

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la nature et de la vie

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire / Biologie Moléculaire des Procaryotes

Département: Biologie

Thème

Evaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale (*Urtica dioïca.L*)

Présenté par : Adjoul Asma

Bencheikh Malika

Guebailia Aicha Biya

Devant la commission composée de :

Mme Khanaka Karima	Présidente	Université de Guelma
Mme Grara Nedjoud	Encadreur	Université de Guelma
Mme Benbelkacem Sofia	Examinatrice	Université de Guelma
Mme Khallef Messouada	Membre	Université de Guelma
Mme Drif Fahima	Membre	Université de Guelma
Mr Athamnia Mohamed	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciement

Nos remerciements, d'abord à Dieu « الله » le tout puissant pour la volonté, la santé, et la patience qu'Il nous a données durant toutes ces années.

Nous tenons à exprimer notre remerciement respectueux, et notre profonde reconnaissance à notre encadreur Madame GRARA Nedjoud pour son soutien et sa compréhension pertinente de ce travail, merci Madame de nous avoir guidées et orientées durant l'accomplissement de ce travail, avec beaucoup de patience et de savoir faire.

Nous remercierons également Madame KHANAKA Karima pour nous avoir fait le grand honneur d'accepter de présider la commission de la soutenance.

Nous tenons aussi à remercier Madame BENBALKACEM Sofia de nous avoir fait l'honneur de juger et évaluer ce travail en qualité d'examineur.

Un grand merci pour les autres membres de la commission Mme KHALLEF Messaouda, Mme DRIF Fahima et Mr ATHAMNIA Mohamed qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail

Nos remerciements les plus sincères à Madame AYAD Rima et HAMDIKHAN Malika, qu'elles trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir accordées leur confiance et nous avoir guidées dans notre travail.

On tient à remercier maintenant très respectueusement Mme HIMER Ratiba, l'ingénieure du laboratoire de biochimie, Université de Guelma pour nous avoir soutenues durant notre période de travail au laboratoire ainsi l'ingénieure Ghania qui nous a facilitées notre travail.

Nous sommes redevables à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre Formation durant les 5 derniers années.

En dernier lieu, nos remerciements sont aussi pour tous ceux qui nous ont aidées de près ou de loin à élaborer cette modeste étude.

AICHA, ASMA, MALIKA

Dédicace

Je souhaite dédier ce modeste travail synonyme de concrétisation de tous mes efforts fournis ces dernières années :

Aux personnes qui me sont les plus chères en priant le tout puissant de les protéger et de leur accorder longue vie.

A la chandelle de ma vie, chère papa MESSAOUD et maman. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus profonds pour le confort moral et leur grand amour qu'ils m'ont assuré tout au long de mes études.

A mon oncle BOUSBA Hamda et son épouse pour leur soutien indéfectible et leurs encouragements qui m'ont permis de prendre d'avantage confiance en moi-même.

A mes agréables frères BILAL, ABDOU et ISLEM.

A mon grand père MADANI.

A chaque membres de la famille BENCHEIKH et AMIRI, qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements.

A mes amoureux Hadjer, Sahar, Safa, Meriem, Manel et Chahra, Marwa a qui je souhaite beaucoup de réussite et de prospérité.

A mon binôme, ma copine, et ma sœur Aicha pour sa patience, sa fidélité, ces conseils et son soutien moral qui m'a donné

Aux gents qui m'aiment et m'estiment...

BENCHEIKH MALIKA

Dédicace

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité...

A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements, que Dieu les garde, en témoignage de ma profonde affection....

A mes sœurs, mon frère et ma tante : Malika, Amina, Azzedine, Samia ; qu'ils trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères

A toute ma famille Guebailia et Zenata pour le respect qu'ils m'ont toujours accordé

A mon binôme, mes amies et mes sœurs Malika et Marwa pour leur patience et fidélité, leur conseils et leur soutien....

Aux gents qui m'aiment et m'estiment...

Guebailia Aicha Biya

Dédicace

Ce moment est le plus cher dans ma vie parce que ma voie d'apprentissage qui pleine de jovialité et très courte est terminée avec la réussite.

Je profite l'occasion pour dédier se modeste travail à Mon rayon d'espoir et la lumière de ma vie; mes parents les sources de tendresse, de l'amour, l'adresse du don, et aussi d'amitié, ils m'accompagnés de la première étape jusqu'au maintenant, sans eux je ne virais plus et je ne ferais rien, je les aime.

Et surtout à mon mari qui m'ont encouragé dans tous les moments difficiles.

A mes chers frères, Zinou, Aymen et Saief.

A ma soeur meriem.

A tous mes amis en particulier mes trinômes Malika et Aicha.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

ADJOUL ASMA

Résumé

Le monde végétal est une excellente source de principes actifs, ce qui lui confère une activité antibactérienne importante, souvent recherché dans la médecine alternative et le domaine agroalimentaire pour la conservation des aliments. Notre travail porte sur l'étude de la phytochimie et l'activité antibactérienne d'une plante médicinale, *Urtica dioïca* (Urticaceae). Le screening phytochimique d'*Urtica dioïca* a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires : flavonoïdes, tanins, mucilages et saponosides. Les extractions sélectives ont révélés des rendements importants comparativement parlant aux études réalisées sur la même espèce dans d'autres pays. L'analyse qualitative de l'extrait par chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé la présence des Flavonones, de l'acide phénol et de Lutéoline-7-glucoside. L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Muller-Hinton et par la méthode de dilution sur milieu liquide sur huit souches (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *E. coli* ATCC 25922) fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Hôpital IBN ZOHR de la wilaya de Guelma. Les résultats mettent signalent que l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* a exercé une activité modéré contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae*, une faible activité contre *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa* alors que pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 n'a apporté aucun effet pour cette souche.

Mots clés : Plante médicinale, extrait méthanolique, activité antibactérienne, *Urtica dioïca*, métabolites secondaires.

Abstract

The plant's world is an excellent source of active principles, which gives it an important antibacterial activity, usually researched in alternative medicine and the Food conservation field. Our work focuses on the study of Phytochemistry and the antibacterial activity of a medicinal plant, *Urtica dioica* (Urticaceae). The phytochemical screening of *Urtica Dioica* has made it possible to highlight the presence of secondary metabolites: flavonoids, tannins, mucilages and saponins. A Selective extraction revealed significant yields compared to studies conducted on the same species in other countries. Qualitative analysis of the extract by thin-layer chromatography (CCM) revealed the presence of Flavonones, phenolic acid, and luteolin-7-glucoside. The antibacterial activity was determined by the method of diffusion on Muller-Hinton Agar and by the dilution method on medium liquid on eight strains (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *E. coli* ATCC 25922) provided by the microbiology Laboratory of the IBN ZOHR Hospital of the Guelma wilaya. The results indicate the methanolic extract of *Urtica dioica* exerted moderate activity against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ATCC 25922, and *Klebsiella pneumonia*, a low activity against *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas aeruginosa*, whereas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 did not have any effect on this strain.

Key words: medicinal plant, methanolic Extract, antibacterial activity, *Urtica dioica*, secondary metabolites.

ملخص

يعد عالم النبات مصدر أساسي للمكونات الفعالة على المستوى الحيوي كالنشاط المضاد للبكتيريا و النشاط المضاد للأكسدة مما يجعلها موضوع للبحث في الطب البديل و صناعة المواد الحافظة.

عملنا يركز على دراسة المادة الكيميائية النباتية و النشاط المضاد للبكتيريا لنبات طبي الحرايق (*Urtica dioica*).

بين الفحص الكيميائي النباتي وجود الفلافونيدات, التانينات, العفص, الصابونين.

و قد كشفت عمليات الاستخراج الانتقائية عوائد كبيرة مقارنة بالدراسات التي أجريت على نفس الأنواع في بلدان أخرى.

اظهر التحليل الكروماتوغرافي على الطبقة الرقيقة (CCM) وجود حامض الفينول, لوتيونين-7-غلوكاسيد, و قد تم تحديد نشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة الانتشار على جيلوز ميلر هانتن و طريقة التخفيف في وسط سائل على 8 سلالات

(*E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli*)

Staphylococcus aureus, *Klebsiella pneumoniae*) التي قدمها مخبر علم الأحياء المجهرية التابع لمستشفى ابن

زهر لولاية قالمة.

و تبين النتائج أن المستخلص الميثانولي ل *Urtica dioica* أبدى نشاطا معتدلا ضد *Staphylococcus*, *E. coli*

aureus, *Klebsiella pneumoniae* و *E. coli* ATCC 25922 ونشاطا ضعيفا *Enterobacter cloacae* و

Pseudomonas aeruginosa في حين لم يظهر أي نتائج ضد *Pseudomonas aeruginosa* ATCC2785.

كلمات المفتاح: النباتات الطبية, مستخلص ميثانولي, النشاط المضاد للبكتيريا, *Urtica dioica*, المواد الايضية الثانوية.

Liste des Abréviations

Liste des abréviations

AK : Amikacine.

ATB : Antibiotique.

BN : Bouillon nutritif.

C : Catégorisation.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CHCL₃ : Chloroforme.

Cip : Ciproflaxacine.

CIPAN : Culture intermédiaire piège à nitrate.

cm : Centimètre.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMV : Cytomégalovirus.

COT: Co-trimoxazole.

COX: Cyclo-oxygénase.

D: Diamètre.

Da: Dalton.

DO: Densité optique.

DPPH: 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

FeCl₃: Chlorure Ferrique.

GN : gélose nutritif.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCl : Acide chlorydrique.

HgCl₂ : Chlorure de mercure.

HLG : Gentamicine.

KI : Iodure de potassium.

MH : Muller Hinton.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

nm: Nanomètre.

PAF: Platelet Activating Factor.

R : Rendement.

R : Résistante.

R_f : Rapport frontal.

TNF: Tumor Necrosis Factor.

UDA: *Urtica dioïca agglutinin*.

UV : ultraviolet.

VRS : Virus respiratoire syncytial.

Liste des Figures

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	La plante <i>Urtica dioïca</i> .	14
02	Carte géographique illustrant la région de la plante.	14
03	Protocole expérimental.	19
04	Technique de dilution en milieu liquide.	25
05	Concentration minimale inhibitrice et bactéricide.	26
06	Rendement de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> .	29
07	Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> .	30
08	Activité du méthanol sur les souches testées.	32
09	Aspect macroscopique de la réponse bactérienne aux différents Antibiotiques testés (Antibiogramme).	33
10	Présentation graphique de l'aromatogramme d' <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>E. coli</i> 1, <i>E. coli</i> 2 vis-à-vis de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> .	36
11	Présentation graphique de l'aromatogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i> vis-à-vis de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> .	36
12	L'effet de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> sur <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>E. coli</i> 1, <i>E. coli</i> 2.	39
13	L'effet de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> .	40
14	Présentation graphique des pourcentages d'inhibition d' <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. coli</i> ATCC25922, <i>E. coli</i> 1, <i>E. coli</i> 2.	42
15	Présentation graphique des pourcentages d'inhibition de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. aeruginosa</i> ATCC27853, <i>S. aureus</i> .	43

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Valeurs nutritionnelles dans 100 g d'ortie.	7
02	Bienfaits de certains minéraux et oligo-éléments et leur proportion.	8
03	Bienfaits des vitamines et leur proportion.	8
04	Composition en acides aminés de l'ortie.	9
05	Source de prélèvement des souches testées.	21
06	Les diamètres critiques des antibiotiques utilisés.	23
07	Screening phytochimique d' <i>Urtica dioïca</i> .	28
08	Rendement de l'extraction.	29
09	Les rapports frontaux des taches et les classes des composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique.	31
10	Les diamètres d'inhibition des souches testées vis-à-vis des antibiotiques.	34
11	Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica dioïca</i> sur les souches testées.	35
12	Pourcentage d'inhibition des souches testées.	42

Table des Matières

	Résumé	
	Abstract	
	ملخص	
	Liste des abréviations	
	Liste des figures	
	Liste des tableaux	
	Introduction.....	1
	Synthèse bibliographique	
1-	Les plantes médicinales.....	3
2-	La phytothérapie.....	3
3-	Les métabolites secondaires.....	3
3-1	Flavonoïdes.....	4
3-2	Tanins.....	4
3-3	Coumarines.....	5
3-4	Alcaloïdes.....	5
3-5	Phénols.....	5
3-6	Mucilages.....	6
3-7	Saponosides.....	6
3-8	Minéraux	6
4-	Rôle biologique des métabolites secondaires.....	6
5-	Description de la plante.....	7
6-	Composition chimique.....	7
6-1	Partie aérienne.....	7
6-2	Partie souterraine.....	9
7-	L'intérêt de l'ortie.....	10
8-	Les propriétés pharmacologiques.....	10
8-1	Activité inflammatoire.....	10
8-2	Activité antibactérienne.....	11
8-3	Activité antioxydante.....	11
8-4	Activité antifongique	12
8-5	Activité antivirale.....	12
9-	Principales utilisations thérapeutiques.....	12
9-1	Utilisation thérapeutique traditionnelle.....	12

9-2	Utilisation thérapeutique actuelle.....	13
	Matériel et méthodes	
1-	Matériel végétal.....	14
2-	Site d'échantillonnage.....	14
3-	Etude phytochimique.....	15
3-1	Tests préliminaires de la composition chimique.....	15
3-1-1	Alcaloïdes.....	15
3-1-2	Comarines.....	15
3-1-3	Tanins.....	15
3-1-4	Flavonoïdes.....	16
3-1-5	Mucilages.....	16
3-1-6	Stérols et triterpènes.....	17
3-1-7	Saponosides.....	17
3-2	Préparation de l'extrait méthanolique.....	17
3-3	Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (CCM)	20
4-	Tests de l'activité antibactérienne.....	21
4-1	Les souches testées.....	21
4-2	Evaluation de l'activité antibactérienne.....	22
4-2-1	Préparation des suspensions bactériennes	22
4-2-2	Mode d'ensemencement des souches bactériennes.....	22
4-3	Test du méthanol (test négatif).....	22
4-4	Antibiogramme.....	23
4-5	Méthode de dilution en milieu gélosé ou aromatoگرامme.....	24
4-6	Technique de dilution en milieu liquide.....	24
4-6-1	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	25
4-6-2	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)....	25
4-6-3	Pourcentage d'inhibition.....	27
	Résultats et discussion	
1-	Résultats de l'étude phytochimique.....	28
1-1	Tes préliminaires de la composition chimique.....	28
1-2	Rendement de l'extraction.....	29
1-3	Analyse phytochimique de l'extrait méthanolique	30

1-3-1	Chromatographie sur coche mince (CCM).....	30
2-	Résultat de l'activité antibactérienne.....	32
2-1	Test du méthanol (test négatif).....	32
2-2	Antibiogramme.....	33
2-3	Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d' <i>Urtica</i> <i>dioica</i> sur les souches testées.....	35
2-3-1	Méthode de dilution en milieu solide (Aromatogramme).....	35
2-3-2	Méthode de dilution en milieu liquide.....	41
2-3-3	Concentration minimale bactéricide.....	41
2-4	Pourcentage d'inhibition.....	41
	Conclusion et perspectives.....	47
	Références bibliographiques.....	49
	Annexes	

Introduction

Introduction

A travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leur utilisation pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façons empirique (**Svoboda, 2000**).

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir à un niveau ou un autre sur l'organisme humain et animal qu'on utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Iserin, 2001**). La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme (**Iserin, 2001**).

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations dans toutes les régions du monde. L'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (**Benhamdi, 2005**). 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 (**Janssen et al., 1987**).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnues et répertoriées et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (**Bourgaud et al., 2001 ; Kar, 2007**).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Yano et al., 2006**).

