

MINISTRE 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/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Physiologie et Physiopathologie Animale

Présenté par :

BRAHIMI Souaad

Thème

***CONTRIBUTION A L'EVALUATION DE L'EFFET
TOXIQUE ET THERAPEUTIQUE DES PLANTES
MEDICINALES: JUNIPERUS PHOENICEA, OLEA
EUROPAEA ET URTICA DIOICA***

Soutenu le : 07 / 06 / 2017

Devant le jury composé de :

| <i>Nom et Prénom</i> | <i>Grade</i> | | |
|--------------------------|--------------|------------------------|---------------------|
| <i>Mme. BOUTELDJA R.</i> | <i>MAA</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Président</i> |
| <i>M. TAFER M.</i> | <i>MAA</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Promoteur</i> |
| <i>M. MAMMERI A.</i> | <i>MCB</i> | <i>Univ. De M'sila</i> | <i>Co-Promoteur</i> |
| <i>M. CHERGUI A</i> | <i>MAA</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Examineur</i> |

Année Universitaire : 2016/2017

Dédicace

Pour mon père, que Dieu ait pitié de son âme,

A ma mère qui m'a tout donné,

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé

A mes très chers Frères: Belkacem, Smail, Brahim,

A ma chère Sœur: Fadhila,

A Azzedine, Nabila, Ghozléne, Mounira

A Rami, Aymene, Rahma, Ibtehel, Meryem, Douaa, Yahya, Moatez, Alaa

A mes grandes familles Brahimi et Nadir

A toute promotion physiologie et physiopathologie animale

Je dédie ce modeste travail

Souaad

Remerciement

Avant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage, et la patience pour terminer ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier le vice doyen Mouni Lotfi pour leur accueil et d'avoir accepté dans ce master au sein de l'université Akli Mohaned Oulhajg -Bouira.

La présente étude a été réalisée à l'Université de M'sila pendant trois mois au sein du Département des Sciences biologiques et du Département des sciences agronomiques.

Je tiens à remercier très chaleureusement les chefs des départements Rebbas K. et Cherièf A. pour m'avoir accueilli au sein des départements, pour la confiance qu'il m'a témoignée, pour les grandes libertés qu'il m'a accordées dans la conduite de ce mémoire.

Je remercie mon encadreur de ce mémoire Tafer Mourad de l'université de Bouira et mon Co-encadreur Mammeri Adel de l'université de M'sila pour m'avoir initié, pour ses aides et aussi pour ses disponibilités.

Je remercie les membres de mon jury de mémoire qui ont accepté de juger ce travail.

Je tiens vivement à remercier:

Le Docteur Belkassem Abed el wahaeb pour son appui précieux et indispensable, pour les beaux dosages et les activités, il trouvait toujours du temps pour répondre à mes questions et m'orienter dans la bonne direction.

Les docteurs : Ben Sassi Tayeb, Bounar Rabeh, Mimmech Fateh, pour leurs soutient et passionnantes discussions ainsi que de précieux conseils.

Le chef de laboratoire à l'université de M'sila Kamel Séghiri et les ingénieurs qui ont mis à ma disposition le matériel nécessaire aux tests biologiques.

M. Boudrissa et Ben sefa Lyamine de l'institut pasteur de M'sila qui ont mis à ma disposition le matériel et les appareils nécessaires pour la réalisation de l'activité antibactérienne.

Je remercie le médecin d'anatomopathologiste Ben Toumi et l'ingénieur Hayet pour leur aide, leur soutien dans la réalisation des coupes histologiques et leurs passionnantes discussions.

J'exprime toute ma reconnaissance aux personnes suivantes: Rima, Hanane, Ibtissem, Imene, Hiba pour les moments mémorables passés ensemble au sein de l'université de Msila.

Je remercie enfin tous les enseignants de la faculté des sciences de l'Université de Bouira pour ma formation. Je remercie également mes collègues de l'Université de Bouira, qui j'ai passé de très bons moments pendant deux années.

