

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد ا لصديق بن يحيى -جيجل

Université Med -Seddik Benyahia –Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie Appliquée et  
des Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

### Mémoire de fin de cycle

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

**Option : Microorganismes et Pathogénicité**

**Thème**

Evaluation de l'activité antibactérienne d'extraits  
méthanoliques bruts de deux plantes médicinales de la  
région de Jijel : ***Mentha rotundifolia et Urtica dioica.***

#### Membres du jury :

**Présidente : Dr. Laggoune Souheila**

**Examinatrice : Mme Bekka Fahima**

**Encadreur : Mme Boussouf Lilya**

#### Présenté par :

**M<sup>elle</sup> Hamouda Djawida**

**M<sup>elle</sup> Bahloul Amira**

Année universitaire : 2016-2017

N°d'ordre : .....

# *Remerciements*

*Nos remerciements s'adressent tout d'abord à ALLAH, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à notre encadreur M<sup>me</sup> Boussouf Liliya , pour nous avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.*

*Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury. M<sup>me</sup> Laggounes Souheila d'avoir fait l'honneur de présider le jury. Que M<sup>me</sup> Bekka Fahima , trouvent ici l'expression de nos plus hautes considérations et de notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Un grand merci s'adresse à tous les ingénieurs de laboratoire de Microbiologie.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce modeste travail.*

*Jawida et Amira*

# *Sommaire*

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

<b>PARTIE I: ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>
--

<b>I. Les composés phénoliques.....</b>	<b>02</b>
<b>I.1. Définition des composés phénoliques.....</b>	<b>02</b>
<b>I.2. Distribution et localisation des composés phénoliques.....</b>	<b>02</b>
<b>I.2.1. A l'échelle cellulaire.....</b>	<b>02</b>
<b>I.2.2. A l'échelle tissulaire.....</b>	<b>02</b>
<b>I.3. Classification des composés phénoliques.....</b>	<b>03</b>
<b>I.3.1. Les flavonoïdes.....</b>	<b>03</b>
<b>I.3.1.1. Définition des flavonoïdes.....</b>	<b>03</b>
<b>I.3.1.2. Répartition et localisation des flavonoïdes.....</b>	<b>04</b>
<b>I.3.1.3. Classification des flavonoïdes.....</b>	<b>04</b>
<b>I.3.1.4. Activité antimicrobienne des flavonoïdes.....</b>	<b>05</b>
<b>I.3.2. Les tanins.....</b>	<b>06</b>
<b>I.3.2.1. Définition des tanins.....</b>	<b>06</b>
<b>I.3.2.2. Répartition et localisation des tanins.....</b>	<b>06</b>
<b>I.3.2.3. Classification des tanins.....</b>	<b>06</b>
<b>I.3.2.4. Activité antimicrobienne des tanins.....</b>	<b>07</b>
<b>I.3.3. Les lignines .....</b>	<b>07</b>
<b>I.3.3.1. Définition des lignines.....</b>	<b>07</b>

<b>I.3.3.2. Répartition et localisation des lignines.....</b>	<b>08</b>
<b>I.3.3.3. Activité antimicrobienne des lignines.....</b>	<b>08</b>
<b>I.3.4. Les coumarines .....</b>	<b>09</b>
<b>I.3.4.1. Définition des coumarines.....</b>	<b>09</b>
<b>I.3.4.2. Activité antimicrobienne des coumarines.....</b>	<b>09</b>
<b>I.3.5. Les acides phénoliques.....</b>	<b>10</b>
<b>I.3.5.1. Les acides hydroxybenzoïques.....</b>	<b>10</b>
<b>I.3.5.2. Les acides hydroxycinnamiques.....</b>	<b>10</b>
<b>II. Les plantes médicinales sélectionnées.....</b>	<b>11</b>
<b>II.1. <i>Urtica dioïca</i>.....</b>	<b>11</b>
<b>II.1.1. Etude botanique.....</b>	<b>11</b>
<b>II.1.1.1. Etude chimique de l'espèce <i>Urtica dioïca</i>.....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.1.2. Composition chimique des parties aériennes.....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.1.3. Composition chimique des poils urticants.....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.1.4. Composition chimique des racines.....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.2. Activité pharmacologique et effets thérapeutiques.....</b>	<b>12</b>
<b>II.2. <i>Mentha rotundifolia</i>.....</b>	<b>13</b>
<b>II.2.1. Etude botanique.....</b>	<b>13</b>
<b>II.2.2. Etude chimique de l'espèce <i>Mentha rotundifolia</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>II.2.3. Activité pharmacologique et effets thérapeutiques.....</b>	<b>14</b>

<b>PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE</b>
--

<b>I. Matériel et méthodes.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1. Matériel végétal.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2. Extraction des composés phénoliques.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2.1. Séchage, broyage et tamisage.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2.2. Macération.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2.3. Filtration et décantation.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2.4. Evaporation.....</b>	<b>15</b>
<b>I.2.5. Détermination du rendement d'extraction.....</b>	<b>16</b>
<b>I.2.6. Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>17</b>
<b>I.2.7. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>17</b>
<b>I.3. Tests d'activité antibactérienne des composés phénoliques des deux     extraits.....</b>	<b>18</b>
<b>I.3.1. Matériel bactérien.....</b>	<b>18</b>
<b>I.3.2. Repiquage des espèces bactériennes.....</b>	<b>18</b>
<b>I.3.3. Préparation des inoculums.....</b>	<b>19</b>
<b>I.3.4. Test de sensibilité antibactérienne aux composés phénoliques.....</b>	<b>19</b>
<b>I.3.5. L'antibiogramme .....</b>	<b>20</b>
<b>I.3.6. Détermination des CMI pour les extraits phénoliques.....</b>	<b>20</b>
<b>II. Analyse statistique.....</b>	<b>20</b>
<b>III. Résultat.....</b>	<b>21</b>
<b>III.1. Extraction et calcul des rendements.....</b>	<b>21</b>
<b>III.2. La teneur en polyphénols et en flavonoïdes.....</b>	<b>21</b>
<b>III.3. Les résultats de l'activité antibactérienne et de l'antibiogramme.....</b>	<b>23</b>
<b>III.4. Résultats des CMI.....</b>	<b>25</b>

<b>IV. Discussion.....</b>	<b>26</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>29</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>30</b>
<b>Annexe</b>	
<b>Résumé</b>	

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Les principales classes des composés phénoliques .....	03
<b>Tableau 02</b> : Les diamètres des zones d'inhibitions en mm obtenus avec les extraits phénoliques des deux plantes et les antibiotiques sur les bactéries testées.....	24
<b>Tableau 03</b> : Les concentrations minimales inhibitrices en mg/ml des extraits phénoliques des deux plantes.....	25

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : La structure de base des flavonoïdes .....	04
<b>Figure 02</b> : La structure de base des principaux flavonoïdes .....	04
<b>Figure 03</b> : Les monomères constitutifs des lignines .....	08
<b>Figure 04</b> : Quelques exemples de coumarines .....	09
<b>Figure 05</b> : <i>Urtica dioïca</i> .....	11
<b>Figure 06</b> : <i>Mentha rotundifolia</i> .....	13
<b>Figure 07</b> : Protocole général d'extraction des composés phénoliques .....	16
<b>Figure 08</b> : Protocole de dosage des composés phénoliques totaux.....	17
<b>Figure 09</b> : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.....	118
<b>Figure 10</b> : Protocole de l'activité antibactérienne d'extrait phénoïque.....	119
<b>Figure 11</b> : Les rendements des extraits phénoliques des deux plantes en pourcentage..	21
<b>Figure 12</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.....	21
<b>Figure 13</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides totaux.....	22
<b>Figure 14</b> : La teneur en polyphénols des deux plantes.....	22
<b>Figure 15</b> : La teneur en flavonoïdes des deux plantes.....	22
<b>Figure 16</b> : Effets des extraits phénoliques de <i>Mentha rotundifolia</i> et d' <i>Urtica dioïca</i> sur la croissance bactérienne de quelques bactéries testées .....	23
<b>Figure 17</b> : Effets des antibiotiques sur la croissance bactérienne de quelques bactéries testées .....	23



## *Liste des abréviations*

<b>%</b>	:	Pourcentage
<b>µl</b>	:	Microlitre
<b>ADN</b>	:	Acide désoxyribonucléique
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	:	Chlorure d'aluminium
<b>C°</b>	:	Degré Celsius
<b>Cm</b>	:	Centimètre
<b>CMI</b>	:	Concentration minimal inhibitrice
<b>CPG/SM</b>	:	Chromatographie en phase aqueuse / Spectrométrie de masse
<b>DO</b>	:	Densité optique
<b>EB</b>	:	Extrait brut
<b>FC</b>	:	Folin Ciocalteu
<b>G</b>	:	Gramme
<b>HIV</b>	:	Virus de l'immunodéficience humaine (HIV)
<b>m</b>	:	Mètre
<b>mg</b>	:	Milligramme
<b>MH</b>	:	Mulier - hinton
<b>min</b>	:	Minute
<b>ml</b>	:	Millilitre
<b>mm</b>	:	Millimètre
<b>NaCo<sub>3</sub></b>	:	Carbonat de sodium
<b>nm</b>	:	Nanomètre
<b>PIV</b>	:	Virus para influenza
<b>RSV</b>	:	Virus respiratoire cyncytial