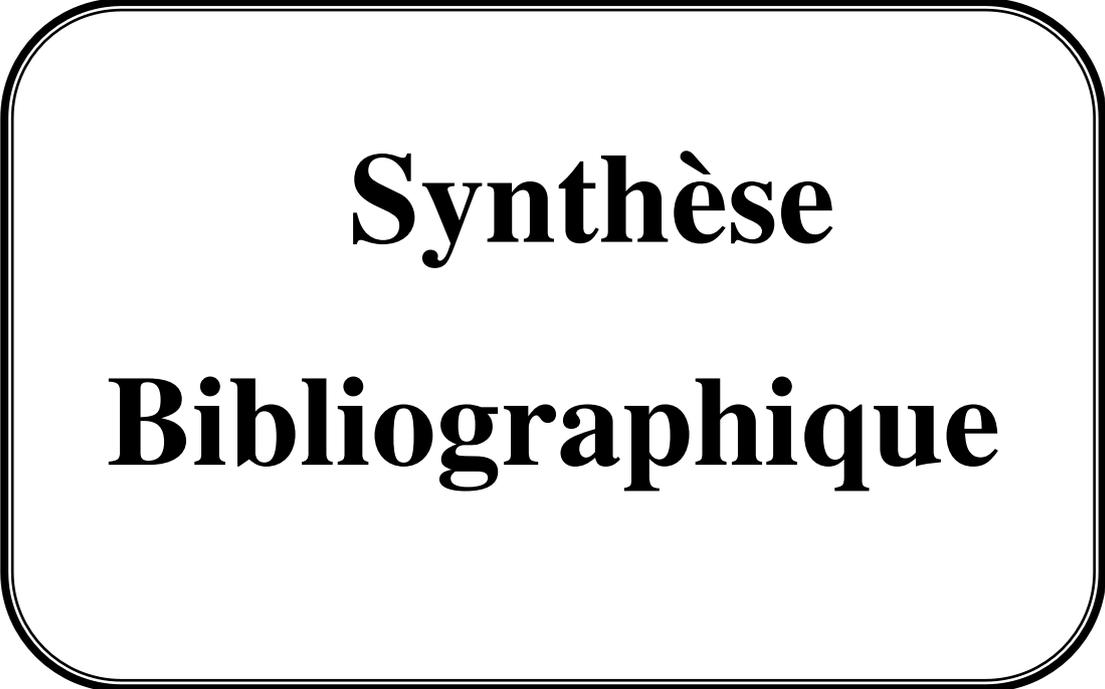
Depuis plus de 2000 ans, l'ortie est employée comme remède naturel pour ses vertus thérapeutiques. Cependant, la mise en valeur de son importance médicinale n'a pris de l'ampleur qu'au début du XXe siècle et depuis de considérables progrès ont été réalisés, en l'occurrence la découverte de la structure de ses composés et de ses propriétés pharmacologiques. Il faut souligner à ce titre que la plupart de ses indications revendiquées en médecine traditionnelle a été confirmée, et de nouvelles propriétés ont été rajoutées. Par ailleurs, eu égard à sa composition protéique équilibrée et à sa teneur élevée en minéraux et en vitamines, l'ortie a marqué un grand intérêt, aussi bien sur le plan thérapeutique que nutritionnel.

Pour notre part, nous nous sommes intéressées à une espèce végétale *Urtica dioïca* qui est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des troubles digestifs, la perte de l'appétit et la dyspepsie. Elle est également employée comme analgésique, insecticide, anti-inflammatoire, antimicrobien, antioxydant, antifongique, anti-leucémique et dans de nombreuses autres activités biologiques (Mayer *et al.*, 2005).

L'objectif de ce travail consiste en une contribution à la valorisation de cette espèce médicinale poussant à l'état spontané dans la région de Khezaras – Ben semih (Wilaya de Guelma) via un screening phytochimique et des tests du pouvoir antibactérien.

Le présent travail est structuré en trois parties :

- Dans la première partie, nous aborderons une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales, La phytothérapie, Les métabolites secondaires, description de la plante utilisée (Composition chimique, Intérêt de l'ortie et les propriétés pharmacologiques).
- Dans la deuxième partie expérimentale, nous exposerons le matériel et les méthodes adoptés dans ce travail.
- Enfin, la troisième partie est consacrée aux résultats obtenus et discussions suivis des perspectives pour la valorisation de ce travail et une conclusion générale.



Synthèse
Bibliographique

1- Les plantes médicinales

Une plante médicinale est définie par **la pharmacopée, (2013)** comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée à l'état frais ou sous la forme desséchée. L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments (**Mohammedi, 2013**). Elle représente un aspect très important dans l'histoire de la médecine et contribuées énormément à l'évolution de la médecine moderne (**Telefo et al., 2012**). Cette médecine traditionnelle ancestrale est le précurseur de la phytothérapie et de l'aromathérapie d'aujourd'hui (**Girard, 2010**).

2- La phytothérapie

Le terme « phytothérapie », provient du grec « phyton », qui signifie « plante », et « therapein », «soigner ». La phytothérapie correspond donc à l'usage des plantes médicinales en thérapeutique (**Vacheron, 2011**). La phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes; ou la seule "partie active" de ces plantes ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales". Les parties les plus concentrées en principes actifs seront choisies donc il peut s'agir de : la plante entière, des feuilles, de la tige, des rameaux, des sommités fleuries, de l'écorce, des racines, des fruits ou des fleurs, utilisées fraîches ou sèches. Des modes de préparation seront privilégiées en fonction de la partie de la plante concernée, de la nature du principe actif qu'il soit hydrophile ou lipophile et du type de patient qui va la recevoir (**Mohammedi, 2013**).

3- Les métabolites secondaires

Métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classés selon leur appartenance chimique (**Juad, 2002**).

Les métabolismes secondaires impliquent des voies métaboliques primaires spécifiques à certains organismes végétaux.

Donc les métabolismes secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt intervenaient dans des relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction (**Leurent, 2012**).

En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert, 1989**).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques...etc (**Marouf, 2000 ; Macheix et al., 2005**).

3-1 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**). Ce sont des molécules aromatiques polysubstituées ayant un rôle de métabolites secondaires chez les plantes (**Harbone, 1993**). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001**). Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie (**Leserf et Ragot, 2012**). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiol, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanines (**Effendi et al., 2008**).

3-2 Les tanins

Les tanins sont des composés phénolique complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**). Ils sont utilisés pour tanner les peaux (**Paris et Hurrabielle, 1998**) et pour stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Smythies, 1998**). Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les fagacées, les rosacées (**Ghestem et al., 2001**). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Ree, 2001**). Ils présentent plusieurs activités biologiques : activités antibactériennes, antifongiques et antivirales assez spectaculaires (**Chung et al., 1998**).

Ils sont divisés en deux groupes :

- **Tanins hydrolysables**

Ces tanins sont des diamètres d'acides galliques condensés sur des dérivés glycolyses. Ces composés donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides étendues une fraction glucidique (glucose) et une fraction polyphénolique (**Doat, 1978**).

- **Tanins condensés**

Ces tanins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont pas hydrolysés par les acides comme c'est le cas des tanins hydrolysables. Ils se transforment en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes (**Ngom, 2000**). Les tanins condensés donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

3-3 Les coumarines

Les coumarines de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (**Madhavid et al., 1996**).

3-4 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (**Guignard, 2000**). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (**Dellile, 2007**). Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétique (**Judd et al., 2002**).

3-5 Les Phénols

Les phénols, caractérisés par leur structure en anneau, comprennent notamment l'acide salicylique, à partir duquel la célèbre aspirine a été développée. Les phénols étaient autrefois utilisés pour désinfecter les blessures, mais à hautes doses ils peuvent provoquer de fortes irritations cutanées (**Hansw, 2007**).

3-6 Les Mucilages

Les mucilages sont des produits de la polymérisation de nombreux sucres dont certains peuvent être modifiés (exemple l'acide uronique qui est un polysaccharide hétérogène). Les mucilages ont la propriété de gonfler dans l'eau. On les utilise comme : laxatifs mécaniques et aussi adoucissants de la gorge (**Ledard et Guinaudeau, 1997**).

3-7 Saponosides

Les saponosides sont des terpènes glycosylés, ils peuvent être des stéroïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques, comme ils peuvent être trouvés sous forme d'aglycones appelés **sapogénines** (**William, 2003**). Il semble que les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les saponosides ont une activité expectorante, ils rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration. De plus, ils sont de puissants hémolytiques, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (**Bruneton, 1999**).

3-8 Minéraux

Certaines plantes médicinales contiennent également beaucoup de minéraux, c'est-à-dire des substances inorganiques qui sont nécessaires à la construction des tissus protecteurs, à la synthèse des enzymes et au bon fonctionnement du système nerveux (**Bruneton, 1999**).

4- Rôle biologiques des métabolites secondaires

- Défense contre les herbivores (insectes, vertébrés).
- Défense contre les moisissures et les bactéries.
- Défense contre les virus.
- Défense contre les autres plantes qui rivalisent pour lumière, eau et éléments nutritifs.
- Composés du signal attirer pollinisateur et les animaux disperser les graines disséminateur signaux pour communication entre plante et micro-organisme symbiotique.
- La protection contre les rayons UV ou autre stress physique.
- A sélectionné des fonctions physiologiques (**Wink, 2010**).

5- Description de la plante (L'ortie)

Originare d'Eurasie, l'ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du nord et du sud. Le nom latin (universel) de l'ortie se disait *Urtica* en latin ce mot venant lui-même du verbe « urere » qui signifie brûler par extension urticaire, urticant urtication. Se dit de tout espèce de tout démangeaisons similaires à celles provoquées par les piquants d'orties (**Ghedira et al., 2009**).

L'ortie est une plante vivace par un rhizome jaune rampant, nitrophile couverte de poils crochus irritants. Elle peut atteindre 1,50 mètre de haut. La tige, dressée et velue, est quadrangulaire et porte des feuilles opposées. La tige est non ramifiée, sauf si on la coupe. Elle est très fibreuse. Les feuilles à bords dentées se terminent en pointe au sommet, les fleurs sont petites et verdâtres. Parfois au printemps, les pousses exposées au soleil sont légèrement rougeâtres couleur liée à la présence de fer (**Tessier, 1994 ; Bremness, 2005 ; Moutsie, 2008 ; Bertrand, 2008**).

6- Composition chimique

6-1 Partie aérienne

Les feuilles d'ortie constituent donc une bonne source des flavonoïdes, des tanins, d'acides aminés essentiels, d'acide ascorbique, des vitamines, d'hydrates de carbone rares et de plusieurs minéraux et oligo-éléments, des éléments nutritifs (**Toldy et al., 2005**).

- **Les flavonoïdes :** Quercétine-3-O-rutinoside (rutine), Kaempférol-3-O-rutinoside et isorhamnetin-3-O-glucoside (**Otles et al., 2012**).
- **Huile essentielle:** Carvacrol, carvone, naphthalene, (E)-anethol, hexa-hydrofarnesyl acetone, (E)-geranyl acetone, (E)- β -ionone and phytol. 30 (**Gül et al., 2012**).
- **Acide organiques:** acide caféique et ses esters, acide férulique, chlorogénique, citrique, fumarique, phosphorique (**Otles et al., 2012**).

Tableau 1: Valeurs nutritionnelles dans 100 g d'ortie (Bertrand, 2002)

Calories	Protides	Lipides	Glucides	Cellulose
57g	5.5g	0.7 g	7.1 g	2g

Tableau 2: Bienfaits de certains minéraux et oligo-éléments et leur proportion (Bertrand, 2002).

Minéraux et oligo-éléments	Bienfaits	Proportion dans 100g de feuilles fraîches
Magnésium	Elimine les crampes	7 à 399 mg
Silice, bore	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Effet reminéralisant. ➤ Effet antirhumatismal : renforce le cartilage. ➤ Effet diurétique. 	Bore = 3.05 mg
Fer	Permet de lutter contre la fatigue physique et/ou intellectuelle en reconstituant les globules rouges.	4.1 mg
Calcium	Permet de lutter contre l'Ostéoporose.	60 mg à 3.24 g
Zinc	Effet anti-inflammatoire.	0.0 à 1.9 mg

Tableau 3: Bienfaits des vitamines et leur proportion (Bertrand, 2002).

Vitamines	Bienfaits	Proportion dans 100 g de feuilles fraîches
A	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Stimule la production de mélanine sans la peau. ➤ Améliore l'élasticité de la peau. ➤ Régule la Kératinisation (lutte contre l'acné). ➤ Indispensable pour une bonne vision. 	0 à 6 mg
B	Renforce les fonctions cognitives	-
C	Stimule les défenses immunitaires.	18.8 à 350 mg
K	Effet coagulant, antihémorragique : atténue les saignements.	-

Tableau 4 : Composition en acides aminés de l'ortie (Bertrand, 2002).

Acides aminés	Quantité présente dans 100 g d'ortie
Isoleucine	4.8 g
Leucine	1.1 g
Lysine	0.8 g
Méthionine	1.1 g
Phénylalanine	1.1 g
Thréonine	0.5 g
Tryptophane	0.25 g
Valine	0.8 g

6-2 La partie souterraine (Les racines) :

Les racines d'ortie contiennent différents composants tels que :

- **Les phytostérols** : 3- β -sitostérol, sitostérol-3-O- β -D-glucoside (6'-O-palmitoyl)-sitosterol-3-O- β -D-glucoside, 7 β - hydroxysitosterol, 7 α -hydroxysitosterol, 7 β -hydroxysitosterol- β -D-glucoside, 7 α -hydroxysitosterol - β -glucoside, 24R-ethyl-5 α -cholestane-3 β ,6 α -diol, stigmasterol, campesterol, stigmast-4-en-3-on, hecogenin (Ait Haj Said et al., 2016).
- **les lignanes** : (+)-neoolivil, (-)-secoisolariciresinol, dehydrodiconiferyl alcool, isolariciresinol, pinoresinol et 3,4-divanillyltetrahydrofurane (Ait Haj Said et al., 2016).
- **les flavonoïdes** : Myricétine, Quercétine, Kaempférol, Quercétine-3-O-ritinoside (rutine), Kaempférol-3-O-ritinoside et isorhamnetine (Ait Haj Said et al., 2016).
- **les coumarines** : Scopoletine (Seliya et kothiyal, 2014).
- **Des polysaccharides acides** : Glycanes, Arabinogalactane et Rhamnogalacturonans (Seliya et kothiyal, 2014).
- **Eléments minéraux et oligo-éléments** : Calcium, Magnésium, Zinc, Manganèse, Cuivre (Rafajlovska et al., 2013).
- **Lectine** : L'UDA (*Urtica dioïca* agglutinin), composée d'une simple chaîne polypeptidique de 89 acides aminés avec une grande proportion de glycine, cystéine et tryptophane (Ait Haj Said et al., 2016).

7- L'intérêt de l'ortie

L'ortie est une plante cosmophile qu'on trouve dans le monde entier. C'est aussi une plante rudérale. Ce qui signifie qu'elle apprécie les endroits pollués qu'elle se charge d'assainir. En tant que Plante nitrophile, elle suit la culture humaine et pousse spontanément jusqu'à 2500m d'altitude, particulièrement les sols contaminés par les engrais (**Preston et al., 2002**).

Agissant comme un régulateur d'azote, c'est une plante bio-indicatrice. Au moment de sa décomposition, elle libère l'azote sous forme assimilable, ainsi disponible pour les plantes. Sa place dans l'assolement d'une exploitation, pourrait résoudre en partie les problèmes liés aux excès de nitrates dans les sols pollués. Elle peut être considérée comme une plante culture intermédiaire piège à nitrates (CIPAN) (**Petiot et al., 2010**).

Elle se produit dans une grande variété d'habitat, comme les clairières des bois, les prairies non managées, broussailles, haies, bords des routes, des jardins et champs. Elle est capable même de pousser au sein de vieux tas de ferraille. On la trouve plus rarement dans les régions de nature vierge (**Pojar et Kinnon, 1994**).

L'ortie également qualifiée de plante ferreuse au premier degré, régularise la teneur en fer du sol et aussi bénéfique pour toutes les autres plantes qui y poussent. Elle capte les métaux lourds dans sa partie racinaire, on n'en retrouve pas dans les feuilles mais un peu dans les racines. Elle élabore le soufre, véhicule le potassium et le calcium (**Bertrand et Jeunne, 2008**).

Elle fait partie du groupe des plantes photosensibles grâce à son appareil photosynthétique, elle est en mesure de substituer dans les conditions de luminosité très variables (**Bertrandet al., 2004**).

8- Les propriétés pharmacologiques de l'ortie

Les propriétés pharmacologiques de l'ortie ont été rapportées dans de nombreuses études. Dans cette partie, nous nous efforcerons de décrire certains effets de l'ortie ainsi que les substances actives et les mécanismes d'action quand cela est possible.

8-1 Activité anti-inflammatoire

Les recherches scientifiques ont mis en évidence la capacité de l'ortie de diminuer la réaction inflammatoire, via de multiples mécanismes d'action dont les conséquences sont la réduction de synthèse de médiateurs lipidiques et de cytokines pro inflammatoires. En effet, les extraits hydro-alcooliques de feuilles inhibent la biosynthèse des enzymes de la cascade

arachidonique (Blas *et al.*, 2012), notamment les cyclo-oxygénases COX-A et COX-2, et bloquent ainsi la biosynthèse des prostaglandines et thromboxane (Roschek *et al.*, 2009). De plus, un effet inhibiteur a été démontré sur le système NF- κ B impliqué dans les réponses immune, anti-apoptotique et inflammatoire (Farahpour *et al.*, 2015) et sur le facteur d'activation plaquettaire des neutrophiles (PAF : Platelet Activating Factor) (Roschek *et al.*, 2009). D'autre part, plusieurs études ont révélé que l'extrait des feuilles diminue la libération des interleukines IL-2 et IL-1 β , de l'interféron γ (IFN γ) et des facteurs TNF- α et TNF- κ (TNF : Tumor Necrosis Factor) (Yilmaz *et al.*, 2014).

De ce fait, les effets anti-inflammatoires des feuilles d'ortie suggèrent qu'elle peut être utile dans les pathologies inflammatoires aiguës, mais aussi dans les pathologies chroniques, en l'occurrence la polyarthrite rhumatoïde.