A toute personne qu'est aidé de proche ou loin

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Etude bibliographique

Chapitre I. Les Pathologies humaines liées a *E. coli* et *Salmonella*

| | |
|--|----|
| I.1 <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)..... | 05 |
| I. 1.1 Définition et habitat..... | 05 |
| I. 1.2 Classification..... | 06 |
| I. 1.3 Commensalité et pathogénicité d' <i>E. coli</i> | 06 |
| I.1.4 Physiopathologie et symptomatologie d' <i>E. coli</i> | 08 |
| I.1.5 Les infections extra-intestinales..... | 10 |
| I.1.6 Diagnostic..... | 11 |
| I.1.7 Les moyens thérapeutiques..... | 11 |
| I.2 <i>Salmonella</i> | 12 |
| I.2.1 Définition et habitat..... | 12 |
| I.2.2 Classification..... | 13 |
| I.2.3 Commensalité et pathogénicité de <i>salmonella</i> | 14 |
| I.2.4 Physiopathologie et symptomatologie de <i>Salmonella</i> | 15 |
| I.2.5 Toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)..... | 19 |
| I.2.6 Les infections extra-intestinales..... | 19 |
| I.2.7 Diagnostic..... | 19 |
| I.2.8 Les moyens thérapeutiques..... | 19 |

Chapitre II. Pouvoir thérapeutique des plantes médicinales

| | |
|--|----|
| II.1 Les plantes médicinales..... | 22 |
| II.2 Les principaux composés actifs des plantes médicinales..... | 22 |
| II.2.1 Les terpénoïdes et stéroïdes | 24 |
| II.2.2 Les alcaloïdes..... | 25 |
| II.2.3 Les polyphénols..... | 25 |
| II.2.4 Les glycosides..... | 28 |
| II.3 Monographie des plantes étudiées..... | 29 |

| | |
|--|----|
| II.3.1 <i>Juniperus phoenicea</i> L..... | 29 |
| II.3.1.1 Habitat..... | 29 |
| II.3.1.2 Description botanique..... | 29 |
| II.3.1.3 Classification botanique..... | 30 |
| II.3.1.4 Composition chimique..... | 31 |
| II.3.1.5 Usage thérapeutiques..... | 31 |
| II.3.1.6 Toxicité de la plante..... | 31 |
| II.3.2 <i>Olea europaea</i> | 32 |
| II.3.2.1 Habitat..... | 32 |
| II.3.2.2 Description botanique..... | 32 |
| II.3.2.3 Classification botanique..... | 33 |
| II.3.2.4 Composition chimique..... | 33 |
| II.3.2.5 Usages thérapeutiques..... | 33 |
| II.3.2.6 Toxicité de la plante..... | 34 |
| II.3.3 <i>Urtica dioica</i> | 35 |
| II.3.3.1 Habitat..... | 35 |
| II.3.3.2 Description botanique..... | 35 |
| II.3.3.3 Classification botanique..... | 36 |
| II.3.3.4 Composition chimique..... | 37 |
| II.3.3.5 Usages thérapeutiques..... | 37 |
| II.3.3.6 Toxicité de la plante..... | 38 |

Partie expérimentale

Chapitre III. Matériels et méthodes

| | |
|---|----|
| III.1 Matière végétale..... | 40 |
| III.1.2 Méthode d'extraction par Soxlet..... | 40 |
| III.1.3 Rendement de l'extraction..... | 43 |
| III.2 Analyse qualitative..... | 43 |
| III.2.1 Criblage phytochimique..... | 43 |
| III.2.2 Chromatographie sur couche mince CCM..... | 44 |
| III.3 Analyse quantitative..... | 46 |
| III.3.1 Dosage des polyphénols totaux (réactif de Folin Ciocalteu)..... | 46 |
| III.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux..... | 47 |
| III.4 Etude des activités biologiques des plantes..... | 47 |
| III.4.1 Activité antioxydante..... | 47 |

| | |
|---|----|
| III.4.2 Activité antibactérienne..... | 49 |
| III.4.2.1 Matériel biologique..... | 49 |
| III.4.2.2 Méthode de culture en milieu solide Muller Hinton (MH)..... | 49 |
| III.5 Evaluation de la toxicité aigue des extraits des plantes sur des rats Hamsters..... | 51 |
| III.5 .1Matériel animale..... | 51 |
| III.5 .2 Méthode..... | 51 |
| III.5 .2.1 Observation clinique..... | 52 |
| III.5.3 Evaluation in vivo de l'effet de la CMI sur les organes des rats Hamsters..... | 52 |
| III.5.3.1Technique anatomopathologique..... | 52 |

