

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf:/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : biotechnologie microbienne

Présenté par :

GALOUL Asmaa & HAMOUDI Ferial

Thème

Etude des activités antioxydante et antibactérienne des extraits éthanoliques de *Persea americana* et *Urtica dioica*

Soutenu le : 02/07/2023 Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
TIGHRINE Abderrahmane	MCA	Univ. de Bouira	Président
AIT MIMOUNE Nouara	MCA	Univ. de Bouira	Promotrice
BOUHENNI Hamida	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire : 2022/2023

REMERCIEMENT

Ce travail est le fruit de la combinaison d'efforts de plusieurs personnes. Je remercie tout d'abord le tout puissant qui, par sa grâce nous a permis d'arriver au bout de nos efforts en nous donnant la santé, la force, le courage et en nous faisant entourer des merveilleuses personnes.

Nous exprimons toute notre gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice Mme. AIT MIMOUNE NOUARA, enseignante au niveau du département de biologie- Université de Bouira, pour avoir accepté de nous encadrer.

Nos remerciements vont également aux membres de jury ; M. FIGHERINE Abderrahmane et Mme BOUHENNI Hamida pour avoir accepté de faire partie de notre jury de soutenance.

*Enfin nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, sans oublier nos amies et les étudiantes de la promotion biotechnologie microbienne
2022/2023*



DÉDICACES

Avant tout, je remercie Dieu qui m'a donné la volonté de continuer mes études et de faire ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu la garde et la protège.

À mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin.

Je dédie aussi ce travail à toutes mes chères sœurs (Wafaa & Sanaa & Manar & Rahma & Alaa) et mon frère (Abd Elhakim).

À toute ma famille.

À mes amies : Feriel, Amina, Hayet, Imane, Salma

À toute personne qui me connaît.

Asmaa





DÉDICACES

Avant tout, je remercie Dieu qui m'a donné la volonté de continuer mes études et de faire ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu la garde et la protège.

À mon cher père qui m'a toujours montré le chemin.

**Je dédie aussi ce travail à mes frères (Mohamed & Youcef)
et ma sœur (Maroua)**

À toute ma famille.

À mes amies : Asmaa, Imane, Salma, Amel, Zahra.

ET à toute la promotion de Biotechnologie microbienne

2022/2023

Feriel



Liste des abréviations

ADA : Dietetic association

AML : Amoxicilline

C : Chloramphénicol

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl

EAG: équivalent d'acide gallique

EC50 : Concentration inhibitrice médiane

ERO : Espèce réactives d'oxygène

FRAP : Ferric-reducing antioxydant power

LDL : Lipoprotéine de base densité

ORAC : absorption des radicaux d'oxygène

R* : Radical libre

RH : Radical stable

Liste des figures

Figure 01 : Structure et classification des polyphénols.....	03
Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes.....	04
Figure 03 : Structures générales des tanins condensés et des tanins hydrolysables.....	05
Figure 04 : Structure des acides phénoliques.....	06
Figure 05 : Structure chimique des coumarines.....	07
Figure 06 : Activité antioxydante des polyphénols.....	08
Figure 07 : Arbre de <i>Persea americana</i>	10
Figure 08 : Feuilles et fleurs de <i>P.americana</i>	11
Figure 09 : Fruits de <i>P.americana</i>	11
Figure 10 : Activités biologiques de <i>Persea americana</i>	15
Figure 11 : Les différentes parties d' <i>Urtica dioica</i>	17
Figure 12 : Feuilles de <i>P. americana</i> et <i>U. dioica</i>	23
Figure 13 : Broyage et tamisage de <i>P.americana</i> et <i>U. dioica</i>	24
Figure 14 : Schéma illustrant les étapes de l'extraction hydro-éthanolique de <i>P. americana</i> et <i>U.dioica</i>	26
Figure 15 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.....	27
Figure 16 : Schéma illustrant le dosage des composés phénoliques.....	28
Figure 17 : Diffusion en milieu solide (méthode des disques).....	30
Figure 18 : Taux d'humidité d' <i>Urtica dioïca</i> et de <i>Persea americana</i>	31
Figure 19 : Rendement d'extraction de d' <i>Urtica dioïca</i> et <i>Persea americana</i>	32
Figure 20 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.....	34
Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de <i>P.americana</i>	34
Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d' <i>U.dioica</i>	35
Figure 23 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	37
Figure 24 : Résultats de la méthode des antibiotiques.....	43
Figure 25 : Résultats de la méthode des disques des extraits éthanoliqes d' <i>Urtica dioica</i> et <i>Persea americana</i>	44

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales classes des flavonoïdes.....	04
Tableau 02 : Taxonomie de <i>Persea americana</i>	11
Tableau 03 : Classification du genre <i>Urtica dioica</i>	17
Tableau 04 : Valeurs EC50 des différents extraits éthanolique et de l'acide ascorbique.....	36
Tableau 05 : Résultats du dosage des polyphénols totaux dans les extraits hydro-éthanolique de <i>Persea americana</i> et <i>Urtica dioica</i> L.....	37
Tableau 06 : Aspect macroscopique des souches bactériennes.....	39
Tableau 07 : Aspect microscopique des souches bactériennes avec un grossissement $\times 100$...41	41
Tableau 08 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées.....	45

Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I:Rappels bibliographiques

I- Les polyphénols	2
I-1 Généralités	2
I-2 Structure et classification	2
I-2-1 flavonoïdes	3
I-2-2 Anthocyanes	5
I-2-3 Les tannins	5
I-2-4 Acides phénoliques et phénols simples	6
I-2-5 Les coumarines	6
II- Plantes médicinales	9
II-1 Généralités	9
II-2 <i>Persea americana</i>	10
II-2-1 Description botanique	9
II-2-1-1 Classification de la plante	11
II-2-2 Répartition géographique	12
II-2-3 Activités biologiques	12
II-2-3-1 Activité antioxydante	12
II-2-3-2 Activité antibactérienne	12
II-2-3-3 Autres activités	13
II-2-4 Usage traditionnel	15
II-3 <i>Urtica dioica</i>	16
II-3-1 Description botanique	15
II-3-1-1 Classification de la plante	18
II-3-2 Répartition géographique	17

II-3-3 Propriétés biologiques	17
II-3-3-1 Activité antioxydante.....	17
II-3-3-2 Activité antibactérienne	18
II-3-3-3 Autres activités	18
II-3-4 Usage traditionnel	18

Chapitre II:Matériel et méthodes

I Matériel.....	22
I-1 Matériels non biologiques	22
I-2 Matériel végétal	23
I-3 Souches bactériennes	23
II Méthodes.....	23
II-1 Détermination du taux d'humidité	23
II-2 Préparation des extraits	24
II-2-1 Broyage et Tamisage.....	24
II-2-2 Extraction hydro-éthanolique.....	24
II-3 Détermination du rendement.....	25
II-4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	27
II-5 Dosage des polyphénols totaux	28
II-6 Evaluation de l'activité antibactérienne.....	28
II-6-1 Examen morphologique des souches	29
II-6-2 Préparation de l'inoculum.....	29
II-6-3 Réalisation des tests antibactériens	29

Chapitre III:Résultats et discussion

III-1 Taux d'humidité	31
III-2 Rendement d'extraction	31

III-3	Activité antioxydante	32
III-4	Teneurs en polyphénols totaux	36
III-5	Evaluation de l'activité antibactérienne	38
III-5-1	Identification des bactéries	38
III-5-1-1	Etude macroscopique	38
III-5-1-2	Etude microscopique	41
III-5-2	Etude de la sensibilité bactérienne (antibiogramme)	43
	Conclusion	48
	6	
I-3	Propriétés biologiques des composés phénoliques	7
I-3-1	Effet antioxydant	7
I-3-2	Effet antibactérien	8
I-3-3	Autres effets biologiques	9

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Introduction

Les plantes médicinales sont une source majeure de molécules bioactives (Michel, 2011). Leur utilisation a été reconnue comme une véritable alternative à la médecine conventionnelle (Jutte et *al.*, 2017, Hassani et *al.*, 2016). Leur grande importance médicinale est liée à la présence de composés phytochimiques, synthétisés par les plantes et dont la fonction principale est la protection contre les prédateurs et autres facteurs externes. De nos jours, les composés phytochimiques sont exploités dans le traitement de plusieurs pathologies (Yea, et *al.*, 2017).

Persea americana Mill. et *Urtica dioica*, connue sous le nom de l'ortie dioïque sont considérées comme des plantes précieuses en raison de leurs nombreuses propriétés médicinales. *Persea americana* possède des effets analgésiques et anti-inflammatoires et anti-hyperglycémiques (Oliveira et *al.*, 2013, Wu YH et *al.*, 2019, Mattenheimer, 1981). *Urtica dioica* est notamment utilisée pour ses effets diurétique, antidiarrhéique, hémostatique et antidiabétique (Draghi, 2005).

Au cours des dernières années, l'augmentation des résistances aux antibiotiques chez les micro-organismes pathogènes et la toxicité des agents antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal en quête de molécules efficaces dénuées de tout effet adverse.

Dans ce contexte, le présent travail vise à étudier les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de deux extraits éthanoliques de *Persea americana* et d'*Urtica dioica* cultivées en Algérie.

Ce travail s'articule autour de trois chapitres :

- Le premier chapitre décrit les différentes connaissances bibliographiques sur *Persea americana*, *Urtica dioica* et les composés polyphénoliques.
- Le chapitre suivant correspond au matériel et les méthodes utilisés pour la préparation des extraits et les tests réalisés pour l'évaluation des activités anti-oxydantes et antimicrobienne.
- Le dernier chapitre se concentre sur les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin, ce travail est achevé par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives d'avenir.

Chapitre I :

Rappels

bibliographiques

I- Les polyphénols

I-1 Généralités

Les composés phénoliques sont des sous-produits du métabolisme secondaire des plantes qui se caractérisent par la présence d'un ou plusieurs groupes phénoliques au sein de leur structure. En fonction de cette structure, ils ont été classés en plusieurs groupes tels que les groupes acides (C6-C1 ou C6-C3) et les flavonols (C6-C3-C6). Les représentants les plus connus de cette dernière catégorie sont les stilbènes (C6-C2-C6) et le resvératrol, présents dans les écorces de raisins secs et le vin rouge.

La classe des polyphénols la plus importante et la plus répandue est la famille des flavonoïdes. En effet, plus de 4000 composés ont été identifiés. Les différences structurelles au sein de ce groupe sont basées sur le degré d'hydroxylation et de méthylation, ainsi que sur l'association générale de différents types de flavonoïdes avec des glycosides alimentaires (Hernandez, 2012).

I-2 Structure et classification

Les polyphénols appartiennent à une grande famille de produits chimiques. Ces derniers peuvent être classés selon la position de l'atome de carbone au sein de la molécule (Figure 1), que l'on peut classer en plusieurs catégories selon la complexité du squelette (Hennebelle, 2006, Macheix et *al.*, 2005).

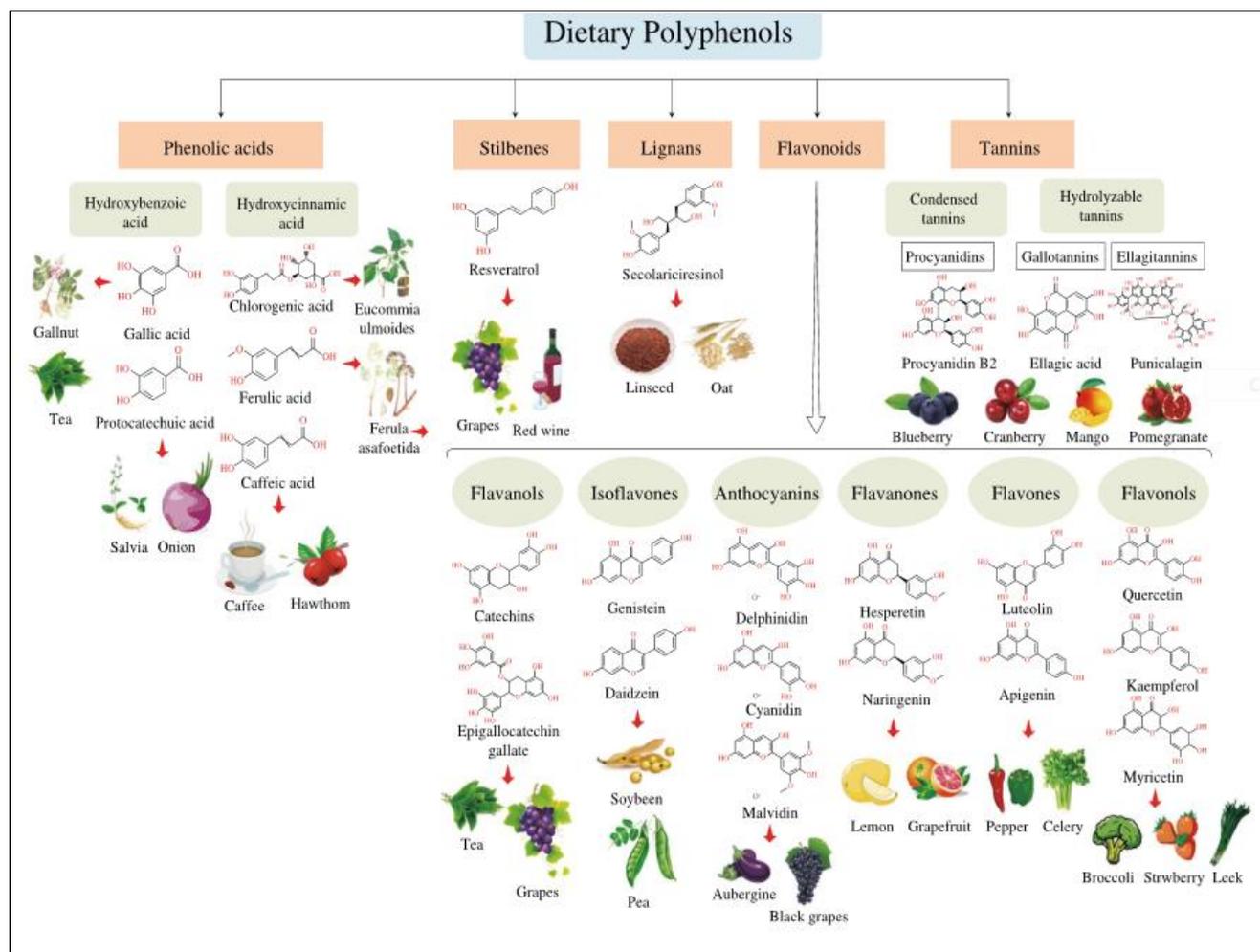


Figure 01 : Structure et classification des polyphénols (Wei Li et *al.*, 2023).

I-2-1 flavonoïdes

Le terme flavonoïde vient du mot latin flavus, qui signifie « jaune ». Ce sont les pigments responsables des différentes couleurs des composants végétaux tels que les graines, les fruits et les fleurs et peuvent être impliqués dans le processus photosynthétique. Ils ont généralement une structure constituée de deux cycles aromatiques attachés à un hétérocycle oxygéné (Figure 2) (Liu, 2004).

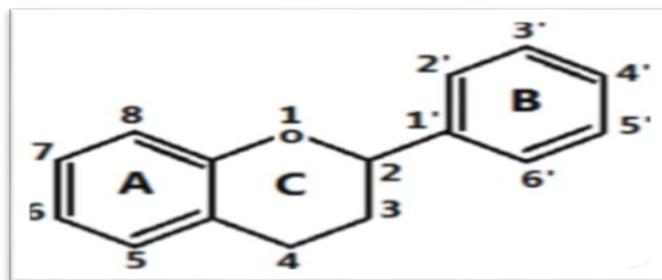


Figure 02 : Structure fondamentale des flavonoïdes (Liu, 2004).

Les flavonoïdes peuvent être classés en différentes classes selon leur structure de base. Les plus importants d'entre eux sont répertoriés dans le tableau suivant.

Tableau 01 : Principales classes des flavonoïdes (Narayana et al., 2001)

Classes	Structures chimiques	Propriétés
Flavones		Neutralisation des radicaux libres
Flavonols		Antihistaminique Anti-inflammatoire Antioxydantes
Flavanones		
Isoflavones		Source de phyto_ œstrogène
Anthocyanes		Antiseptique urinaire

I-2-2 Anthocyane

Les anthocyanidines et les anthocyanosides sont collectivement appelés anthocyanes. Les flavonoïdes contenant des hétérocycles de pyrrole sont appelés anthocyanidines, tandis que les anthocyanosides sont constitués d'anthocyanidines liées à des sucres via des liaisons glycosidiques (Swanson, 2003).

I-2-3 Les tannins

Le terme englobe certains oligomères et polymères de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, ce qui le rend très difficile à définir d'un point de vue chimique. Les tanins hydrolysables sont des esters de D-glucose et d'acide gallique qui peuvent être facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique. Les tanins condensés ont des structures chimiques similaires aux flavonoïdes mais sans la partie osidique dans la molécule (Figure 03) (Dupont et Guignard, 2007).