En outre, l'extrait aqueux de racines d'ortie a une activité anti-inflammatoire. Wagner avait montré qu'une fraction polysaccharidique de cet extrait a une action inhibitrice, sur l'œdème induit de patte de rat, comparable à celle exercée par l'indométacine. L'effet anti-inflammatoire est lié à l'inhibition de la cyclooxygénase et de la lipoxigénase, et à la production des cytokines (Wagner *et al.*, 1994).

8-2 Activité antimicrobienne

Les propriétés antibactériennes des différents extraits d'*Urtica dioïca* vis-à-vis des souches bactériennes ont été mises en évidence par plusieurs travaux. Dans une étude réalisée sur neuf bactéries : *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Streptococcus pneumoniae*, l'extrait aqueux des parties aériennes a inhibé la croissance de ces bactéries sauf certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* (Gulcin *et al.*, 2004).

Quelle que soit leur concentration, les extraits aqueux d'ortie possèdent une activité antimicrobienne remarquable contre les bactéries gram positif et gram négatif lorsqu'on les compare à de forts composés antimicrobiens standards tels que le nitrate de micronazole, l'amoxicilline-acide clavulinique et l'afloxacine (Gulcin *et al.*, 2003).

8-3 L'activité antioxydante

Les extraits de l'ortie ont un rôle neutralisant des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Leur activité anti-radicalaire, vis-à-vis de l'anion superoxyde O₂^{•-}, du radical hydroxyle OH[•] et du radical oxyde nitrique NO[•] a été déterminé par spectrophotométrie. De nombreuses

études ont montré que les extraits méthanolique et éthanoliques des feuilles présentent un effet antioxydant remarquable vis-à-vis du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (**Kataki et al., 2012**). La chélation du fer ferreux a été évaluée en utilisant la ferrozine qui forme un chromophore rouge avec le fer résiduel (Fe (II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. Les absorbances obtenues montrent que l'ortie possède une activité chélatrice importante vis-à-vis de l'ion ferreux (**Gulcin et al., 2004**). Une autre étude, réalisée sur des rats traités au tétrachlorométhane (CCl₄), a montré que l'ortie diminuait la peroxydation lipidique et augmentait l'activité du système de défense antioxydant jouant ainsi un rôle protecteur contre l'hépatotoxicité. Cette activité anti-oxydante est corrélée essentiellement à la teneur de composés phénoliques (**Kanter et al., 2005 ; Kataki et al., 2012**).

8-4 Activité antifongique

L'agglutinine de l'ortie possède une activité antifongique et insecticide. Elle agit en synergie avec la chitinase en inhibant la croissance fongique. Elle inhibe aussi la croissance de plusieurs champignons pathogènes et saprophytes contenant de la chitine (**Blas et al., 2012**).

8-5 Activité antivirale

L'activité antivirale de l'ortie a été évaluée *in vitro* (**Uncini Manganeli et al., 2005**). La mise en évidence de l'action inhibitrice, puissante et sélective de l'UDA (agglutinine) sur la réplication intracellulaire du virus de l'immunodéficience humaine (HIV-1 et HIV-2), du virus respiratoire syncytial (VRS) et du cytomégalovirus (CMV), a été bien élucidée (**Balzarini et al., 1992**).

9- Principales utilisations thérapeutiques

9-1 Utilisation thérapeutique traditionnelle

L'ortie est un remède traditionnel utilisé depuis des années contre l'anémie et le manque d'énergie : on dit que c'est un excellent fortifiant grâce à sa haute teneur en fer et autres minéraux. On dit aussi qu'elle stimule les fonctions digestives (douleurs et crampes d'estomac) (**Wichtl et Anton, 2003**). La tisane d'ortie est toujours proposée par les phytothérapeutes comme remède traditionnel pour la goutte et les rhumatismes. En Allemagne, la tisane d'ortie est utilisée comme diurétique léger, mais elle n'est pas suffisamment puissante pour être associée à un traitement de l'hypertension ou les problèmes

cardiaques. Alors qu'en Russie, l'ortie est aussi employée pour les troubles biliaires et hépatiques (**Valnet, 1983**).

9-2 Utilisation thérapeutique actuelle

L'ortie appartient au monopole pharmaceutique. Elle est inscrite sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la pharmacopée dans le monde entier. Aujourd'hui les propriétés médicinales de l'ortie sont reconnues de tous. La plupart des pratiques populaires ancestrales ont été confirmées par l'analyse et l'expérimentation. De nos jours, l'ortie rentre dans la composition d'une multitude de médicaments allopathiques et les recherches se poursuivent et viennent toujours confirmer certaines utilisations empiriques (**Cazin, 1997**).

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire de biochimie de l'université 8 mai 1945, Guelma.

1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est une espèce végétale dont la position systématique selon APG II (2003) est la suivante :

Règne: *Plantae*.

Sous règne: *Tracheobionta*.

Super division: *Spermatophyta*.

Division: *Magnoliophyta*.

Classe: *Magnoliopsida*.

Sous classe: *Rosidaeae dialycarpellees*.

Ordre: *Urticales*.

Genre: *Urtica*.

Famille: *Urticaceae*.

Espèce: *Urtica dioïca L.*



Figure 1 : La plante *Urtica dioïca L.*

La plante *Urtica dioïca* (les feuilles) a été récoltée au moins du janvier 2017 au niveau d'une région montagneuse (Khezaras-Ben semih) wilaya de Guelma.

2- Site d'échantillonnage

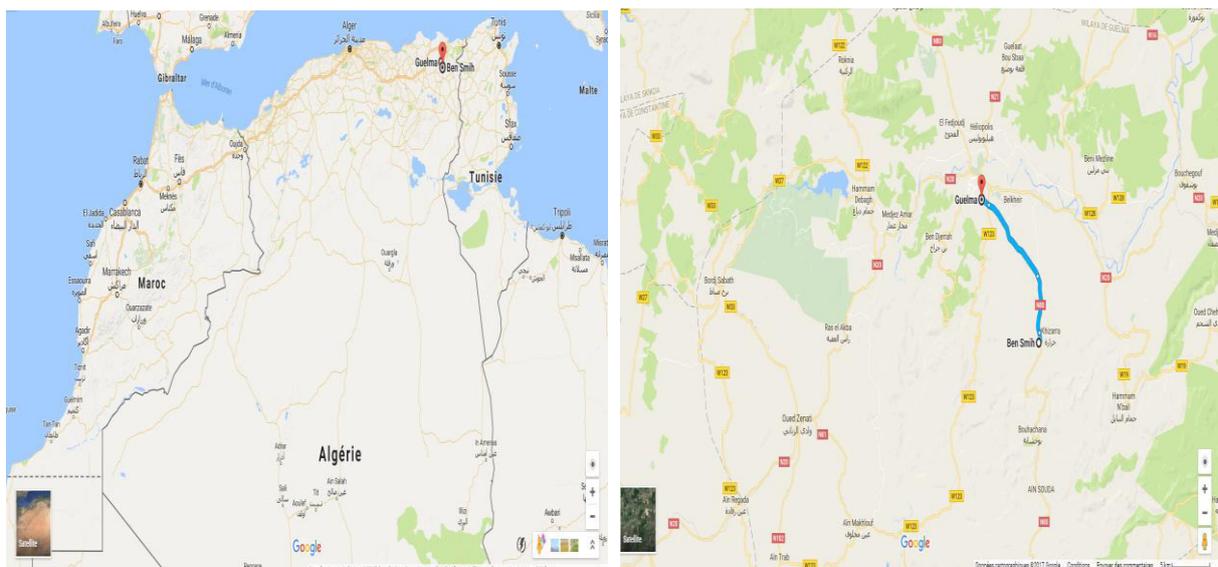


Figure 2 : Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante.
(Google Map-Guelma, 2017)

3- Etude phytochimique

3-1 Tests préliminaires de la composition chimique

3-1-1 Les Alcaloïdes

La présence des alcaloïdes est caractérisée à l'aide de réactif de Mayer. Un extrait sulfurique a été préparé à partir de 10g de poudre et 50ml de H₂SO₄ à 10%. Après agitation, il fut laissé en macération pendant 24 heures à température de laboratoire, puis filtré le macéré sur papier filtre et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir 50ml de filtrat (**Dohou et al., 2003**).

Dans un tube à essai, on introduit 1ml de filtrat, puis on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer (5g de KI +135g de HgCl₂ solubilisé dans 100ml d'eau distillée). La présence des alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre.

❖ Test de confirmation

Nous procédons à une extraction de la poudre végétale en milieu acide, Dans un Ballon de 500ml contenant 5g de poudre végétal, on verse 25ml d'acide chlorhydrique 0.05N. Le mélange est laissé en macération sous agitation magnétique à la température de laboratoire (environ 25°C) pendant 24 heures, puis on filtre et on lave à l'eau distillée, et après on réalise le test de caractérisation précédent avec la solution obtenue (**Dohou et al., 2003**).

3-1-2 Les Coumarines

1g de l'échantillon de la poudre végétal est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis on ajoute 0.5ml NH₄OH dilué (10%) on met deux taches sur un papier filtre et on examine sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

3-1-3 Les Tanins

❖ Extraction

Dans un Erlenmeyer, on disperse 5g de poudre dans 100ml d'eau distillée bouillante. Après infusion pendant 15 minutes, on filtre et on complète le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

➤ **Tanins catéchiques**

Ils sont identifiés par le réactif de STIASNY (10ml de Formol 40%, 5ml HCl concentré). 5ml de la solution a été évaporés à sec. Après ajout de 15ml du réactif de STIASNY au résidu. Le mélange a été maintenu au bain marie à 80°C pendant 30 min. Il se forme un précipité rouge (**Karumi et al., 2004**).

➤ **Tanins Gallique**

Les tanins galliques sont identifiés par ajout de FeCl₃. En effet, nous avons filtré la solution précédente. Le filtrat est recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ à 2% provoque l'apparition d'une coloration bleu-noir intense dénotant la présence de tanins galliques (**Alain et al., 2011**).

3-1-4 Les Flavonoïdes

❖ **Extraction**

On met 3g de la poudre végétale séchée avec 75ml d'eau distillée dans une fiole. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes puis on filtre avec un papier filtre et on laisse refroidir (**Edeogal et al., 2005**).

❖ **Réaction générale de caractérisation des flavonoïdes**

➤ **Coloration en milieu alcalin**

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun. À 2ml d'extrait, on ajoute quelques millilitres de soude au 1/10^e dans un tube à essai. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangée (**Okmu, 2005**).

➤ **Coloration par perchlorure de fer (FeCl₃)**

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonction phénolique dans leur génines, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl₃. À 2ml de la solution extractive on ajoute 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl₃ à 2%, le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre (**Okmu, 2005**).

3-1-5 Les Mucilages

On introduit 1ml du décocté à 10% dans un tube à essai et on ajoute 5ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages (**Karumi et al., 2004**).

3-1-6 Les Stéroïls et Triterpènes

5g de la poudre végétale, sont dissoutes dans l'éther de pétrole, l'extrait éthérique est filtré puis «évaporé à sec ». Le résidu résultant est solubilisé dans un 5 ml d'acide acétique ensuite dans un 5 ml de CHCl_3 .

A l'aide d'une pipette, 1 à 2ml de H_2SO_4 concentré ont été déposés au fond du tube à essai sans agitation. La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stéroïls et triterpènes (Daoudi et al., 2015).

3-1-7 Les Saponosides

Ils sont caractérisés par leur pouvoir moussant en solution aqueuse (Mboj, 2003).

Dans une fiole jaugée renfermant 80ml d'eau distillé bouillante, sont introduites 2g de poudre, l'ébullition est maintenu de façon modéré pendant 30 min, le mélange est ensuite filtré. Après refroidissement le filtrat est agité verticalement. la formation de mousse indique la présence des saponosides (Karumi et al., 2004).

La teneur en saponosides est évaluée selon (Seladji, 2013) :

Pas de mousse : test faiblement positif.

Mousse moins de 1 cm : test positif.

Mousse 1-2 cm : test positif.

Mousse plus de 2cm : test très positif.

3-2 Préparation de l'extrait méthanolique

Cette opération consiste à épuiser le matériel végétal par plusieurs solvants organiques. Cette dernière comprend les étapes suivantes :

a) Délipidation

150g de la plante (*Urtica Dioïca*) est macéré dans l'éther de pétrole pendant 24 heures et filtré tout en jetant le filtrat. Cette macération est répétée 2 fois avec filtration et renouvellement du solvant à chaque fois (Basli et al., 2012).

b) Extraction des polyphénols

L'extraction s'effectue par macération dans 300ml de méthanol pendant 24 heures suivie d'une filtration. Cette opération est répétée trois fois. Les trois filtrats sont récupérés et évaporés à basse température (40°C) dans un rot à vapeur (R-215), le résidu est récupéré dans des flacons hermétiquement fermés (Daoudi et al., 2015).

➤ Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R(\%) = 100 m/m_0}$$

R : le rendement en %.

m : la masse de l'extrait.

m₀ : la masse initiale de la plante.

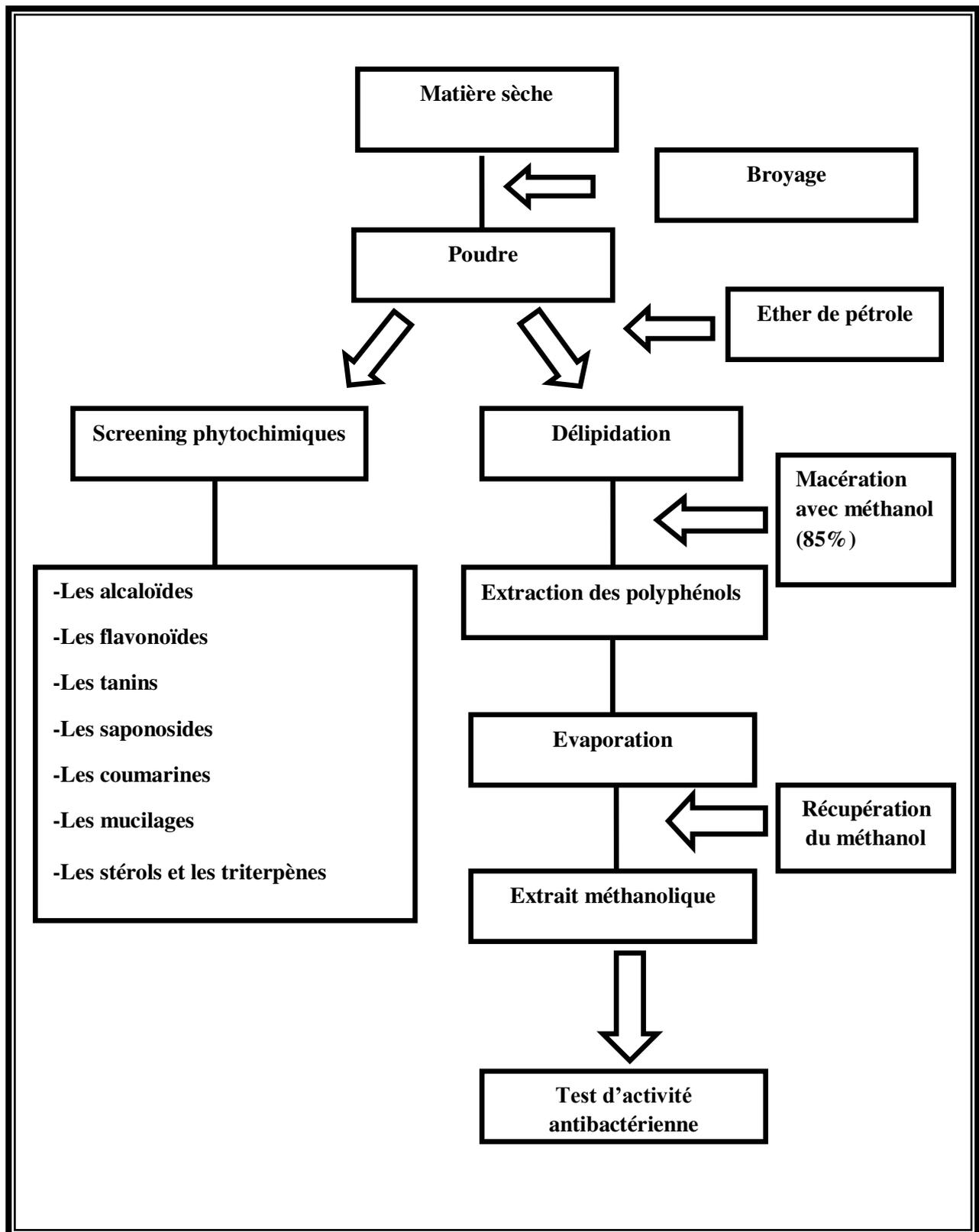


Figure 3 : Protocol expérimental (Daoudi et al., 2015).