*Analyses  
bibliographiques*

*Matériel et  
méthodes*

*Références  
bibliographique*

*introduction*

*générale*

# *Annexes*

*Références  
bibliographiques*

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : La structure de base des flavonoïdes .....	04
<b>Figure 02</b> : La structure de base des principaux flavonoïdes .....	04
<b>Figure 03</b> : Les monomères constitutifs des lignines .....	08
<b>Figure 04</b> : Quelques exemples de coumarines .....	09
<b>Figure 05</b> : <i>Urtica dioïca</i> .....	11
<b>Figure 06</b> : <i>Mentha rotundifolia</i> .....	13
<b>Figure 07</b> : Protocole général d'extraction des composés phénoliques .....	16
<b>Figure 08</b> : Protocole de dosage des composés phénoliques totaux.....	17
<b>Figure 09</b> : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.....	118
<b>Figure 10</b> : Protocole de l'activité antibactérienne d'extrait phénoïque.....	119
<b>Figure 11</b> : Les rendements des extraits phénoliques des deux plantes en pourcentage..	21
<b>Figure 12</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.....	21
<b>Figure 13</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides totaux.....	22
<b>Figure 14</b> : La teneur en polyphénols des deux plantes.....	22
<b>Figure 15</b> : La teneur en flavonoïdes des deux plantes.....	22
<b>Figure 16</b> : Effets des extraits phénoliques de <i>Mentha rotundifolia</i> et d' <i>Urtica dioïca</i> sur la croissance bactérienne de quelques bactéries testées .....	23
<b>Figure 17</b> : Effets des antibiotiques sur la croissance bactérienne de quelques bactéries testées .....	23



## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01 :</b> Les principales classes des composés phénoliques .....	03
<b>Tableau 02 :</b> Les diamètres des zones d'inhibitions en mm obtenus avec les extraits phénoliques des deux plantes et les antibiotiques sur les bactéries testées.....	24
<b>Tableau 03 :</b> Les concentrations minimales inhibitrices en mg/ml des extraits phénoliques des deux plantes.....	25

# *Remerciements*

*Nos remerciements s'adressent tout d'abord à ALLAH, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à notre encadreur M<sup>me</sup> Boussouf Liliya , pour nous avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.*

*Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury. M<sup>me</sup> Laggounes Souheila d'avoir fait l'honneur de présider le jury. Que M<sup>me</sup> Bekka Fahima , trouvent ici l'expression de nos plus hautes considérations et de notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Un grand merci s'adresse à tous les ingénieurs de laboratoire de Microbiologie.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce modeste travail.*

*Jawida et Amir*

### **Introduction**

La découverte des antibiotiques constituait une véritable révolution dans la lutte contre les maladies infectieuses. Cependant, la consommation inappropriée et l'utilisation abusive d'antibiotiques ont accélérés la sélection des bactéries multirésistantes constituant actuellement un réel problème d'antibiothérapie et de santé publique. Les conséquences collectives et individuelles de ce problème sont sérieuses : la plupart des infections, qu'elles soient bénignes ou graves, sont de plus en plus difficiles à traiter (OMS, 2005).

Le recours aux ressources naturelles en général et aux plantes médicinales en particulier devient alors une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces (Wright et Sutherland, 2007). En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires dont les composés phénoliques. En effet, les composés phénoliques ou polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes. Ces métabolites comprennent de nombreuses classes de composés allant des acides phénoliques simples aux flavonoïdes complexes. Ils sont connus par leurs large gamme d'activités biologiques, y compris les propriétés anticancéreuses, antioxydants, anti-inflammatoires et notamment antimicrobiennes.

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre travail dont les objectifs visent à :

- L'extraction des composés phénoliques par macération dans le méthanol des poudres de feuilles des deux plantes choisies: *Urtica dioïca* et *Mentha rotundifolia*.
- Le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes des deux extraits.
- l'évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* des deux extraits sur des bactéries Gram positif et Gram négatif.
- La détermination des CMI pour les deux extraits.

*Analyses  
bibliographiques*

### **I. Les composés phénoliques :**

#### **I.1. Définition des composés phénoliques :**

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires répandues dans le règne végétal, on les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011).

Ces composés regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Bamforth, 2000), en bref, les composés phénoliques sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou de celui d'un polyacétate (Bruneton, 1999).

#### **I.2. Distribution et localisation des composés phénoliques :**

La répartition des composés phénolique est très inégale chez les différentes espèces végétales et pour une même espèce. Les variations sont considérables selon la nature des tissue et des cellules composant le végétal (Macheix et al, 2005).

##### **I.2.1. A l'échelle cellulaire :**

On observe une compartimentation nette des composés phénoliques avec deux localisations principales, d'une part la vacuole ou sont présents tous les composés ayant un caractère hydrophile exemple les tannins. D'autre part, la paroi ou sont retrouvées la lignine et les forme liées aux structures lipidiques. Des flavonoïdes et en particulier des flavonoles sulfatés ont été signalés dans le noyau (Macheix et al, 2005).

##### **I.2.2. A l'échelle tissulaire :**

La répartition des composés phénoliques montre également des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement, ainsi les composés phénoliques des feuilles présentent une forte teneur des anthocyanes et des flavonols dans les épidermes. Dans la pomme rouge à maturité les anthocyanes sont uniquement présents dans la partie externe. Il en est de même dans la peau de la très grande majorité des variétés rouges des raisins de l'espèce *Vitis vinifera*. A l'échelle de la plante, il faut signaler que certains composés phénoliques ne sont accumulés que dans des organes bien définis, par exemple chez certaines espèces, les anthocyanes sont abondants dans le fruit mur (pomme, le raisin rouge, la fraise... etc.), alors que n'apparaissent qu'exceptionnellement dans les autre organes de la plante (Macheix et al, 2005).

### I.3. Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. (Le tableau 01) regroupe les principales classes des composés phénoliques (Macheix et al, 2005).

**Tableau 01:** Les principales classes des composés phénoliques (Macheix et al, 2005).

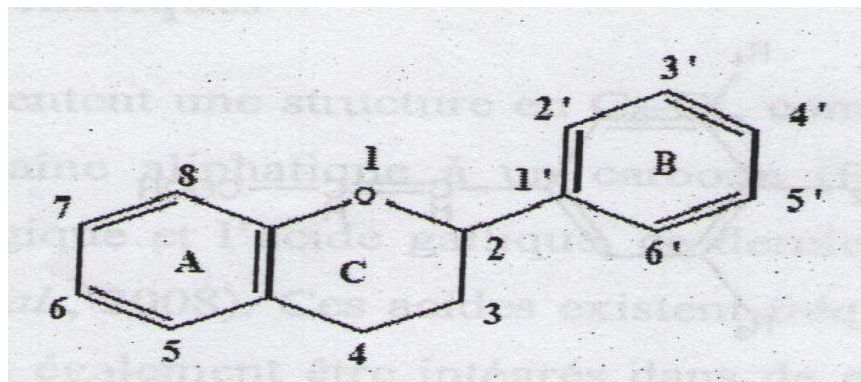
Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemples)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides Hydroxybenzoïques	<i>p</i> - hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acide caféique Scopolétine	Pomme de terre, pomme, <i>Citrus</i>
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>3</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, fruits à noyau
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés		Raisin, kaki

#### I.3.1. Les flavonoïdes :

##### I.3.1.1. Définition des flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005). Ils sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) et deux cycles aromatiques (A et B) qui sont liés par une chaîne de 3 carbones (Santos-Buegla et Scalbert, 2000) (Figure 01). Le noyau A dérive de la voie acétate- malonate,

alors que le noyau B et le pont à 3 carbones est issu de la voie de l'acide shikimique (Chira et al, 2008).



**La Figure 01 :** La structure de base des flavonoïdes (Heim et al, 2002).

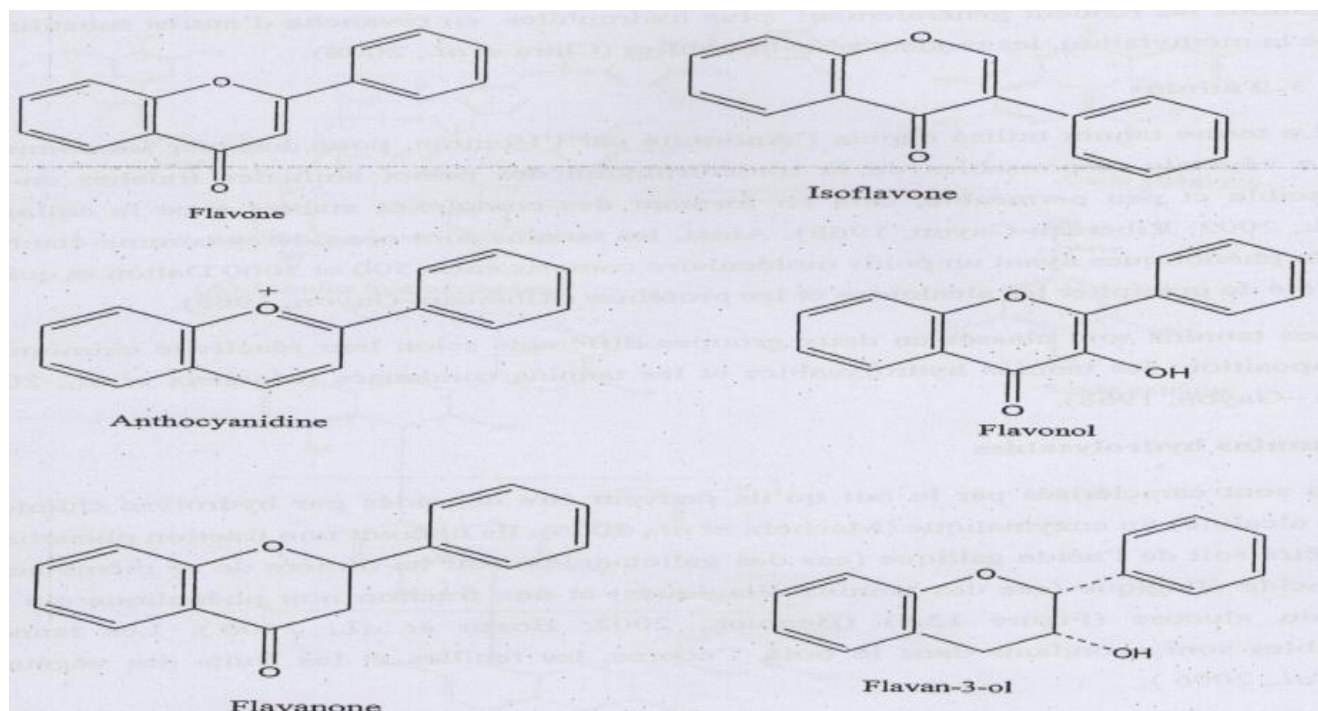
### **I.3.1.2. Répartition et localisation des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont présents dans de nombreux organismes végétaux dans les fruits et les légumes. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005).