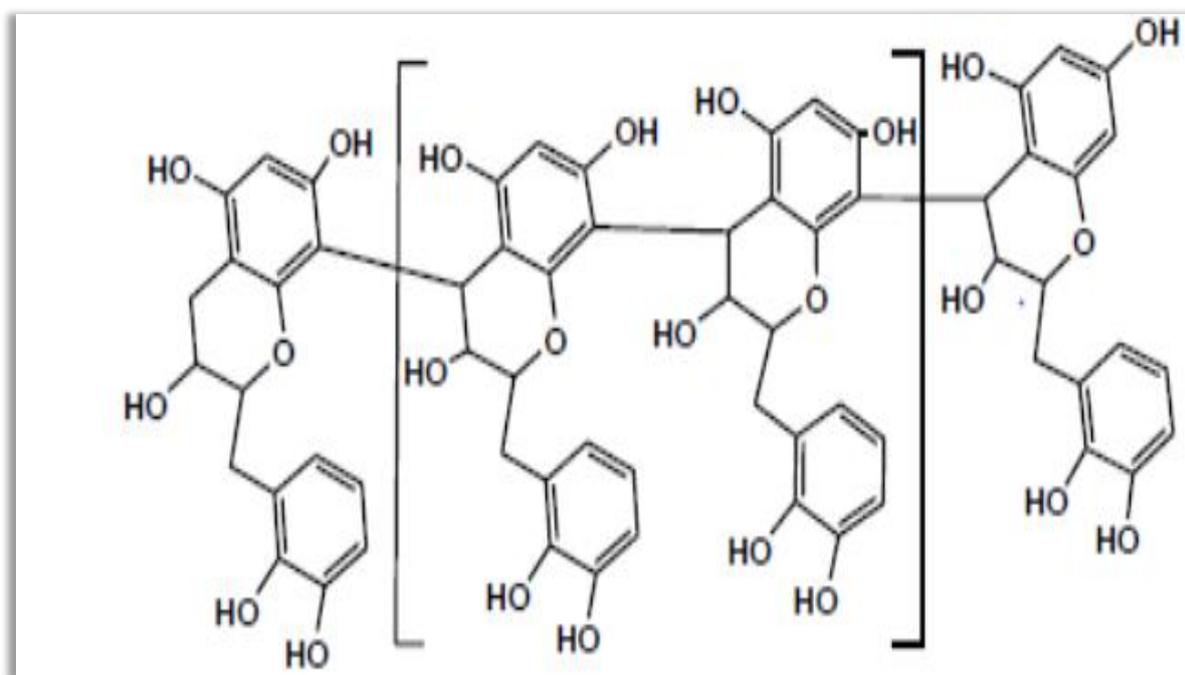


Figure 03 : Structures générales des tanins condensés et des tanins hydrolysables (Dupont et Guignard, 2007).

I-2-4 Acides phénoliques et phénols simples

Les acides phénoliques sont de petites molécules composées d'un noyau benzénique et d'au moins un groupe hydroxyle. Ils peuvent être estérifiés et attachés aux sucres sous forme de glycosides. Il existe deux classes principales, les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïques (Figure 04) (Toubal, 2018).

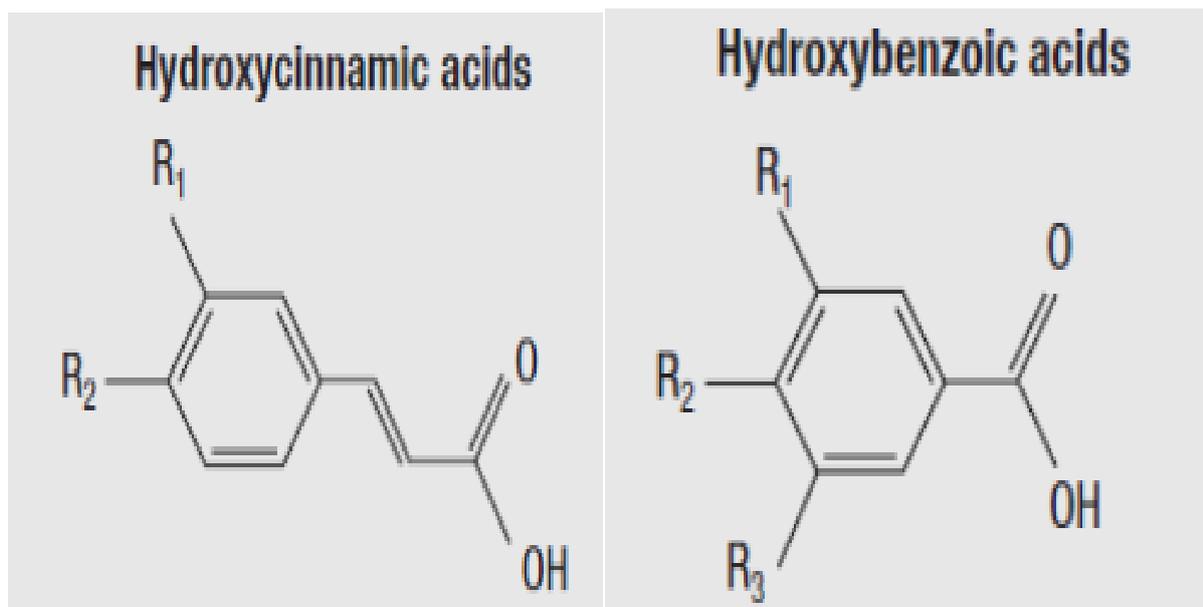


Figure 04 : structure des acides phénoliques (Toubal, 2018).

I-2-5 Les coumarines

Les coumarines sont des composés organiques aromatiques naturels contenant 9 atomes de carbone, caractérisés par un cycle 2H-1-benzopyran-2-on (Figure 05) e. Ils sont largement distribués dans le règne végétal et sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxyde et peroxyde ainsi que d'empêcher la peroxydation des lipides membranaires (Mpondo et al, 2015).

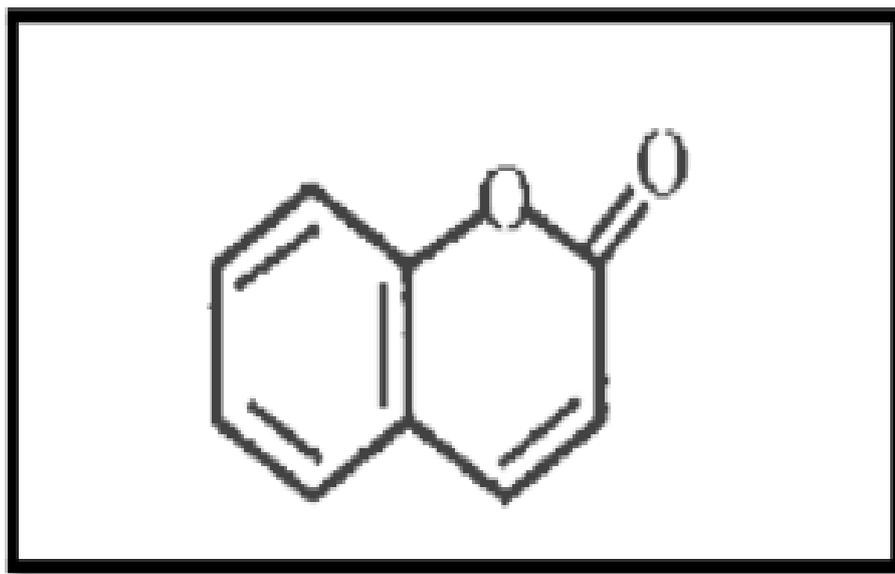


Figure 05 : Structure chimique des coumarines (Mpondo et *al.*, 2015)

I-3 Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les propriétés biologiques des composés phénoliques ont largement été étudiées dans le domaine médical. En effet, de nombreuses études ont démontré leurs effets biologiques (Nkhili, 2009).

I-3-1 Effet antioxydant

Les flavonoïdes possèdent une activité antioxydante due à leur capacité à piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs (Laoufi, 2017). Cette propriété peut s'expliquer par la formation des atomes d'hydrogène à partir de groupements hydroxyles (Amie et *al.*, 2007).

Le stress oxydatif se caractérise par un déséquilibre entre les mécanismes de défense antioxydante de l'organisme et la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Figure 6). Un déséquilibre peut survenir si la production de ces molécules est excessive ou si les mécanismes antioxydants sont insuffisants. Dans ce cas, les ERO peuvent endommager les cellules et causer des dommages oxydatifs aux protéines, aux lipides, à l'ADN et à l'ARN (Amie et *al.*, 2007).

Les molécules réactives sont régulées par des antioxydants, qui ont la capacité de neutraliser ou de minimiser les effets nocifs dans l'organisme. Cela aide à maintenir des niveaux non toxiques d'ERO au niveau cellulaire. Plusieurs types de mécanismes de défense

antioxydante peuvent être distingués, qu'ils soient enzymatiques ou non enzymatiques, endogènes ou exogènes (Amie et *al.*, 2007).

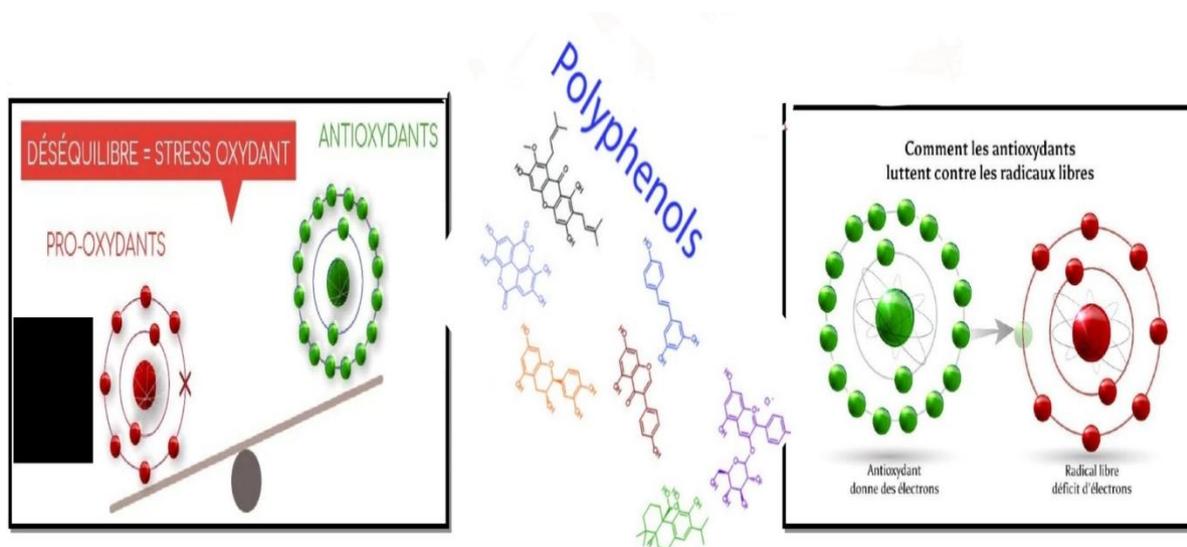


Figure 06 : Activité antioxydante des polyphénols (Mohammed Habib Belhachemi, 2021).

I-3-2 Effet antibactérien

Les extraits de ces plantes produisent des composés plus efficaces contre les agents pathogènes que les drogues de synthèse et sont bien tolérés par l'organisme (Külcü et *al.*, 2019).

Les polyphénols (par exemple les flavonoïdes, les tanins, etc.) sont connus pour leurs effets toxiques sur les micro-organismes. Cette toxicité est attribuée à la capacité d'inhibition des enzymes hydrolytiques telles que les protéases et les carbohydrases, ainsi qu'à d'autres interactions qui désactivent les adhérences microbiennes, les protéines de transport et les enveloppes cellulaires (Wu et *al.*, 2013).

Des études en laboratoire sur les flavonoïdes ont révélé l'existence de composés antibactériens potentiellement efficaces contre les micro-organismes. L'effet bactéricide des flavanones sur l'ADN gyrase de *Staphylococcus aureus* a été rapporté. Le cycle B des flavonoïdes intercalés avec des acides nucléiques inhibe la synthèse bactérienne d'ADN et d'ARN, et inhibe également l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (Wu et *al.*, 2013).

I-3-3 Autres effets biologiques

I-3-3-1 Effet anti-cancéreux

Les flavonoïdes agissent pour inhiber et neutraliser l'activité des p-glycoprotéines associées à la résistance phénotypique des cellules cancéreuses (Jodoin et *al.*, 2002). Certains ont montré

des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon (Duthie et *al.*, 2000).

I-3-3-2 Effet antiallergique

Cet effet se manifeste par la production d'histamine sous l'influence de la présence de flavonoïdes. En effet, ils inhibent les enzymes AMP cycliques phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺, responsables de la libération d'histamine par les mastocytes et les basophiles (Di Carlo et *al.*, 1999).

II- Plantes médicinales

II-1 Généralités

Les plantes médicinales sont utilisées comme médicaments pour traiter les maladies humaines depuis l'Antiquité. Malgré les grands progrès de la science et de la médecine moderne au cours des dernières décennies, ces plantes continuent d'apporter d'importantes contributions à l'amélioration de la santé humaine, en particulier dans les pays en développement (Lehman, 2013).

En effet, les plantes ont le potentiel de traiter de nombreuses maladies chez l'homme et l'animal grâce à leur grande variété de composés phytochimiques. Ils fournissent une source prometteuse de médicaments. De nombreuses parties des plantes, y compris l'écorce, les feuilles, les fleurs, les racines, les fruits et les graines, peuvent contenir des composés phytochimiques d'intérêt thérapeutique. Ces composés actifs peuvent être extraits des plantes par macération, décoction, infusion et autres techniques traditionnelles (Da et *al.*, 2015 ; Dongock et *al.*, 2018).

II-2 *Persea americana*

II-2-1 Description botanique

Persea Americana Mill, également connu sous le nom d'avocatier, est un arbre de la famille des Lauraceae. Originaire du Mexique, il pousse dans les climats tropicaux à subtropicaux. La hauteur de l'arbre peut atteindre 20 mètres. C'est un arbre ramifié de taille moyenne, cultivé pour ses fruits délicieux et nutritifs. Le fruit est une drupe à peau verte à noire contenant de gros noyaux (Perez Alvarez, 2015).



Figure 07 : Arbre de *Persea americana* (Perez Alvarez, 2015).

Les feuilles d'avocat sont vertes et coriaces, et les fleurs sont également vertes et ouvertes au début de la saison des pluies. Les organes mâles et femelles ne mûrissent pas sur le même arbre en même temps, donc au moins deux doivent être à proximité pour porter des fruits (Figure 08 et 09) (Aman et al., 2011).



Figure 08 : Feuilles et les fleurs de *P.americana* A : feuilles, B : fleurs. (Aman et al., 2011)



Figure 09 : Fruits d'avocado, (Gabriela Spencer, 2018)

II-2-1-1 Classification de la plante

Les recherches visant à déterminer l'origine de l'avocatier ont été compliquées en raison des incertitudes liées à l'identification des espèces de *Persea*, notamment en raison des travaux effectués par POPENOE dans les années 1930.

Les experts en taxonomie s'accordent désormais sur une classification commune (Tableau 02). Au niveau de l'ordre, certains botanistes s'accordent à dire que le genre *Persea* appartient à l'ordre Magnolia, tandis que d'autres le considèrent comme appartenant à l'ordre Rana. La majorité pense qu'il existe deux variétés cultivées, *Persea americana* et *Persea Nubigena*.

Tableau 02 : Taxonomie de *Persea americana* (Yasir et al.,2010)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Laurales
Famille	Lauraceae
Genre	<i>Persea</i>
Espèce	<i>americana</i>

II-2-2 Répartition géographique

L'avocat est originaire d'Amérique centrale et du sud du Mexique. On sait que le fruit est originaire du centre du Mexique et atteint l'Amérique centrale via le Guatemala. L'avocat s'est répandu dans le sud-est des États-Unis, les Antilles et une grande partie de l'Amérique du Sud (Colombie, Venezuela, Brésil, Équateur, Pérou, Bolivie, Chili).

L'avocat est classé en trois variétés botaniques, et la maturité et la teneur en huile du fruit diffèrent selon la variété. Indien (WI), *Persan Americana* Mill. Var. *Americana* (*P. gratissima* Gaertn.) est une plante tropicale à gros fruits de formes variées et à faible teneur en huile. Mexique (MX), *P Americana* Mill, Virginia *Drymifolia* Break (*P. drymifolia* bud et Cham.), semi-tropicale, caractérisée par de petits fruits oblongs, huileux et à peau fine. Guatemala (G), *P. nubigena* var. *guatemalensis* L. Wms., d'origine subtropicale, avec des fruits ronds à peau épaisse et une teneur modérée en huile (Yahia, 2011).

II-2-3 Activités biologiques

II-2-3-1 Activité antioxydante

L'avocat (*Persea americana*) est un fruit bien connu qui contient des composés hautement bioactifs (Araújo et al., 2018, Migliore et al., 2018). En raison de leurs bienfaits pour la santé, ils sont riches en vitamines, protéines, graisses insaturées, minéraux et fibres. La peau d'avocat est riche en composés naturels tels que les triterpènes, les phytostérols et les polyphénols connus pour leurs effets antioxydants. Il a été démontré que la peau d'avocat a d'excellents effets antioxydants (Danxia Shi et al., 2023).

L'extrait d'avocat joue également un rôle dans le traitement de nombreuses maladies non transmissibles. Ces bienfaits médicaux sont attribués à sa richesse en composés phénoliques et aux dans la pulpe d'avocat et ses sous-produits (AlJuhaimi et al., 2021).

II-2-3-2 Activité antibactérienne

Les plantes sont utilisées comme remèdes contre diverses maladies infectieuses qui affectent à la fois les humains et les animaux. Ces plantes peuvent fournir une nouvelle source d'agents antimicrobiens (George et al., 2008).