3-3 Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (C.C.M)

La chromatographie sur couche mince est une méthode rapide de contrôle dont la phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme, de 0,25cm d'épaisseur, de silice séchée, finement pulvérisée et appliquée sur un support approprié (feuille d'aluminium ou de verre). La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité (**Anton et al., 1998**).

❖ Préparation du solvant de migration

Les solvants de migration sont préparés selon les proportions suivantes (**Gwenola et al., 2011**) :

- Butanol – Acide acétique – Eau distillé (4V : 1V : 5V).
- Acétone – Eau distillé (5V : 5V).
- Chloroforme – Méthanol – Eau distillé (9V : 1V : 1/2V).

❖ Dépôt des échantillons

A 1 cm du bord de la plaque, (10x10cm) : Déposer 8µL de l'extrait sur la plaque à l'aide d'un capillaire. Les points sont disposés sur une ligne horizontale et séché immédiatement sous courant d'air chaud (**Erika et al., 2008**).

❖ Migration

La plaque ainsi préparée est introduite dans la cuve à chromatographie au fond de laquelle se trouve l'éluant approprié (**Antonot et Marchal, 1998**). La phase mobile parcourt alors la phase stationnaire provoquant ainsi une succession de partage des constituants entre les deux phases, ce qui permet une séparation des constituants entre les deux phases. La migration est arrêtée lorsque le front du solvant à parcouru 10 à 15 cm. La plaque est ensuite séchée (**Marouf, 2002**).

❖ Révélation

Pour révéler les taches sur la plaque, on pulvérise la plaque avec une solution de Ninhydrine, d'une manière homogène. Après révélation, on obtient des taches colorées (spots), caractérisés par leurs rapports frontaux (R_f) (**Marouf, 2002**).

Le R_f est donné par la formule suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

4- Tests d'activité antibactérienne

4-1 Les souches testées

Les souches utilisées dans les tests d'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* font parties de la flore pathogène qui menace la santé humaine.

Les bactéries testées proviennent du laboratoire de microbiologie de l'hôpital IBN ZOHR, Guelma.

8 souches bactériennes ont été isolées à partir de prélèvement des malades ayant des infections et à partir des services d'infectiologie et d'hémodialyse.

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de l'ortie sont les suivants :

Tableau 5 : Source de prélèvement des souches testées.

Souche	Source de prélèvement	catégorisation
<i>Enterobacter cloacae</i>	Sexe : Femme Age : 39 ans Prélèvement : Infection urinaire	Gram (-)
<i>K. pneumoniae</i>	Sexe : Femme Age : 63 ans Prélèvement : Pus	Gram (-)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	Gram (-)
<i>E. coli</i> 1	Sexe : Homme Age : 65 ans Prélèvement: Pus	Gram(-)
<i>E. coli</i> 2	Sexe : Homme Age : 72 ans Prélèvement: infection urinaire	Gram(-)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	Gram (-)
<i>P. aeruginosa</i>	Prélèvement : Robinet de toilette du service d'hémodialyse	Gram (-)
<i>S. aureus</i>	Prélèvement : Poignet de porte de toilette service infectiologie homme	Gram (+)

Ces souche sont conservées et maintenues par des repiquages continus, sur gélose nutritive en boites après ensemencement, incubation puis conservation au réfrigérateur à 4°C.

4-2 Evaluation de l'activité antibactérienne

4-2-1 Préparation des suspensions bactériennes

Les souches bactériennes sont ensemencées sur la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à (0.5 Mc Farland) ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. 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 (Daouadji, 2010).

4-2-2 Mode d'ensemencement des souches bactériennes

L'ensemencement doit se faire au moins 15 min après la préparation sur milieu gélosé Muller-Hinton stérile. Ce milieu est fondu, coulé en boite de pétri à une épaisseur de 0.4mm, après la solidification de la gélose, tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boite de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (Mohammedi, 2006).

4-3 Test du méthanol ou contrôle négatif

Après ensemencement du MH par les suspensions bactériennes (0.5 Mc Farland), des disques stériles de papier whatman N°1 de 6mm de diamètre sont déposés en surface à raison de 4 disques par boite, par la suite un volume de 10 µl de méthanol est déposé sur deux disques, les deux autres disques qui restent sont imbibés directement dans le méthanol. Les boites ainsi sont stockées dans un réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures, ensuite elles sont incubées 24 heures à 37°C. Après incubation, les diamètres d'inhibition formés sont mesurés (Lesueur et al., 2007).

4-4 Antibiogramme

A l'aide d'une pince stérile, des disques d'antibiotique (**Les disques utilisés**) sont déposés à la surface de la gélose MH ensemencée par les différentes souches sélectionnées, puis les boîtes sont stockées pendant 2 heures au réfrigérateur, après elles sont incubées 24 heures à 37°C. Après incubation, les diamètres d'inhibition formés sont mesurés et comparés aux diamètres critiques (**Hussain, et al., 2010**).

Tableau 6 : Les diamètres critiques des antibiotiques utilisés (SFM, 2015).

Souche \ ATB	Amikacine		Co-Trimoxazole		Gentamicine		Ciprofloxacine	
	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	≥17	<17	≥16	<10	≥18	<16	≥25	<22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≥17	<15	≥16	<10	≥18	<16	≥25	<22
<i>E. coli 1</i>	≥17	<15	≥16	<10	≥18	<16	≥25	<22
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	≥17	<15	≥16	<10	≥18	<16	≥25	<22
<i>E. coli</i> ATCC 25922	≥26	<19	≥29	<23	≥18	<16	≥40	<30
<i>E. coli 2</i>	≥17	<15	≥16	<10	≥18	<16	≥25	<22
<i>Staphylococcus aureus</i>	≥17	<15	≥16	<10	≥18	<16	≥25	<22
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	≥26	<18	-	-	≥18	<16	≥33	<25

S : Sensible **R** : Résistante

4-5 Méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatoگرامme

L'aromatoگرامme est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'extrait à tester. Ce test a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu solide qui consiste en la détermination des diamètres des zones d'inhibition (**Gachkar et al., 2006 ; Gupta et al., 2010**).

- Des disques de 6 mm de diamètre de papier whatman N°1, stérilisés et imprégnés à raison de 10 µl de la gamme de concentration d'extrait (10mg, 50mg, 100mg, 150mg, 200mg, 250mg)/ml du méthanol ont été déposés à la surface d'un milieu préalablement ensemencé par les souches sélectionnées. Après une incubation à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibition formées éventuellement autour des disques seront mesurées à l'aide d'un pied coulisse (**Toty et al., 2013**).

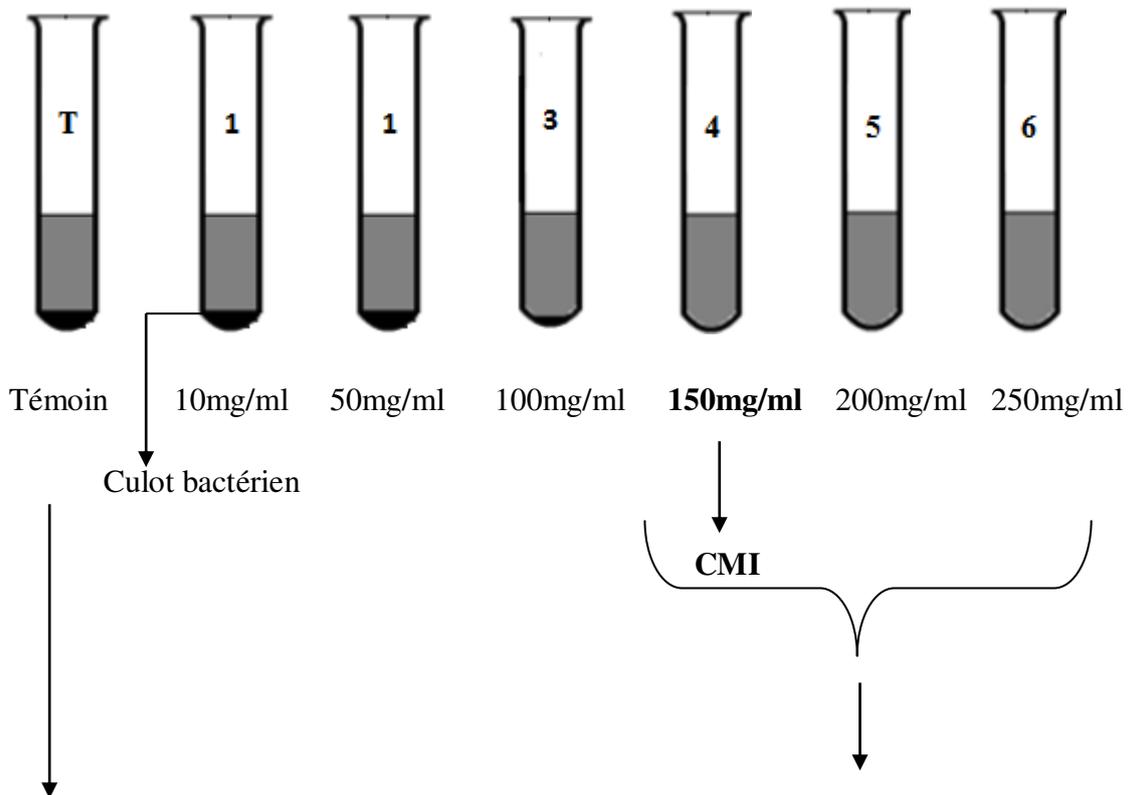
L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction de ce diamètre la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (**Hamidi, 2013**).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

4-6 Technique de dilution en milieu liquide

A partir de la poudre stérile de l'extrait végétale, on a préparé une gamme de concentration allant de 10 mg/ml à 250 mg/ml. Ensuite 50µL de chaque concentration est introduit dans un tube à essai stérile contenant 4ml de bouillon nutritif et 20µL de la suspension bactérienne, le témoin comprend la même composition, hormis l'extrait et à sa place on a additionné 50µL du méthanol dilué. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24heures (**Toty et al., 2013**).

a)



(b)

Ensemencement sur gélose MH et incubation à 37°C, 24h

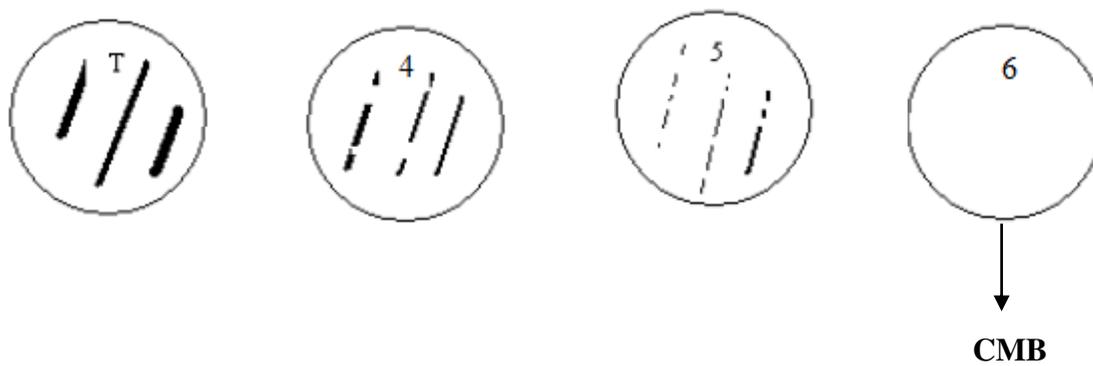


Figure 5: Concentration minimale inhibitrice et bactéricide (Vincent, 2006).

4-6-3 Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition réalisée par la mesure du diamètre d'inhibition est issu de la réponse bactérienne par rapport au diamètre de la boîte. Ce dernier est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{control}}) \times 100$$

D_{test} : diamètre de la zone d'inhibition.

D_{control} : diamètre de la boîte de pétri.

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

1- Résultats de l'étude phytochimique

1-1 Tests préliminaires de la composition chimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les feuilles broyées d'*Urtica dioïca*, en utilisant des réactifs spécifiques de révélation. Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation et de complexations avec formation de complexes insolubles et colorés (mousse). La coloration observée provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans une molécule ou un examen sous la lumière ultraviolette, les résultats sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau 7: Screening phytochimique d'*Urtica dioïca*.

	Composés						
<i>Urtica dioïca</i>	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Coumarines	Tanins	saponosides	Mucilages	Stérols et triterpènes
	-	+	-	+	+	+	-

(+) présence (-) absence

Le screening phytochimique montre la présence des groupes chimiques suivants : flavonoïdes, saponosides, mucilages et les tanins (galliques et catéchiques). On note l'absence des alcaloïdes, coumarines, stérols et triterpènes.

Les feuilles de la plante *Urtica dioïca* est riche en divers métabolites secondaires ce qui explique l'intérêt et l'attention particulière porté par les chercheurs à travers les études scientifiques sur cette plante. (Naghibi et al., 2005).

De façon générale, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux de (Dohou et al., 2003, Bekro et al., 2007) sur *Urtica dioïca*.

De même, les tests phytochimiques réalisés par (Randerath et Nguyen, 1971 ; Tona et al., 1998 ; longanga Otshoudi et al., 2000) ont montré également la présence des métabolites secondaires ce qui est comparable aux résultats obtenues dans nos études. Aussi nos résultats sont en accord avec ceux de (Kassim et al., 2013) en Irak. Ces auteurs ont trouvé des tannins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des glycosides, la seule différence réside dans le fait qu'*Urtica dioïca* récoltée du nord de l'Algérie contient d'autres molécules notamment des anthocyanes, des saponines et des mucilages (Afif chaouche, 2015). Un autre screening

phytochimique sur *Urtica dioïca* récoltée du Pakistan montre l'absence des saponines et des coumarines (Khan *et al.*, 2011). Concernant les coumarines, une étude faite en Serbie a montré la présence de ce métabolite secondaire dans la partie aérienne de l'Ortie (Dejan, 2014).

D'autres travaux ont trouvé que les principaux composants chimiques d'*Urtica dioïca* sont les flavonoïdes, les tanins, les composés volatils, des acides gras, des polysaccharides, des stérols, des terpènes, des protéines, des vitamines et des minéraux (Wojtaszek, 1986 ; Bombardelli *et al.*, 1997 ; Krystofova, 2010).

1-2 Rendement de l'extraction

L'opération de l'extraction à partir de 150g du matériel végétale à l'aide du méthanol a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait méthanolique, les résultats obtenus montrent que le rendement en extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* est de l'ordre de **6.104g** et **4.069%**, le rendement variable d'une espèce à un autre. Les résultats mentionnés représentent dans le **tableau 8** et la **figure 6**.

Tableau 8 : Rendement de l'extraction

	<i>Urtica dioïca</i>
Rendement (g)	6.104
Rendement %	4.069

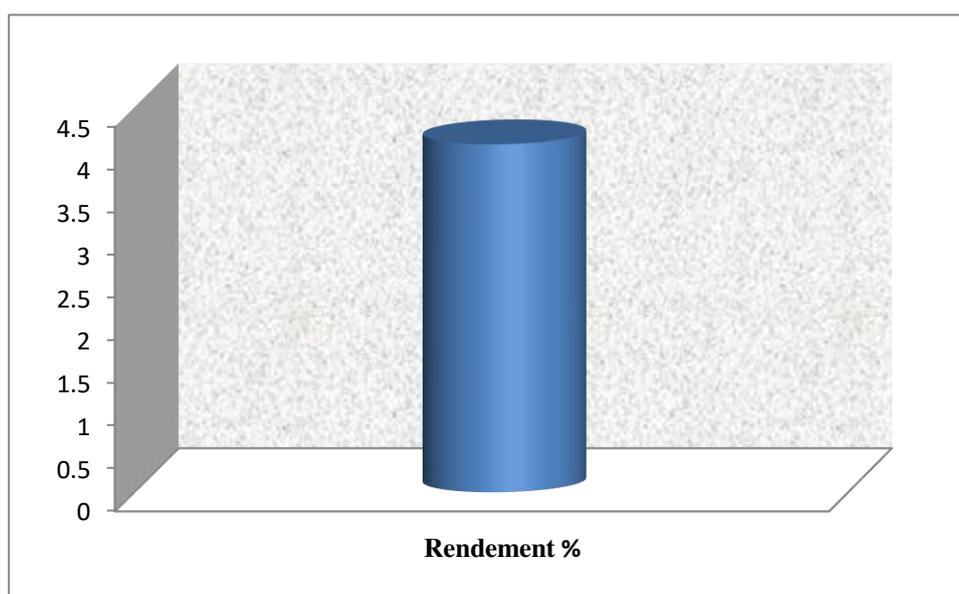


Figure 6: Rendement de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*.

Le rendement est dans la dépendance de l'origine géographique, le stade phénologique et les facteurs environnementaux tels que la température, et la qualité du sol (**Bruneton, 1993**).

