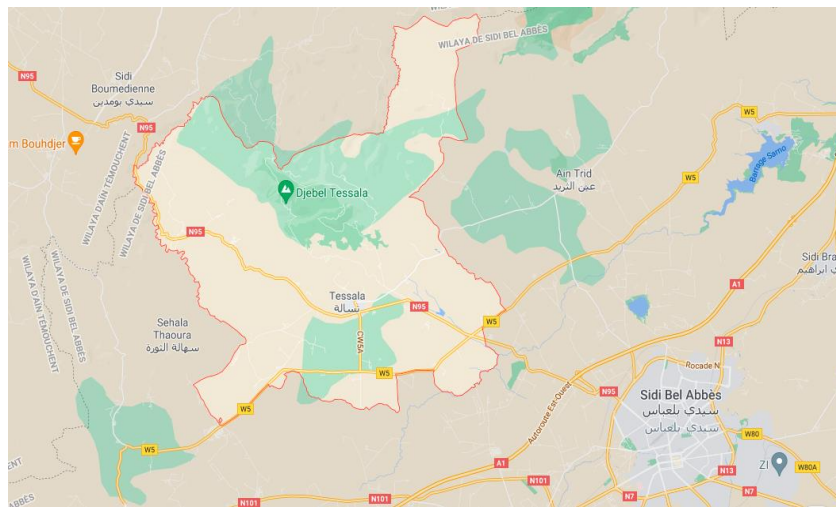


Figure 6 : Carte géographique de lieu de la récolte monts de TESSALA.

I.1.2. Microorganismes utilisés

Les souches identifiées sont fournies par le laboratoire de microbiologie Faculté des sciences naturelles et de la vie. Tenter d'élargir le champ de détection des bactéries : Gram-positif et Gram-négatif :

1. EC : *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram-)
2. E : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Gram+)
3. S : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram+)
4. M : *Micrococcus luteus* ATCC 4698 (Gram+)

I.2. Matériel non biologique

Appareillages : Étuve à 37°C ; Balance analytique ; Bain-marie ; Vortex ; Agitateur magnétique ; Rotavapeur ; Spectrophotomètre ; Autoclave

Solvants organiques : Acétone ; Ethanol

Milieux de culture : suivant les méthodes employées, et selon les souches, nous avons utilisé les milieux de culture suivants : Mueller Hinton (MH) ; Gélose nutritif (GN)

Réactifs et produits chimiques : eau distillée ; Le diméthyle sulfoxyde (DMSO) ; Eau physiologique stérile.

II. Méthodes

II.1. Mode d'extraction de la plante

L'extraction des plantes médicinales est très importante pour avoir un extrait de bonne qualité et de grande quantité. La qualité d'un extrait-fluide de phytothérapie peut se résumer à trois points principaux :

- La qualité de la matière première, c'est-à-dire la garantie de la certification biologique, et la provenance des plantes,
- Le type de solvant employé : de l'eau, de l'alcool ou d'autres substances plus ou moins toxiques qui peuvent se retrouver dans le produit final,
- Le procédé d'extraction, qui peut être traditionnel ou plus novateur. Tout procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilité des substances d'un mélange dans un solvant. Le mélange à extraire peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique. Le mode d'extraction classique de la plante est représenté dans la **figure**

7

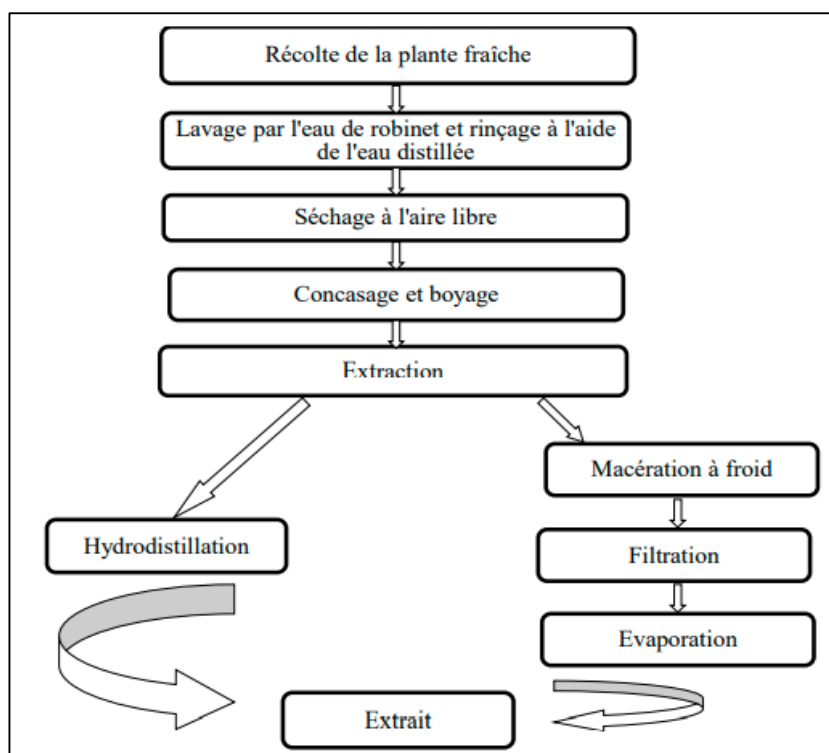


Figure 7 : Mode d'extraction de la plante.