L'effet antibactérienne de l'extrait de *Persea americana* est attribué à divers constituants phytochimiques à savoir les terpénoïdes, les huiles essentielles, les alcaloïdes, les lectines, les polypeptides, les phénoliques (phénols simples, acides phénoliques, quinones, flavones, flavonols et flavonoïdes, tannins, coumarines). L'action antibactérienne de ces

extraits est due à une combinaison d'effets, notamment l'adsorption des polyphénols sur la membrane des bactéries, ce qui provoque la destruction de la membrane et la libération ultérieure du contenu cellulaire (Cardoso et al., 2016).

Les feuilles, les tiges, les fruits et la peau de l'avocat ont une activité biologique scientifiquement prouvée. Des études ont montré que l'extrait d'écorce d'avocat a une excellente activité antibactérienne contre de nombreuses bactéries (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) (Danxia Shi et al., 2023). Les bactéries Gram-négatives sont beaucoup plus résistantes aux agents antimicrobiens que les bactéries Gram-positives. En effet, les bactéries Gram-négatives ont une membrane externe censée fournir une protection supplémentaire (Rodríguez-Carpena et al., 2011).

II-2-3-3 Autres activités

II-2-3-3-1 Activité anti-inflammatoire

La plupart des études réalisées sur l'avocatier se sont concentrées sur la pulpe et les feuilles (Athaydes et al., 2018). Il a été démontré que les extraits aqueux de feuilles de *P. americana* réduisent significativement l'œdème et montrent des effets anti-inflammatoires intéressants (Kumar et al., 2017).

II-2-3-3-2 Activité antidiabétique

Selon l'American Dietetic Association (ADA), *P. americana* peut être considérée comme un aliment bénéfique qui contribue de manière significative à la santé humaine. *P. americana* contient des huiles comestibles précieuses. La faible teneur en sucre du fruit en fait un élément essentiel du régime alimentaire des personnes atteintes de diabète (Figure 10) (Maha et al., 2019).

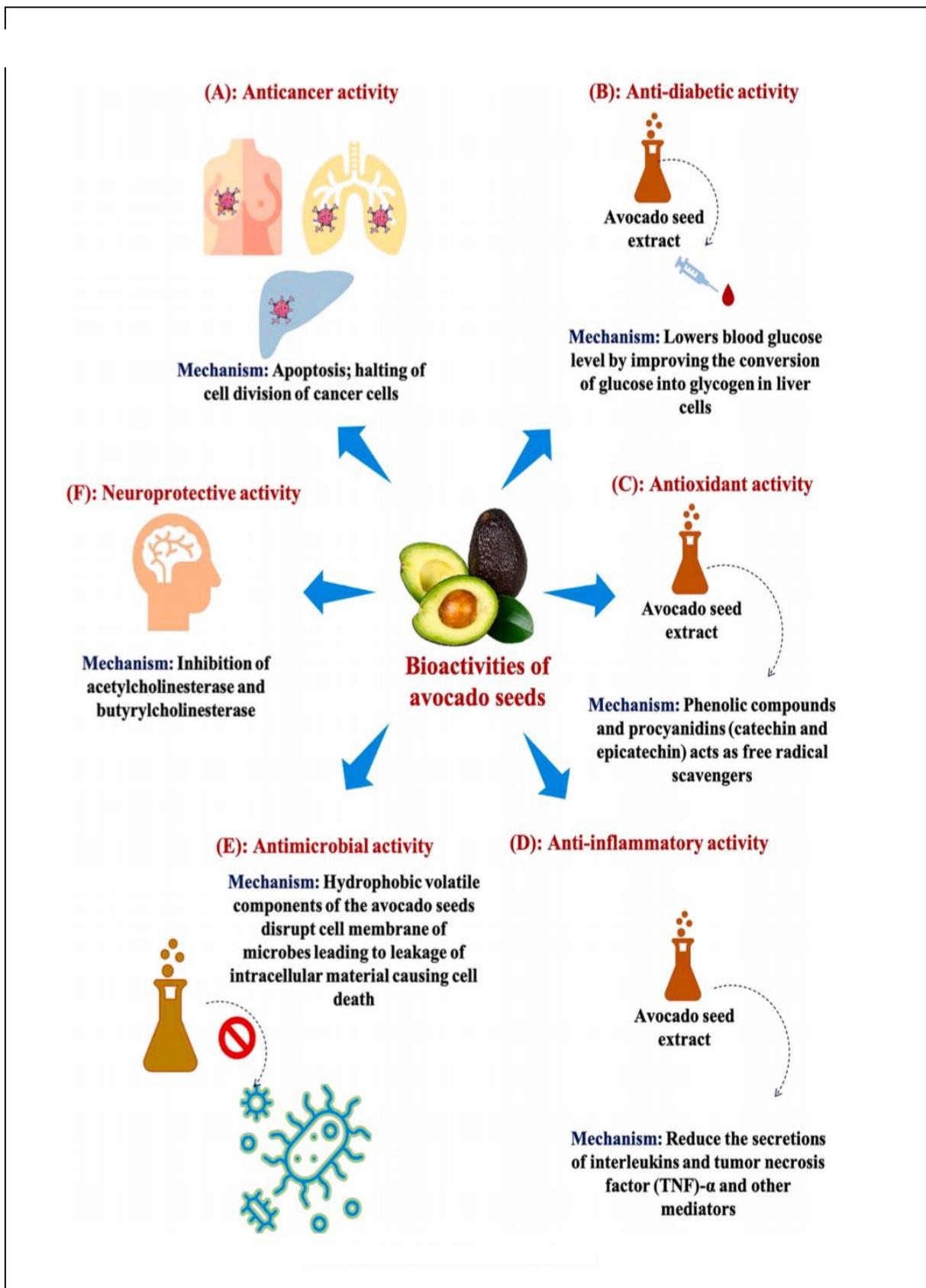


Figure 10 : Activités biologiques de *Persea americana* (Sneh Punia Bangar, 2022)

II-2-4 Usage traditionnel

Les avocats sont traditionnellement utilisés à diverses fins, allant des applications médicinales aux applications culinaires, dermo-cosmétiques et autres (Kosińska et *al.*, 2012). En médecine traditionnelle, les avocats sont également utilisés comme hypotenseurs, hypoglycémisants et antiviraux et sont appliqués pour le traitement des ulcères, des maladies cardiaques et dermatologiques (Raharjo et *al.*, 2008). Les avocats sont promus comme aliments anti-âge, en raison de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Chrysohoou et Stefanadis, 2013).

II-3 *Urtica dioica*

II-3-1 Description botanique

L'ortie est une plante herbacée vivace vigoureuse dont la taille peut atteindre plus d'un mètre. Les feuilles d'*Urtica dioica* sont de couleur vert foncé (riches en chlorophylle), alternes par paires ou opposées, ovales à lancéolées, cordées et effilées, simples et charnues, aux marges irrégulièrement dentelées. Les cellules épidermiques des feuilles contiennent des corps calcifiés appelés kystes (Mor, 2014, Botineau, 2010).

Le tronc d'*Urtica dioica* est droit, fort, non ramifié et de section carrée. Il peut atteindre une hauteur de 1,5 mètre et est couvert de poils hérissés (Botineau, 2010). Les ruches sont situées dans l'épiderme mature (tiges et feuilles) et sont orientées vers les bords de la plante. Ils sont rigides, coniques et ont des parois riches en silice (Botineau, 2010). Les fleurs sont petites, unisexuées, verdâtres, disposées en touffes retombantes à partir de l'aisselle des feuilles. Le fruit d'*Urtica dioica* L. est constitué d'akènes aplatis, ovales, jaune-brun (Figure 11) (Candais, 2019). L'ortie a de longs rhizomes qui leur permettent de former des colonies, ce qui les rend très envahissantes (Mor, 2014).

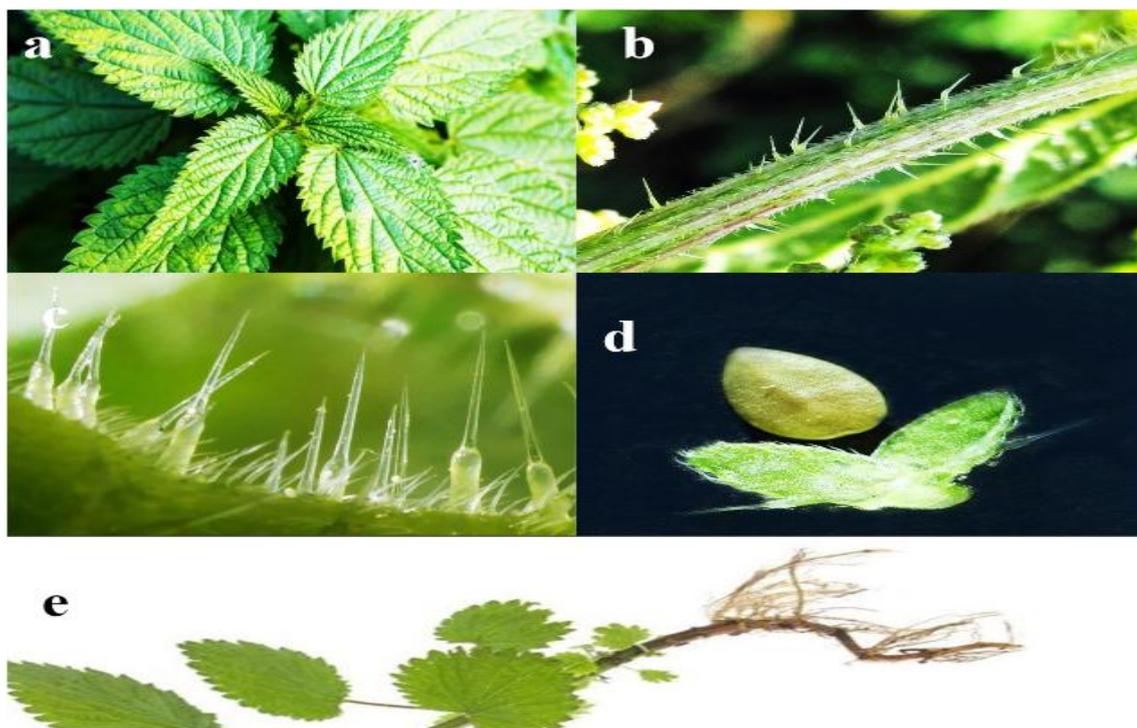


Figure 11 : Les différentes parties d'*Urtica dioica*

a : Feuilles, b : Tige, c : Poils urticants, d : Fruit, e : Racines. (Bergot, 2019)

II-3-1-1 Classification de la plante

Le nom latin de l'ortie est *Urtica dioica* L. l'ortie est appelée *Urtica* en latin, un mot dérivé du verbe *urere*, qui signifie « brûler ». Le nom d'espèce *dioica* est *dioïque* en français et fait référence aux plantes avec des fleurs mâles et femelles sur des pattes séparées. *Urtica dioica* a plusieurs noms (Langlade, 2010).

- Nom latin : *Urtica dioica* L.
- Nom vernaculaire arabe : Horaïg, Bent en nar, Bou zegdouf.
- Nom Kabyle : Rimezrit, Azekdouf, Harrous.
- Appellation française : Ortie.
- Appellation anglaise : Nettle.

Urtica dioica appartient à la famille des *Urticaceae*, avec environ 50 genres et près de 700 espèces réparties dans le monde. (Delahey, 2015). Les principales espèces du genre *Urtica* sont *Urtica dioica* et *Urtica urens*. (Ortie ou "petite ortie"), *Urtica pilulifera*. (Ortie romaine ou

"ortie" et ortie cannabina. Les positions des espèces font référence au système de classification (Cronquist et Takhtajan) résumé dans le (Tableau 03) (Ghedira et *al.*, 2009).

Tableau 03 : Classification du genre *Urtica dioica* (Ghedira et *al.*, 2009).

Règne	Plantae (plantes)
Sous-règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement	Magnoliophyta (phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (dicotyledones)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Urticales
Famille	<i>Urticaceae</i>
Genre	<i>Urtica</i>
Espèce	<i>dioica</i>

II-3-2 Répartition géographique

L'ortie est originaire d'Eurasie et s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. Elle est plus commune en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du Nord et en Asie, et est largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud (Maouel et Mahfouf, 2016). L'ortie est une plante annuelle se produit dans les sols riches en azote des sols argileux, sableux, calcaires et caillouteux (Maluel et Mahfu, 2016).

II-3-3 Propriétés biologiques

II-3-3-1 Activité antioxydante

Le stress oxydatif est défini comme une perturbation de l'équilibre entre les mécanismes de défense des radicaux libres et des antioxydants (Rock, 2003). Les radicaux libres sont des composés chimiques, tels qu'atome ou une molécule, qui possède un ou plusieurs électrons

libres dans sa couche de valence. Cette propriété les rend très réactifs et instables (Rock, 2003). Les radicaux libres ont tendance à remplir les orbitales atomiques en volant des électrons aux molécules environnantes pour atteindre la stabilité.

Les feuilles d'*Urtica dioica* L. ont des propriétés antioxydantes dues à la présence des flavonoïdes qui ont la capacité de piéger les radicaux libres (DPPH et Fe²⁺) grâce à leurs groupements hydroxyles (Gülcin et al, 2004). Le pouvoir antioxydant d'*Urtica dioica* est attribué à sa capacité à chélater les métaux et à piéger le peroxyde d'hydrogène, le superoxyde et les radicaux libres (Cetinus et al., 2005).

II-3-3-2 Activité antibactérienne

Les propriétés antibactériennes d'*U.dioica* ont déjà été mentionnées dans diverses études (Téles et al., 2019). L'extrait éthanolique d'ortie présente une activité antibactérienne importante contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Dans des études menées sur neuf bactéries (*Citrobacter coseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*), des extraits éthanoliques de parties aériennes ont montré une inhibition de la croissance de ces bactéries (Gulcin et al., 2004).

II-3-3-3 Autres activités

II-3-3-3-1 Activité antiinflammatoire

Des études scientifiques ont montré que l'ortie a la capacité de réduire la réponse inflammatoire via de multiples mécanismes d'action, entraînant une diminution de la synthèse des médiateurs lipidiques et des cytokines pro-inflammatoires (Roschek et al. 2009). La partie polysaccharidique de l'extrait de l'ortie a un effet inhibiteur sur l'œdème.

II-3-3-3-2 Activité antidiabétique

Une étude menée pour évaluer l'activité antidiabétique in vivo a démontré l'effet hypoglycémiant d'un extrait aqueux de feuilles d'ortie chez des rats diabétiques. Ce résultat peut s'expliquer par une inhibition de la captation intestinale du glucose (Bnouham et al., 2003).

II-3-4 Usage traditionnel

L'*Urtica dioica* L. est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la goutte et l'arthrite, et comme agent efficace pour prévenir et guérir les infections buccales, la stomatite, la gingivite, les maux de gorge et l'angine (Warren, 2006).

L'ortie est également appréciée pour son action anti-inflammatoire due à sa richesse en minéraux, notamment la silice, et son action cicatrisante sur les brûlures. Cette plante est un traitement efficace pour les personnes sujettes à l'athérosclérose, aux problèmes rénaux et même aux œdèmes cardiaques légers. Elle est également recommandée pour les carences minérales, la léthargie (anémie) et les problèmes pulmonaires. En raison de sa forte teneur en sels minéraux et en vitamines A et C (acné et psoriasis), il peut également être utilisé contre les maladies de la peau (Warren, 2006).

Chapitre II :

matériels et

méthodes

Matériels et méthodes

L'objectif de ce travail a été l'évaluation des activités antibactérienne et antioxydante des extraits hydroéthanolique des parties aériennes de deux plantes médicinales cultivées en Algérie : *Persea americana* et *Urtica dioica*.

Les premières parties expérimentales concernant la préparation des extraits des deux plantes (*P. americana* et *Urtica dioica*) et l'étude de l'activité antioxydante, se sont déroulées au niveau du laboratoire de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'université Akli Mohand Oulhadj-Bouira.

Cependant, afin de finaliser notre travail et réaliser la partie qui traite de l'étude de l'activité antibactérienne, un stage pratique au niveau du laboratoire d'analyses médicales Sayah (Bouira) a été réalisé.

I Matériel

I.1. Matériel non biologique

- Papier Wattman N°4
- Spatule
- Agitateur (VELP SCIENTIFICA)
- Autoclave
- Balance analytique (OHAUS)
- Bec benzène
- Bécher
- Broyeur électrique (Russell)
- Entonnoir.
- Erlenmeyer
- Etuve (BINDER)
- Microscope (OPTIKA ITALY)
- Pince
- Réfrigérateurs (IRIS)

- Vortex (VELP SCIENTIFICA)

I-2 Matériel végétal

Les parties aériennes de *Persea americana* (feuilles) et d'*Urtica dioica* (feuilles et tiges) ont été récoltées le mois de février 2023 dans les régions d'Alger et de Bouira, respectivement. Les plantes collectées ont été nettoyées à l'eau de robinet afin d'éliminer les impuretés puis séchées pendant 15 jours à l'abri des rayons solaires afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules bioactives (Figure 12).



Figure 12 : Feuilles de *P. americana* (A) et *U. dioica* (B)

I-3 Souches bactériennes

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits, cinq souches bactériennes dont trois bactéries Gram négatives (*Escherichia coli* ATCC 87306, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) et deux bactéries Gram positives (*Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus*) ont été utilisées.

II Méthodes

II-1 Détermination du taux d'humidité

La détermination du taux d'humidité relative de la matière végétale après séchage a été réalisée selon la formule suivante (Makhloof, 2010) :

$$H\% = [(P_0 - P) / P_0] \times 100$$

H% : Taux d'humidité en pourcentage.