Selon une étude menée par (**Mansour et al., 1990**) sur la même espèce *Urtica dioïca*, le rendement en extrait méthanolique de la partie aérienne est de **3.75%** Rendement nettement inférieur à celui obtenu dans nos études. Cela est peut être dû à l'utilisation de la température élevée pendant plusieurs heures qui peut dégrader certains constituants sensibles (tels les polyphénols ..) (**Andersen et Markham, 2006**), ce qui n'est pas le cas dans nos études où l'extraction est réalisée à froid par simple macération.

1-3 Analyse phytochimique de l'extrait méthanolique

1-3-1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

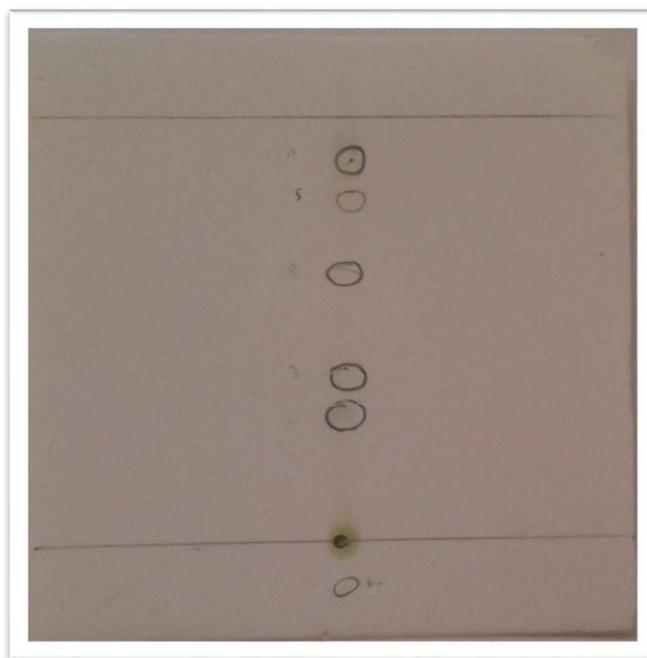


Figure 7 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*.

L'identification des composés est basée sur la comparaison des R_f et les couleurs observées sous lampe UV des taches apparues sur CCM avec des étalons notés dans les mêmes conditions expérimentales.

La plaque obtenue présente une bonne migration par conséquent une bonne séparation qui permet l'analyse qualitative des composés flavonoïques.

Alors les rapports frontaux présentés sont calculés selon l'équation suivante :

Tableau 9 : Les Rapports frontaux des taches et les Classes des composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique (Markham, 1982).

Front du solvant = 7cm				
Taches	Distance parcourue	R_f	Couleurs sous UV	Types de flavonoïdes possible
1	6.3cm	0.9	Violet	Flavonones
2	5.6cm	0.8	Bleu	Acide phénol
3	4.4cm	0.62	Bleu pale	Acide phénol
4	2.6cm	0.37	Rouge	Lutéoline-7-glucoside
5	2cm	0.28	Rouge vif	Lutéoline-7-glucoside

Le tableau comporte les R_f des différents spots apparus avec la couleur révélée sous la lampe UV. Un ensemble de spots a été obtenu par le système solvant (acétone – eau) de l'extrait méthanolique.

Trois systèmes de solvant ont été utilisés, les deux solvants (Butanol – Acide acétique – Eau distillé) et (Chloroforme – Méthanol – Eau distillé) n'ont pas donné de bons résultats, à cause de la faible polarité des solvants, et à partir du système solvant : (acétone /eau), le chromatogramme obtenu comporte une série de spots, qui apparaissent visibles, et sous la lampe UV à 254 nm (**Ben Hassine et al., 1982**). De plus, la méthode d'extraction et les solvants utilisés pour l'extraction pourraient être à l'origine de ces résultats.

Une étude sur l'extrait méthanolique de l'ortie est en accord avec nos résultats pour quelques composants chimiques. Cette étude réalisée en Chine a montré la présence de huit constituants chimiques identifiés (**Ramzan, 2014**).

2- Résultat de l'activité antibactérienne

2-1 Test du méthanol (test négatif)

Le test méthanol à différentes concentrations, réalisé sur toutes les souches montre que ce solvant n'a aucun pouvoir antibactérien sur ces micro-organismes. (fig. 8)

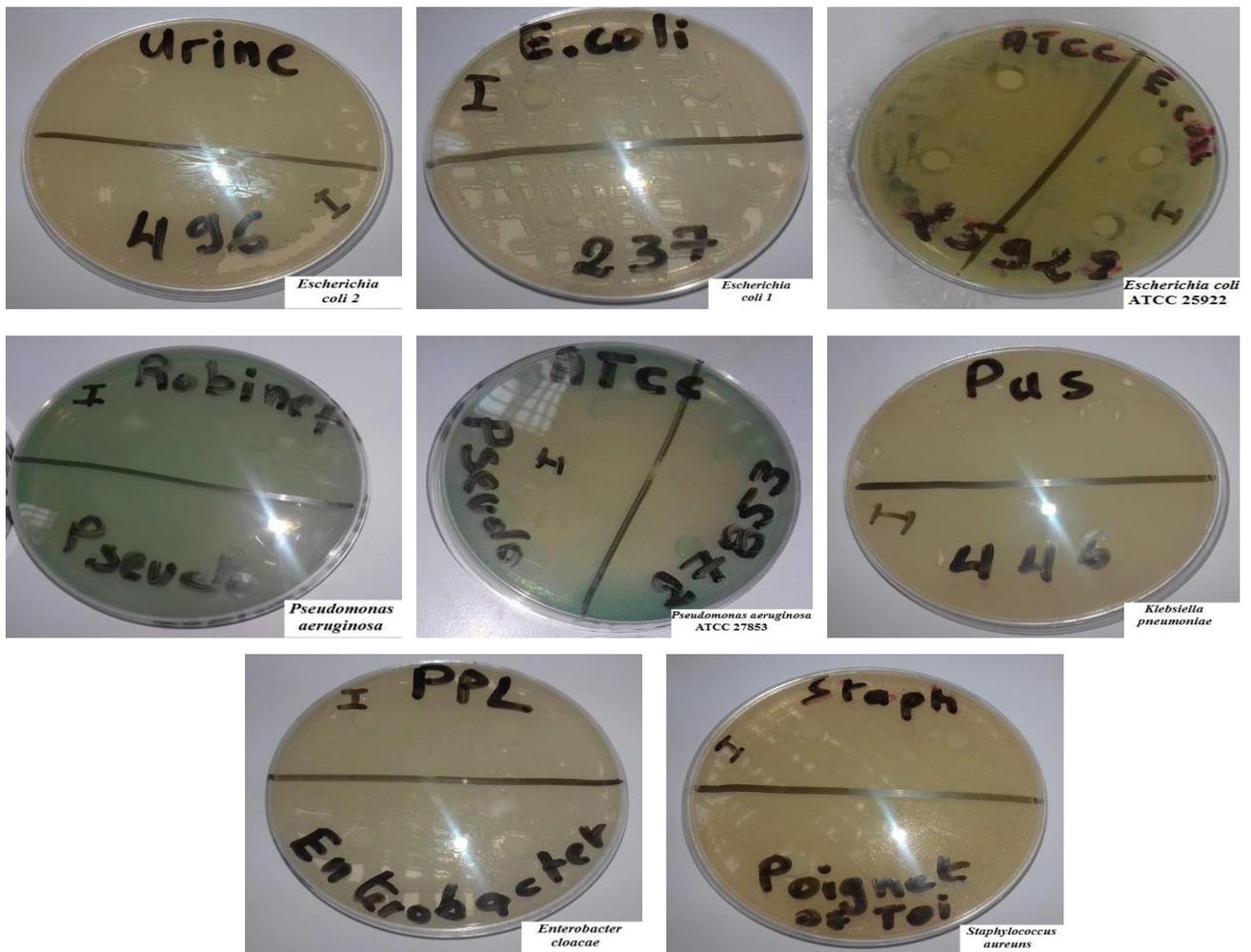


Figure 8 : Activité du méthanol sur les souches testées.

2-2 Antibiogramme

La mise en contact de différentes souches avec l'antibiotique a permis de réaliser un antibiogramme afin de déterminer le diamètre d'inhibition et par conséquent voir la sensibilité ou la résistance bactérienne vis-à-vis de ces derniers. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 9** et le **tableau 10**. On remarque que la série d'ATB testée a un effet variable sur les souches cibles, ils ont un effet inhibiteur sur certaines et sont soumis à une résistance avec d'autres.

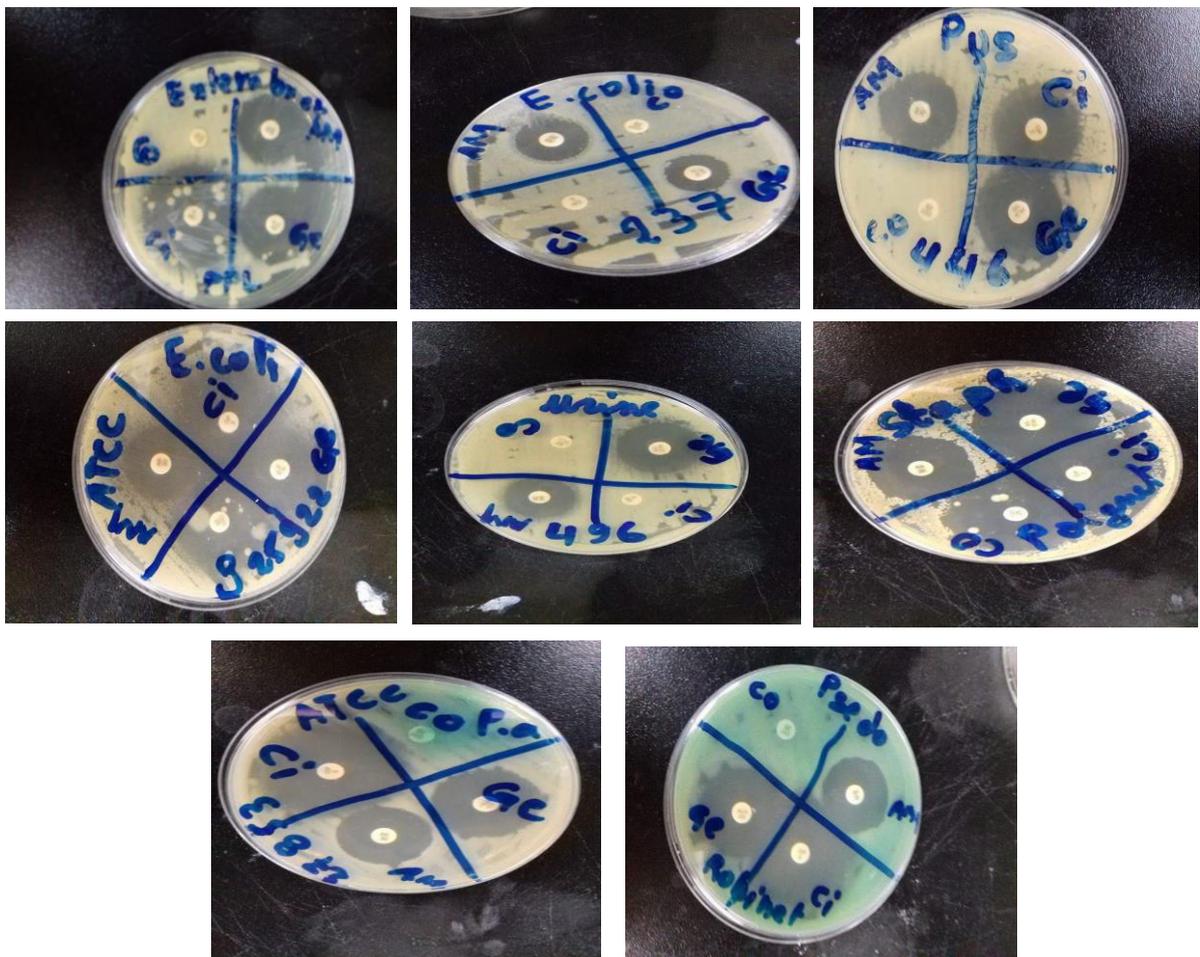


Figure 9 : Aspect macroscopique de la réponse bactérienne aux différents Antibiotiques testés (Antibiogramme).

Tableau 10 : Les diamètres d'inhibition des souches testées vis-à-vis des antibiotiques.

ATB Souche		Les diamètres d'inhibition (mm)							
		Amikacine		Co-Trimoxazole		Gentamicine		Ciprofloxacine	
		D	C	D	C	D	C	D	C
<i>Enterobacter cloacae</i>		34	S	0	R	24	S	12	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		26	S	0	R	28	S	42	S
<i>E. coli 1</i>		26	S	0	R	26	S	0	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		24	S	0	R	26	S	28	S
<i>E. coli ATCC 25922</i>		24	I	24	I	28	S	38	I
<i>E. coli 2</i>		20	S	0	R	18	S	0	R
<i>Staphylococcus aureus</i>		36	S	42	S	30	S	38	S
<i>P. aeruginosa ATCC 27853</i>		24	I	0	R	24	S	36	S

D : Diamètre (mm) C : Catégorisation S : Sensible R : Résistante I : Intermédiaire

2-1 Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* sur les souches testées.

2-3-1 Méthode de dilution en milieu solide (Aromatogramme)

La méthode de diffusion des disques a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* vis-à-vis des souches bactériennes utilisées, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait.

Les résultats du test de sensibilité microbienne à l'extrait (aromatogrammes) sont indiqués dans le **tableau (11)** et les **figures (10, 11, 12, 13)**.

Tableau 11 : Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* sur les souches testées.

	Concentration (mg/ml)					
	10	50	100	150	200	250
	Diamètre des zones d'inhibition (mm)					
<i>Enterobacter cloacae</i>	11	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	11	14	11	9	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	0	10	9	12	11
<i>Escherichia coli</i> 1	0	9	12	10	15	14
<i>Escherichia coli</i> 2	9	12	12	9	12	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	10	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	12	11	14	16	9

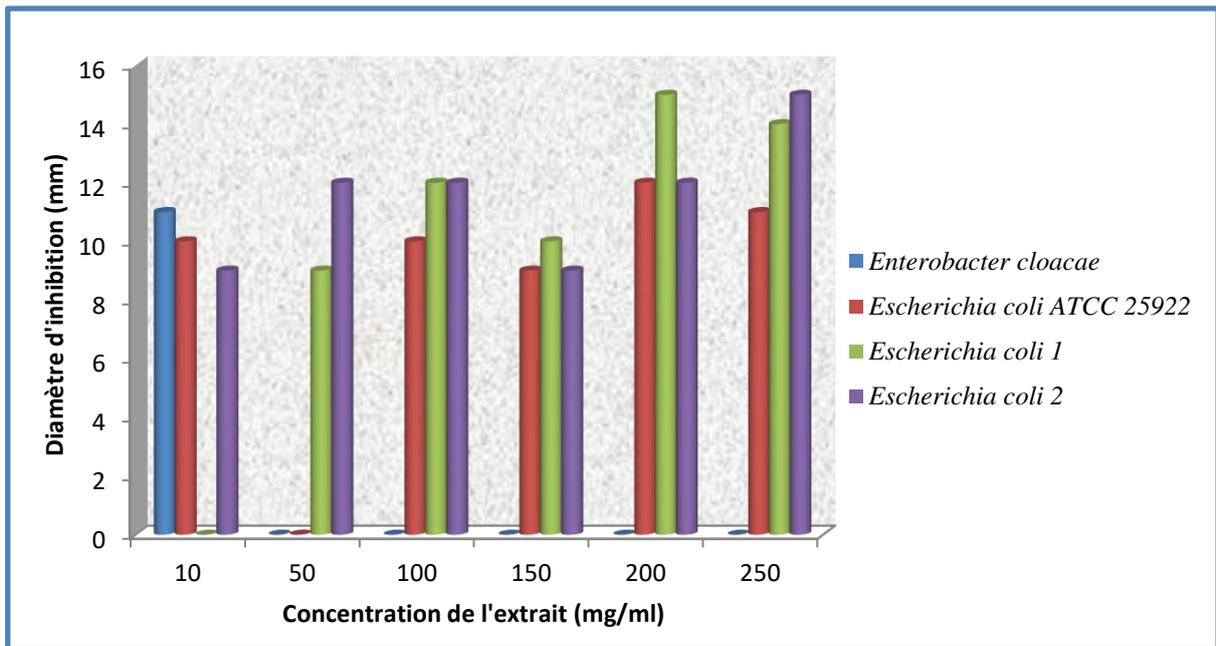


Figure 10 : Présentation graphique de l'aromatogramme d'*Enterobacter cloacae*, *E. coli* ATCC 25922 et *E. coli* 1, *E. coli* 2 vis-à-vis de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*.