Les végétaux les plus riches en flavonoïdes sont : baies, fruits rouges, vin, cacao, thé, oignons, brocolis, tomates, tisanes, agrumes, soja, légumineuses (Morand, 2014).

### **I.3.1.3. Classification des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les chalcones, les aurones et les anthocyanes (Figure2), (Bruneton, 1999; Hendrich, 2006). Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycoside.



**Figure 02 :** La structure de base des principaux flavonoïdes (Chira, 2008 ; Heim et al, 2002).

#### I.3.1.4. Activité antimicrobienne des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente.

(Deborah et al, 2017) ont testé l'activité antibactérienne des flavonoïdes de la propolis contre des bactéries Gram positif et Gram négatif ils ont trouvé que les bactéries *Staphylococcus aureus*, était la plus sensible avec une CMI de 0,42 (mg / ml), suivi d'*Escherichia coli* et *Salmonella typhi* avec une CMI de 0.84 (mg/ml), par contre *Pseudomonas aeruginosa* était résistant à cet extrait.

(Bouterfas et al, 2016) ont trouvé aussi que des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L, ont une grande activité antifongique contre *Aspergillus niger* ATCC 16404 et *Candida albicans* ATCC 10231.

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le virus d'influenza, le virus de la herpe (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (Choi et al, 2009).



### **I.3.2. Les tanins :**

#### **I.3.2.1. Définition des tanins :**

Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles qui sont généralement trouvés dans les plantes, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Dalton et qui outre les réactions habituelles des phénols, provoquent la précipitation des protéines (Merghem, 2009), l'interaction entre les constituants de tannin et les protéines de la salive et/ou le tissu muqueux de la bouche peuvent contribuer à un goût astringent ou amer dans les nourritures et boissons (par exemple, des vins rouges, des thés, et des fruits non mûrs) (Hagerman et al, 2005).

#### **I.3.2.2. Répartition et localisation des tanins :**

Les plantes riches en tanins se répartissent au sein de différentes familles botaniques telles que les plantes ligneuses (comme le noisetier, le chêne, ou le châtaignier) ou les plantes fourragères et notamment les légumineuses (comme le Solla, le lotier pédonculé, le lotier cornicule, le sainfoin). On peut aussi trouver des tanins dans leurs fruits (comme les glands ou les marrons d'Inde) (Paoliniet al, 2003), les tanins galliques et éllagiques sont caractéristiques des Angiospermes Dicotylédones. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux. Les feuilles les plus riches en tanins (12 à 21 %) sont celles des espèces *Anacardium occidentale* et *Psidium guajava* (Sereme et al, 2008).

#### **I.3.2.3. Classification des tanins :**

Les tanins sont classés en deux groupes différents par leur structure :

##### **A. Les tanins hydrolysables :**

Ce groupe constitue par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide ellagique, acide m-digallique) d'où le nom de pyrogalliques et d'ellagitanins qu'on leur donne quelquefois. Ils sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique (Paris et Hurabielle, 1981).

##### **B. Les tanins condensés :**

Les tanins condensés (tannins vrais ou tannoïdes) résultent de la condensation de molécules élémentaires de types flavane 3ol ou flavane 3-4 diols, les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables, les tannins condensés sont

également appelés proanthocyanidines, en effet leur oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la formation de pigments anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine (Merghem , 2009).

### **I.3.2.4. Activité antimicrobienne des tanins :**

Les tannins possèdent une large utilisation thérapeutique grâce à leur importante activité antimicrobienne, par exemple, en Afrique le bain effectué avec les décoctions des feuilles de *Guiera senegalensis*, serait un fortifiant et soigne efficacement la malaria causée par *Plasmodium falciparum* (Sereme et al, 2008).

Une étude réalisée par Djahra et al (2013) *in vitro* sur des extraits des feuilles de *Marrubium vulgare L* sur le développement de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris* et *Escherichia coli* a montré que tous les tanins hydrolysables testés ont présentés une activité inhibitrice sur ces souches testées.

Díaz-Gómez et al (2013) ont montré que la croissance d' *Helicobacter pylori*, responsable des ulcères peptiques était inhibée par l'acide gallique avec des zones d'inhibition de 14 à 15 mm.

L'activité antifongique est aussi établie. Plusieurs types de champignons sont inhibés par les tanins ; les champignons filamenteux comme *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus fumigatus* sont inhibés par les tanins de différentes préparations (Jesudoss et al, 2014).

Les tanins possèdent aussi une activité contre les virus, en effet Theisen et al (2014) ont montré que l'extraits de *Hamamelis virginiana L* présente une activité antiviral contre le virus Influenza A et Human Papilloma.

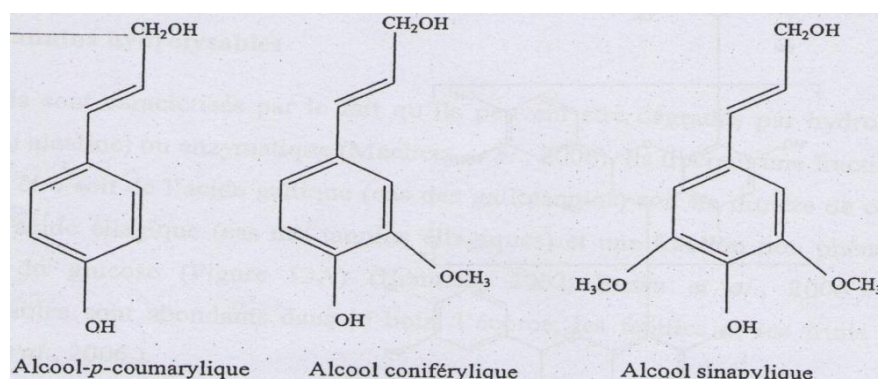
Les tanins hydrolysables sont capables aussi d'inhiber la multiplication du virus de l'hépatite B, et bloquer la réplication de l'ARN de virus de la grippe (Liu et al, 2016).

### **I.3.3. Les lignines :**

#### **I.3.3.1. Définition des lignines :**

Les lignines sont des substances non glucidiques (figure 03) qui se déposent dans certaines cellules végétales, vaisseaux du bois, cellules scléreuses à la fin de la formation des parois primaires

et secondaires (Guidnard, 2004). Les lignines constituent 15 à 35% du bois des angiospermes et des gymnospermes, ils constituent une biomasse considérable produite par les végétaux.



**Figure 03 :** Les monomères constitutifs des lignines

(Sarni-Manchado, 2006).

### **I.3.3.2. Répartition et localisation des lignines :**

En raison de leur caractère hydrophobe marqué, les lignines s'accumulent au niveau des parois des cellules, elles se localisent au niveau des vaisseaux conduisant la sève et sont responsables de la rigidité des fibres végétales. Ces composés se localisent également dans les tissus végétaux présentant une forte résistance mécanique comme le noyau des fruits (Vermerris et Nicholson, 2009; Macheix et al, 2005).

### **I.3.3.3. Activité antimicrobienne des lignines :**

Plusieurs études ont prouvé l'efficacité des lignines contre plusieurs germes pathogènes.

Dong et al (2011) ont montré que les extraits de maïs n'ont aucun effet antimicrobien contre les bactéries gram-négatives *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, et les mycètes filamenteux *Aspergillus niger*, mais étaient efficace contre les bactéries gram-positives *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoids*, *S. aureus* et *Listeria monocytogenes*.

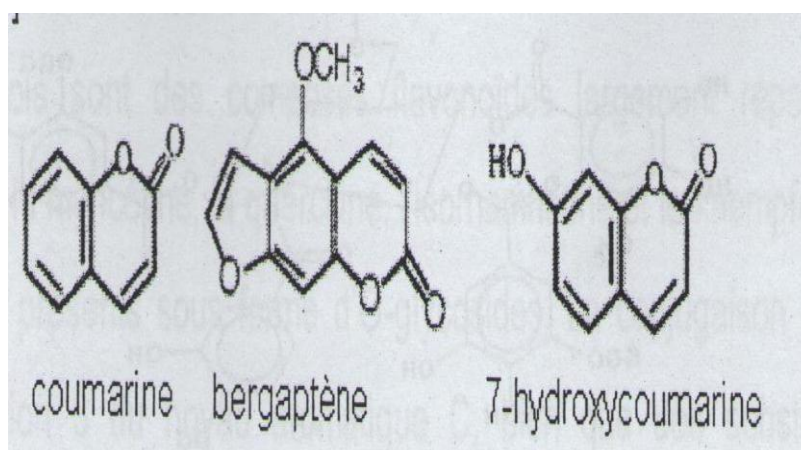
Les lignines ont propriétés antimicrobiennes contre la levure *Candida lipolytica*, et leur oxydation ont diminué son activité antimicrobienne (Dong et al, 2011).

La croissance de *P. aeruginosa* et *Salmonella typhimurium* sont aussi inhibé par un polymère déshydrogéné (DHP) synthétisé à partir d'alcool coniféryle qui est un monomère de la lignine (Spasojevic et al, 2016).