P₀ : Représente le poids initial de l'échantillon (avant séchage).

P : Représente le poids sec de l'échantillon (après séchage).

II-2 Préparation des extraits

II-2-1 Broyage et tamisage

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir des poudres très fines. Une fois broyées, les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis ayant un diamètre des pores inférieur à 100 µm. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, bien hermétique et à l'abri de la lumière.

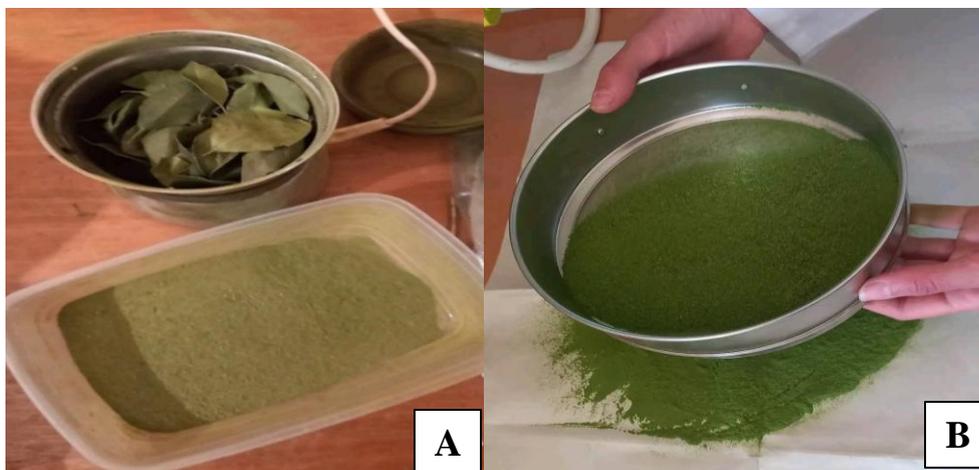


Figure 13 : Broyage et tamisage de *P.americana* et *U. dioica*

II-2-2 Extraction hydro-éthanolique

Dans le but de réaliser l'extraction, une quantité de 10 g de poudre de chacune des deux plantes a été homogénéisée avec 200ml d'éthanol à 80%. Les mélanges ainsi obtenus sont soumis à une agitation, à l'aide d'un agitateur magnétique pendant une heure, suivie d'une étape de macération pendant 36 h (Lahmar et *al.*,2017). Après macération, les extraits obtenus ont été filtrés à l'aide de papier Wattman N°4, puis séchés à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les extraits secs ainsi récupérés ont été conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation pour les différents tests.

II-3 Détermination du rendement

Le rendement d'extraction a été déterminé par rapport au poids de l'extrait végétal sec (en g) par la différence entre le poids du flacon (après évaporation) et le poids du flacon vide. Le calcul du rendement est réalisé selon la formule ci-dessous et les résultats sont exprimés en pourcentages (Falleh et *al.*, 2008).

$$\text{Rendement (\%)} = [P1 - P2 / P3] \times 100$$

P1 : Poids du flacon après séchage.

P2 : Poids du flacon avant séchage (flacon vide).

P3 : Poids de la matière végétale sèche initial.

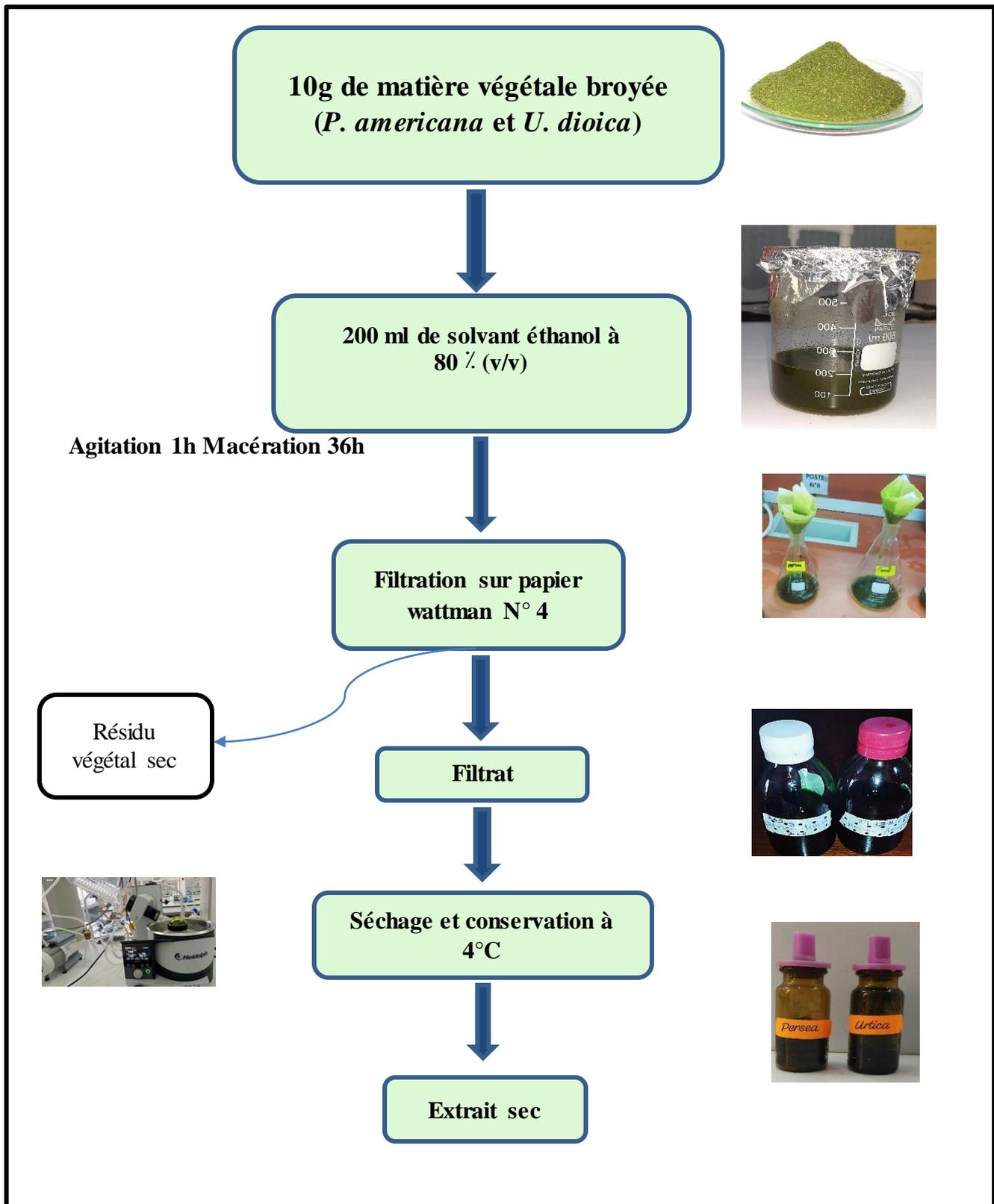


Figure 14 : Schéma illustrant les étapes de l'extraction hydro-éthanolique de *P. americana* et *U. dioica*

II-4 Evaluation de l'activité antioxydante

Pour étudier l'activité anti radicalaire de nos extraits, nous avons choisi la méthode qui utilise le DPPH (1, 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) comme radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par (Dieudonné et *al.*, 2009).

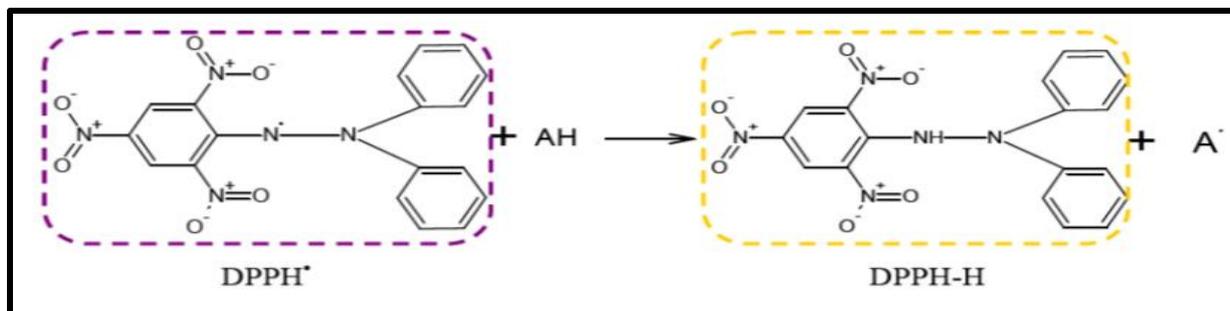


Figure 15 : Mécanisme de réaction entre l'espèce radicalaire DPPH et les antioxydants dans le test DPPH (MICHEL, 2011)

Pour réaliser l'analyse, 1,8 ml d'une solution éthanolique de DPPH (0,004 %) sont ajoutés à 200 µl de l'extrait à différentes concentrations (5 à 0,07 mg/ml). Le mélange est agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes (Figure 19). La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517nm par un spectrophotomètre. Un contrôle positif représenté par une solution d'acide ascorbique a été préparé dans les mêmes conditions opératoires. Toutes les opérations sont réalisées en duplicata. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage selon l'équation suivante :

$$PI = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

A₀ : absorbance DPPH.

A₁ : absorbance d'échantillon.

Le pourcentage d'inhibition est représenté par les valeurs IC₅₀ déterminées graphiquement. IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour obtenir 50 % de la forme réduite des radicaux DPPH.

II-5 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés à l'aide spectrophotomètre par la méthode de Folin Ciocalteu, selon le protocole appliqué par Wong et al, (2006) avec certaines modifications.

Un volume de 200 µl de l'extrait éthanolique dilué (0,5 mg/ml) a été additionné à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué à 1/10). Le mélange est incubé pendant 5 minutes à température ambiante. Par la suite, 800 µl de la solution aqueuse de carbonate de sodium (7,5%) ont été ajoutés. Après 30 minutes d'incubation l'absorbance a été mesurée à 765 nm contre un blanc (Figure 16).

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

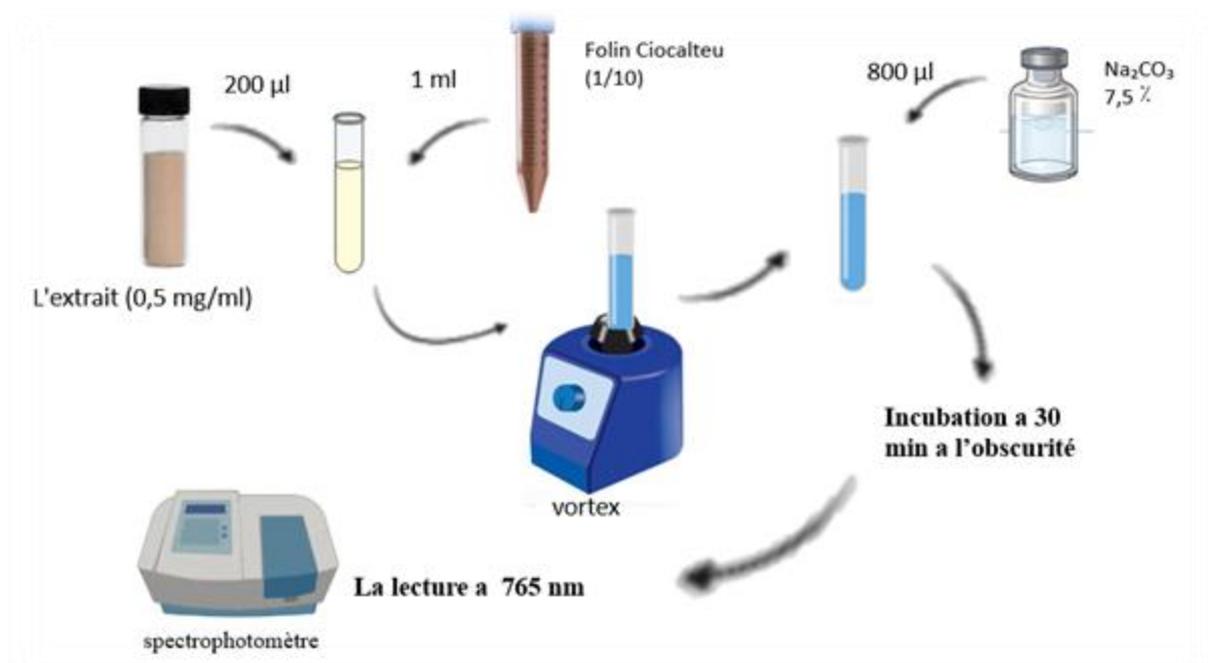


Figure 16 : Schéma illustrant le dosage des composés phénoliques

II-6 Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de cinq souches bactériennes sont : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebseilla pneumonie*.

II-6-1 Examen morphologique des souches

Une observation des aspects morphologiques des souches bactériennes a été effectuée en se basant sur l'observation macroscopique (couleur, aspect, texture...) sur différents milieux de culture et microscopique après réalisation de la coloration de Gram (voir annexe). Cette étape nous permet de vérifier la pureté des isolats et la présence d'éventuelles contaminations microbiennes.

II-6-2 Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes ont étéensemencées sur la gélose nutritive puis incubées à 37 °C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. A l'aide d'une anse de platine, on racle quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes, puis on décharge l'anse dans 10 ml de l'eau physiologique pour obtenir la suspension bactérienne.

Cette dernière est homogénéisée. Une lecture de la densité optique (DO) d'inoculum a été réalisée par un spectrophotomètre à 625 nm. Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO entre (0,08-0,10) (CASFM, 2018).

II-6-3 Réalisation des tests antibactériens

II-6-3-1 Méthode de disques

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et aux extraits alcooliques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide (CASFM, 2018). Le milieu solide est représenté par le milieu de gélose nutritif. Les antibiotiques utilisés comme témoins positif sont : Chloramphénicol et Amoxicilline.

Le principe de cette technique consiste à déposer des disques de papiers buvard imprégnés des extraits à tester (antibiotiques et extraits) à la surface du milieu de culture préalablementensemencé avec les suspensions bactériennes. Chaque disque est fixé sur la gélose avec une pince flambée (Figure 18).

Dans le cas des extraits, un volume de 20 µl à différentes concentrations a été déposé délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile, le DMSO a été utilisé comme témoins négatif.

Les boîtes de Pétri sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paillasse pour permettre la diffusion de l'extrait dans la gélose, puis incubées à 37 ° C pendant 24 heures (eucast, 2020). Après incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition autour des disques (Figure 19).

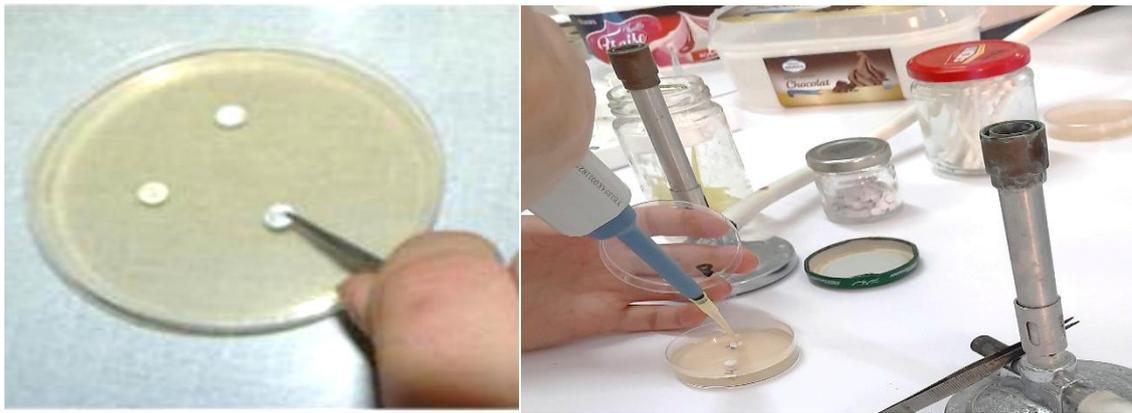


Figure 17 : Diffusion en milieu solide (méthode des disques)

Chapitre III :

résultats et

discussion

Résultats et discussion

III-1 Taux d'humidité

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans les plantes que nous avons étudiées. Il s'agit de la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve (Otlés et *al.*, 2012).

Comme la plupart des végétaux, notre plante contient de l'eau. Les résultats du test d'humidité montrent que les parties aériennes des espèces étudiées possèdent des taux moyens d'humidité de 77,65% pour *Urtica dioica* et 70,3% pour *Persea americana* sachant que le pourcentage en matière sèche (MS) s'est révélé moins important estimé à 22,35% ($\pm 3,18$) pour l'*Urtica dioica* et 29,6% ($\pm 3,39$) pour *Persea americana* (Figure 19).