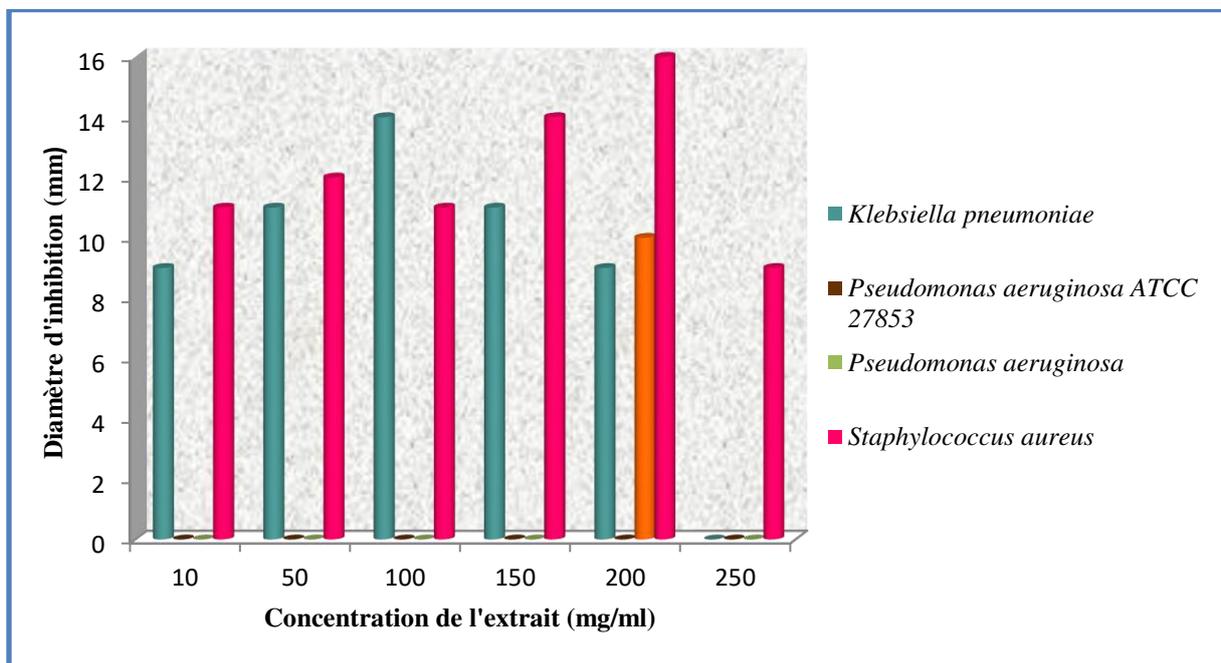


Figure 11 : Présentation graphique de l'aromatogramme de *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* et *S. aureus* vis-à-vis de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*.

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*, il a été préféré de le tester contre plusieurs cibles, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier. Les résultats présentés dans le tableau et les figures montrent que :

-Les tests des différentes concentrations de l'extrait d'*Urtica dioïca* sur la souche *Enterobacter cloacae* ne montre aucun effet sur cette dernière avec les concentrations allant de 50 à 250 mg/ml de méthanol. Par ailleurs la concentration 10mg donne un effet positif, où la bactérie s'est manifestée sensible vis-à-vis de l'extrait (diamètre compris entre 8 et 14mm).

-Les résultats de l'aromatogramme présentent des diamètres d'inhibition qui varient entre 9 et 14mm relatifs aux concentrations 10, 50, 100, 150, 200mg/ml, ce qui nous permet de dire que la souche *Klebsiella pneumoniae* est sensible. Par contre la concentration 250mg/ml du méthanol ne montre aucun effet.

-*E. coli* ATCC 25922, décèlent une sensibilité vis-à-vis aux différentes concentrations testées (10, 100, 150, 200,250mg/ml) avec des zones d'inhibition qui varient entre 9 et 12mm, cependant la concentration 50mg/ml n'expose aucune zone d'inhibition.

-L'évaluation de l'effet antibactérien de l'extrait de la plante testé sur *E. coli* 1 présente l'absence de la zone d'inhibition de la bactérie en réponse à la concentration 10mg/ml, mais pour les autres concentrations révèlent des zones d'inhibition entre 9 et 15mm, ceci indique sa sensibilité de l'espèce vis-à-vis de l'extrait.

-Les résultats obtenus montrent que la gamme de concentration de l'extrait d'*Urtica dioïca* a une action positive sur la souche *E. coli* 2 à l'exception de la concentration 250mg/ml qui donnent un diamètre de 15mm (diamètre compris entre 15 à 19mm), considérant ainsi la bactérie très sensible.

De manière générale, les concentrations varient de 10 à 250mg/ml donne le même effet permettent de classer la bactérie dans la catégorie sensible.

-Les résultats relatifs à l'aromatogramme de la souche *P. aeruginosa* ATCC 27853 révèlent l'absence des zones d'inhibition de la bactérie en réponse à la gamme de concentration de l'extrait de la plante testé.

-Les résultats relatifs à l'aromatogramme de la souche *Pseudomonas aeruginosa* montrent l'absence des zones d'inhibition de la bactérie en réponse à la gamme de

concentration de l'extrait de la plante testée, ceci reflète sa résistance vis-à-vis de l'extrait. En revanche la concentration 200mg/ml révèle une zone de 10mm de diamètre, ce qui nous permet de dire que la souche est sensible.

-L'extrait de la plante d'*Urtica dioïca* à différentes concentrations choisies inhibe la croissance de la souche *Staphylococcus aureus* même à de faibles concentrations, notions toutefois, un effet plus important (diamètre compris entre 15 à 19mm) avec la concentration 200mg/ml.

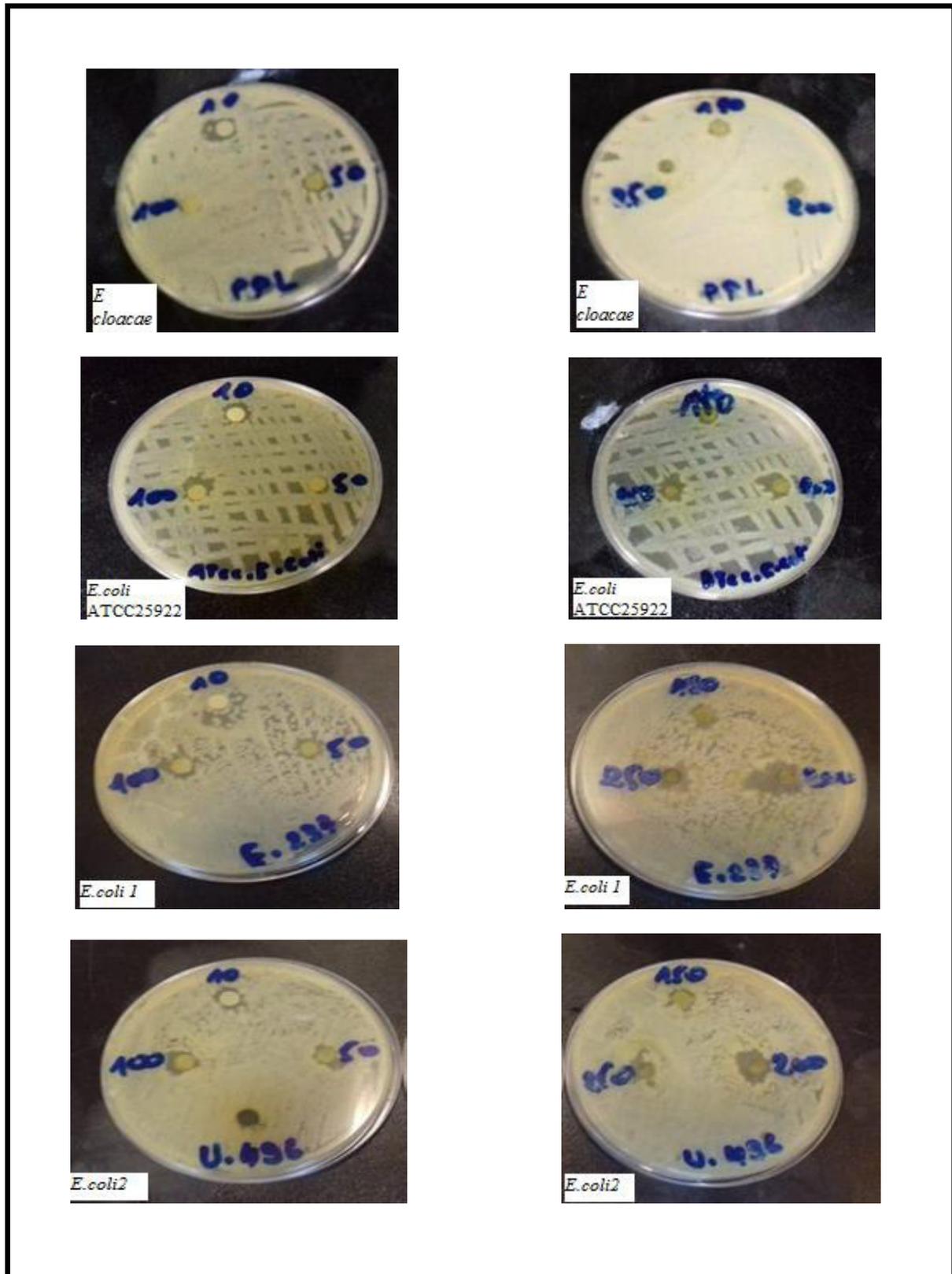


Figure 12: L'effet de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* sur *Enterobacter cloacae*, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 1, *E. coli* 2.

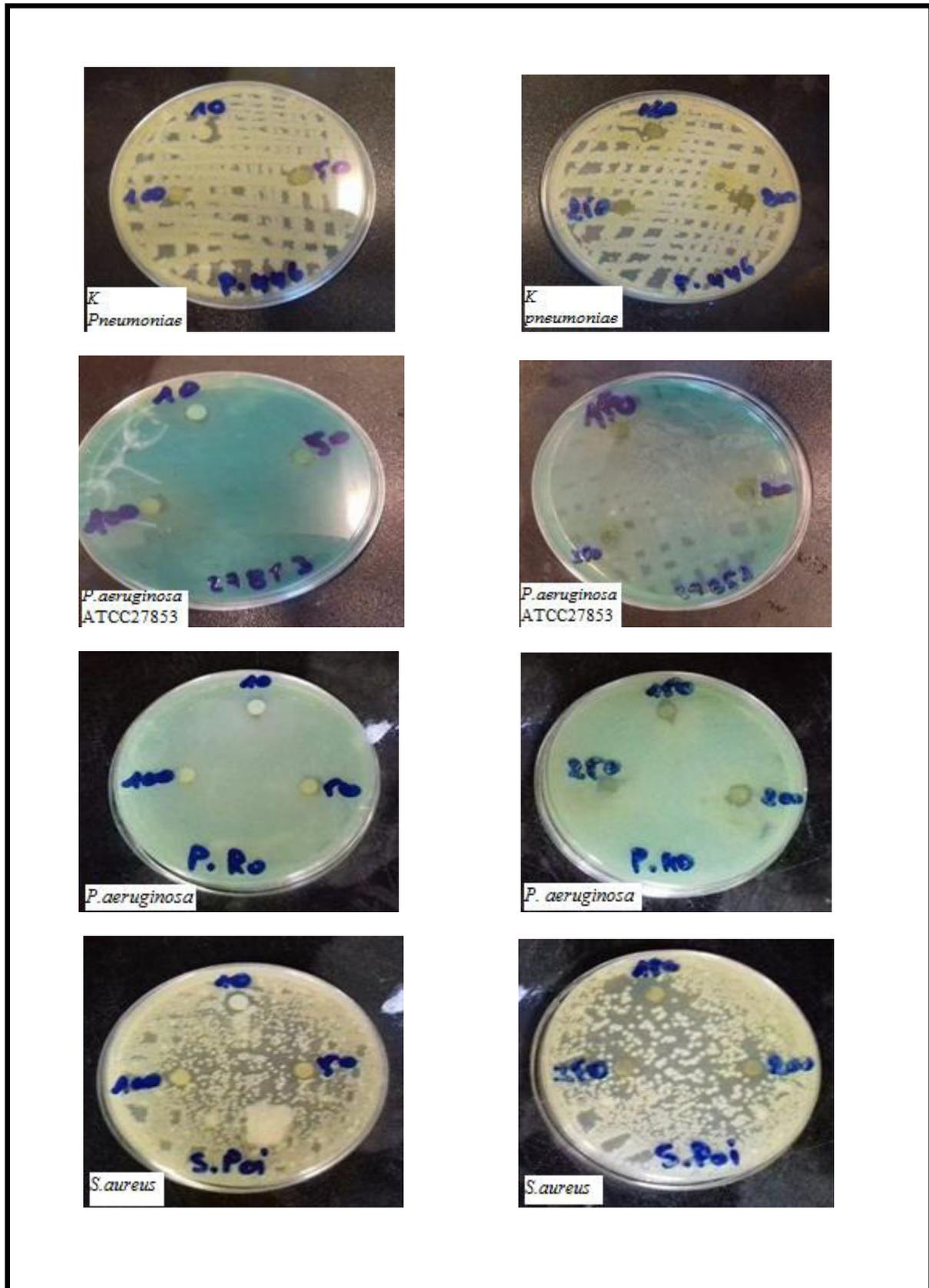


Figure 13: L'effet de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* sur *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa*, *S. aureus*.

2-3-2 Méthode de dilution en milieu liquide

-Pour l'espèce *Enterobacter cloacae*, La concentration minimale inhibitrice (CMI) de, l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* est 150mg/ml.

-La concentration minimale inhibitrice (CMI) est de l'ordre de 10mg/ml Pour la souche *E. coli* ATCC 25922.

-La concentration minimale inhibitrice (CMI) de cette série est de l'ordre de 200mg/ml pour l'espèce *E. coli* 1 vis-à-vis de l'extrait testé.

-D'après la série de dilution effectuée aucun tube clair n'a pu être observé, donc la CMI recherchée n'a pu être déterminée pour l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* pour les deux espèces *E. coli* 2, *Klebsiella pneumoniae*.

-A partir de la série de dilution en milieu liquide contenant la gamme de concentration allant de 10 à 250mg/ml de l'extrait d'*Urtica dioïca*, La concentration 200mg/ml a permis l'obtention d'un tube claire traduisant ainsi l'inhibition de la croissance bactérienne, pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

-Pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*, Les résultats démontrent que la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait est 10mg/ml.

-La concentration minimale inhibitrice (CMI) est de l'ordre de 150mg/ml pour la souche *Staphylococcus aureus*.

2-3-3 Concentration minimale bactéricide (CMB)

A partir des séries de dilution précédentes, où on a pu déterminer une CMI, des boites de Muller Hinton (MH) ont étéensemencées puis incubées afin de déterminer la CMB pour l'extrait d'*Urtica dioïca*, les résultats relatifs ne montrent aucune inhibition de la concentration bactérienne des souches testées.

2-4 Pourcentage d'inhibition

Après le calcul des pourcentages d'inhibition, les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Pourcentage d'inhibition des souches testées.

	Concentration (mg/ml)					
	10	50	100	150	200	250
	Pourcentages d'inhibition (%)					
<i>Enterobacter cloacae</i>	12,94	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	11,76
<i>E. coli 1</i>	10,58	14,11	14,11	10,58	14,11	17,64
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,58	12,94	16,47	12,94	10,58	0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	11,76	0	11,76	10,58	14,11	12,97
<i>E. coli 2</i>	0	10,58	14,11	11,76	17,64	16,47
<i>S. aureus</i>	12,94	14,11	12,94	16,47	18,82	10,58
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0	0

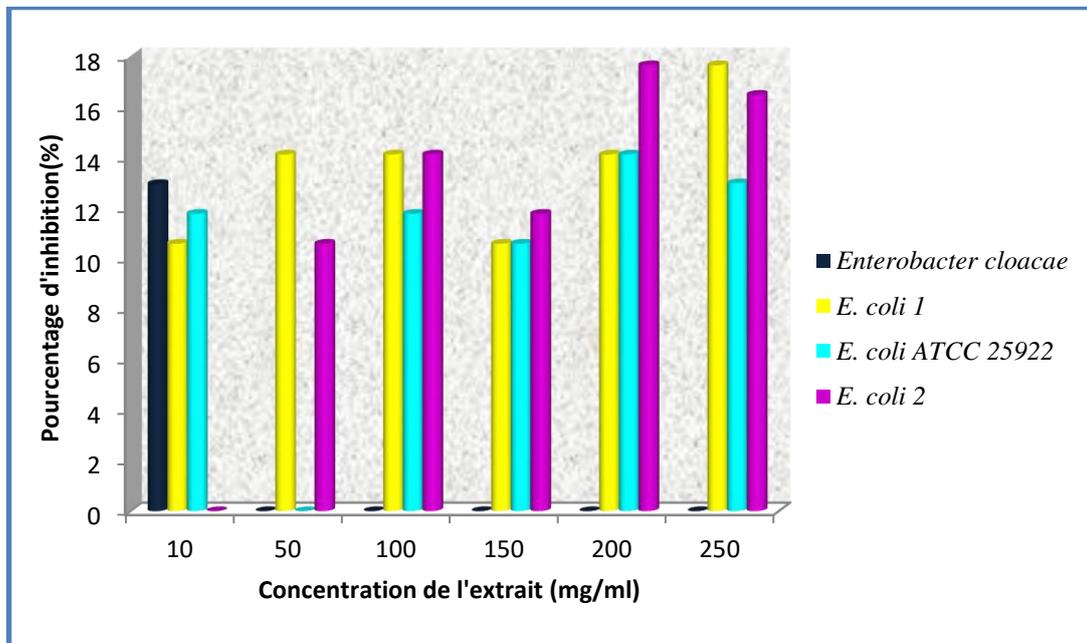


Figure 14 : Présentation graphique des pourcentages d'inhibition d'*Enterobacter cloacae*, *E. coli* ATCC25922, *E. coli 1*, *E. coli 2*.