Chapitre IV. Résultats et discussions

| | |
|--|----|
| IV. 1 Rendement d'extraction des plantes..... | 56 |
| IV.2Dosage qualitative..... | 57 |
| IV.2.1Criblage phytochimique..... | 57 |
| IV.2.2Chromatographie sur couche mince CCM..... | 58 |
| IV.3 Dosage quantitative..... | 62 |
| IV.3 .1 Dosage des phénols totaux | 62 |
| IV.3 .2 Dosages des flavonoïdes totaux..... | 63 |
| IV.4 Etude des activités biologiques des plantes..... | 65 |
| IV.4.1.Activité antioxydante | 65 |
| IV.4.1.1Méthode DPPH..... | 65 |
| IV.4.1.2 Détermination d'IC50..... | 66 |
| IV.5 Activité antibactérienne..... | 69 |
| IV.6 Evaluation de la toxicité aigue des extraits des plantes sur des rats Hamsters..... | 73 |
| IV.6 .1Observation clinique..... | 73 |
| IV.6 .2 Etude macroscopique des organes prélevés après le sacrifice des rats..... | 73 |
| IV.6.3 Evaluation in vivo de l'effet de la CMI ×4 sur le foie, rein et l'intestin grêle..... | 75 |
| IV.6.3 .1Analyse microscopique des coupes histologiques..... | 75 |

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

AA : Acide Aminé

ADN : Acide désoxyribonucléique

AF : Aflatoxine

Ag : Antigène

ALP : Alcaline phosphatase

ALT : Alanine transaminase

AST : Aspartate aminotransférase

BHT : Hydroxytoluène butylé

[C] : Concentration

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

cm : centimètre

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAST : *Escherichia coli* Enteroaggrégative (heat-stable enterotoxin)

EC50: concentration inhibitrice de 50% de radical DPPH

ECAD : *E. coli* à adhésion diffuse

EC50: concentration inhibitrice de 50% de radical DPPH

ECEAgg : *E.coli* entéroaggrégative

ECEH : *E. coli* entérohémorragique

ECEI : *E. coli* Entéroinvasive

ECET : *E. coli* entérotoxigénique

EGF : Epidermal Growth Factor (facteur de croissance épidermique)

EPEC : *E.coli* Entéropathogène

Ext : Extrait

FCR : Réactif Folin Ciocalteu

FeCl₃ : Chlorure de fer

G : grossissement

g : gramme

HCl : Acide chlorhydrique

HE : Hématéine - Eosine

HgCl₂ : Dichlorure de mercure

H₂O : Eau

IC₅₀: concentration inhibitrice de 50% de radical DPPH

I₂ : Diode

IHC : Immunohistochimie

IL : l'interleukine

IV :Intraveineuse

KI : Iodure de potassium

LPS : Lipolysaccharide

MAT :Micro-Angiopathie Thrombotique

MDA : Malondialdéhyde

MeOH : Méthanol

µgEAG : Microgramme d'équivalent d'acide gallique

µg EQ : Microgramme d'équivalent de quercétine

MICI : Maladie Inflammatoire Chronique de l'intestin

MII : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

min : minute

MH : Bouillon Muller Hinton

MLST : Multilocus Sequence Typing (Séquençage de plusieurs gènes de structure)

NaCl :Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

Nm : Nanomètre

NMEC : *E. coli* à l'origine de méningites néonatales

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

Pc : poids corporelle

pH : potentiel Hydrogène

ppm : Partie par million

PVD :Pays en Voie de Developpement

RD : les cellules Rhabdmyosarcom humaines

Rf : Rapport frontal

SHET : Shigella enterotoxin (*E. coli* producteurs de Shiga-toxines)

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

Stx : **STEC** : *Shiga-toxin producing E. coli* Shiga Toxin (*E. coli* producteurs de Shiga-toxines)