### I.3.4. Les coumarines :

#### I.3.4.1. Définition des coumarines :

L'expression de coumarine a été introduite en 1820 par Vogel pour désigner tout composé hétérocyclique ayant un atome d'oxygène (figure 04) (Venugopala et al, 2013). Ce sont des substances phénoliques qui résultent de la fusion de benzène avec l' $\alpha$ -pyrone, aboutissant à la formation d'un noyau benzopyrane (Cowan, 1999). La coumarine (2H-1-benzopyran-2-one) est un produit naturel dérivé connu pour ses propriétés pharmacologiques telles que les propriétés anti-inflammatoires, anticoagulant, d'antibactérien, antifongiques, antivirales, anticancéreuses (Aoyama et al, 1992).



**Figure 04 :** Quelques exemples de coumarines (Cowan, 1999).

#### I.3.4.2. Activité antimicrobienne des coumarines :

De nombreuses études ont bien montré l'activité antibactérienne des coumarines. Ces molécules ont été rapportées comme bactériostatique ou bactéricide sur plusieurs souches *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* (Mbah et al, 2010).

Les coumarines ont aussi une forte activité antifongique sur *C. albicans* (Zuo Guo-Ying et al, 2016).

Zuo Guo-Ying et al, (2016) ont également montré que ces molécules jouent un rôle de barrière chez la plante contre les virus tels que l'inhibition de la réplication de HIV-1 par une coumarine tricyclique Gut-70.

### **I.3.5. Les acides phénoliques :**

#### **I.3.5.1. Les acides hydroxybenzoïques :**

Ces acides présentent une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, composée d'un noyau benzénique sur lequel s'attache une chaîne aliphatique à un carbone. Ils incluent l'acide vanillique, l'acide syringique et l'acide gallique, ce dernier est le composé le plus répandu dans la nature (Chira et al, 2008). Ces acides existent fréquemment sous formes d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans de nombreuses structures complexes comme celles de certains tannins (Macheix et al, 2005; Richter, 1993).

#### **I.3.5.2. Les acides hydroxycinnamiques :**

Ils représentent une classe très importante, dont la structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> dérive de l'acide cinnamique. Ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'esters ou de glucosides (Macheix et al, 2005; Richter, 1993). Les acides hydroxycinnamiques les plus répandus dans la nature sont les acides caféique, p-coumarique, férulique et sinapique (Bruneton, 1999).

## II. Les plantes médicinales sélectionnées :

### II.1. *Urtica dioïca* :

#### II.1.1. Etude botanique :

Le genre *Urtica*, qui tire son nom du latin *uro*, signifiant « je brûle », se compose d'une centaine d'espèces, armées, à l'exception de quatre ou cinq seulement, de poils urticants sur les feuilles et les tiges, ainsi d'oxalate de calcium dans toute la plante (Spichiger et al, 2002).

Parmi ces espèces on a *Urtica dioïca* (figure 05) qui est une plante herbacée vivace, de 40cm, à tige dressée quadrangulaire portant des poils urticants et des poils courts. Les feuilles sont ovales, acuminées, longues de 4 à 15cm sur 2 à 8cm de large, fortement dentées sur les bords, à grosses dents, ovales-triangulaires, pétiole 1 à 2 fois plus que le limbe, à deux stipules linéaires-lancéolées de 4 à 12mm de long. Les fleurs sont dioïques, parfois monoïques, en grappes rameuses bien plus longues que le pétiole, les fructifères sont pendantes avec le périanthe pubescent. (Beloued, 2009). Le taux de chlorophylle ne semble pas plus élevé que celui des feuilles d'autres drogues (environ 2,7%). La présence de « glucokinines », prétendues responsables de l'activité « antidiabétique », n'a jamais été démontrée (Wichtl et Anton, 1999).



**Figure 05** : *Urtica dioïca* (Afif chaouchet, 2014. Photo prise de Tadmait, Tizi Ouzou)

*Urtica dioïca* est classée comme suit (Sekeroglu N et al, 2005) :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Urticale

Famille : Urticaceae

Genre : *Urtica*

Espèce : *Urtica dioïca*

### **II.1.1.1. Etude chimique de l'espèce *Urtica dioïca* :**

La composition chimique des différents organes de l'Ortie dioïque, à savoir les feuilles, les fruits, les racines et les poils, a été le sujet de nombreuses études depuis la seconde moitié du 19<sup>ème</sup> siècle, la partie chimique active de l'Ortie dioïque est distribué dans les divers organes de la plante (Barnes et al, 2002).

### **II.1.1.2. Composition chimique des poils urticants :**

L'action urticante est due au liquide contenu dans les poils (Bertrand, 2002). Emmelin et Feldberg ont trouvé que le liquide des poils contenait au moins trois composés qui pourraient être à l'origine des réactions de muscle lisse: l'acétylcholine, l'histamine, et la 5-hydroxy-tryptamine (la sérotonine). On trouve également une petite quantité de leucotriènes (Kavalali, 2003).

### **II.1.1.3. Composition chimique des parties aériennes :**

Les constituants des différentes parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) sont: des flavonoïdes (1 à 2%) , des éléments minéraux (plus de 20%) : calcium, potassium et silicates partiellement solubles (1-4%), des acides: acide caféique et ses esters, acide férulique et sinapique, acide caféylmalique (1,6%), chlorogénique, citrique, fumarique, glycérique, malique, oxalique, phosphorique, quinique, succinique, thréonique 3-hydroxy-a-ionol, glycoprotéines, des lipides, des sucres, des acides aminés libres (30 mg/kg), des tanins, traces de nicotine, une enzyme: la choline acétyle transférase (Bombardelli et Morazzoni, 1997).

### **II.1.1.4. Composition chimique des racines :**

Les différentes études ont montré que les racines renfermaient des polysaccharides (glycanes), des lectines (dont environ 0.1% d'une lectine particulière de faible masse moléculaire), des céramides, des terpènes diols et des terpènes diols glucosides, des stérols et stérols glucosides, des composés phénoliques et des dimères du phénylpropane (lignanesdiaryl-butanique et lignanesdiaryl-furaniques) (Wichtl et Anton, 2003).

### **II.1.2. Activité pharmacologique et effets thérapeutiques**

Ce sont les feuilles qui ont un intérêt thérapeutique. Les feuilles d'ortie dioïque ont un réel effet diurétique, favorisant l'élimination de l'urée, des ions chlore et de l'acide urique. Elles ont donc un intérêt dans le traitement de la goutte de plus, elles possèdent des propriétés anti-inflammatoire (anti-rhumatismales), antiasthénique, anti anémique, hypoglycémiantes, cholagogues et cicatrisantes.

L'activité diurétique pourrait être due à la présence des nitrates de potassium, de calcium et des acides-alcool (acides glycolique et glycérique). La drogue est très riche en chlorophylle et en



vitamines (A, B, C, E). Elle se singularise aussi par la présence non négligeable de fer, de magnésium de soufre et de phosphore. Enfin elle renferme également des tannins, des stéroïdes et des glycoprotéines.

Parmi les stéroïdes isolés des racines, il faut citer notamment la stigmasténone, douée d'une très bonne activité contre l'adénome prostatique (tumeur bénigne de la prostate).

Parmi les glycoprotéines, isolées des rhizomes, on se doit de citer une lectine, l'UDA. (*Urica dioica* agglutinine), qui a montré, *in vitro*, une activité contre des virus de l'immunodéficience humaine (HIV-1 et HIV-2) et qui possède, de plus, un pouvoir stimulant sur certains lymphocytes T (CD4 et CD8) impliqué dans les réponses immunitaires. D'autre part, les poils urticants sécrètent de l'acide formique, mais aussi de l'acétylcholine, de l'histamine et de la sérotonine, ces trois dernières substances étant des médiateurs chimiques bien connus (Loic, 2006).

### **II.2. *Mentha rotundifolia* :**

#### **II.2.1. Etude botanique :**

*Mentha rotundifolia* (figure 06), dont le nom vernaculaire est « timarssat » en langue arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* alors que pour d'autres auteurs *Mentha rotundifolia* et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce. *Mentha rotundifolia* est une plante herbacée, vivace. Ses feuilles sont sessiles, ovales, crénelées, épaisses, pubescentes sur le dessus, blanches ou mauve clair, en épis denses, terminaux, très odorantes. On trouve la plante dans les milieux humides surtout en Afrique du nord, en Asie et en Europe (Brada et al, 2007).



**Figure 06 :** *Mentha rotundifolia* (Brada et al, 2007).

*Mentha rotundifolia* est classée comme suit :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*



Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha rotundifolia*

### **II.2.2. Etude chimique de l'espèce *Mentha rotundifolia***

*Mentha rotundifolia* est très riche en huile essentielle. Les études concernant la composition chimique de cet huile montrent l'existence vraisemblable de deux chémotype l'un est l'oxyde de pipéritone, et le second le pipériténone, qui sont caractérisés par des teneurs différenciées en ces deux constituants. Le premier contient l'oxyde de pipéritone (19.7 à 31.4%) et l'oxyde de pipériténone (17.6%), ces deux espèces moléculaires représentent les 75% du produit identifié. Ce chémotype très particulier est rapportée pour la première fois chez l'espèce *Mentha rotundifolia* (L) (Brada et al, 2007). Cette plante renforme aussi les flavonoïdes, tannins, et des coumarines.

### **II.2.3. Activité pharmacologique et effets thérapeutiques :**

Quelques études montrent que *Mentha rotundifolia* a été appliqué dans la médecine traditionnelle pour un éventail d'actions: tonique, stomachique, carminative, analgésique, antispasmodique, anti-inflammatoire, sédatif, hypotendu et insecticide (Moreno et al, 2002).

Les feuilles et les pétioles de cette espèce peuvent être utilisés pour parfumer les salades ou relever des plats de viande.

En médecine, la Menthe à feuilles rondes est surtout préconisée contre les ballonnements et la fièvre, ainsi que antiseptique. Elle ne doit pas être utilisée au cours de grossesse (Hans, 2007).