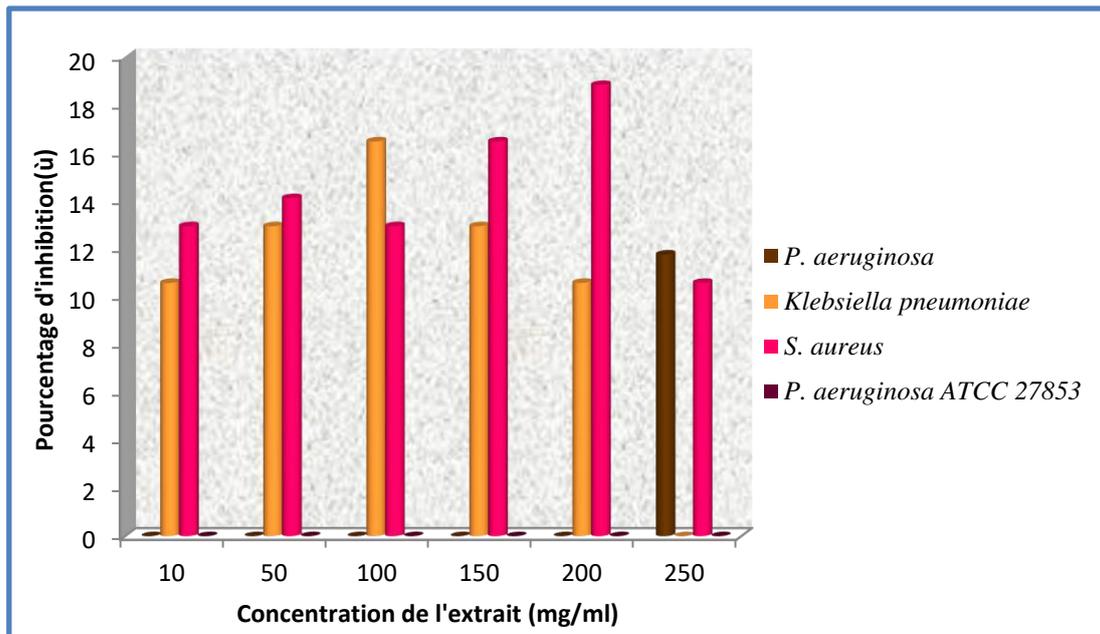


Figure 15 : Présentation graphique des pourcentages d’inhibition de *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. aeruginosa* ATCC27853, *S. aureus*.

Le calcul du pourcentage d’inhibition de la gamme de concentration choisie pour l’extrait d’*Urtica dioïca* présenté dans le **tableau 12** et la **figure 14, 15** nous montre que sur l’ensemble des souches testées les espèces *E. coli* et *S. aureus* se révèlent plus sensibles. Par ailleurs, la souche *P. aeruginosa* apparaît résistante vis-à-vis des différentes concentrations testées.

Les zones d’inhibition calculées pour les souches d’*E. coli* permettent de classer les souches dans la catégorie sensible, uniquement avec les faibles concentrations (10 et 50 mg/ml).

La souche *Enterobacter cloacae*, est sensible uniquement avec la concentration (10mg/ml) et résistante pour les autres concentrations. Par contre la souche *P. aeruginosa* est sensible uniquement avec la concentration 200mg/ml.

La souche *Klebsiella pneumoniae* est résistante dans la forte concentration (250mg/ml). Cependant, elle est sensible avec les concentrations 10, 50, 100, 150, 200mg/ml.

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* a été testée sur 8 bactéries dont 7 de Gram – et 1 de Gram +, provenant de la collection du laboratoire de microbiologique de l'hôpital IBN ZOHR Guelma.

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne. Ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes (**Rojas et al., 1992**), le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques (**Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010**). De plus la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes (**Hayouni et al., 2007**).

D'après les valeurs enregistrées, la quasi-totalité des souches bactériennes testées à l'exception de *P. aeruginosa* et *Enterobacter cloacae* a montré une sensibilité à l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*. Les zones d'inhibitions varient entre (9 et 16 mm).

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Modarresi et al., (2012)** qui ont montré que l'extrait d'*Urtica dioïca*, notamment avec l'extrait brut, qui par exemple à 100 mg/ml était actif contre plusieurs souches bactériennes : *E. coli* 2, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 1 et *Staphylococcus aureus*.

Nos études sont conformes aussi avec les travaux d'**Albayrak et al., (2012)** qui ont mis en évidence que l'extrait méthanolique a exercé un effet inhibiteur qui s'est traduit par des zones d'inhibitions de l'ordre de (9 mm) vis-à-vis d'*Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* 2, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 1, *Staphylococcus aureus* mais qui reste aussi inefficace vis-à-vis d'autre souche microbienne *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

De plus, nos études sont confirmées par **Afif Chaouche, (2015)** qui révèle que la souche *E. coli* 1 et *E. coli* 2, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* sont plus sensibles à *Urtica dioïca* avec un diamètre d'inhibition qui varie entre 9 et 16 mm. Par contre, *Pseudomonas aeruginosa* est résistante pour l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca*.

La sensibilité d'*E. coli* et de *S. aureus* a été également signalée par **Farhan et al., (2012)**. Ces auteurs ont indiqué que les concentrations de 0,3 ; 0,5 ; 1 mg/ml de l'extrait méthanolique ont prouvé un effet antimicrobien différent selon le microorganisme testé.

Par contre la décoction de l'ortie d'origine de Turquie est étudiée par **Deliorman et al., (2012)** a révélé des CMI de l'ordre de 64µg/ml vis-à-vis de *S. pneumoniae*, et *S. pyogenes*, et de 32µg/ml vis-à-vis de *S. aureus* et *S. epidermis*. Par contre les résultats obtenus par **Dogruoz et al., (2008)** sont en complète concordance avec nos résultats car l'extrait hydro-

éthanolique d'*Urtica dioïca* de Turquie n'a exercé aucun effet antibactérien sur les différentes souches bactériennes testées.

Les valeurs de la CMI enregistrées varient entre 10 et 200 mg / ml. Les plus faibles valeurs de la concentration minimale inhibitrice obtenue avec les souches *P. aeruginosa*, *E. coli* ATCC 25922, alors que les plus fortes valeurs sont signalées chez *Enterobacter cloacae*, *E. coli* 1, *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa* ATCC 27853.

De plus, nos résultats sont plus loin de ceux indiqués par **Deliorman et al., (2012)** qui a trouvé des CMI de l'ordre de 64µg/ml vis-à-vis de *S. pneumoniae*, et *S. pyogenes*, et de 32µg/ml vis-à-vis de *S. aureus* et *S. epidermis*.

Dar et al., (2012) associent l'efficacité antimicrobienne des extraits d'*Urtica dioïca* à leurs teneurs en terpènes et en composés phénoliques.

Une autre étude réalisée par **Kukrić et al., (2012)** a montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Urtica dioïca* a donné une faible activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes testées mais à des différences selon la souche testée par exemple *B. subtilis* IP5832 et *E. coli* isolées des aliments a enregistré la plus faible résistance, avec les valeurs de CMI supérieures ou égales à 36,21 mg/ml par contre *P. aeruginosa* a été la plus résistante des bactéries testées avec une CMI de 144,86 mg/ml. Une autre étude menée par **Gülcin et al., (2004)** a également montré une résistance de *P. aeruginosa* ATCC 9027 vis-à-vis de l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica dioïca* par contre *E. coli* a été sensible à cet extrait.

L'absence d'effet bactériostatique ou bactéricide sur les différentes souches testées pourrait être due à la résistance de celles-ci ou bien à l'insuffisance du volume et de la concentration utilisée. De plus, la méthode d'extraction et les solvants utilisés pour l'extraction pourraient être à l'origine de ces résultats car **Hayouni et al., (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes.

Nos résultats vont dans le sens inverse de ceux obtenus par **Modarresi et al., (2012)** qui ont montré un effet bactéricide des extraits organiques des parties aériennes de l'ortie sur 38 micro-organismes. Ces extraits ont inhibé la croissance de *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus spizizenii*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Erwinia sp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus sp*, *Saccharomyce cerevisiae*, *Salmonelle paratyphi B*, *Serratia marcescns*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicelline (MRSA) et *Vibrio parahaemolyticus*. Les composés phénoliques présents dans l'ortie seraient responsables de cet effet antibactérien (Effet bactéricide).

Il est important, de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut. Par exemple, une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs (**Ferrari, 2002**). Pour de nombreuses plantes, en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et donc dans l'efficacité biologique (**Balansard, 2007**).

L'absence d'effet bactériostatique ou bactéricide sur les différentes souches testées pourrait être due à la résistance de celles-ci ou bien à l'insuffisance du volume et de la concentration utilisés (**Daoudi et al., 2015**).

Il ne faut pas oublier que le produit actif qui se présente dans la plante peut être : soit actif sans être métabolisé et aura ainsi une activité *In vitro* et *In vivo* ; soit actif après métabolisation et dans ce cas il sera inactif *In vitro* et actif *In vivo* (**Chaouche, 2014**).

Enfin, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (**Kalembe et Kunicka 2003 ; Sari et al., 2006**) ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ils ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vu activités biologiques comme suit: phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éther et hydrocarbures

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales resteront toujours une source finale de principes actifs d'intérêt thérapeutique. Face à la phobie des molécules de synthèse chimique, leur utilisation est en progression constante. La problématique soulevée dans ce travail s'inscrit dans ce souci d'exploration et de criblage de nouvelles sources de biomolécules contenues dans des plantes autochtones qui poussent à l'état sauvage dans nos contrées et faisant partie de la pharmacopée traditionnelle de nos populations.

La flore de la région de Guelma est caractérisée par une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, la plante *Urtica dioïca* a fait l'objet d'une étude phytochimique de son extrait méthanolique et d'une évaluation de son potentiel antibactérien.

La plante *Urtica dioïca* reste parmi les moins utilisés dans la médecine alternative Algérienne. Pour cela l'objectif assigné à cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des feuilles de cette plante.

Le screening phytochimique de l'extrait méthanolique révèle que les feuilles d'*Urtica dioïca* sont riches en divers métabolites secondaires qui participent à l'adaptation de cette plante à leurs environnements ainsi que de leurs propriétés biologiques et vertus thérapeutique.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne d'*Urtica dioïca* sont très promoteurs, vu que l'extrait méthanolique a révélé une activité sur les souches testées (cliniques et de références).

L'orientation des recherches afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail, également l'exploration d'autres facettes des propriétés biologiques de cette plante médicinale pourrait être réalisée. Ainsi un certaines de perspectives peuvent être envisagées :

- Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* sur un modèle biologique, après leur métabolisation par la cellule.
- Une étude de l'activité anticytotoxique sur des cellules cancéreuses.
- Déterminer les fractions les plus actives et éventuellement de caractériser les molécules responsables de ces activités.

Cet humble travail s'inscrit alors dans cette démarche en espérant que le relais sera pris par d'autres travaux et par l'industrie pharmaceutique pour tester de manière plus poussée l'efficacité de cette espèce et aussi pour apprécier l'innocuité de composants utiles.

**Références
bibliographiques**

Références Bibliographique

- **AFIF CHAOUCHE T.** 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, 2015, 122 p. Disponible sur : <http://www.cabi.org/publishing-product/online-information-roussources/animal-breeding-absract>
- **AHMED A., ZAIN U., ABJULUZIZ M, RIUS U., IUBUL H., MUHAMMAD T.** Evaluation of the chemical composition and element analysis of *Urtica dioïca*. *Africa Journal of Pharmacy*, 2012, 6 (21), 1555- 1558.
- **AIT HAJ SAID A., IBRAHIM SBAI E., DERFOUFI S., BENMOUSSA A.** Nutritional and therapeutic potential of nettle. (*Urtica dioïca L.*).*L'International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical science [en ligne]*. 2015, 6 N °3, 281-292. (Consulté le 02 Mai 2017). DOI : 10.4267/2042/61406.
- **ALAIN P., BANGRA B., ADOU F., JEAN D., ALLICO J.** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences and Nature*. 2011. 8N°1, 1-11
- **ALBRAYAK S., AKSOY A., SAGDIC O.** Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 2012, 36, 547–554
- **ANTON., BOUTAOUI N.,** Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricana chamomilla* (Asteraceae), étude de la phase acétate d'éthyle, Mémoire de Magister. Université de Constantine 1, 1998, 21-42-50-89-92.
- **ANTONOT E., MARCHAL R.** Chromatographie Stage MAPEN, 1998, 5.
- **APGII.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2002, 141(4), 399-436.
- **BAKKE I., THORSEN E., NORDAL A.** Water soluble acids from *Urtica dioïca L.* *Medd Nor Farm Selsk.* 1978, 40, 181-8.
- **BALANSARD G.** Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriété antibactérienne ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie*. 2007, 42.
- **BALZARINI J., NEYTS J., SCHOLS D.** The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-actylglucosamine) specific plant lectin from *Urtica dioïca* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro. *Antiviral Res.* 1992, 18, 191-207.

- **BASLI A., CHIBANE M., MADANI K., OUKIL N.** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*.2012 10, 2-9.
- **BEN HASSIN B., BUI A., MIGHRI Z., CAVE A.** Plantes médicinales et phytothérapie. 1982, 16(3), 197-205.
- **BEN SASSI A., HARZALLAH S., AOUNIL M.** Investigation of some medicinals plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Journal Pharmaco Bio.* 2007, 45 (5), 421–428.
- **BERTRAND B.** *Les Secrets de l'Ortie*. Collection Le Compagnon Végétal, 2002 volume 1.
- **BERTRAND B., JEANNE A.** Les secrets de l'Ortie, 2008, 10 ème Ed. du Terran : 45-95.
- **BERTRAND B., COLLAERT J., PETIOT E.** Purin d'ortie. 2004, 3 ème Ed. Terrain Editions.
- **BHUWAN CJ., HUWAN CJ., MINKY M., AJUDHIA NK.** Pharmacognostical review of *Urtica dioïca* L. *Int Journal Green Pharm*, 2014, 8, 201-9.
- **BLAS A., GANGRADE T., PUNASYA R., GHULAXE C.** Antioxidative effects of Iranian *Urtica dioïca* L. extracts on the oxidation of sunflower oil. *Journal of Medicinal Plants Research*.2012. 5 (18), 4438-4445.
- **BOMBARDELLI E., MORAZZANIP.** *Urtica dioïca* L. 1997. *Fitoterapia*, 1997, 68, 5, 387-402
- **BOURGAUD F., GRAVOT A., MILESI S., GONTIER E.** Production of plant secondary metabolites, a historical perspective. *Plant Science*. 2001, 161, 839-851.
- **BREMNES L., BAUDOUX M., GARNAUD V.** Plantes aromatiques et médicinales, 700 espèces. 2005. Edition Larousse. L'oeuil Nature. 24.
- **BRUNETON J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.1999, 3ème Ed, Techniques et documentations. Paris. 227-310-312-313-314.494.
- **BRUNETON J.** Pharmacognosie: Phytochimie et plantes médicinales.1999, 3ème édition (Tec et Doc). 1085.
- **BRUNETON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 1993, 2ème Ed. Lavoisier. Paris, 274-285.

- **BRUNENTON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 1999, 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.
- **CAZIN H.** Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes. 1997. 3ème édition. Paris: éd. de l'Envol. 1251.
- **CHAOUCHE T.** Contribution a l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de Doctorat en Biologie Option : Biochimie. Université de Tlemcen., 2014, 122 p.
- **CHUNG., CHENNI M.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale: *Bryonia dioica*. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia. Oran. Algérie, 2010. 138 p.
- **DAOUDJI.** Etude des huiles essentielles de la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusions, Mémoire de Master. Université de Constantine 1, 2010, 61 p
- **DAOUDI A., SABIRI M., BAMMOU M., ZAIR T., IBIJBIJEN J., NASSIRI L.** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica Urens L.* *Urtica membranacea Poiret* et *Urtica Pillulifera L.* *Journal of Applied Biosciences* [en ligne]. 2015. 87 : 8094-8147. Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v87i1.9> (Consulté le 31 Mars 2017) ISSN 197-5902.
- **DELILLE L.** les plantes médicinales d'Algérie. 2007. Édition BERTI. Alger, 122 p
- **DEJAN A.** Approche ethnobotanique des plantes médicinales en Kabylie (Wilaya de Tizi Ouzou, Algérie). In proceedings of International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants. Djerba, Tunisia.2014. Edited by M. Neffati, A. Ouled Belgacem.
- **DELIORMAN D., OZCELIK B., HOSBAS S., VURAL M.** Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turk. Journa Biol.* 2012, 36, 672- 686.
- **DOAT.** Contribution à l'étude des extraits bruts de la plante (*Urtica dioica*). Mémoire de Master. Université de Kasdi Merbah Ourglala, 1978, 35p.
- **DOGNUOS N., ZEYBEK Z., KARAGOS A.** Antibacterial Activity of Some Plant Extracts. *IUFS Journal Biol*, 2008, 67 (1), 17-21.
- **DOHOU N., YAMNI, TAHROUCH S.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lyhroides*. *Bull Soc Pharm. Bordeaux.* 2003, 142, 61-78.