Les différents types d'extrait ont été préparés à partir de la poudre des feuilles d'*Urtica dioïca*.

II.2. Extraits aqueux

L'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioïca* L. a été obtenu par macération aqueuse (REBAYA et al. 2015).

La poudre d'ortie est mise à macérer dans de l'eau distillée à un rapport de 10g/100ml sous agitation douce à l'aide d'agitateur magnétique pendant 24 heures et cela à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait aqueux est récupéré après filtration du mélange en utilisant du papier wattman n°1 (filtration de l'extrait trois fois). L'extrait aqueux macéré (EAM) obtenu est vaporisé. La poudre obtenue est conservée à 4°C.

II.3. Extraits par solvants organiques

L'extraction par solvant a été effectuée en utilisant deux solvants à polarité différente en suivant le même mode opératoire. Ces solvants sont : l'éthanol et l'acétone. L'extrait par éthanol des feuilles (EEMF) d'*ortie dioïque* a été préparé à partir de 10g de poudre des feuilles qui ont été mis à macérer dans 100 ml de méthanol à température ambiante et à l'abri

de la lumière, et cela sous agitation magnétique pendant 24 heures. Le mélange a été filtré trois fois en utilisant du papier wattman n°1. Le filtrat obtenu a été évaporé à sec à l'aide du rota-vapeur. L'extrait récupéré a été mis à l'étuve (40°C) dans un cristallisateur pour faire évaporer le reste du solvant. L'extrait obtenu a été conservé à -20°C jusqu'à l'utilisation (REBAYA et al. 2015). En suivant le même protocole, extrait macéré dans l'acétone (EAMF) a été préparé.

II.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'*Urtica dioïca*

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de feuilles d'*Urtica dioïca*, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant les disques stériles en papier wattman. Cette méthode est appelée aromatoگرامme. Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition.

II.4.1. Méthode de diffusion (Aromatoگرامme)

En suivant la méthode d'ADESOKAN et al. (2007), les extraits de feuilles d'*Urtica dioïca* ont été préparés à une concentration de 40mg/ml. Ensuite, des disques en papier wattman sont imprégnés avec 30 µl de chaque solution. A partir de colonies jeunes de 18 heures, une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau physiologique stérile pour chaque souche. La turbidité de cette suspension est ajustée à l'équivalent de 0.5 McFarland. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri contenant la gélose MH. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne puis frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. A l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose MH inoculée. Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose MH, de même, des disques imprégnés de DMSO et d'eau distillée (témoins négatifs) ont été déposés. Les boîtes de pétri sont incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 heures. L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (DOUGHARI et al. 2007). Les tests ont été répétés deux fois.

II.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Une méthode a été employée, méthode de diffusion sur gélose.

II.5.1. Méthode de dilution sur gélose

La méthode de **COURVALIN et al. (1987)** a été utilisée. Différentes dilutions des extraits macérés dans un solvant (ECHL, EMET, EACT) ont été préparées (10 ; 20 ; 30 ; 40mg/ml). Des disques de papier wattman stériles de 6mm de diamètre sont imprégnés par 20µl d'extraits préalablement dissouts dans le DMSO. À l'aide d'une pince stérile, les disques sont déposés à la surface d'un milieu MHensemencé par une suspension microbienne, d'une densité optique équivalente à 0.5 McFarland. Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible à l'extrait. Les tests ont été répétés deux fois, des disques imprégnés de DMSO ont représenté le témoin négatif. La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus faible concentration d'extrait qui provoque l'apparition d'un spectre d'inhibition ou une zone d'inhibition.

I. Résultats

I.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des extraits végétaux (A, B et C) sont représentées dans le tableau

Tableau 1 : Caractéristiques organoleptiques des extraits végétaux.

Extraits végétaux	A (EAM)	B (EAC)	C (EETH)
Aspect	Liquide visqueux	Liquide visqueux	Liquide visqueux
Couleur	Marron foncé	Vert foncé	Vert foncé
odeur	Caractéristique de la plante	Caractéristique de la plante	Caractéristique de la plante

I.2. Etude de l'activité antibactérienne

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de nos extraits de l'ortie dioïque faite sur deux bactéries du laboratoire microbiologique de la faculté des sciences de la nature et de la terre. A été faite par la méthode des aromagrammes. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm). L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (Mutai et al, 2009).