*Matériel et  
méthodes*

## **I. Matériel et méthodes :**

### **1. 1. Matériel végétal :**

Deux plantes médicinales à savoir : *Urtica dioïca* et *Mentha rotundifolia* ont fait l'objet de notre étude, les parties aériennes des deux plantes ont été récoltées dans la région d'Elmilia wilaya de Jijel au mois de Mars 2017. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée par Dr. Abbassi Hocine.

### **I.2. Extraction des composés phénoliques :**

#### **I.2.1. Séchage, broyage et tamisage :**

Après la récolte des deux plantes, les feuilles sont isolées séparément, ensuite sont placés dans une étuve de type Memmert à 40°C pendant une semaine. Après ils sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique de type Sub pour obtenir des poudres très fines. Les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de type AFNOR-ASTM dont le diamètre des pores est inférieur à 250 µm, ces poudres résultantes sont conservées dans des bocaux en verre, hermétiquement fermés et conservées à basse Température au réfrigérateur (Ribéreau-Gayon, 1968).

#### **I.2.2. Macération :**

50 g de poudre de chaque plante ont été extraits avec 500 ml de méthanol 80% durant 48 heures sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique de type Heidolph à une température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydations (Mamadou et al, 2014).

#### **I.2.3. Filtration et décantation :**

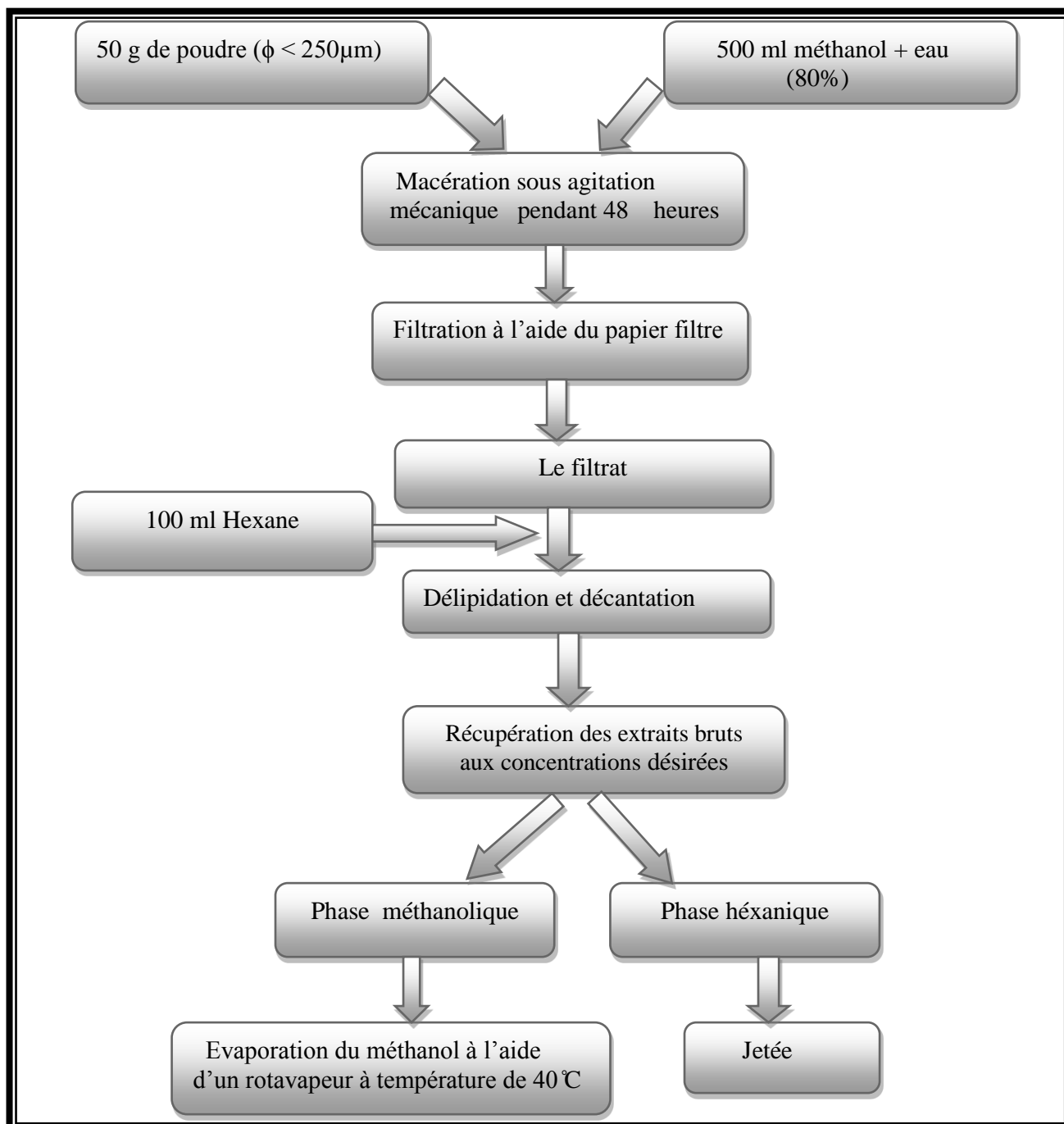
Après macération, la solution de chaque poudre est filtrée à l'aide de papier Whatman N° 1. Le filtrat ainsi obtenu est affronté avec 100 ml d'hexane (Kanoun et al, 2015). Les mélanges sont par la suite décantés pour recueillir les phases méthanoliques.

#### **I.2.4. Evaporation :**

Les filtrats sont concentrés à sec à l'aide d'un rotavapor Heidolph (figure07) à 40°C jusqu'à l'évaporation complète du méthanol. Les extraits secs obtenus ont été repris dans de l'eau distillée de sorte à avoir des concentrations de 1 g/ml pour chaque extrait.

Les extraits méthanoliques bruts ainsi constitués sont conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

✚ Le schéma général de l'extraction est résumé dans la figure (07).



**Figure 07 :** Protocole général de l'extraction des composés phénoliques.

### I.2.5. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits méthanoliques est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = P_s / P_p \times 100$$

Où :

$P_s$  : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

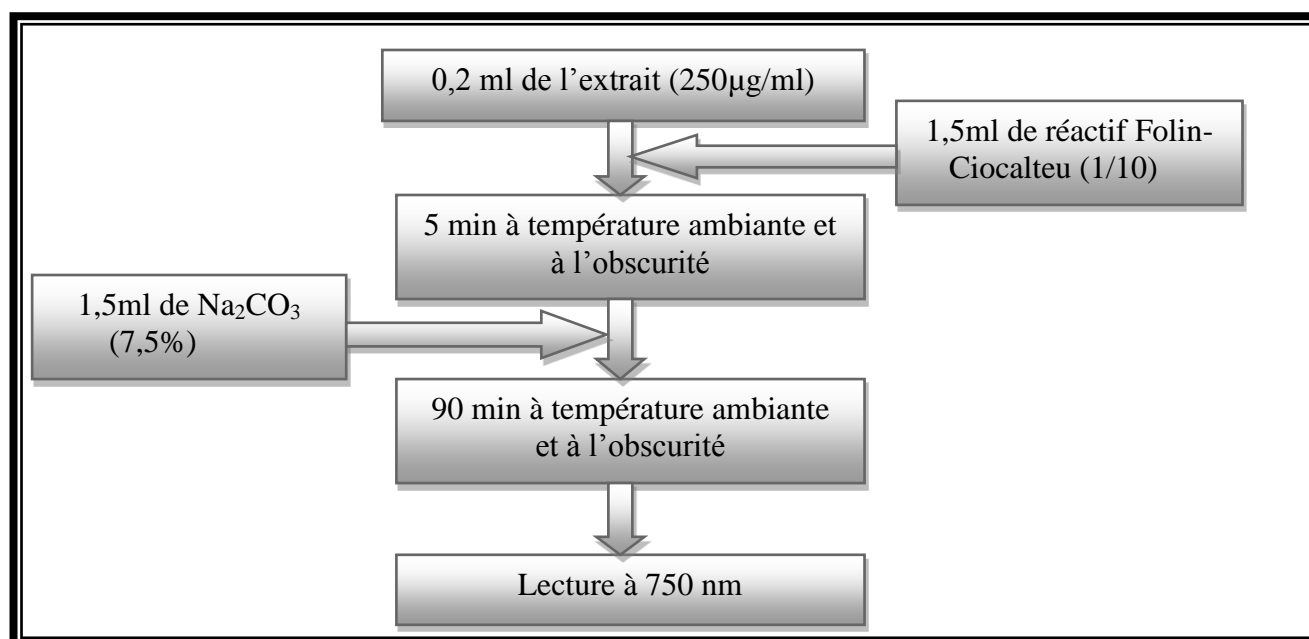
$P_p$  : Poids de la poudre en gramme (g).

### **I.2.6. Dosage des polyphénols totaux :**

Les polyphénols ont été déterminés spectrophotométriquement par la méthode de Folin Ciocalteu (Heilerova et al, 2003). 0,2 ml de l'extrait méthanolique dilué (250  $\mu\text{g/ml}$ ) ont été additionnés avec 1,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10). Le mélange est laissé reposer 5 minutes à l'obscurité. Par la suite, 1,5 ml de la solution  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5%) a été ajouté à l'ensemble. Après 90 minutes d'incubation à 23°C, l'absorbance a été mesurée à 750 nm contre un blanc sans extrait.

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $Y = a X + b$ ) réalisée par un extrait étalon, l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut (EB).

Le mode opératoire pour le dosage des polyphénols totaux est schématisé dans la figure (08).