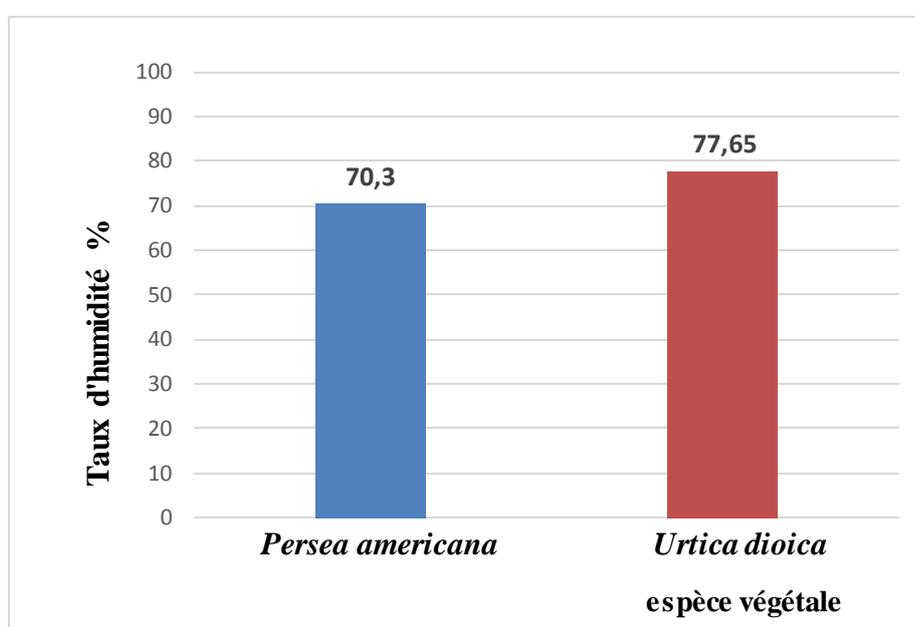


Figure 18 : Taux d'humidité des espèces d'*Urtica dioica* et de *Persea americana*

Les résultats obtenus confirment la richesse des plantes étudiées en eau, en effet, le poids de l'eau dépasse la moitié de la masse de la plante.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par (Otlés et *al.*, 2012) ; indiquant une valeur de 77,75% pour *U.dioica*. De même, les travaux de Guil-Guerrero et *al* ; 2003 réalisés sur *P.américana*, ont indiqués un taux d'humidité de 72,8% ($\pm 5,1$), ce qui coïncident avec nos observations.

La valeur de taux d'humidité pour l'*Urtica dioica* ; était assez élevée (76,6%), mais était également inférieures aux valeurs habituellement trouvées dans d'autres feuilles vertes de

légumes, comme les feuilles de la betterave (90%) ou les épinards (91%) (Guil-Guerrero et al., 2003).

Les échantillons qui ont été utilisés dans notre étude, sont des échantillons frais ce qui pourraient expliquer les résultats élevés en teneur d'eau. En outre, les variations de la teneur en eau peut être attribuée à plusieurs facteurs, comme, l'espèce végétale, la maturation, la période de récolte et aux caractéristiques pédoclimatiques (Oties et al., 2012, Andualem et al., 2015).

III-2 Rendement d'extraction

Dans notre travail, l'extraction des composés phénoliques de *P.américana* et *U.dioica* a été réalisé par l'utilisation d'un solvant polaire (éthanol : eau). Cette étape a permis d'obtenir un extrait sec d'un aspect pâteux de couleur verte pour les deux plantes après séchage.

On a remarqué au cours de notre étude une variabilité dans les rendements en extraits secs qui semble être liée à la nature de l'espèce végétale. En effet, les rendements les plus importants ont été enregistrés chez *Persea americana* 17,91%, suivis l'*Urtica dioica* à 8.63% (Figure 20).

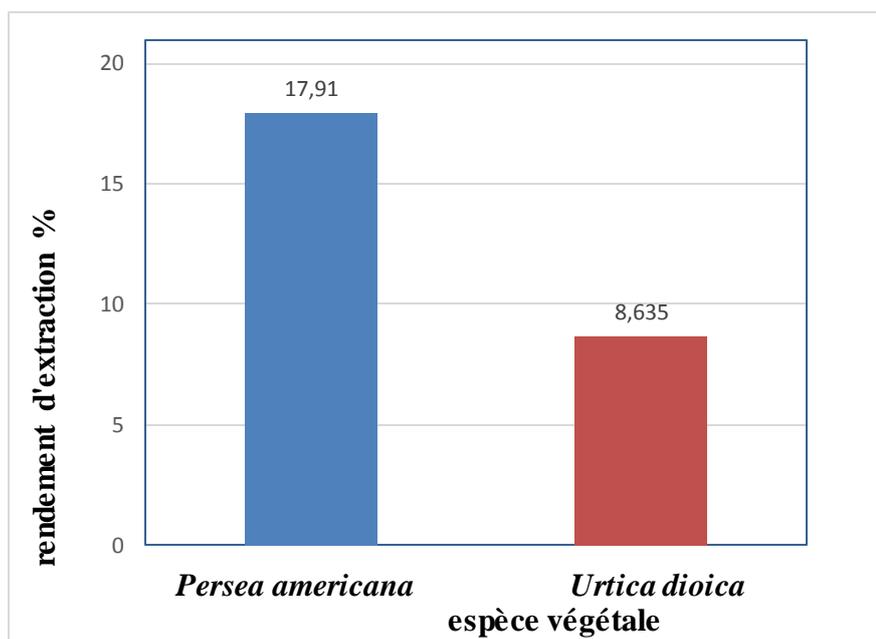


Figure 19 : Rendement d'extraction de d'*Urtica dioica* et *Persea americana*.

D'après nos résultats, on remarque que le rendement d'extraction chez *P.americana* est nettement plus élevé par rapport à celui d'*U.dioica*. Ce qui indique une forte teneur pour *P.américana* en molécules bioactives (métabolites secondaires) par rapport aux *U.dioica*. Nos résultats sont proches de ceux de (Mesina, 2014, bougar, 2016), où le taux de rendement des extraits éthanoliques (l'éthanol, 96%) de *P.americana* était de 20% et 16% pour l'*U.dioica*.

Pour le rendement des extraits, les deux plantes n'ont pas le même rendement. Cette variation peut être attribuée d'une part aux facteurs extrinsèques de la plante et d'autre part à l'espèce végétale et/ou à l'organe considérée. En effet, (Svoboda et Hampson, 2006) et Smallfield, 2001) rapportent que les conditions environnementales, la période de récolte et l'âge du matériel végétal peuvent influencer sur les rendements d'extraction. De plus, les espèces végétales n'ont pas toutes le même potentiel ; certaines familles botaniques offrant des rendements plus élevés que d'autres.

III-3 Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de *P.americana* et *U.dioica* a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par la déviation de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm. La méthode du DPPH est employée couramment pour déterminer l'activité antioxydante des composés phénoliques purifiés ainsi que des extraits de plantes naturels (Fukumoto et Mazza, 2000).

Dans cette étude l'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibition I%) sont représentés dans la (Figure 22). L'intensité du pouvoir antioxydant a été évaluée après calcul des valeurs EC 50.

L'activité anti-radicalaire de nos extraits augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits. Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité antiradicalaire, révèlent que tous les extraits testés sont dotés d'un pouvoir antioxydant (Figure 23 et 24).

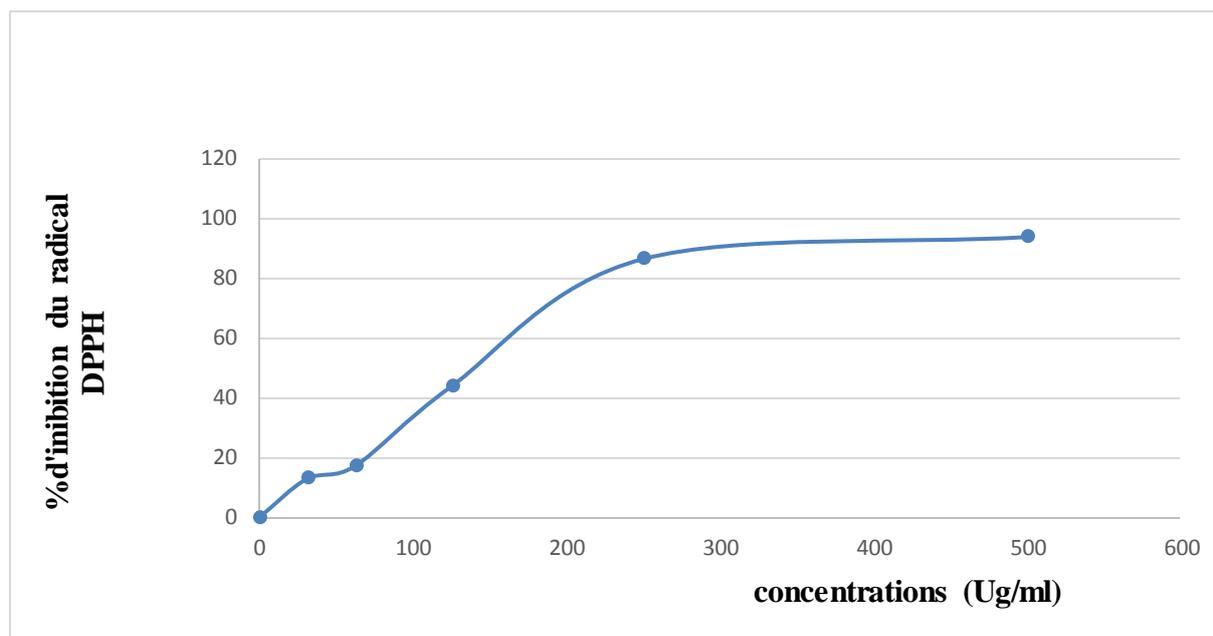


Figure 20 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

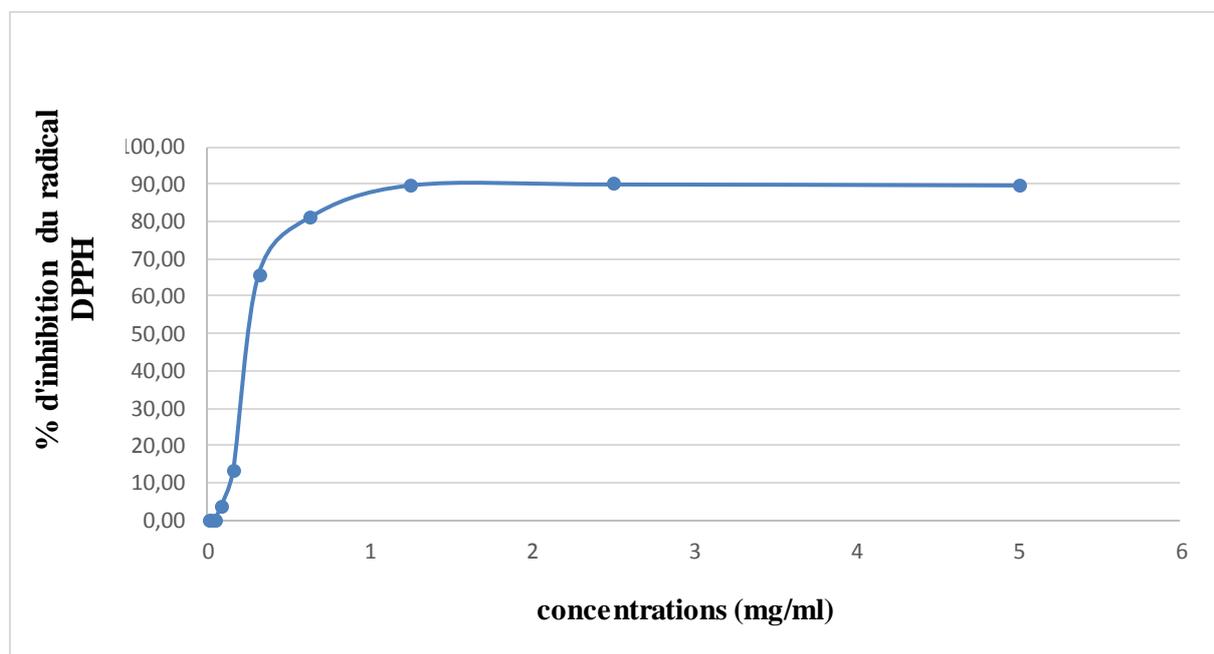


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de *P.americana*

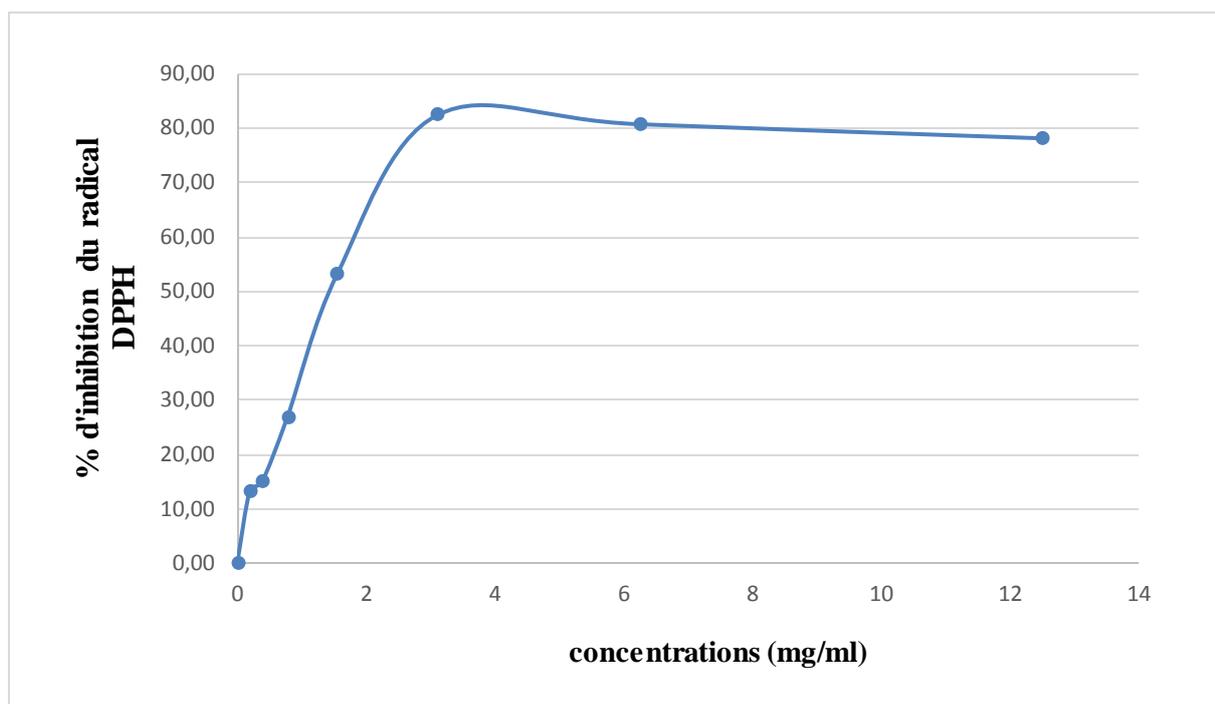


Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'*U. dioica*.

Les pourcentages d'inhibition anti-radicalaires les plus élevés ont été obtenus avec l'extrait de *Persea americana* atteignant une valeur de (89,67)%, suivie par l'*U. dioica* (82,47 %). Les résultats indiquent que les plantes étudiées possèdent un excellent pouvoir de piègeur du radical DPPH. En effet, de nombreux auteurs ont montré que les extraits d'*U. dioica* ont un rôle neutralisant des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Kataki et *al.*, 2012 , Khare et *al.*, 2012 , Pourmorad et *al.*, 2006).

Au cours de notre étude, l'intensité de l'activité antioxydante a été estimée par la concentration efficace (CE50), qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH (Tableau 05). Les valeurs d'EC50 sont obtenues à partir de la courbe de régression linéaire entre la concentration de l'extrait et la densité optique correspondante.

D'après les résultats qui représentent les valeurs EC50 de nos extraits éthanolique, nous remarquons que le pouvoir réducteur le plus élevé est celui de *P. americana* suivie de celui d'*Urtica dioica*. Toutefois, malgré l'existence d'un pouvoir antioxydant dans les extraits étudiés, les valeurs obtenues restent faibles en comparant à l'acide ascorbique avec une valeur de 0,14 mg/ml.

Tableau 05 : Valeurs EC50 des différents extraits éthanoliques et de l'acide ascorbique

Echantillon testé	EC 50 mg/ml
Acide ascorbique	0,14
<i>Urtica dioica</i>	1,46
<i>Persea Americana</i>	0,26

Ces résultats sont confirmés par d'autres études (Bruda et Oleszek., 2001). L'étude de (Ilhami et *al.*, 2003) sur l'extrait d'*Urtica dioica* et *Persea americana* a montré que toute augmentation de la concentration de l'extrait conduit à l'augmentation de la capacité de réduction du DPPH, Ce résultat concorde avec le nôtre.

III-4 Teneurs en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits éthanolique d'*Urtica dioica* L et *Persea americana* a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Figure 25).

La teneur en polyphénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 26). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique par g de poids sec de la matière végétale (mg EAG/g extrait) (Tableaux 06).

Le taux des polyphénols des extrait de *P.americana* et *U.dioica* a été évalué par un dosage spectrophotométrique qui s'accompagne par la déviation de la couleur jaune à la couleur verte.