TIA :Toxi-Infections Alimentaires

TIAC : Toxi-infections Alimentaires Collectives

TL : Toxines Thermolabiles

TS : Toxines Thermostables

UFC : Unité Formant Colonie

UPEC : *E. coli* uropathogène

UV : Ultraviolet

UVB : Le rayonnement ultraviolet de type B

V : Volume

VTEC : *Verotoxin producing E. coli*(*Escherichia coli* producteurs de vérotoxines)

Liste des figures

| | |
|---|----|
| figure N°01 : <i>Escherichia coli</i> , photographiée au microscope électronique..... | 05 |
| Figure N° 02 : Les six classes d' <i>E. coli</i> diarrhéogènes..... | 09 |
| Figure N°03 : Sites de colonisation des <i>Escherichia coli</i> pathogènes..... | 10 |
| Figure N°04 : Salmonelle en microscope électronique a balayage..... | 12 |
| Figure N° 05 : Pathogénie de la fièvre typhoïde..... | 16 |
| Figure N°06 : Schéma comparatif de l'infection localisée et de l'infection Systémique causée par <i>Salmonella</i> | 17 |
| Figure N°07 : Structure chimique des principaux composés secondaires..... | 23 |
| Figure N°08 : Différents familles des polyphénols | 26 |
| Figure N°09 : <i>Juniperus phoenicea</i> L..... | 30 |
| Figure N° 10 : Classification botanique de <i>Juniperus phoenicea</i> | 30 |
| Figure N°11 : <i>Olea europaea</i> , L | 32 |
| Figure N° 12 : Classification botanique d' <i>Olea europaea</i> , L..... | 33 |
| Figure N°13 : <i>Urtica dioica</i> , L..... | 36 |
| Figure N° 14 : Classification botanique d' <i>Urtica dioica</i> , L..... | 36 |
| Figure N°15 : Extracteur Soxlet..... | 40 |
| Figure N°16 : Evaporation du solvant par Rotavapor..... | 41 |
| Figure N°17 : Protocole expérimentale d'extraction du matériel végétal..... | 42 |
| Figure N°18 : Développement d'une plaque CCM dans la chambre de migration..... | 45 |
| Figure N°19 : Révélation sous une loupe UV..... | 46 |
| Figure N°20 : Structure chimique de DPPH et sa réaction avec un antioxydant AH... . | 47 |
| Figure N° 21 : Ensemencement de la suspension bactérienne..... | 49 |
| Figure N°22 : Placement des disques et les extraits des plantes sur la gélose MH..... | 50 |
| Figure N°23 : Les rats Hamsters..... | 51 |
| Figure N°24 :l'extrait administré par voie orale | 52 |
| Figure N°25 : Inclusion des échantillons dans la paraffine | 53 |
| Figure N°26 : Réalisation des coupes au microtome..... | 54 |
| Figure N°27 : Coupes des tissus étalés sur les lames et colorés en hématoxyline-éosine. | 54 |
| Figure N°28 : Graphique du rendement d'extraction méthanolique des plantes..... | 56 |
| Figure N°29 : Criblage phytochimique des extraits des plantes..... | 57 |
| Figure N°30 : Les spots colorés après séchage de la plaque de silice..... | 58 |
| Figure N°31 : Les taches fluorescentes sous UV à 365nm..... | 59 |