**Figure 08 :** Protocole de dosage des composés phénoliques totaux (Singleton et al, 1965).

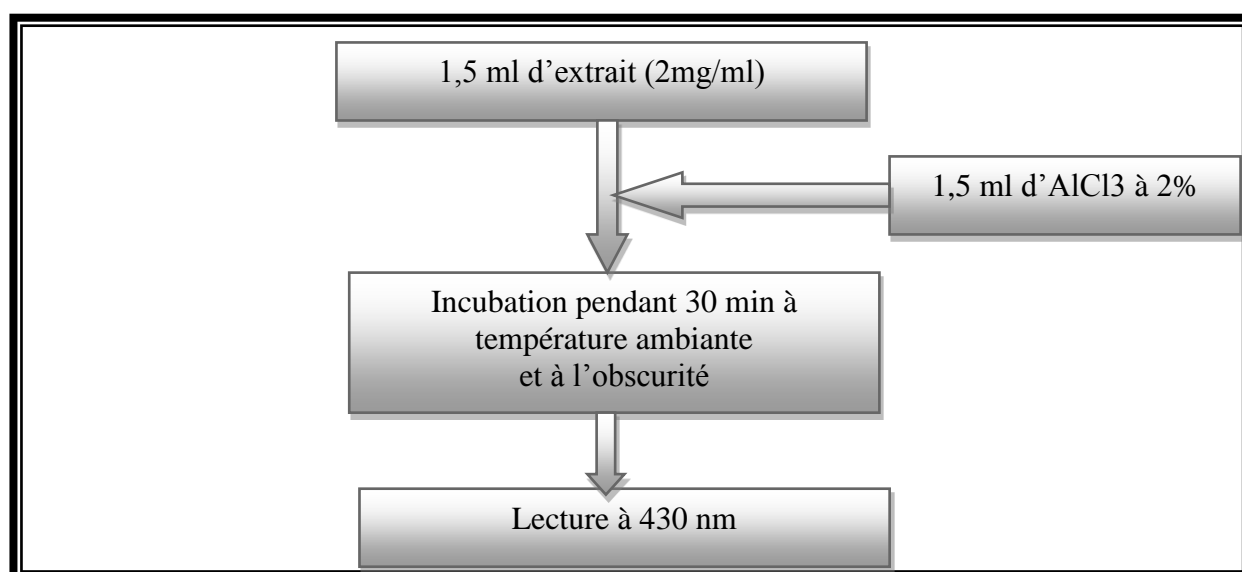
### **I.2.7. Dosage des flavonoïdes**

La méthode à l' $\text{AlCl}_3$  a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes (Huang et al, 2004).

Un millilitre et demi (1,5ml) de l'extrait méthanolique (2 mg/ml) a été ajouté à un volume égal d'une solution de 2% AlCl<sub>3</sub>. Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance a été mesurée à 430 nm, après 30 minutes d'incubation à température ambiante.

Une courbe d'étalonnage ( $Y = a X + b$ ) réalisée par la quercétine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons a servi pour la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg équivalent quercétine par gramme d'EB.

Le protocole de dosage des flavonoïdes est présenté dans la figure (09).



**Figure 09 :** Protocole de dosage des flavonoïdes totaux (Bahorun et al, 1996).

### **I.3. Tests d'activité antibactérienne des composés phénoliques des deux extraits :**

#### **I.3.1. Matériel biologique :**

Les espèces bactériennes utilisées sont des souches de référence. Il s'agit de trois espèces gram négative représentées par : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27893 et *Salmonella spp Arizonae CIP 81-3* et quatre espèces Gram positif représentées par *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 26023, *Bacillus cereus* ATCC 6633 et *Listeria innocua* Clip 74915.

#### **I.3.2. Repiquage des espèces bactériennes :**

Les souches bactériennes à tester ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri sur milieu Hektoen pour les entérobactéries, sur la gélose nutritive pour *Pseudomonas aeruginosa* , *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* et sur milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* puis incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées.

### **I.3.3. Préparation des inoculums :**

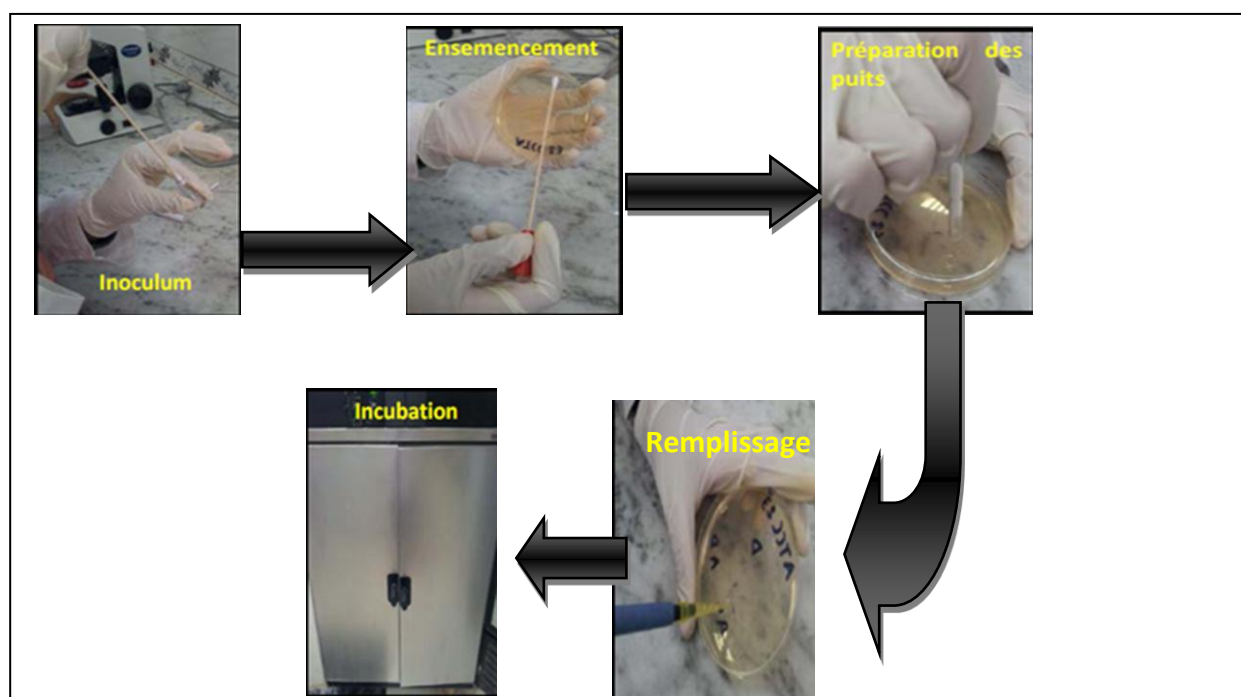
Des colonies bien isolées à partir des cultures fraîches ont été transférées dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile afin d'avoir des suspensions bactériennes ayant une turbidité voisine à celle de 0.5 Mc Farland ( $10^8$  UFC/ml) ( Athamena et al, 2010 ).

### **I.3.4. Test de sensibilité antibactérienne aux composés phénoliques :**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits a été réalisée par la méthode de diffusion en puits sur le milieu gélosé Mueller-Hinton.

Le milieu gélosé Muller-Hinton en surfusion est coulé dans des boites de Petri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4mm. Après solidification, l'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées (Fontanay et Mougenot, 2015). Nous avons répété l'opération trois fois en tournant la boîte d'environ  $60^\circ$ , l'ensemencement de chaque inoculum s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boites. Quatre puits de 6 mm circulaires sont découpés dans la gélose de chaque boîte de Pétri, dont trois ont été rempli par 20  $\mu$ l de l'extrait à concentration de 1g/ml et le quatrième puits, le puits central (le témoin négatif) est rempli avec du solvant. Les boites sont par la suite incubées pendant 24 h à  $37^\circ\text{C}$  (Figure 10).

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits.



**Figure 10** : Protocole de l'activité antibactérienne d'extrait méthanolique.

### **I. 3.5. L'antibiogramme :**

Le but de l'antibiogramme est de réaliser un témoin positif pour pouvoir comparer les résultats obtenus avec les deux extraits par rapport aux quatre antibiotiques commerciaux testés. Le choix des antibiotiques dans notre étude a été fait en fonction de la disponibilité des disques d'antibiotiques au laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et la Vie de l'Université de Bijaya. Ces antibiotiques sont : La Streptomycine, Vancomycine, Amoxicillin et la Pénicilline G.

Dans des boîtes de Pétri de 9cm de diamètre ensemencées préalablement par les souches à tester, on a déposé des disques d'antibiotiques sur la surface de la gélose Muller Hinton (Jeannot et plésiat, 2016).

Les boîtes ont été ensuite incubées à 37° C pendant 24 heures. La lecture des résultats s'est faite par la mesure des zones d'inhibitions.

### **I.3.6. Détermination des CMI pour les extraits méthanoliques :**

Les extraits dont la zone d'inhibition a un diamètre supérieur ou égal à 10 mm ont été sélectionnés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices. Il s'agit de déterminer les plus petites concentrations aux quelles les extraits présentent encore une activité antibactérienne visible à l'œil nue. Des dilutions successives de progression géométrique de raison 2 ont permis de préparer une gamme de dilutions allant de 1 mg/ml à 0.06 mg/ml pour les deux extraits méthanoliques étudiés (Oussou et al, 2004).

## **II. Analyse statistique :**

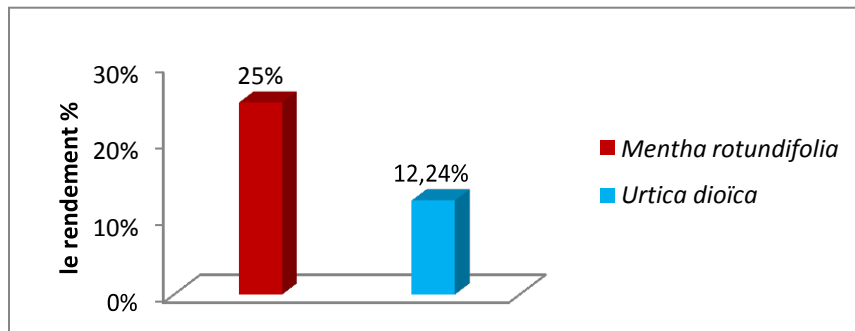
Les résultats ont été rapportés en moyenne  $\pm$  écart type (trois répétitions) et les données ont été comparées sur la base des valeurs des moyennes. Les différences entre les moyens ont été testées à l'aide du test Tukey-Kramer HSD (logiciel JMP version 7.0) avec un niveau significatif de 0,05.