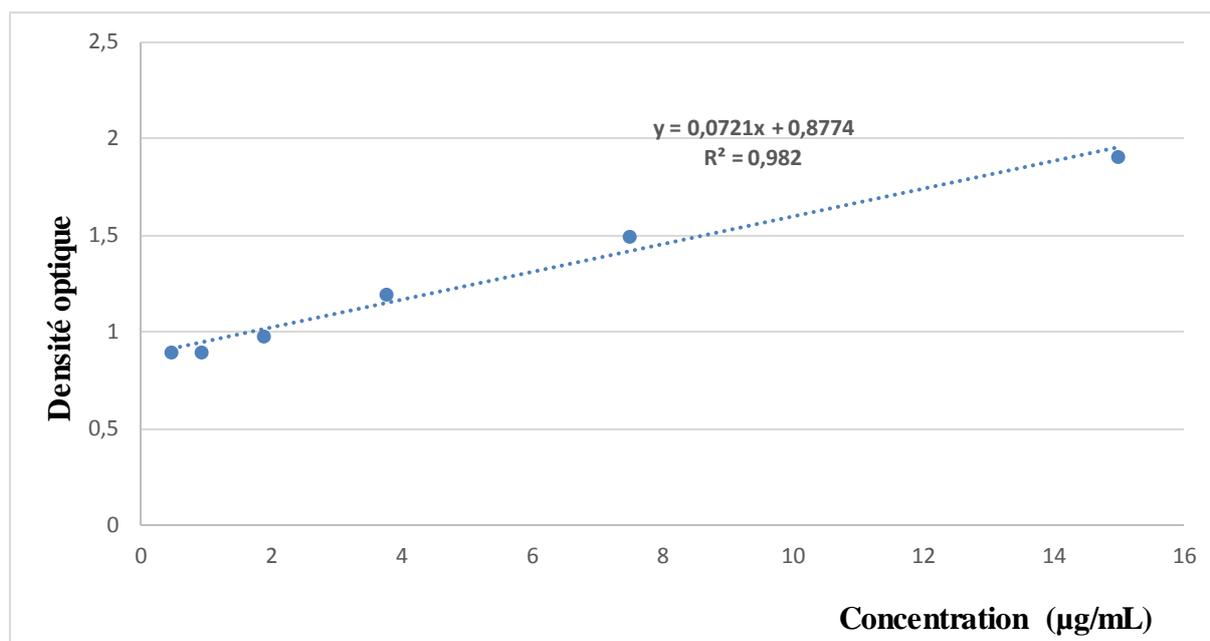


Figure 23 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 06 : Résultats du dosage des polyphénols totaux dans les extraits hydro-éthanolique de *Persea americana* et *Urtica dioica* L.

Extrait	Concentration des polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)
<i>Persea americana</i>	$12,9 \pm 0,88$
<i>Urtica dioica</i>	$2,2 \pm 0,5$

Les résultats obtenus montrent des teneurs en polyphénols totaux de $2,2 \pm 0,5$ et $12,9 \pm 0,88$ mg EAG/g d'extrait dans les extraits éthanolique d'*Urtica dioica* L et *Persea americana* respectivement. Le taux de polyphénol le plus élevé a été détecté pour l'extrait de *P.americana* ($12,9 \pm 0,88$) (Tableau 06).

On constate que notre résultat de teneur en polyphénols totaux trouvé est similaire à celui donné par (Pinelli et al., 2008) pour les feuilles de *Urtica dioica* L. ($2,58$ mg EAG/g).

Les composés phénoliques se trouvent dans le monde naturel, en particulier dans le règne végétal, et leurs diverses fonctions biologiques ont été prouvées, y compris l'activité anti oxydantes. De nombreuses études ont révélé que les facteurs environnementaux, climatiques

ou géographiques ainsi que les techniques d'extraction peuvent influencer de manière significative la qualité et la quantité de composés phénoliques présents dans *Urtica dioica* et *P.americana* (Kukrić et al., 2012).

Selon les rapports récents, une relation très positive entre les phénols totaux et l'activité antioxydante a été trouvée dans de nombreuses espèces végétales. En plus, il a été signalé que la présence des composés phénoliques étaient associés à une activité antioxydante importante (Gülçin et al., 2004). Ces observations expliquent le pouvoir antioxydant élevé de *P.americana* enregistré dans cette étude en comparaison avec celui d'*Urtica dioica*.

III-5 Evaluation de l'activité antibactérienne

III-5-1 Identification des bactéries

III-5-1-1 Etude macroscopique

L'aspect macroscopique des cinq souches bactériennes testées (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) est présenté dans le Tableau 7.

Tableau 07 : Aspect macroscopique des souches bactériennes

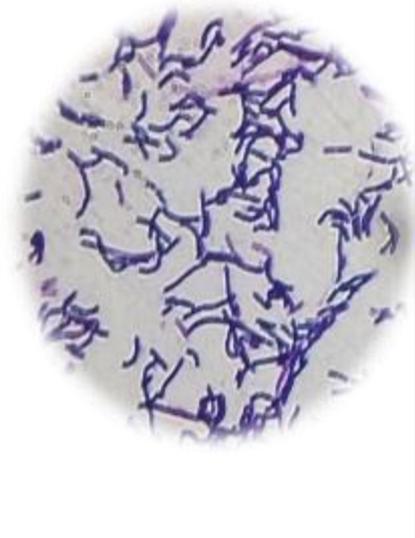
Bactérie	Milieu de culture	Description	Aspect macroscopique	
			Face	Revers
<i>Escherichia coli</i>	Eosin Methylene Blue	Les colonies : <ul style="list-style-type: none"> • 1-3mm de diamètre • Plates et sèches • Opaque • Verte • Bien ronde avec un point ombiliqué au centre 		
<i>Bacillus cereus</i>	Gélose nutritive	Les colonies : <ul style="list-style-type: none"> • Régulière • Beige • Bombé • Muqueuse • Opaque • 2-3 mm de diamètre 		

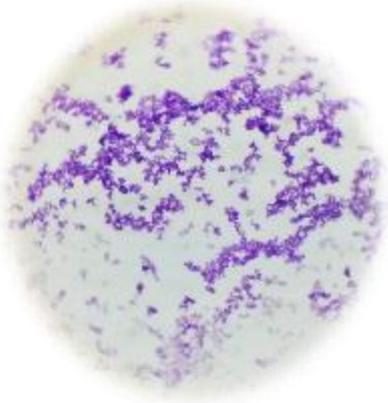
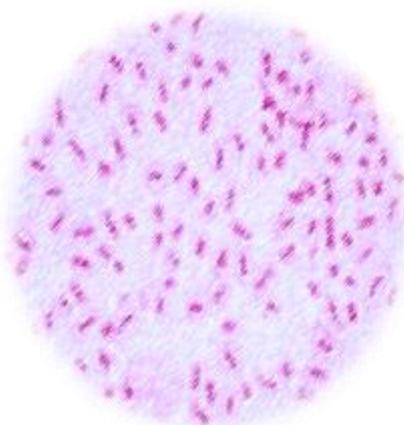
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Chapman</p>	<p>Les colonies :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1-2 mm de diamètre • Lisse • Bombées • Opaques • Jaune dorées 		
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>King A et B</p>	<p>Les colonies :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2-5 mm de diamètre • Plates • Contour irrégulier • Fleurissante sans UV 		
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	<p>MacConkey</p>	<p>Les colonies :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Grosses • Convexe de couleur rosé • Parfois muqueuse • Tendance à confluenter 		

III-5-1-2 Etude microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des 05 souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*). Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 8.

Tableau 08 : Aspect microscopique des souches bactériennes observées au grossissement $\times 100$

Bactérie	Etat frais	Coloration de gram	Aspect macroscopique et grossissement
<i>Escherichia coli</i>	La souche d' <i>Escherichia coli</i> apparaît comme des bacilles polymorphes lorsqu'elle est observée au microscope optique, et elle est mobile	Gram negative.	
<i>Bacillus cereus</i>	L'observation au microscope optique montre que la souche de <i>Bacillus cereus</i> est mobile sous forme de bacilles	Gram positive.	

<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>L'observation au microscope optique montre que la souche de <i>staphylococcus aureus</i> est immobile sous forme de cocci</p>	<p>Gram positive.</p>	
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>L'observation au microscope optique montre que <i>Pseudomonas aeruginosa</i> est mobile sous forme des bacilles.</p>	<p>Gram negative.</p>	
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	<p>L'observation au microscope optique montre que la souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> est immobile sous forme des bacilles</p>	<p>Gram negative.</p>	

III-5-2 Etude de la sensibilité bactérienne (antibiogramme)

Après un contact d'au minimum 16h entre la bactérie, l'antibiotique et les disques sur un milieu nutritif, on mesure s'il y a eu ou non une croissance bactérienne. Le DMSO est utilisé comme témoin négatif.

L'étude porte sur l'observation des résultats de l'activité antibactérienne des 05 souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*). (Figure 27)

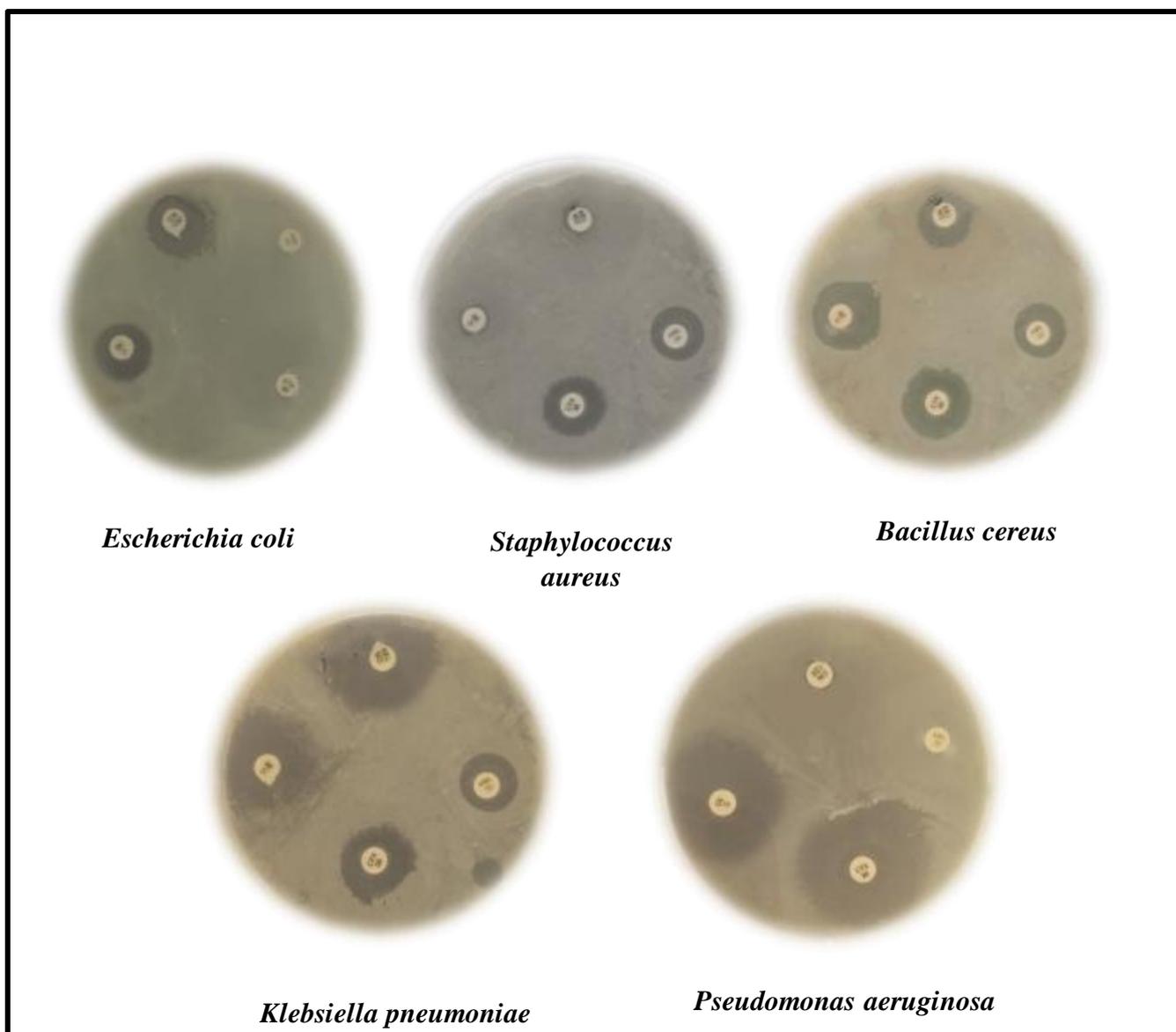


Figure 24 : Résultats de la méthode des antibiotiques.

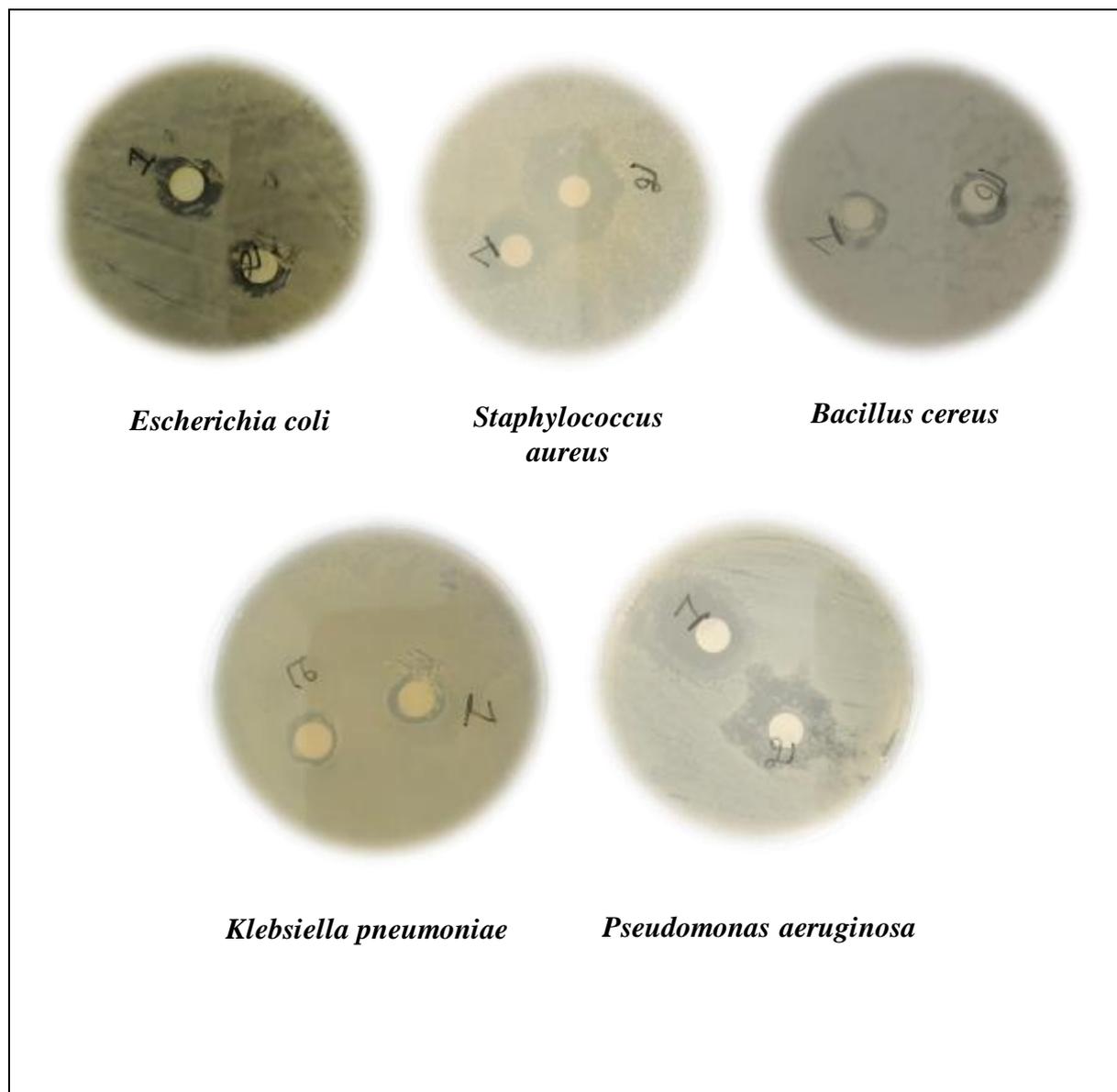


Figure 25 : Résultats de la méthode des disques des extraits éthanoliques d'*Urtica dioica* et *Persea americana* ; 1 : *Persea* et 2 : *Urtica*

Le tableau suivant présente les diamètres des zones d'inhibition en millimètre des souches bactériennes de l'activité antibactérienne (méthodes des disques antibiotique et méthode des disques vides) (Tableau 09).

Tableau 09 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées.

L'antibiotique Bactérie	Antibiotique		Extrait	
	AML	C	<i>Urtica dioica</i>	<i>Persea americana</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 ± 0	11 ± 0	9,66 ± 0,88	12,33 ± 1,11
<i>Escherichia Coli</i>	0 ± 0	10 ± 0	7,66 ± 1,11	11,33 ± 0,44
<i>Bacillus cereus</i>	7 ± 0	12 ± 0	8,33 ± 1,11	10,66 ± 1,11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 ± 0	13 ± 0	7,33 ± 1,11	9 ± 0,66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 ± 0	14 ± 0	7 ± 0,66	8 ± 0,667

AML : Amoxicilline.

C : Chloramphénicol

D'après les résultats de tableau 9 et la figure 28, Il apparaît que l'extrait d'*U.dioica* et *P.americana* semble avoir une action inhibitrice légère sur la croissance du *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. (Le diamètre de la zone d'inhibition compris entre 07 et 13 mm), Ces bactéries ont montré un grand potentiel de résistance contre l'action antibactérienne de l'ensemble des extraits d'*Urtica dioica* et *Persea americana*.

Selon (Ouattara et al., 2013) un extrait est considéré actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10mm. Cela indique clairement l'efficacité des extraits ethanologique d'*Urtica dioica* et *Persea americana* contre toutes les bactéries pathogènes à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* (Figure 28).