| | |
|---|----|
| Figure N°32: Les taches fluorescentes sous UV à 254nm..... | 59 |
| Figure N°33: Pourcentage d'inhibition de BHT par la méthode DPPH..... | 65 |
| Figure N°34 : Graphique de pourcentage d'inhibition des extraits méthanoliques des plantes par la méthode DPPH..... | 66 |
| Figure N° 35: Graphique de la concentration IC50% (µg/ml) de chaque extrait..... | 67 |
| Figure N 36: Les zones d'inhibition des extraits d' <i>Juniperus phoenicea, Olea europaea et Urtica dioica</i> contre <i>Salmonella sp.</i> | 70 |
| FigureN°37 : Les zones d'inhibition des extraits d' <i>Juniperus phoenicea, Olea europaea et Urtica dioica</i> contre <i>E.coli</i> (ATCC25922)..... | 70 |
| Figure N°38: Coupe histologique du foie de rat Hamster témoin, coloration HE(G× 10).. | 75 |
| Figure N°39: Coupe histologique du foie de rat Hamster témoin, coloration HE(G×40).. | 76 |
| Figure N°40: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par <i>Juniperus phoenicea</i> , coloration HE (G× 10)..... | 76 |
| Figure N°41: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par <i>Juniperus phoenicea</i> , coloration HE (G× 40)..... | 77 |
| Figure N°42: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par <i>Olea europaea</i> , coloration HE (G× 10)..... | 77 |
| Figure N°43: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par <i>Olea europaea</i> , coloration HE (G× 40)..... | 78 |
| Figure N°44: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par <i>Urtica dioica</i> coloration HE (G× 10)..... | 78 |
| Figure N°45 : Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par <i>Urtica dioica</i> , coloration HE (G× 40)..... | 79 |
| Figure N°46: Coupe histologique du rein de rat Hamster témoin, coloration HE (G×4).. | 81 |
| Figure N°47: Coupe histologique du rein de rat Hamster témoin, coloration HE(G× 40) | 81 |
| Figure N°48: Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par <i>Juniperus phoenicea</i> coloration HE (G×10)..... | 82 |
| Figure N°49: Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par <i>Juniperus phoenicea</i> , coloration HE (G×40)..... | 82 |
| Figure N°50 : Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par <i>Olea europaea</i> , coloration HE (G×10)..... | 83 |
| Figure N°51 : Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par <i>Olea europaea</i> , coloration HE (G×40)..... | 83 |
| Figure N°52 : Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par <i>Urtica dioica</i> , coloration HE (G×10)..... | 84 |

| | |
|---|----|
| Figure N°53: Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par <i>Urtica dioica</i> , coloration HE (G×40)..... | 84 |
| Figure N°54 : Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster témoin coloration HE (G× 4)..... | 86 |
| Figure N°55 : Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster témoin, coloration HE (G× 10)..... | 86 |
| Figure N°56: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par <i>Juniperus phoenicea</i> , coloration HE (G× 4)..... | 87 |
| Figure N°57: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par <i>Juniperus phoneacea</i> , coloration HE (G× 10)..... | 87 |
| Figure N°58: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par <i>Olea europaea</i> coloration HE (G× 4)..... | 88 |
| Figure N°59: Coupe histologique transversale de l'intestin de rat Hamster traité par <i>Olea europaea</i> , coloration HE (G× 10)..... | 88 |
| Figure N°60: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par <i>Urtica dioica</i> , coloration HE (G× 4)..... | 89 |
| Figure N°61 : Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par <i>Urtica dioica</i> , coloration HE (G× 10)..... | 89 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I : Les trois systèmes solvants préparés pour l'étude de CCM sur gel de silice..... | 45 |
| Tableau II : Rendement d'extraction des plantes choisis..... | 56 |
| Tableau III : Résultats des réactions du criblage phytochimique..... | 57 |
| Tableau IV: Les mesures de rapport frontale RF de la chromatographie sur couche mince | 60 |
| Tableau V : Les teneurs en phénols totaux des extraits des plantes..... | 62 |
| Tableau VI : résultats du dosage des flavonoïdes totaux | 63 |
| Tableau VII : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH..... | 65 |
| Tableau VIII: Activité antioxydante des extraits de plantes exprimées en d'IC50% DPPH | 66 |
| Tableau IX: Les diamètres d'inhibition des extraits testés sur les entérobactéries | 71 |
| Tableau X : les valeurs de CMI des extraits des plantes déterminés in vitro sur les entérobactéries..... | 72 |
| Tableau XI : résultats des mesures du poids (g) des organes prélevés..... | 73 |
| Tableau XII : Résultats de la mesure des dimensions (cm) des organes prélevés..... | 74 |

Introduction

Introduction

La santé n'est pas qu'une question de bon fonctionnement de l'organisme humain, elle est une saine hygiène de vie dans toute sa globalité.

Le monde des plantes médicinales est un univers bien complexe pour le pénétrer, il est important de s'y initier au préalable. Loin de nous l'idée superstitieuse qui associé à la magie et à la sorcellerie, la guérison par les plantes médicinales.