### III. Résultats :

#### III.1. Extraction et calcul des rendements :

La figure 11 présente les rendements en pourcentage des extraits phénoliques pour les deux plantes.



**Figure 11 :** Les rendements des extraits méthanoliques des deux plantes en pourcentage.

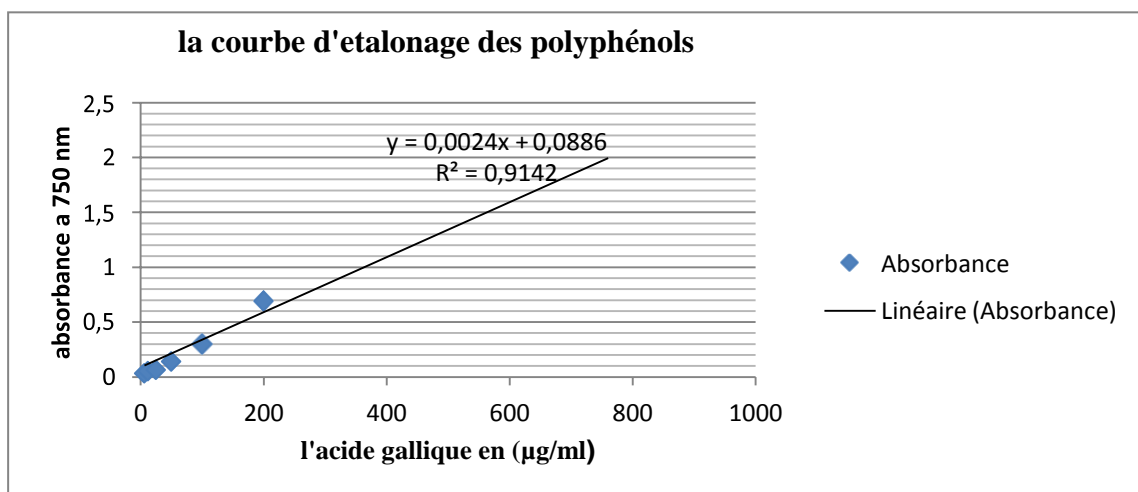
Le rendement des extraits méthanoliques varie selon les plantes. Il est de 12,24% pour *Urtica dioica* et de 25 % pour *Mentha rotundifolia*.

#### III.2. La teneur en polyphénols et en flavonoïdes :

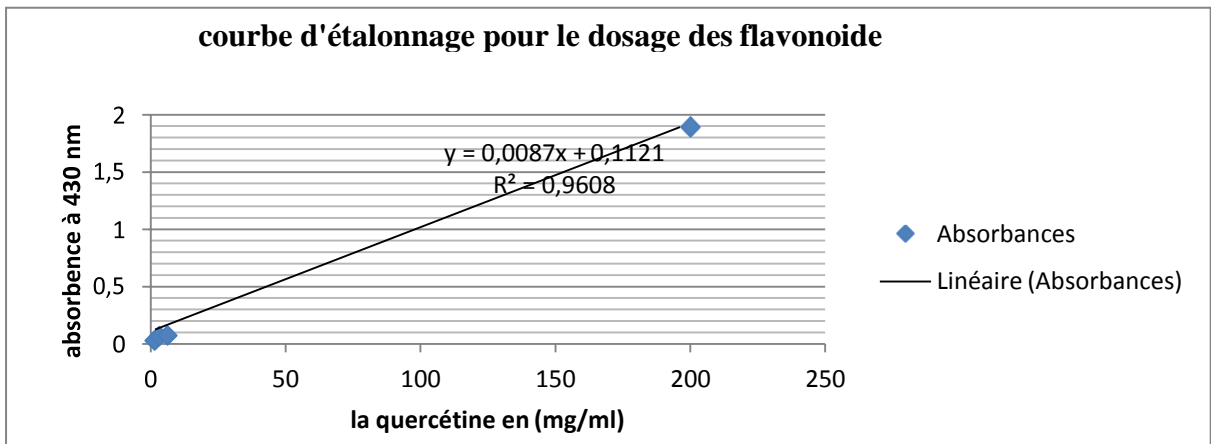
L'étude quantitative des extraits méthanoliques au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

Deux courbes d'étalonnages (figures 12 et 13) ont été tracées pour cette objectif, une réalisée avec un extrait d'acide gallique à différentes concentrations (dosage des polyphénols) et l'autre avec la quercétine (dosage des flavonoïdes). Des mesures de densité pour chaque extrait sont réalisées à 750 nm, 430 nm pour les polyphénols, les flavonoïdes respectivement.

Les quantités des polyphénols, des flavonoïdes ont été rapportées en mg équivalent de l'étalon utilisé par gramme d'extrait brut et sont déterminées par les deux équations de type :  $Y = a X + b$ .

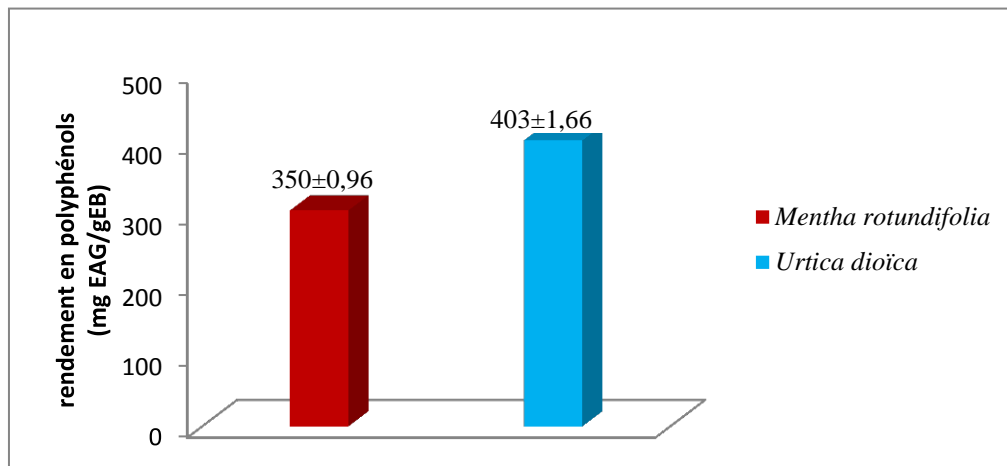


**Figure 12 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

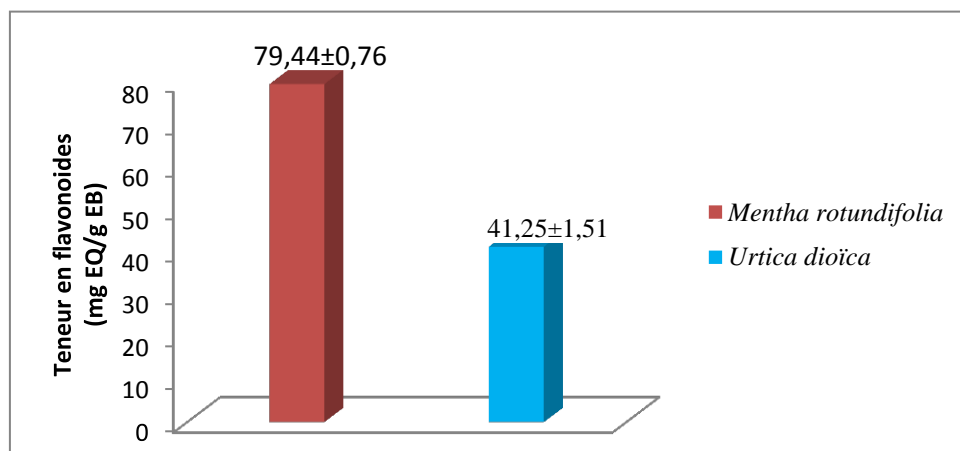


**Figure 13 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Les résultats obtenus des dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont présentés dans les figures 14 et 15.



**Figure 14 :** La teneur en polyphénols des deux plantes.

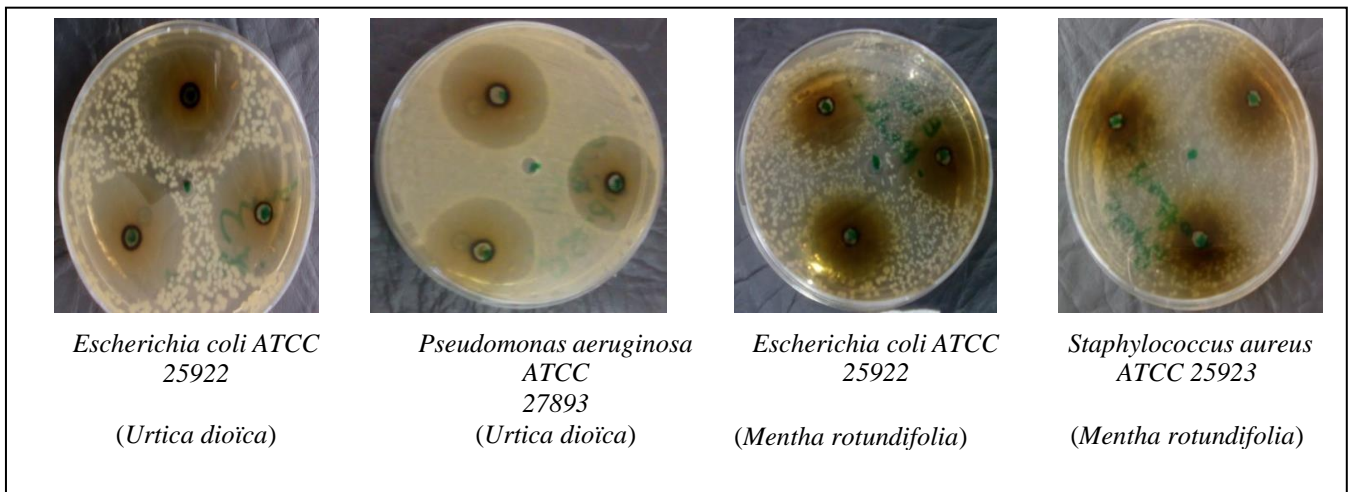


**Figure 15 :** La teneur en flavonoïdes des deux plantes.

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique d'*Urtica dioïca* est le plus riche en polyphénols (403,99± 1,66 mg équivalent acide gallique par g d'extrait brut). *Mentha rotundifolia* présente une teneur de 350±0,96 mg équivalent acide gallique par g d'extrait brut. Par contre pour la teneur en flavonoïdes ; l'extrait de *Mentha rotundifolia* est le plus riche (79.44 ±0,76 mg équivalent quercétine par g d'extrait brut) alors que la plante *Urtica dioïca* renferme une concentration de 41,25±1,51 mg équivalent quercétine par g d'extrait brut.