Ces différences entre les résultats des études précédemment rapportées dans la littérature pourraient également être liées à de nombreux paramètres à savoir :

- Le milieu de culture.
- La taille de l'inoculum.
- pharmacocinétique des extraits.
- L'état physiologique de la bactérie au sein du foyer infectieux.
- La technique d'ensemencement.
- La concentration en extraits utilisée.
- La nature du matériel d'extraction (risque d'oxydation).
- Les conditions de conservation, de stockage et de transport.
- Le procédé et les conditions d'extraction.
- La diffusion des extraits à travers la gélose.
- Influence des facteurs physiologiques ou pathologiques sur la
- Émergence d'une résistance au cours du traitement (1).

Pour les antibiotiques testés l'amoxicilline et le chloramphénicol ont des effets inhibiteur sur les cinq souches, on a fait 02 essais de chaque antibiotique à savoir : *Staphylococcus aureus* (0mm) pour l'amoxicilline et (11mm) pour chloramphénicol, *Escherichia coli* (0mm) pour l'amoxicilline et (10mm) pour chloramphénicol, *Bacillus cereus aureus* (7mm) pour l'amoxicilline et (12mm) pour chloramphénicol, *Pseudomonas aeruginosa* (8mm) pour l'amoxicilline et (13mm) pour chloramphénicol et *Klebsiella pneumoniae* (0mm) pour l'amoxicilline et (14mm) pour chloramphénicol. Donc l'amoxicilline n'est pas actif contre l'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* (Figure 27) (Tableau 9).

Les résultats montre que les diamètres d'inhibitions des antibiotiques est sont plus proches à celle diamètres d'inhibitions des disques vides qui contient les extrait éthanolique des *P.americana* et *U.dioica*. Cela signifier que nos extrais sont très efficaces et excellent pour l'action inhibitrice sur les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*

Conclusion

Les ressources naturelles du règne végétal continuent d'être la source fiable et essentielle pour la création de nouveaux traitements. Les extraits des plantes médicinales sont connus pour leurs propriétés thérapeutiques et présentent des propriétés biologiques non négligeables. Le présent travail vise à évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits hydro-éthanoliques obtenus à partir des parties aériennes de *Persea americana* et d'*Urtica dioica*.

Le rendement en extrait sec éthanoliques des feuilles de *Persea americana* (17,91 %) est légèrement supérieur à celui des feuilles d'*Urtica dioica* (8,63 %). La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en polyphénols totaux par méthode au réactif de Folin Ciocalteu. Les résultats obtenus nous ont révélés que les feuilles de *P. Americana* et *U.dioica* étaient riches en polyphénols totaux avec des teneurs de $12,9 \pm 0,88$ mg EAG/g d'extrait et $2,2 \pm 0,5$ mg EC/g d'extrait sec, respectivement.

Le pouvoir antioxydant a été confirmé par la méthode du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). L'extrait *Persea americana* a présenté une activité plus élevée par rapport à l'extrait d'*Urtica dioica L* qui possèdent un IC 50 de 0.26 mg/ml et 1,45 mg/ml Respectivement.

Le pouvoir antibactérien des extraits bruts obtenus de la plante *P.americana* et *U.dioica* ont été déterminé par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé. L'extrait de *Persea* est le plus efficace, il révèle un effet remarquable sur l'ensemble des souches testées à différentes concentrations. L'extrait de *Persea et Urtica exercent* une activité antibactérienne contre toutes les souches à Gram (-) testées (*Escherichia coli*, *Klebseilla pneumeunia*, *Pseudomonas aeruginosa*) et les souches de Gram (+) (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*).

Enfin, nos résultats indiquent que les extraits étudiés montrent des bonnes activités antibactériennes et antioxydants. Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies.

En perspectives il serait intéressant de compléter ce travail par :

- Entreprendre d'autres travaux sur d'autres principes actifs de la plantes (huiles essentielles, alcaloïdes...),
- Approfondir l'étude chimique et réaliser des analyses chromatographiques pour l'identification des constituants des extraits de ces plantes,

- Evaluer l'activité antibactérienne sur d'autres bactéries résistantes.
- Prévoir une étude toxicologique du macéré afin d'améliorer l'usage en thérapie Humaine

Références bibliographiques

- Al-Juhaimi, F., Uslu, N., Özcan, M. M., Babiker, E. E., Ghafoor, K., Ahmed, I. M., Et al. (2021). Effects of drying process on oil quality, the bioactive properties And phytochemical characteristics of avocado (Fuerte) fruits harvested at two different maturity stages. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(4), e15368.10.1111/jfpp.15368.
- Amann C, Amann G, al. (2011). *Plantes de Mayotte. Naturalistes de Mayotte. Le fruit est une baie, composée d'une seule grosse graine.*
- Amie, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D. et al (2007). SAR and QSAR of the antioxidant activity of flavonoids. *Current Medicinal Chemistry*, 14827-845.
- Antibacterial activity of avocado extracts (*Persea americana* Mill.) against streptococcus agalactiae. *Phyton* 2016, 85, 218–224
- Araújo, R. G., Rodriguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 51–60.
- Athaydes. B R, Alves. G M, Aricia Leone Evangelista Monteiro de Assis, Gomes. J. V. D, Rodrigues. R. P, Campagnaro. B. P, Nogueira. B. V, Silveira. D, Machado Kuster. R, (2018). Thiago de melo costa pereira, Rezende kitagawa. R, Rita de cassia ribeiro goncalves. Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International*. Doi:10.1016/j.foodres.2018.10.057
- Bergot ch. (2019). Intérêt thérapeutique des racines d’*Urtica dioica* dans le traitement de l’hypertrophie bénigne de la prostate. *Science pharmaceutique*. Dumas-02888710.
- Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. TEC and DOC Lavoisier, Paris.
- Boudet A. M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic Compounds, *Phytochemistry*. 68 (22-24). 2722-2735.
- Candais, C. (2019). *Le retour à la nature avec la cueillette de plantes sauvages alimentaires bienfaits ou dangers : étude bibliographique [thèse de doctorat en pharmacie Université de Nantes]*.
- Cardoso, P. F., Scarpassa, J. A., Pretto-Giordano, L.G., Otaguiri, E. S., Yamada-Ogatta, S.F., Nakazato, G., Perugini, M.R.E., Moreira, I.C., Vilas-Boâs, G.T. (2016).

Références bibliographiques

- CASFM/EUCAST. (2018). Détermination de la sensibilité aux antibiotiques. Société Française de Microbiologie, siège social - Institut Pasteur Paris (vol. 2), p.7-15.
- Cetinus E., Kilinc M., Inanc F., Kurutas E.B., & Buzkan N. (2005). « The Role of *Urtica Dioica* (urticaceae) in the Prevention of Oxidative Stress Caused by Tourniquet Application in Rats ». *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 205 (3): 215-221.
- Chikhi I. (2013). Composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- Chrysohoou, C., et Stefanadis, C. (2013). Longévité et alimentation. Mythe ou pragmatisme? *Maturités*, 76(4): 303-307.
- Da O, Coulibaly MT, Ouédraogo J, Yaro B, Yerbanga R, Kini F, Koama B, Dakuyo Z, Nikiema J, Ouédraogo G. (2015). Phytochemical screening of Saye, a traditional herbal remedy for malaria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(6): 2940-2946. DOI: 10.4314/ijbcs.v9i6.33
- Danxia Shi, Wenliang Xu, Marie Wong, David G. Popoplus. (2023). Rapid identification of main antibacterial components from New Zealand 'Hass' avocado peel
Delahaye, J., 2015 Utilisations de l'ortie- *Urtica dioica* L. ?????
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. (1999). *Rev. Life Sciences.*, 65, 337-53
- Dongock DN, Bonyo AL, Mapongmestem PM, Bayegone E. (2018). Etude ethnobotanique et phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1): 203-216. DOI: 10.4314/ijbcs.v12i1.16
- Draghi F. (2005) L'ORTIE DIOIQUE (*Urtica dioica* L.) : Etude bibliographique : Université Henri Poincaré Nancy 1 / Faculté de Pharmacie
- Dudonné, Sp., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., Mérillon, J-M., (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5):1768-1774
- Dupont, F., Guignard, J. L. (2007). *Abrégés Botanique Systématique Moléculaire*. 14ème Ed., Masson, Paris ; Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest du Sud-Ouest Algérien.

Références bibliographiques

- Duthie, G. G., Duthie, S. J., Kyle, J. A. M. (2000). Nutrition Research Reviews, 13, 79-106.
- Eloff J.N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of Antimicrobial components from plants? Journal of Ethno-pharmacology, 60 : 1-8.
- Eucast (2020) ; EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 8.0
- George, A. C., Cutler, R. R., Humber, D. P. (2008). Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. Journal of Ethnopharmacology, 116(1), 102–111.
- Ghedira.K. GP, Le Jeune.R. (2009) *Urtica dioica* L., *Urtica urens* et/ou hybrides (*Urticaceae*). *Phytothérapie* 7: 279–285.
- Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu ME.(2004)Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol*; 90:205-15.
- Gulcin I., Kufrevioglu O., Oktay M., Buyukokuroglu M (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica*. L). *Journal Ethnopharmacol*, 90, 205-215.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ ., Oktay, M., & Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L). *Journal of ethnopharmacology*, 90(2-3), 205-215.
- H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba and C. Abdelly. Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. Organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.* Vol. 331. (2008). Pp. 372-379.
- Hassani FV, Shirani K, Hosseinzadeh H. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) (2007). as a Potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2016;389:931–49.
- Hennebelle, T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de la lamiles productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (*Lamiacées*) et *Lippia alba* (*Verbenacées*). Thèse de doctorat-France, 304.
- Hernández-Navarro, M. D. et Osorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., Garduño-Siciliano, L., Álvarez, V. B (2012). Antihyperlipidemic effect of methanolic extract

Références bibliographiques

- from *Opuntia ficus joconostle* seeds in mice fed a hypercholesterolemic diet. *Plant foods hum nutr.* 67: 365-370.
- Jodoin, J., Demeule, M., Béliveau, R. (2002). *Journal of Biochemistry and Biophysical. Acta*, 1542, 149-159
 - Jutte R, Heinrich M, Helmstadter A, Langhorst J, Meng G. (2017). Herbal medicine Product-evidence and tradition from a historical perspective. *Jeethnopharmacol.*;207:220–5.
 - Kataki.MS, M.V., Rajkumari.A, Mehra.PS, Awasthi.D, Yadav.RS (2012)Antioxidant, Hepatoprotective, and Anthelmintic Activities of Methanol Extract of *Urtica dioica* L. Leaves. *Pharmaceutical Crops*, Volume 3.
 - Khadem, S., & Marles, R. J. (2010). Monocyclic phenolic acids; hydroxy- and polyhydroxybenzoic acids: occurrence and recent bioactivity studies. *Molecules*, 15(11), 7985-8005.
 - Khare.V, K.P., Verma.S, Gupta.A, Srivastava.S, Singh Rawat.AK,(2012) Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. *Chinese Medicine*.
 - Kumar, A., kumarchandra, R., rai, R., sanjeev, G. (2017). Anticlastogenic, radiation antagonistic, and anti-inflammatory activities of *Persea americana* in albino Wistar rat model. 2017. *Journal List Res Pharm Sci*, 12(6), 488.
 - Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F. & Belghith, K. (2017). Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa*. *LbioMed Research International*, 9, 1-9.
 - Langlade V. (2010) L'Ortie dioïque, *Urtica dioica* L., étude bibliographique en 2010: Université de NANTES / Faculté de Pharmacie.
 - Langlade, V. (2010). L'ortie dioïque, *Urtica dioica* L. : étude bibliographique [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes].
 - Laoufi, R. (2017). Caractérisation physico-chimique et biologique des extraits d'une plante médicinale algérienne de la famille d'Urticaceae en vue d'une application biotechnologique. Thèse de doctorat, biochimie-Immunologie, Université M'hamed bouguera de Boumerdès, Algérie, 184.
 - Lee TH, Tsai YF, Huang TT, Chen PC, Liang WL, (2012) Lee CK. Heptadecanols From the leaves of *Persea Americana* Mill. Var. *Am Food Chem.*;132:921–4.

Références bibliographiques

- Lehmann H. (2013). Le médicament à base de plantes en Europe: statut, enregistrement, contrôles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Université de Strasbourg,
- Liu, R.H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of nutrition*, 134, 3479–3485.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-allemant, C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, 1er Edition, Presses polytechniques et universitaires romandes (Italie), 192.
- Maha I. Alkhalaf , Wafa S. Alansari , Eman Ahmed Ibrahim , Manal E.A. ELhalwagy. (2019) Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of avocado(*Persea americana*) fruit and seed extract *Journal of King Saud University – Science* 31 1358–1362
- Maouel, S. and F. Mahfouf, (2016). Les métabolites primaires et secondaires à activité biologique d'*Urtica dioica* (la grande ortie) et contrôle de qualité de quelques produits alimentaires commercialisés, Université Mouloud Mammeri.
- Mattenheimer H. (2004). Urinary enzyme measurements in the diagnosis of renal disorders. *Ann Clin Lab Sci*;11(3):189–201.
- Mesina, R. V. (2014). Method for the extraction of furandervative compounds from seed of Hass avocado (*Persea americana* Mill) at low temperature and their use as repellents and miticides against *tetranychusurticae*, *tetranychus cinnabarinus*, *oligonychus yothersi*, *panonychus citri*, and *brevipalpus chilensis*. Instituto d'Investigaciones Agropecuarias (INLA), Santiago (CL), 14/310,297
- Michel T. (2011).- Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse doctorat Université Orléans
- Migliore, G., Farina, V., Guccione, G. D., & Schifani, G. (2018). Quality determinants of Avocado fruit consumption in Italy. Implications for small farms. *Calitatea*, 19(163),148–153.
- Mohammed Habib Belhachemi, (2021). Conference: 3ème édition des Journées Scientifiques sur l'Agro-alimentaire (JAGRO 2021)At: Saad DAHLAB University of Blida- Algeria

Références bibliographiques

- Mor, A., Koh, E., Weiner, L., Rosenwasser, S., Sibony-Benyamini, H., & Fluhr, R. (2014). Singlet oxygen signatures are detected independent of light or chloroplasts in response to multiple stresses. *Plant Physiology*, 165(1), 249-261.
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R. et Krishna, D.R. (2001). Bioflavonoids, classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacologie*, 33: 2-16.
- Narel YP, Rainer WB, Carolina R. *Persea americana* Mill. Lauraceae. In:Paniagua-Zambrana N, Bussmann R, editors (2020). *Ethnobotany of the Andes.ethnobotany of Mountain Regions*. Cham: Springer;. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77093-2_225-1.
- Nkhili, E-Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre. Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat. Université Cadi Ayyad -Faculté des Sciences Semlalia –Marrakech.
- Oliveira AP, Franco Ede S, Rodrigues BR, Cordeiro DP, de Melo RG, de Aquino CM, Maia MB. (2013) .Effect of semisolid formulation of *Persea americana* Mill (avocado) oil on wound healing in rats. *Evid Based Complement alternat Med*. <https://doi.org/10.1155/2013/472382>.
- Othman, L., Sleiman, A., & Abdel-Massih, R. M. (2019). Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. *Frontiers in microbiology*, 10, 911.
- Ouattara, K., Doumbia, I., Touré, A., Djaman, A. J., & Coulibaly, A. (2013).Activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Morinda morindoides* (*Morinda*,*Rubiaceae*) sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. *Phytothérapie*, 11(3), 172–177.[Doi:10.1007/s10298-013-0780-z](https://doi.org/10.1007/s10298-013-0780-z)
- Pérez Álvarez, S., Ávila Quezada, G., Coto Arbelo, O. (2015). Review Avocado (*Persea americana* Mill). *Cultivos Tropicales*, 36(2), 111–123. <http://doi.org/10.13140/RG.2.2.19879.55200>
- Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N.(2006)Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 5:1142-5.
- Raharjo, SHT, Witjaksono, NFN, Gomez-Lim, MA, Padilla G., Litz, RE (2008). Récupération d'avocat (*Persea americana* Mill.) plantes transformées avec le gène de

Références bibliographiques

- la défensine végétale antifongique PDF1.2. *Biologie Cellulaire & Développement InVitro – Végétale*, 44(4): 254-262
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635. Doi: 10.1021/jf1048832
 - S Otles, B Yalcin - *The Scientific World Journal*, (2012)- Phenolic compounds analysis of root, stalk, and leaves of nettle.
 - Smallfield B., (2001). .Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research* (45). PP: 1-4.
 - Sneh Punia Bangar, Kyle Dunno, Sanju Bala Dhull, Anil Kumar Siroha , Sushil Changan ,Sajid Maqsood , Alexandru Vasile Rusu. (2022= Avocado seed discoveries: Chemical composition, biological properties, and industrial food applications
 - Svoboda K.P., Hampson J.B., (1999).Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK.
 - Swanson, B.G. (2003). Tannins and polyphenols, in: Caballero, B. (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second edition, Academic Press, Oxford, pp. 5729-5733.
 - Tabeshpour, J., Razavi, BM et Hosseinzadeh, H. (2017). Les effets de avocat (*Persea americana*) sur le syndrome métabolique : une revue systématique complète. *Recherche en phytothérapie* . 31(6): 819-837.
 - Tehami, W. (2017). Caractérisation phytochimique et évaluation du potentiel, Antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de *Salvia argentea*. Université de djillali liabes de Sidi- Bel-Abbès
 - Toubal, S. (2018). Caractérisation de la relation chémotypes del’Ortie-bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur *Culex* sp. [Thèse de doctorat en Ecologie des Systèmes Vectoriels. Université M’hamed Bougara-Boumerdas].
 - Warren, P. (2006). In 101 Utilisation d’ortie. Disponible sur <http://www.intelligenceverte.org/101-utilisations-ortie.asp>.