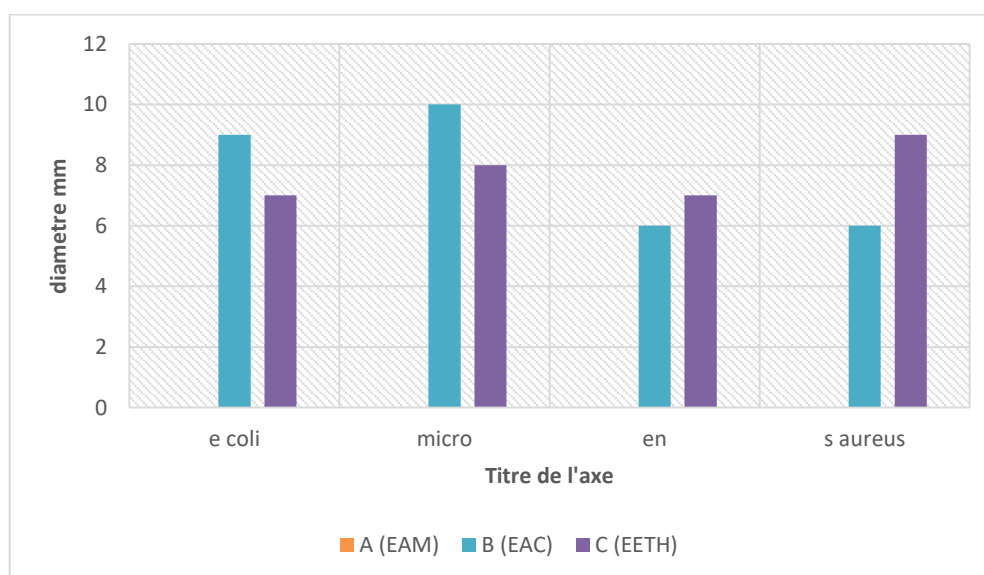


Figure 8 : Effet antibactérien des différents extraits des feuilles d'*Urtica dioïca*.

Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm.
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm.
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm.
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm.
- Non inhibitrice : $D < 10$ mm.
- Le diamètre de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés des extraits, et leurs dilutions après 24 heures d'incubation à 37°C

Tableau 2 : Aromatogramme des germes étudiés en présence des différents extraits d'*Urtica dioïca*

		Souches bactériennes (Ø : mm)											
		<i>E. coli</i>			<i>micrococcus</i>			<i>S.bacillus</i>			<i>S. aureus</i>		
Extraits Végétaux		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Dilutions	100%	-	9	7	-	10	5	-	-	6	-	6	6
	75%	-	7	6	-	7	6	-	-	6	-	7	9
	50%	-	6	6	-	6	8	-	6	7	-	8	9
	25%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DMSO		-			-			-			-		

Les résultats de l'antibiogramme montrent que les extraits végétaux : B et C de la plante *urtica dioïca* L. possèdent une activité antimicrobienne légèrement inhibitrice sur les quatre souches bactériennes, mais l'extrait végétal A n'a pas un pouvoir antimicrobien sur les même souches.

La **figure 8** montre les résultats obtenus au test d'activité Extrait aqueux antibactérien contre les souches de *Staphylococcus aureus* (EAM.). L'absence de l'effet antibactérien se traduit par aucune zone d'inhibition autour du disque imbibé d'extrait.

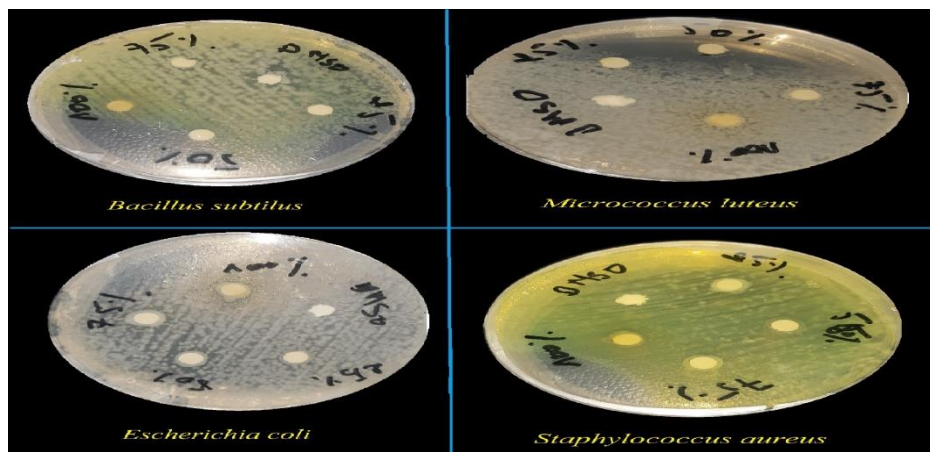


Figure 9 : Effet d'extraits aqueux (EAM) des feuilles d'*Urtica dioïca* sur les souches bactérienne

I.3 Détermination de la CMI sur milieu gélosé

La méthode de dilution en gélose est utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice de l'extrait Trouvé pour être actif contre les souches testées.

Les figures 3.7 et 3.8, montrent les résultats Obtenu dans ce test. Les plages de concentration utilisées sont de 10, 20, 30 et 40 mg/ml. Cette Imprégner le disque avec 20 μ l de chaque extrait. CMI correspond au plus bas La concentration de l'extrait qui produit la zone d'inhibition l'EAC affiche le CMI le plus bas Toutes les souches sont à 20 mg/ml. L'ETH La CMI de Bacillus est de 40 mg/ml et la CMI des autres souches est de 20 mg/ml

Tableau 3 : CMI des extraits macérés dans un solvant organique (mg/ml)

Souches	EAC	EETH
<i>E. coli</i>	20	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	20
<i>Micrococcus luteus</i>	20	20
<i>Bacillus subtilis</i>	20	40