**III.3. Les résultats de l'activité antibactérienne et de l'antibiogramme :**

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et l'effet des antibiotiques sur les souches testées est observée sous forme d'halos d'inhibition de la croissance bactérienne autour des puits et des disques comme le montre les figures (16 et 17).



**Figure 16 :** Effets des extraits méthanoliques de *Mentha rotundifolia* et d'*Urtica dioïca* sur la croissance bactérienne de quelques souches testées.



**Figure 17 :** Effets des antibiotiques sur la croissance bactérienne de quelques souches testées.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les deux extraits et les différents antibiotiques utilisés sont groupés dans le tableau 02.

**Tableau 02 :** Les diamètres des zones d'inhibitions en mm obtenus avec les extraits méthanoliques des deux plantes et les antibiotiques sur les bactéries testées.

Bactéries	<i>Mentha rotundifolia</i> (1 g/ml)	<i>Urtica dioïca</i> (1 g/ml)	P <sub>10</sub>	Aml <sub>25</sub>	Va <sub>30</sub>	S <sub>500</sub>	Solvant
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	26.33 ± 1,52 <sup>def</sup>	34.66± <sup>c</sup> 0,57	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	25,33± <sup>ef</sup> 0,57	0 <sup>k</sup>	0
<i>Salmonella spp</i> <i>arizonae</i> CIP 81-3	14±1 <sup>i</sup>	16±1 <sup>hi</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	25,33± <sup>ef</sup> 0,57	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27893	17.66± 0,57 <sup>hi</sup>	31,33± <sup>cd</sup> 0,57	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	29,33± 2,08 <sup>de</sup>	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	18.33± <sup>h</sup> 1,52	20±1 <sup>gh</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	25,66± <sup>ef</sup> 0,57	0
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	42±1,73 <sup>b</sup>	49,33± 1,15 <sup>a</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	26,66± 2,08 <sup>ef</sup>	0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26023	19,66±1,15 <sup>gh</sup>	44,33± <sup>b</sup> 13,79	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	19,33± 0,57 <sup>gh</sup>	24,33± <sub>f</sub> 1,15	0
<i>Listeria innocua</i> Clip 74915	4,66± 4,16 <sup>j</sup>	18,33± 1,52 <sup>h</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	0 <sup>k</sup>	26±1 <sup>ef</sup>	0

S500: Streptomycine; VA30: Vancomycin; P10: Pénicilline G; AML25: Amoxicilline.

Les essais ont été effectués en triple et les données ont été exprimées en moyenne ± écart-type. Les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes (p 0.05).

À partir du tableau, nous constatons que les deux extraits exercent une activité antibactérienne sur la majorité des souches testées. Une différence non significative est observée avec l'extrait de *Mentha rotundifolia* en comparaison avec l'antibiotique Vancomycine sur *Escherichia coli* ATCC 25922.

Une différence significative (P<0.05) est observée avec des deux extrait (avec toute les bactéries) en comparaison les deux antibiotiques Pénicilline et Amoxicilline.

**III.4. Résultats des CMI :**

Les concentrations minimales inhibitrices obtenues avec les différentes dilutions des extraits méthanoliques des deux plantes sont indiquées dans le tableau 03.

**Tableau 03 :** Les concentrations minimales inhibitrices en mg/ml des extraits méthanoliques des deux plantes.

Bactéries	<i>Mentha rotundifolia</i> (mg/ml)	<i>Urtica dioïca</i> (mg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	250	125
<i>Salmonella arizonae</i> sp CIP 81-3	250	62,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27893	125	125
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	500	125
<i>Bacillus cerus</i> ATCC 6633	62,5	250
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 26023	7,81	62,5
<i>Listeria innocua</i> Clip 74915	-	31,25

Les valeurs des CMI obtenues varient selon la sensibilité des souches testées vis-à-vis des différents extraits. La plus petite CMI constatée est celle obtenue avec l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* avec la bactérie *Bacillus subtilis* ATCC 26023 (CMI = 7,81 mg/ml).

#### **IV. Discussion :**

Cette étude nous a permis de réaliser l'extraction dans le méthanol des poudres des feuilles de deux plantes utilisées dans la région de Jijel en médecine traditionnelle : *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca*, et d'évaluer l'activité antibactérienne de ces extraits sur la croissance *in-vitro* de quelques bactéries Gram positif et négatif.

L'extraction des composés phénoliques à partir du matériel végétal peut être influencée par leur structure chimique, la méthode d'extraction, la taille des particules formant l'échantillon, le temps et les conditions de stockage (Naczk et Shahidi, 2004). De plus, il est difficile de développer une procédure d'extraction souhaitable pour ces métabolites secondaires ou pour une classe spécifique de ces composés (Naczk et Shahidi, 2004). Le solvant est aussi l'un des paramètres qui peut affecter l'extraction des polyphénols, il peut s'effectuer par plusieurs solvants tels que: l'eau, le méthanol, l'éthanol et l'acétone. Par ailleurs, les solvants aqueux donnent les meilleurs rendements d'extraction que les solvants absolus (Ribéreau- Gayon, 1968).

Il a été aussi montré que parmi les trois solvants, chloroforme, éthyle acétate, et méthanol, le méthanol est le plus utilisé pour l'extraction des composés polyphénoliques (Osawa et Namiki, 1981).

Nous avons évalué l'activité antibactérienne de nos extraits en utilisant la méthode des puits, cette méthode est largement utilisée par plusieurs auteurs (Natarajan et al, 2005 ; Fazeli et al, 2007).

Le test de sensibilité des souches a permis de montrer la présence d'une activité antibactérienne non négligeable pour les deux extraits notamment celui d'*Urtica dioïca*. Ainsi, les souches d'*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 6633 et *Bacillus subtilis* ATCC 26023 ont été les plus sensibles à l'égard de cet extrait avec des diamètres d'inhibition allant de  $34.66 \pm 0,57$  à  $49,33 \pm 1,15$  mm. Cependant, les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria innocua* Clip 74915 et *Salmonella arizonae* spp CIP 81-3 ont été moins sensibles. Ces résultats obtenus sont largement différents avec ceux obtenus par ÖzlemTurgayErdog˘rul, 2002 avec la même espèce *Urtica dioïca* et qui n'a donné aucun effet antibactérien sur *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* DM et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. L'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* vient en seconde position avec des diamètres allant de 4 à 42mm. Aussi ces résultats obtenus sont largement différents avec ceux obtenus par Seladji et al, 2014 et qui ont donnés des diamètres de 6 à 10 mm par rapport à la concentration 0.03 mg/ml de l'extrait. L'activité inhibitrice obtenu avec nos extraits peut être expliquée par la présence d'une teneur importante en

polyphénols ( $403.99 \pm 1,66$  mg EAG /gEB pour *Urtica dioica* et  $350 \pm 0,96$  mg EAG /g EB pour *Mentha rotundifolia*).

En effet, Djahra et al (2013) et Liu et al (2016) ont montré les propriétés antimicrobiennes des polyphénols et ont pu aussi donner des hypothèses sur leur mécanismes d'action sur les microorganismes dont :

- La fixation sur certaines protéines et enzymes modifiant ainsi les équilibres enzymatiques
- La dénaturation des protéines microbiennes.
- la capacité d'empêcher le développement des colonies bactériennes par la destruction de leurs parois cellulaires
- bloqué la réplication des acides nucléique microbien (l'ARN de virus de grippe).

Les plantes renferment aussi une teneur importante en flavonoïdes, ( $79,44 \pm 0,76$ ) pour *Mentha rotundifolia* et ( $41,25 \pm 1,51$ ) pour l'*Urtica dioica*. Ces molécules sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ils pourraient exercer des effets antibactériens par la fixation des flavonoïdes sur l'ADN au niveau des sites d'insertion de l'enzyme bloquant ainsi son activité ou par blocage de site de fixation de l'ATP se trouvant sur l'ADN gyrase (Dadi al. 2009).

A la lumière de nos résultats, nous avons constaté que nos extraits se sont montrés plus actifs à l'égard des bactéries Gram positif par rapport aux autres bactéries Gram négatif.

Ces résultats sont en corrélation avec la littérature qui confirme que les bactéries Gram négatif sont les plus résistantes aux différents extraits des plantes (Cosentono et Tuberoso, 1999 ; De Blillerbeck , 2000 ; Smith-Palmer et Stiwart , 1998 ; Farag et al, 1989). Cette résistance des bactéries Gram négatif n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de leur membranes externes qui leur confèrent une résistance à la plupart des agents biocides (Cox et al, 2000 ; Tassou et Nychas, 1995).

Par ailleurs, la paroi des bactéries Gram positif est riche en protéines tandis que chez les espèces Gram négatif, elle est surtout assemblée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D (Hogan et Kolter, 2002).