Références bibliographiques

- Wei Li et al. (2023) Journal of Future Foods 3-4 289-305.
- Wu YH, Tseng CK, Wu HC. (2019). Avocado (*Persea americana*) fruit extract (2R,4R)-1,2,4 trihydroxyheptadec-16-yne inhibits dengue virus replication via upregulation of NF- κ B-dependent induction of antiviral interferon responses. Sci Rep.;9:423. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36714-4>.
- Wu, T., Zang, X., He, M., Pan, S. et Xu, X. (2013). Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase. Journal of food chemistry, 61(34): 8185-8190.
- Yahia.M, (2011). Autonomous University of Queretaro, Mexico and A. B. Woolf, The New Zealand Institute for Plant & Food Research, New Zealand.
- Yasir, M., das, S., kharya, M. D. (2010). The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana* Mill. Vol 4 (7).
- Yea SJ, Kim BY, Kim C, Yi MY. (2017). A framework for the targeted selection of herbs with similar efficacy by exploiting drug repositioning technique and curated biomedical knowledge. J Ethnopharmacol.;208:117–28. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.06.048>.
- (1) Cour microbiologie clinique. Antibiogramme. Chapitre l'antibiogramme. Disponiblesur:<https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/microbio/2017/Coursmicrobiologiecliniquechapitrelantibiogramme.pdf>

I. Produits chimiques et réactifs

- Acide ascorbique
- Acide gallique
- Alcool
- Bicarbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Disques d'antibiotiques
- DMSO (Diméthylesulfoxyde)
- DPPH (1, 1-diphényl-2-picryl-hydrazyl)
- Eau distillée stérile
- Eau physiologie stérile
- Folin Ciocalteu
- Fuschine
- Huile d'immersion
- Lugol
- Violet de gentiane

II. Milieux de culture

Le milieu de culture est défini comme un support permettant la croissance de différents types de micro-organismes comme les bactéries, les levures, de moisissures.

Au cours de notre travail, les différents milieux de culture utilisés sont les suivants :

- **Gélose nutritive** : la gélose nutritive a servi pour le repiquage des souches bactériennes et la réalisation des antibiogrammes.
- **Bouillon nutritif** : ce milieu a été utilisé pour la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) des souches bactériennes.
- **MacConkey** : utilisé pour la mise en culture d'*Escherichia coli*.
- **King A / King B** : la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.
- **Milieu Chapman** : c'est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement, le dénombrement et la différenciation des *Staphylococcus*. Ce milieu est caractérisé par une forte teneur en chlorure de sodium, ce qui inhibe la croissance de la plupart des bactéries.
- **Le bleu de méthylène éosine** : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

V Coloration de Gram

La coloration de Gram a été mise au point en 1884 par le bactériologiste Danois Hans Christian Gram. L'une des méthodes de coloration les plus utiles est cette méthode qui permet de diviser les bactéries en deux grands groupes : les bactéries gram-positives et les bactéries gram-négatives. (Tortora et al., 2003).

Cet examen a été effectué selon la méthode classique suivante : les frottis utilisés sont étalés à l'aide d'une anse de platine sur des lames en verre propre. Ensuite, les lames sont séchées à l'air près d'un bec Bunsen, puis elles sont fixées par la chaleur en les passant deux ou trois fois dans la flamme. Les frottis préparés sont colorés au violet de gentiane, un colorant basique pendant une minute. Ensuite, ils sont rapidement rincés par l'eau, puis en ajoute lugol (1 min) qui agit comme un mordant et augmente les interactions entre le colorant et la cellule pour que cette dernière soit contrastée. Les frottis sont ensuite décolorés par un lavage avec l'éthanol (30 secondes). Juste après, un lavage à l'eau du robinet arrête rapidement la décoloration.

Dans la dernière étape, les frottis sont soumis à une contre-coloration de 1 min à la Fuch sine. Après un bref rinçage, les frottis sont séchés par le papier buvard et Examinés par microscope jusqu'à l'objectif à immersion (grossissement X100) (Camille, 2007).

La couleur violette due au violet de gentiane est l'aspect caractéristique des bactéries à coloration Gram positive, les bactéries Gram négative se colorent en rose par la fuch sine (Tortora et al., 2003)

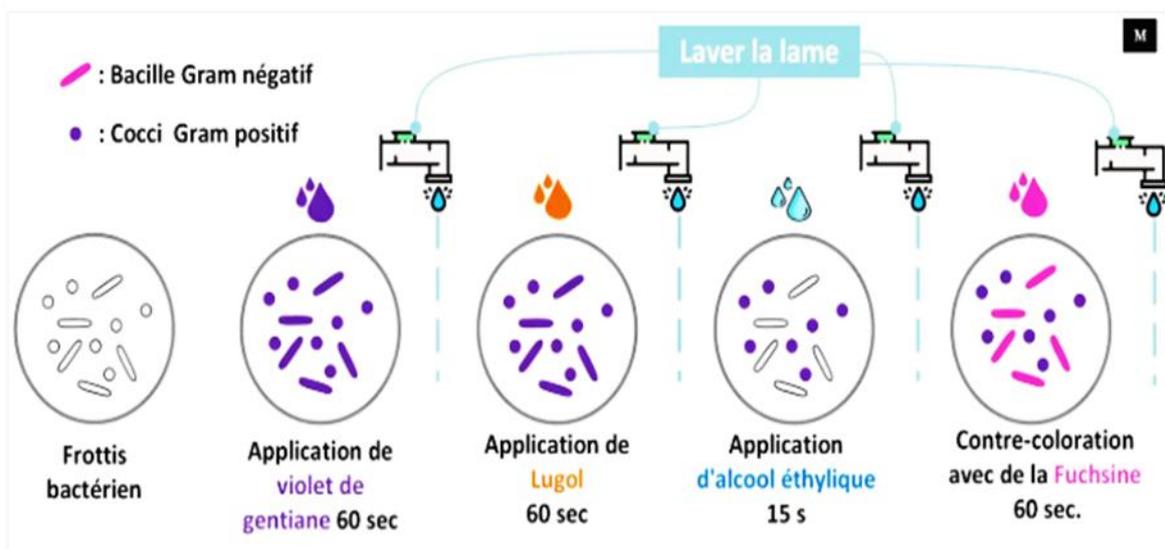


Figure : Schéma descriptif de la méthode de coloration de Gram

III. Résultats de l'activité anti oxydante

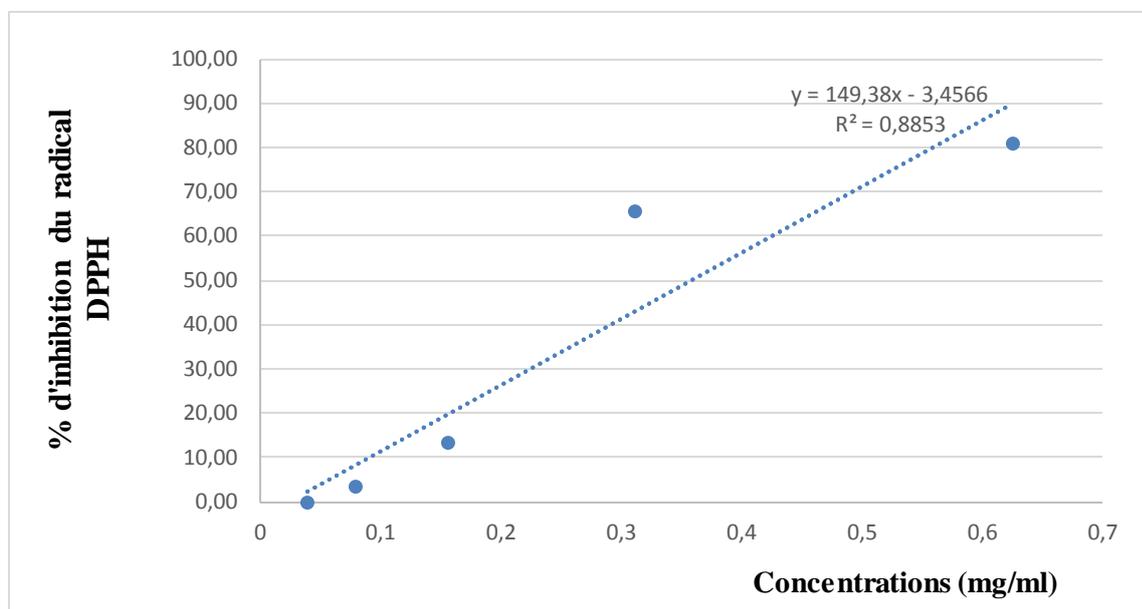


Figure : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de *P.americana*

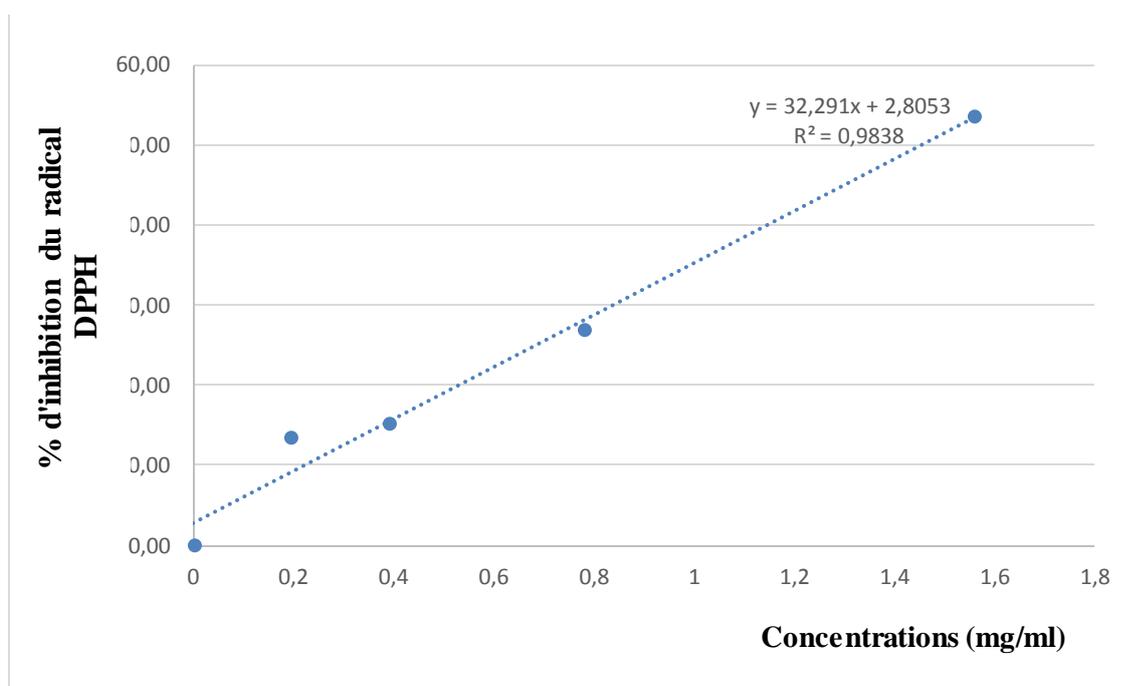


Figure : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de *P.americana*

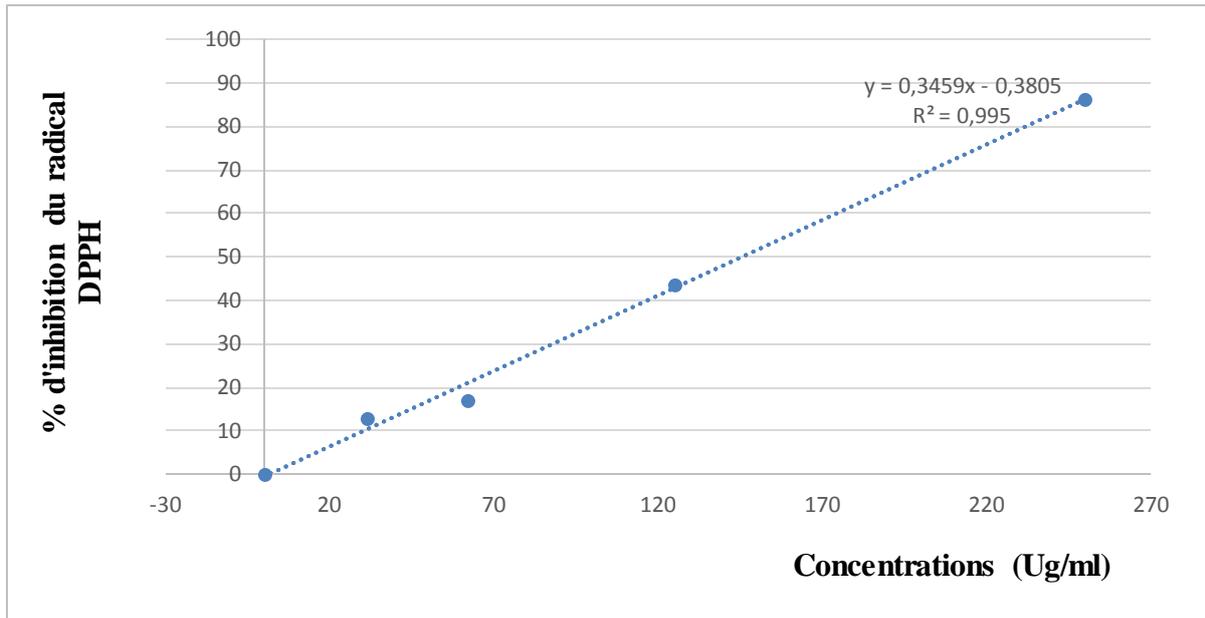


Figure: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

Résumé

Le présent travail a été réalisé dans le but d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits hydro-éthanoliques de *Persea americana* et *Urtica dioica*. Le calcul des taux d'humidité a montré des valeurs élevées de 70,3 % et 77,63 % pour *Persea americana* et *Urtica dioica*, respectivement. L'extraction hydro-éthanolique des composés phénoliques a été réalisée par macération. Un rendement élevé a été obtenu chez *Persea americana* (17,9 %) suivi d'*Urtica dioica* (8,63%). La détermination de la teneur en polyphénols effectuée par la méthode de Folin Ciocalteu a montré des taux de 2,2 mg EAG/g d'extrait sec pour *Urtica dioica* et de 12,9 mg EAG/g pour *Persea americana*.

Le test du DPPH a été utilisé pour l'évaluation de l'activité antiradicalaire. Des valeurs d'IC₅₀ respectives de 0,26 mg/ml et de 1,46 mg/ml ont été enregistrées pour *P.americana* et *U.dioica*. L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques a été testée contre cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*). *Staphylococcus aureus* a montré une sensibilité importante vis à vis des extraits testés avec des diamètres d'inhibition atteignant 12,33 mm.

Mots clés : Polyphénol, Antioxydant, Antibactérien, *Persea americana*, *Urtica dioica*.

Abstract

The purpose of this work is to evaluate the antioxidant and antibacterial activity of the hydro-ethanol extracts of *Persea americana* and *Urtica dioica*. The moisture calculation showed high values of 70.3% and 77.63% for *Persea americana* and *Urtica dioica*, respectively. The hydro-ethanol extraction of the phenolic compounds was carried out by maceration. High yield was achieved at *Persea americana* (17.9%) followed by *Urtica dioica* (8.63%). Determination of polyphenols by the Folin Ciocalteu method showed levels of 2.2 mg EAG/g dry extract for *Urtica dioica* and 12.9 mg EAG/g for *Persea americana*.

The DPPH test was used for the evaluation of antiradical activity. IC₅₀ values of 0.26 mg/ml and 1.46 mg/ml were recorded for *P.americana* and *U.dioica*. The antimicrobial activity of the ethanolic extracts was tested against five bacterial strains (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*). *Staphylococcus aureus* showed a high sensitivity to the tested extracts with inhibition diameters up to 12.33 mm.

Keywords: Polyphenol, Antioxidant, Antibacterial, *Persea americana*, *Urtica dioica*.

ملخص

الغرض من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للبكتيريا لمستخلصات الإيثانولية من اوراق بيرسيا امريكانا ونبات أورتيكا ديويكا. أظهر حساب الرطوبة قيم عالية تبلغ 70,3% و 77,63% لبيرسيا امريكانا و أورتيكا ديويكا، على التوالي. تم استخراج مركبات الفينولية عن طريق النقع. تم تحقيق كمية مرتفعة في بارسيا أمريكانا (17,9) % يليه اورتيكا ديويكا (8,63) %. أظهر تحديد البوليفينول بطريقة الفولا مستويات 2,2 ملغ EAG/g مستخلص جاف لـ اورتيكا ديويكا و 12,9 ملغ EAG/g لـ بارسيا امريكانا.

تم استخدام اختبار DPPH لتقييم النشاط المضاد للأكسدة. تم تسجيل قيم IC50 البالغة 0,26 ملغم/مل و 1,46 ملغم/مل في بيرسيا امريكانا و اورتيكا ديويكا. على التوالي. تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات الإيثانوليك ضد خمس سلالات بكتيرية [الإشريكية القولونية، وفيروس العصوية، و المكورات العنقودية الذهبية، و الزائفة الزنجارية، والكليبيسيلا الرئوية]. أظهرت المكورات العنقودية الذهبية حساسية عالية للمستخلصات التي تم اختبارها بأقطار تثبيط تصل إلى 12.33 مم.

الكلمات الرئيسية: بوليفينول، مضاد للأكسدة، مضاد للبكتيريا، بيرسيا أمريكانا، أورتيكا ديويكا.