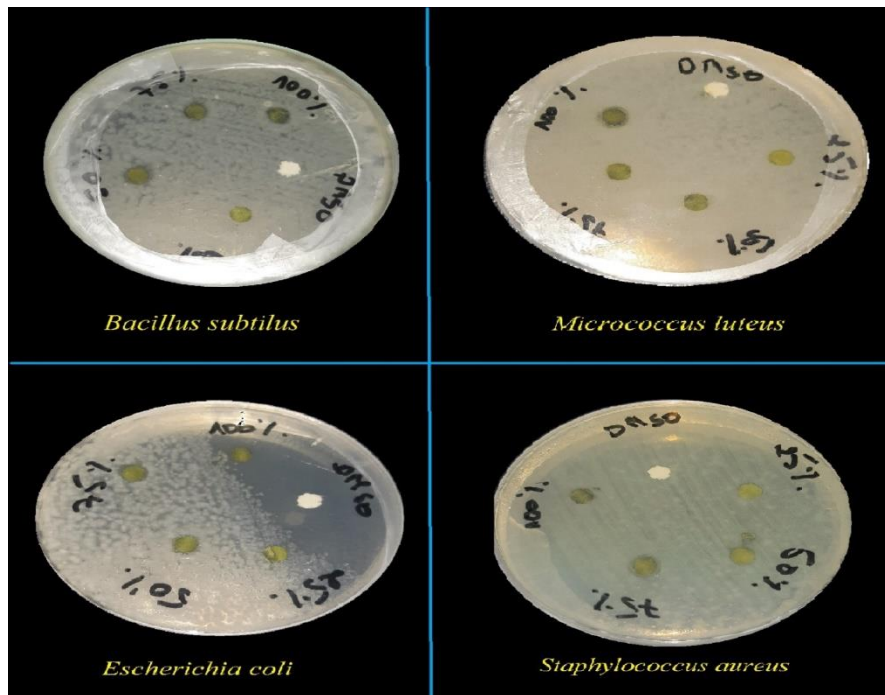


Figure 10 : Effet inhibiteur dose dépendent de l'extrait macéré dans le éthanol sur les souches

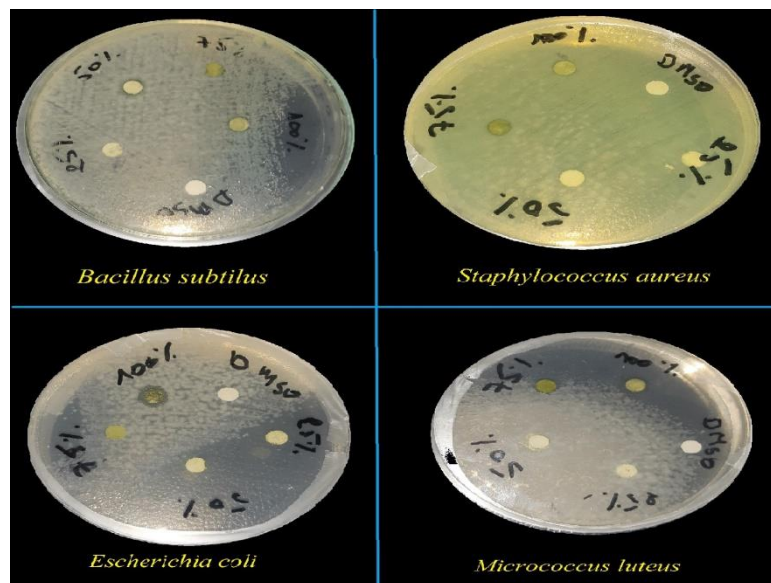


Figure 11: Effet inhibiteur dose dépendent de l'extrait macéré dans l'acétone sur les souches

II. Discussion

Dans cette étude, l'activité antibactérienne de l'extrait de feuille d'ortie et de l'extrait aqueux (EAM) imprégnés de solvants organiques (EETH, EAC) a été évaluée par diffusion sur gélose. Quatre souches bactériennes, selon la méthode **ADESOKAN. (2007)**. Les résultats obtenus dans les travaux en cours montrent que des extraits de feuilles d'ortie

imprégnés de solvants organiques (EETH, EAC) inhibent la croissance de (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*)

Cet effet se traduit par une zone d'inhibition autour du disque imprégné de l'extrait. Le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 6 et 10 mm.

Cette situation s'explique par le fait que l'extrait actif est un extrait brut non purifié, alors que les antibiotiques classiques sont des molécules pures. Il a été constaté que les résultats des tests de capacité antibactérienne des deux extraits macérés (EETH, EAC) étaient similaires à tous égards aux souches testées. À l'exception d'un cas, l'extraction de *Bacillus subtilis* par EAC provoque un phénomène physique selon lequel le solvant n'est pas suffisamment dispersé sur le disque, donc « il n'y a pas de contact entre l'extrait et les bactéries », ou le solvant n'est pas absorbé par le disque. Le diamètre moyen inhibiteur maximum de *Micrococcus luteus* obtenu avec l'extrait EAC est de 10±0mm.

Cette souche semble être la plus sensible à ces extraits. Ces résultats obtenus avec des extraits imprégnés de solvants organiques (EAC, EETH) peuvent confirmer l'efficacité de l'extrait d'ortie et son pouvoir antibactérien. En fait, de nombreuses études ont souligné cet effet antibactérien des feuilles d'ortie. **KUKRIC et al. (2012)** ont rapporté que l'extrait de feuille d'ortie est immergé dans de l'éthanol et dissous dans du méthanol pour exercer une activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* IP 5852 et *Escherichia coli* isolés des aliments. De plus, **SINGH et al. (2013)** ont rapporté que les extraits immergés dans le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol ont une activité antibactérienne contre les mycobactéries responsables de pathologies infectieuses telles que la pneumonie, avec des diamètres inhibiteurs de 15 mm, 10 mm et 10 mm, respectivement. Nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans cette étude. De plus, la même étude a rapporté que l'extrait de feuilles d'ortie imprégné d'hexane a un effet antibactérien sur *Mycobacterium tuberculosis* qui cause la tuberculose. **BOBIS et al. (2015)**, ont étudié l'activité antibactérienne d'extraits de feuilles de cinq plantes médicinales (dont l'ortie). Ils ont utilisé plusieurs souches, dont *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* FV 755-0139 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'extrait immergé dans l'éthanol de feuilles d'ortie a un effet inhibiteur sur toutes les bactéries testées. Les diamètres de suppression sont respectivement de 18 mm, 6 mm et 6 mm.