- **EDEOGAL H., OKWU D., MBAEBIE B.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005, 4 (7). 685-68.
- **EFFENDI L., Yajun Y.** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab.Eng.* 2008, 8, 172-181.
- **ELLNAIN M., BYLKA W., KOWALEWSKI Z.** Flavanoids compounds in *Urtica dioïca L.* *Herba Pol.* 1986, 32,131-7.
- **ERIKA A., RONCHETTI F., RUSSO G.** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : *zygophyllum cournutum* (zygophyllaceae), Mémoire de Magister. Université de Constantine 1, 2008, 32-47.
- **FARAHPOUR M.R., KHOSHGOZARAN L.** Antinociceptive and anti-inflammatory activities of hydroethanolic extract of *Urtica dioïca*. *Int Journal Biol Pharm Allied Science.* 2015,1, 160-70.
- **FARHAN H., RAMMAL H., HIJAZI A., HAMAD H., DAHER A., REDA M., BADRAN B.** In Vitro Antioxidant Activity of Ethanolic and Aqueous Extracts from Crude *Malva parviflora L.* Grown in Lebanon, Asian. *J Pharm Clin Res.* 2012, 5(3), 234-238.
- **FERRARI J.** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des *Thymelaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elle: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne, 2002, 242 p.
- **GHEDIRA K., GOETZ P., JEUNE L.** *Urtica dioïca L., Urtica urens* et hybrides (*Urticaceae*). *Phytothérapie.* 2009, 7, 279- 85.
- **GHESTEM A., SEGUINE E., PARIS M., ORECCHIONI A.** Le préparateur en pharmacie dossier, 2001. 2 ème Ed. Tec et Doc. Paris. 275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **GHESTERM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI A.** Le préparateur en Pharmacie. 2001. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 275.
- **GIRARD V., SAMDJA J.** Aspects historiques et sociaux de la médecine traditionnelle à la réunion. *Revue Ethnopharmacologi.* 2006, 37, 24-31.
- **GUIGNARD, J.** Abrégé botanique, 2000. 9 ème édition. Édition Masson, Paris. 204.
- **GUL S., DEMIRCI B., BASER Kh., AKPULAT H., AKSU P.** Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica*

dioïca L. *Bull Environ Contam Toxicol* [en ligne].2012, 88, 666-71. DOI : 10.1007/s00128-012-0535-9.

- **GULCIN I., BUYUKOKUOGLU M., KUFREVIOGLU O.** Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research*. 2003, 34, 278– 281.
- **GULCIN I., KUFREVIOGLU O., OKTAY M., BUYUKOKUROGLU M.** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioïca* L). *Journal Ethnopharmacol*, 2004, 90, 205-215.
- **GULCIN L., UGUZ M., OKTAY, M., BEYDEMIR S., KUFREVIOGLU O.** Antioxydant and antimicrobial activities of *Teucrium polium* L. *Journal of Food Technology*. 2003, 1, 9–17.
- **GWENOLA A., TAKOA T., KITATANI L.** A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosc Biotechnol Biochem*, 2001, 58, 1780-1783.
- **HAMIDI A.** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. Thèse de Magister. Ouargla : Université KASDI MERBAH, 2013, 86p. Disponible sur :http://bu.univ ouargla.dz/HAMIDI_ABDELRAZAG.pdf. (consulté le 04/04/2017).
- **HANSW K.** 1000 plantes aromatique et médicinales, Septembre 2007. Toulouse: Edition Terres. 10 -13.
- **HARBONE J., WILLIAMS C.** Advances in flavonoid research since 1992, 2000. *Phytochemistry*. 55, 481-504.
- **HAYOUNI E., ABEDRABBA M., BOUIX., HAMDI M.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian. 2007.
- **HERBET.** Les flavonoïdes, structures, propriétés biologique, rôle prophylactique et emplois en thérapeutiques, 1989, 3(4), 162-169.
- **HUSSAIN A., ANWER F., CHATHA S., JABBAR A., MAHBOOB S., NIGAN P.** Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2010. 41, 1070-1078.
- **ISERIN P.** Encyclopedie des plantes medicinales. 2001. Ed 2: Larousse .Paris . 335.
- **JANSSEN A., SCHEFFER J., SVEDSEN A.** Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976-1986 Literature Review. Aspects of the Test Methods. *Planta medica*. 1987, 53, 395-398.

- **JUAD.** Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa* de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne, 2002, Mémoire de Master, Université de Constantine 1, 77 p.
- **JUDD S., CAMPBELL S., KELLOGG A., STEVENS P.** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique, 2002. Edition de Boec Université, 84 -87, 396-399. Systemes and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World Journal Gastroenterol.* 2005, 11, 6684.
- **KHANBABAE K., REE T.** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry [en ligne]*. 2001. 18. 641-649. (Consulté le 15 Mars 2017).
- **KALEMBA D., KUNICKA A.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry.*2013, 10, 813-829.
- **KANTER M., COSKUN O., BUDANCAMANAK M.** Hepatoprotective effects of *Nigelle sativa. L* and *Urtica dioica. L* on lipid peroxidation, antioxidant anzyme.
- **KAMRA D., AGARWAL N., CHAUDHARY L.** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series.* 2006, 1293, 156–163.
- **KAR A.** Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie.2007. Ed 2: New age international publishers EW. 1-30.
- **KARUMI., ONYEYILI A.** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica Urens L.* *Urtica membranacea Poiret* et *Urtica Pilulifera L.* *Journal of Applied Biosciences [en ligne]*. 2015. 87, 8094-8147. Disponible sur : <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v87i1.9> (Consulté le 15 Mars 2017). ISSN 197-5902.
- **KARUMI Y., ONYEYILI P., OGUGBUAJA V.** Identification of active principales of *M.balسامina balsam*, *Apple* leaf extract. *Journal Med.Sci [en ligne]*.2004, 4(3), 179-182. (Consulté le 02 Mars 2017).
- **KASSIM A., NICOLA D., SUTHERLAND C., KUTIJ.** Optimal Dosing of Piperacillin- Tazobactam for the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: Prolonged or Continuous Infusion. Pharmacotherapy. *The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.*2007. 27 (11), 1490-1497.
- **LANGLAD V.** L'ortie dioïque, *Urtica dioïca L.*, Etude bibliographique en 2010. Thèse de Doctorat. Université de NANTES, 2010, 142 p.

- **LEE K., KIM Y., LEE H., LEE C.** Cocoe Has More phenolic phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red wine. *Journal Agric Food Chem.* 2003, 51, 7292-7295.
- **LEDARD F., GUINAUDEAU H.** Encyclopédie des plantes et leurs propriétés-Algo Vision. 1997
- **LESERF., RAGOT.** Etude phytochimique et bibliographique de la plante *Satureja calaminitha*, Mémoire de Master. Université de Constantine 1, 2012, 13-28.
- **LESUEUR D., SERRA D., BIGHELLI A., HOI T., BAN N., THAI T., CASANAVO J.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Meryll ex Dandy from Vietnam. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, 22, 317-321.
- **LEURENT.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Université de Constantine 1, 2012, 2- 5- 41.
- **LONGANGA OTCHUDI A., FORIERS A., VERCRUYSSSE A., VANZEEBROCK A., LAUWES S.** In vitro antimicrobial activity of six medicinal plants traditionally used for the treatment of dysentery and diarrhoea in Democratic Republic of Congo (DRC). *Phytomedicine*. 2000. 7, 167-172.
- **MACHEIX.** Essential oils and their production. *Group & food Research* . 2005, 39.
- **MADHAVID L., SIDDHURAJU P., BECKER K.** Food antioxidants. Ed: CRC PRESS, 1996. 361- 460.
- **MANSOURI A., EMBAREK G., KOKKALOU E., KEFALAS P.** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit *Phoenix dactylifera*. *Food Chemistry [en ligne]*.2005, 89. 411-420.
- **MAROUF A.** Analyse instrumentale à l'usage des biologistes. 2000. 2ème édition. Dar el Gharb. Oran. 17-20.
- **MARKHAM R.** Technique of flavonoid Identification Biological techniques Series. 1982. Ed Trecherne J.E. et Rubery P.H. Academic Press. 113
- **MBOJNDEYE A.** Etude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanolique et hexanique de *Vernonia colorata* (Willd / Drake) composés chez des rats

- wistar). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Dakar : Université Cheikh ANTADIOP, Dakar, 2003, 61p.
- **MEYE C., YUNES R., SCHEMPEN V.** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae), *IL Farmaco*, 2005, 60 (4), 321-326.
 - **MODERRSI CHAHARDEHI A., IBRAHIM D., SOULAIMAN S., MOUSAVI L.** Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. *Revista de Biología Tropical* [en ligne]. 2012, 60, 1567-1576.
 - **MOHAMMED Z.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des Huiles essentielle et Flavonoïdes de quelques Plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université de Tlemcen, 2010, 140 p.
 - **MOHAMMEDI M.** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques plantes medicinales de la Region Nord et Sud Ouest de l'Algérie. 2013, 84.
 - **MOUTSIE.** L'ortie, une amie qui vous veut de bien. 2008. L'encyclopidie d'Utovie. Editions d'Utovie.
 - **NAGHIBI., MONICA G., SANDRA V., VERSTRAETEN.** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : *zygophyllum cournutum* (zygophyllaceae), Mémoire de Magister, Université de Constantine 1, 2005, 32-47.
 - **NAILI M.B., ALGHAZZER O., SALEH N., ALNAJJAR A.** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotu* (Rhamnacea). *Arab. Journal Che* [en ligne]. 2010, 3, 79-84. (Consulté le 10 Mars 2017).
 - **NGOM.** Evaluation de l'activité biologique de l'exterit éthyle acétate du (*Thé vert*) et l'extrait butanolique de la plante (*Chrysanthemum sp*), vis à vis la toxicité induit par la streptozotocine. Mémoire de Master. Université de Constantine 1, 2000, 45 -48-49- 55.
 - **OKMU D.** Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int Journal Mol Adv Sci* [en ligne]. 2005, 1 (14). 375-381.
 - **OTLES S., YALCIN B.** Phenolic compounds analysis of root, stalk, and leaves of nettle. *Sci World Journal* [en ligne]. 2012, 1- 12. DOI : 10.1100/2012/564367.
 - **PARIS M., HURABIELLE.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. 1981, Tome 1. Ed Masson. Paris.102-103-104-107.

- **PETIOT E., MAZIRRES V., BERTRAND B., JEANNOT D., RAYMONDE G., LEMOINE P., FOUGERE M., MARCHE C.** L'ortie a-t-elle un avenir dans l'agriculture écologique intensive. 2010, Terminales S, Briacé.
- **Pharmacopée Européenne.** 7e édition. (Dernière consultation : octobre 2013)
- **Pharmacopée Française.** 11e édition. (Dernière consultation : octobre 2013)
- **POJAR., KINNON M.** A plant of the Pacific Northwest coast. *Lone Pine Publishing Redmond WA*, 1994.
- **PRESTON C., PEARMEN D., DINE T.** The New Atlas of the British and Irish Flora. Oxford University Press, Oxford. 2002.
- **RAFAJLOVSKA V., KAVRAKOVSKA Z., SIMINOVSKA Z., SRBINOSKA M.** Determination of protein and mineral contents in stinging nettle. *Quality of life*. [en ligne] 2013. 4, 26-30. DOI:10.7251/QOL1301026R.
- **RANDERATH K., NGUYEN D.** Chromatographie sur couches minces.1971.
- **RAMZAN.** *Rubus fruticosus* (Blackberry) use as an herbal medicine. *Pharmacognosy Review*. 2014. 8 (16), 101-104.
- **RIZK A.** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, 6^{ème} Editions. l'échelle nationale, 1982, pp 25-26.
- **ROJAR A., HERNANDEZ L., PEREDA, Miranda R., MATA R.** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *journal Ethnopharmacology* [en ligne] 1992, 35, 275-283
- **ROJAS A., HARNANDEZ L., PEREDA-MIRANDA R., MATA R.** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. 1992, 35, 275-283.
- **ROSCHEK B., FINK R., MC MICHAEL M., ALBERTE R., ROSCHEK B.** Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. *Phytoter Res*. 2009, 23, 920-6. DOI: 10.1002/ptr.2763.
- **SARI M., BIONDI D., KAABECHE M., MANDALARI G., ARRIGO M., BISIGNANO G., SAIJA A., DAQUINO C., RUBERTO G.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*.2006, 21, 890-898.

- **SARNI M., MANCHADO P., CHEYNIER.** Activité antioxydants des extrait des graines de la plante (*Nigelle sativa L*). Mémoire de Master. Université de Constantine 1, 2006, 5-7.
- **SELADJI SIDI MOHAMED C.** Etude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) des composés phénoliques des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra. Mémoire de Master Académique en biologie. Tlemcen : Université Abou BEKR BELKAID, Tlemcen, 2013, 31-45
- **SELIYA M., KOTHIYAL P.** *Urtica dioïca* (stinging nettle): A review of its chemical, pharmacological, Toxicological and ethnomedical properties. *International Journal Pharm.* 2014, 4, 270
- **SEYOUM A., ASRES K., ELFIKY F.K.** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry.* 2006, 67, 2058–2070
- **SFM.** Comité de l'antibiogramme de société française de Microbiologie. Recommandation. 2015, 60.
- **SVOBODA K.** Secretory structures of aromatic and medicinal plants.2000. Ed: Microscopix Publication. 7-12.
- **TELEFO P., LEMFACK M., BAYALA B., LIENOU L., GOKA C., YEMELEM D., MOUOKEU C., TAGNE S., MOUNDIPA F.** Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de l'infertilité féminine dans les localités de Fossong- Wentcheng et Foto, Cameroun. *Phytothérapie*, 2012, 10, 25–34
- **TESSIER A.** phytothérapie analytique, phytochimie et pharmacologie.1994. Edition Marc-Auréli. 273-279.
- **TOLDY A., STADLER K., SASVARI M., JAKUC J., JUNK J., CHUNG Y., BERKES I., NYAKAS C., RADAK Z.** The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain. *Brain Research Bulletin.* 2005, 65, 487-493.
- **TONA L., KAMBU K., NGIMBI N., CIMANGA K., VLIETINCK A.** Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 1998. 61, 57-65.
- **TOTY A., GUESSENND N., BAHY C., KRA A., OTOKORE D., DOSSO M.** Évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège [en ligne]*. 2013, 8, 12-21.

- **UNCINI MANGANELLI R., ZACCARO L., TOMEI P.** Antiviral activity in vitro of *Urtica dioica* L. *Journal Ethnopharmacol.* 2005, 98, 323.
- **VACHERON S.** La phytothérapie dans la prise en charge des Troubles Veineux a l'Officine, la phyto-aromathérapie à l'officine niveau 2 .2011.
- **VALNET J.** Phytothérapie: traitement des maladies par les plantes.1983.5ème édition. Paris: Maloine : 942
- **VINCENT A.** An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alasehir (Manisa) in Turkey. *Journal of ethnopharmacology.*2006, 150, 860-874.
- **WAGNER H., WILLER F., SAMTLEBEN R., BOOS G.** Search for the antiprostatic principale of stinging nettle (*Urtica dioïca*) routs. *Phytomedicine [en ligne]*. 1994, 1, 213-224. DOI : 10.1016/S0944-7113(11)80068-1
- **WICHTL M., ANTON R.** Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.2003. 2eme édition française. Paris: éd. Tee and Doc : Cachan. Médicale Internationales, 692.
- **WILLIAMS C., GRAYER R.** Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep*, 2004, 21 (4), 539-573.
- **WINK.** Microbiologie. Cours et question de révision. *Dunod*, 2010, 159.
- **YANO Y., SATOMI M., OIKAWA H.** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International J. Food Microbiology.* 2006, 111, 6-11.
- **YILMAZ B., BASAR O., AKTAS B., ALTINBAS A.** Effect of *Urtica dioïca* extract on experimental acute pancreatitis model in rats. *International Journal Clin Exp Med.* 2014, 7(1313), 8.