Cette activité observée peut s'expliquer par les résultats d'analyses chimiques obtenus par **GHEDIRA et al. (2009)** ; **SINGH et al. (2013)** ; **MANGAMBU et al. (2014)** ; **BOBIS et al. (2015)** et d'autres, ces études ont révélé la présence de métabolites secondaires dans les feuilles d'ortie, tels que des tanins, des alcaloïdes et des flavonoïdes, dont les propriétés antibactériennes ont été confirmées (**BOUZID. 2011**). En revanche, l'extrait aqueux n'a eu aucun effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes testées. La méthode d'extraction peut être à l'origine de ces résultats.

En fait, il est rapporté que les huiles essentielles de plantes, plutôt que leurs extraits, ont la plus grande efficacité dans le traitement des maladies infectieuses (**RIOS et RECIO. 2005**). Selon **CANDAN et al (2003)**, l'effet des substances hydrosolubles est plus faible que celui des substances non hydrosolubles. Cela peut faire référence à la capacité des molécules liposolubles à intégrer et à détruire les membranes cellulaires bactériennes. Parmi les composés responsables des effets antibactériens, les diterpènes sont les principaux composés de la partie non polaire des extraits végétaux (**FERNANDEZ-LOPEZ et al. 2005**). Ces composés sont de nature hautement lipophile et peuvent être extraits avec des solvants à faible polarité tels que le chloroforme (**ALBANO et MIGUEL. 2010**).

Ceci peut expliquer l'absence d'effet antibactérien dans le test d'extrait d'eau. Les résultats des tests d'activité antibactérienne de l'extrait aqueux obtenus dans ce travail sont loin des résultats rapportés par de **GÜLÇİN et al. (2003)**, il a trouvé que l'extrait aqueux injecté dans les feuilles d'ortie avait une activité antibactérienne significative contre 9 souches bactériennes dont *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, avec un diamètre inhibiteur de 8 mm. De plus, **SINGH et al. (2013)** ont rapporté que l'extrait aqueux de feuilles d'ortie a un effet inhibiteur sur *Mycobacterium smegmatis* et que la zone d'inhibition est de 7 mm. Cette différence peut être attribuée à des facteurs qui affectent la composition chimique des plantes. Les travaux de nombreux auteurs ont montré que les plantes réagissent au milieu environnant et que la composition chimique de leurs métabolites peut changer au cours de leur cycle de vie.

Par conséquent, la composition de l'extrait végétal, la période de récolte et l'organe considéré fluctuent fortement. La maturité ou l'état phénologique des plantes à la récolte est difficile à vérifier et à contrôler (**DETHIER. 1996**). Sur une même tige, les feuilles ou les fleurs n'apparaissent pas en même temps, et selon leur âge, elles n'ont pas la même composition (**TOUCHE. 1997**). D'autre part, les facteurs climatiques (température, humidité relative, conditions de vent, alternance thermique et de lumière, etc...) exercent une influence

chez les végétaux. L'influence du sol ou des facteurs du sol est également grande. Les propriétés physiques du sol (porosité, rétention d'eau, etc.), ses propriétés (argile, sable, etc.) et sa composition (teneur en azote, calcaire, sol siliceux, etc.) composition de plantes d'une même espèce Selon les régions géographiques, ceci peut expliquer la différence entre nos résultats et ceux obtenus par **GÜLÇİN et al. (2003)** (L'ortie qu'ils ont utilisée a été collectée en Turquie). D'autre part, les pratiques culturales telles que la densité de population, l'intensité et les méthodes d'irrigation, l'apport d'engrais jouent également un rôle déterminant dans le rendement et la qualité des extraits végétaux (**GUIGNARD. 1983**).

Le prétraitement des matières végétales, tels que les conditions de séchage et de stockage, y compris les changements physiques et biochimiques dus aux effets de l'air et de la lumière du soleil, affectera également la composition des extraits de plantes. Le processus d'obtention de l'extrait affecte également sa composition chimique. En effet, dans le processus d'extraction d'extraits de plantes, il existe de nombreuses littératures sur la modification de la composition. Sous l'action de la chaleur, de la teneur en oxygène et de l'état d'hydratation, de nombreuses réactions, telles que l'hydrolyse, peuvent se produire. Réaction, réarrangement photochimique ou redox en milieu acide (**RETAMAR. 1986**).

De plus, le mode d'extraction (durée opératoire, broyage des matières végétales, nombre de lavages) affectera la composition et les propriétés sensorielles de l'extrait (**DETHIER. 1996**). Selon **MOUSSAID et al. (2012)**, l'activité de la matière active est liée aux conditions de séchage et de broyage de la plante. D'autre part, il semble que le broyage à l'azote liquide soit également recommandé, car le broyage est également source de génération de chaleur et est responsable de la perte de molécules volatiles et de la décomposition et de l'oxydation des molécules thermolabiles. (**JONES et KINGHORN. 2005**). La détermination de la CMI adopte la méthode de dilution en milieu solide.

La concentration minimale inhibitrice des extraits actifs (EACT, EETH) a été évaluée par les instructions de dilution sur le milieu solide. Nos résultats ont confirmé l'activité de ces deux extraits. Les CMI obtenues sont regroupées dans le tableau X. EACT a montré que la CMI de la souche était de 20 mg/ml. La CMI de l'EETH pour *Micrococcus luteus* est de 20 mg/ml et la CMI pour *E. coli* est de 20 mg/ml.

Nous avons remarqué que l'EACT est l'extrait le plus actif de ces souches. *Bacillus subtilis* semble être le plus résistant, et ces résultats sont proches de ceux obtenus par **BOBIS et al. (2015)** Qui a rapporté que la CMI de l'extrait de feuille d'ortie imprégné

d'éthanol contre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P était de 35 mg/ml, et la CMI contre *Bacillus cereus* ATCC 14579 était de 35 mg/ml et 70 mg/ml La CMI *E. coli* FV 755-0139. **KUKRIC et al, 2012** ont mené une étude similaire sur l'extrait de feuille d'*Urtica dioïca L*, la CMI pour *Bacillus subtilis* était de 36,2 mg/ml. Le même rapport de recherche indiquait que la CMI de la souche hospitalière d'*E.coli* était de 72,4 mg/ml. *Escherichia coli*. De plus, **SINGH et al. (2003)** Il a été constaté que la CMI de l'extrait de feuille d'ortie immergé dans l'hexane était de 250 µg/ml sur *Mycobacterium tuberculosis*.

La cible principale de ces composés naturels étant les membranes bactériennes, l'activité antibactérienne des substances naturelles peut s'expliquer par la lyse de ces membranes. Les flavonoïdes, les alcaloïdes et même les tanins peuvent provoquer une fuite des ions potassium de la membrane, provoquant des dommages irréversibles à la membrane.

Cette perméabilité au potassium est un précurseur de leur mort (**RHAYOUR. 2002**). Cette variabilité des résultats de l'activité biologique des extraits végétaux peut dépendre de la teneur en composés polyphénoliques. Selon les auteurs, le mécanisme d'action des composés naturels s'explique de différentes manières. Selon **CHABOT et al. (1992)**, l'activité antibactérienne est liée à la polarité de la substance biologiquement active. Les composés moins polaires, tels que les flavonoïdes qui n'ont pas de groupe hydroxyle OH sur le cycle B, sont plus actifs contre les micro-organismes que ceux avec des groupes hydroxyle. D'autre part, **MORI et al. (1987)** ont trouvé que 3", 4", 5" anneau B et 3-OH substitué trihydroxyflavonoïdes sont nécessaires pour l'activité antibactérienne. Des travaux antérieurs par **SARKER et al. (2005)** ont également montré que l'effet de l'extrait peut être en raison de la synergie entre le nombre de composants, ces composants deviennent individuellement inactifs lors de la séparation. Cela peut s'expliquer par le fait que les plantes produisent une grande variété de petites molécules antibiotiques avec des structures à large spectre, telles que les terpénoïdes, les stéroïdes glucidiques, les flavonoïdes et les polyphénols (**SEIDEL. 2005**). Cependant, la plupart de ces petites molécules ont une faible activité antibiotique par rapport aux antibiotiques courants produits par les bactéries et les champignons.

Conclusion

Les plantes médicinales seront toujours une source importante de substances naturelles biologiquement actives (composés phénoliques) ayant une signification thérapeutique. En raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs. Dans les travaux actuels, une synthèse de la littérature a été réalisée sur les propriétés biologiques, principalement l'activité antibactérienne de l'ortie, qui est considérée comme une sorte de "mauvaises herbes", et elle a toujours eu des applications médicinales qui remontent à l'Antiquité.

Selon une enquête des plantes médicinales, l'ortie est encore la médecine alternative la moins utilisée en Algérie. Le criblage phytochimique d'extraits montré que les feuilles d'ortie sont riches en divers métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques qui participent à l'adaptation de la plante à l'environnement, lui conférant ainsi divers types d'attributs biologiques et vertus curatives.

Pour cette raison, l'objectif assigné à cette étude est de décrire la composition chimique des plantes médicinales, qui seront toujours une source importante de substances naturelles biologiquement actives thérapeutiquement significatives. Le but est d'exercer l'effet antibactérien des phénols.

Nos résultats confirment l'activité antibactérienne des extraits phénoliques (méthanol et acétone) de feuilles d'*Urtica dioica* vis-à-vis quatre souches de bactéries pathogènes (*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*), contrairement à l'extrait aqueux qui n'a pas manifester aucune activité anti bactérienne

Selon divers résultats de la bibliographie, *Urtica dioica* L. représente une source importante de composés phénoliques et d'agents antibactériens naturels qui peuvent être utilisés pour traiter les maladies infectieuses et autres pathologies. Par conséquent, il sera intéressant :

- ✓ Élargir la portée des tests antibactériens.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne in vivo (sur animaux).

A

- **ADESOKAN A., AKANJI M A et YAKUBU MT. (2007).**Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantiachloranthastem* bark. *African Journal of Biotechnology*, 22, 2502 – 2505
- **Afif chaouche, T. (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou-Algérie [en ligne]. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen, 122.
- **Ahmed A.A., Zain U., Abjuluziz M.A., Rius U., Iubul H.& Muhammad T:(2012) .**
- **Akbay P., Basaran A.A., Undeger U., Basaran N. (2003).** In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phyther. Res.* 17 : 34–37.
- **Alam Md. N., Bristi N. J. & Rafiquzzaman Md. (2013).** Review on in vivo and in vitro methodsevaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143–152
- **ALBANO S. M., MIGUEL M.G. (2011).** Biological activities of extracts of plants grown in
- **APG III. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161 (2), 105-121

B

- **BOBISA O., DEZMIREANA D. S., TOMOSA L., CHIRILAB F. ET AL. MARGHITASL. (2015).**Influence of Phytochemical Profile on Antibacterial Activityof Different Medicinal Plants against Gram_Positiveand Gram_Negative Bacteria1. *Applied Biochemistry and Microbiology*, , Vol. 51, No. 1, pp. 113–118.
- **BOUZID W., YAHIA M., ABDEDDAIM M., ABERKANE M C et AYACHI A. (2011).** Evaluation de l'activiteantioxydante et antimicrobienne des extraits de l'Aubepinemonogyne. *Lebanese science journal*, (12), 59-69.

C

- **CANDAN F., UNLU M., TEPE B., DAFERERA D., POLISSIOU M., SÖKMEN A.et AKPULAT H A. (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achilleamillefolium*subsp. *millefolium*Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 215-220
- **CHABOT S., BEL-RHLID R., CHÊNEVERT R., PICHE Y. (1992).** Hyphal growth promotion in vitroofthe VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO₂-enriched conditions. *New phytologist*, 122, 461-467.

D

- **DECKERT R J., HSIANG T ET PETERSON R I. (2002).** Genetic relationships of endophyticclophermiumnitensfrom needles of *pinusstrobus*. *Mycological research*,106(3): 305-313.

- **Deliorman D., Ozcelik B., Hosbas S., Vural, M. (2012).** Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish Journal of Biology*, 36, 672
- **DETHIER M. (1996).** Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi, Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, 275 p
- **Draghi, F. (2005).** L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy, 89.

E

- **Evaluation of the chemical composition and element analysis of *Urtica dioica*.** *African Journal of Pharmacy*, 6(21): 1555- 1558
- **FERNANDEZ-LOPEZ J., ZHI N., ALESON-CARBONELL L., PEREZALVAREZ J A.et KURI V. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69, 371-380.

F

- **FLEURENTINJ. (2008).** Plantes médicinales: traditions et thérapeutique. Ouest France. Beau livre ;in :DELAHAYE J. (2005). Utilisation de l'ortie –*Urtica dioica*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Rouen, Rouen, France.

G

- **GHEDIRA K., GOETZ P., LE JEUNE R. (2009).** *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (*Urticaceae*). *Phytotherapie*, 7, 279-285.
- **GÜLÇİN I., KÜFREVIÖ GLU I., OKTAY M.et BÜYÜKOKUROĞLU M E. (2003).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 90, 205-215.

J

- **JONES W P., KINGHORN A D. (2005).** Extraction of plant secondary metabolites. *Natural products isolation*. Humana Press, Totowa, 323-411.
- **K**
- **KUKRIĆA Z., TOPALIĆ-TRIVUNOVIĆA N., KUKAVICAB M., MATOŠA B., PAVIČIĆA S., BOROJAB M. and SAVIĆA AV. (2012).** Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Original scientific paper*, 43, 257-272.

L

- **Langlade, V. (2010).** L'Ortie dioïque, *Urtica dioica* L. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Nante.
- **Laoufi, R. (2017).** Caractérisation physico-chimique et biologique des extraits d'une plante médicinale algérienne de la famille d'*Urticaceae* en vue d'une application biotechnologique. Thèse de doctorat, biochimie- Immunologie, Université M'hamed bouguera de Boumerdès, Algérie, 184.
- **Leclerc, H., Gaillard, J-L., Simonet, M. (1995)** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

M

- **MORI A., NISHINO C., ENOKI N., TAWATA S. (1987).** Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 26, 2231-2234.
- **MOUSSAID M., ELAMRANI A A., BERHAL C., MOUSSAID H., BOURHIMI N., BENAÏSSA M. (2012).** Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare*(L.) and *Origanum majorana*(L.). *International journal of natural products research*, 1 (1), 11- 13.

P

- **PATRICK B., JEAN L. et MICHEL S. (1988).** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1ère Ed., Médecine – Sciences Flammarion, Paris ; in : Rhayour K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse pour obtenir le diplôme de doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maro

R

- **REAUME TOM. (2010).** Stinging nettle *Urtica dioica* Urticaceae-nettle family. *Nature manitoba*.
- **RETAMAR J.A. (1986).** "Essential oils from Aromatic species", Chapitre 3 de "On essential
- **RHAYOUR K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 158 p.
- **RIOS J. et RECIO M. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 80-84.

S

- **SARKER S D., LATIF Z., GRAY A I. (2005).** Natural Products Isolation. Humana Press, Totowa ; in : ALI-BOUTLELIS D. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse pour obtenir le diplôme de doctorat en biologie végétale, Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie
- **SINGH RS., HUSSAIN R., VERMA P., SHARMA. (2013).** Anti-mycobacterial screening of five Indian medicinal plants and partial purification of active extracts of *Cassia sophera* and *Urtica dioica* Asian. *Pacific journal of tropical medicine*, 366-371.
- **SINGH RS., HUSSAIN R., VERMA P., SHARMA. (2013).** Anti-mycobacterial screening of five Indian medicinal plants and partial purification of active extracts of *Cassia sophera* and *Urtica dioica* Asian. *Pacific journal of tropical medicine*, 366-371.

T

- **TOUCHE J. (1997).** Représentativité et reproductibilité des extraits de végétaux aromatiques

Site Web :

- (Anonyme 01) <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-colibacille-5138/>
- (Anonyme 02) <https://www.bacterio.net/genus/micrococcus>



Figure : macération aqueuse de l'ortie

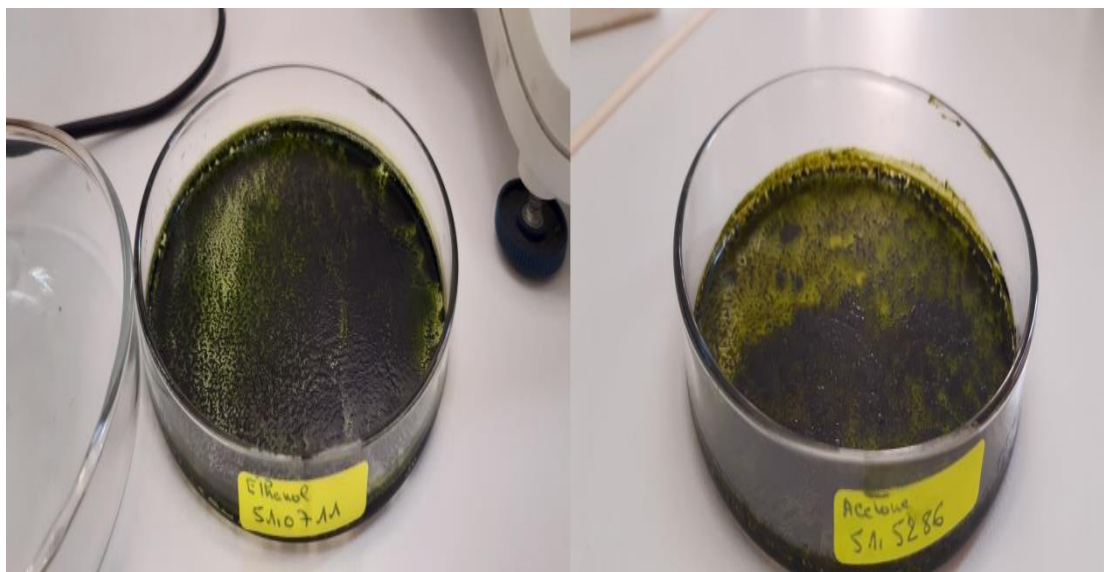


Figure : Extraits végétaux obtenus par macération (éthanol, acétone) .

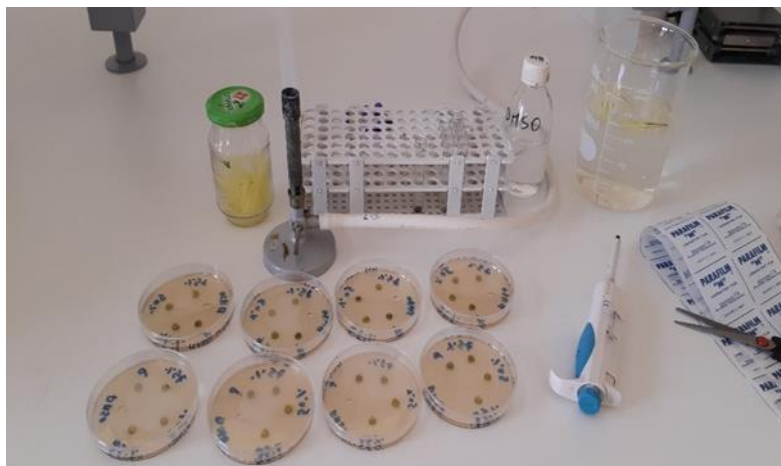
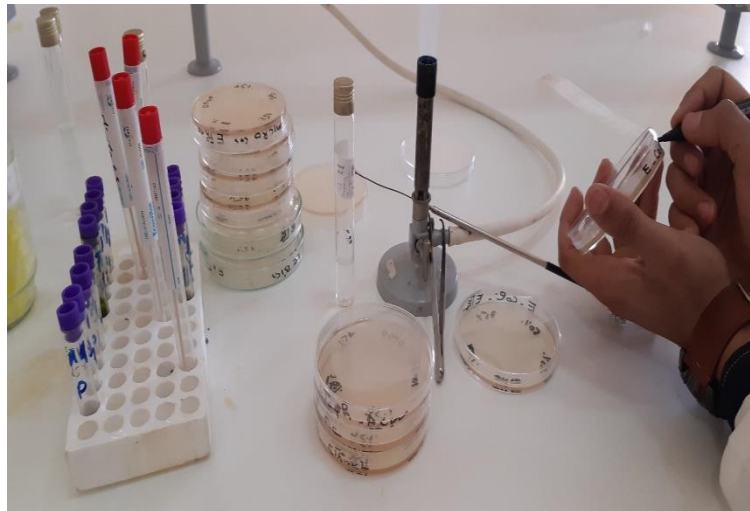


Fig : Aromatogramme