Cependant, il faut dire que la manipulation et l'usage de ces plantes nécessitent un prérequis vocationnel : de même qu'il faut des aptitudes adéquates pour exercer la médecine moderne ou occidentale, la pharmacologie directe exige des prédispositions talentueuses et psychomatiques de la personne qui soigne avec amour. (Nkoengoua, 2012)

Si la phytothérapie a longtemps reposé sur des observations empiriques, elle fait de plus en plus l'objet d'études scientifiques poussées. Cette médecine permet d'avoir recours à des traitements individualisés. Alors que le médicament chimique est composé d'une seule molécule, la plante possède une action plus douce mais plus profonde grâce à la synergie de toutes les substances qu'elle contient. Les nombreux principes actifs, bien que présents en faible quantité, agissent de façon harmonieuse et respectent la personne dans sa globalité.

Dénué le plus souvent de tout effet secondaire toxique, l'emploi médicinal des plantes apparaît de plus en plus souvent comme une réponse au problème généré par les médicaments chimiques. (Winckle, 2006)

Il importe par ailleurs de se pénétrer que ce ne sont pas toujours les dosages les plus concentrés qui aboutissent aux remèdes les plus actifs. Et ce ne sont pas non plus les plus fortes doses qui sont à l'origine des plus importantes manifestations d'éventuelle intolérance.

Les plantes ne constituent pas des remèdes qu'il ne faut prendre que dans des circonstances bien déterminées à des doses à ne pas dépasser ni réduire. (Dextreit, 1984)

Mis à part les extraits fluides, qui correspondent à leur poids de plante sèche, il est difficile d'établir un rapport posologie extrait/posologie plante sèche mais approximativement, on peut considérer que pour les plantes d'activité et de toxicité relativement faible, pour celle dont les principes thérapeutiques sont incomplètement déterminés, la quantité d'un extrait à utiliser est le quart de la quantité de plante sèche ; les extraits peu ou très peu actifs peuvent être administrés à moitié dose de la plante sèche.

Il vaut mieux cependant considérer les extraits comme des substances thérapeutiques à part entière et ne pas se référer aveuglement à la posologie de la plante d'origine corrigée par un coefficient arbitrairement choisi. (Duraffourd & Lapraz, 2002)

On constate dans beaucoup de travaux pharmacologiques appliqués aux plantes médicinales, notamment dans le cas des antibactériens et antiparasitaires, que le mode de préparation des extraits testés ne correspond pas au mode de préparation des formes utilisées en médecine traditionnelle. Cela est une première critique de nombreux screenings pharmacologiques utilisés pour réaliser une étude préliminaire sur des plantes utilisées en médecine traditionnelle. Il est tout à fait nécessaire a priori de tester un extrait utilisant le même solvant de même polarité et dans les mêmes conditions que celui utilisé en médecine traditionnelle. En effet le produit actif in vivo chez l'homme est soit un produit présent dans la plante soit un artéfact de préparation. (Fleurentin & al, 1990)

Les remèdes à base de plantes sont devenus extrêmement populaires dans les magasins d'aliments naturels, les pharmacies et les supermarchés. La tendance démographique actuelle permet aussi d'envisager un avenir prometteur pour les plantes médicinales. La population vieillissante s'intéresse de plus en plus aux questions de santé et se tourne vers les produits médicinaux en vente libre pour compléter les traitements médicaux classiques (Small & Catling, 2000).

Les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse. Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent qu'à leur incidence au niveau de la santé des populations.

Dans ce contexte l'objectif de ce travail est :

La mise en évidence de l'importante thérapeutique d'un produit pharmaceutique a base d'extrait d'une plante dans le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne, par la corrélation des résultats de l'évaluation du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales répandus en Algérie : *Juniperus phoenicea* (عرعار), *Olea europaea* (زيتون) cultivée de la variété « Chemlal » et *Urtica dioica*.

(حرايق) par l'analyse qualitative et quantitative des composés bioactifs, responsables des activités biologiques antioxydantes et antibactériennes in vitro. On s'est également intéressé à l'étude in vivo de la toxicité aigue des extraits de ces plantes chez les rats Hamsters a partir de la dose CMI déterminé in vitro.

Notre étude est divisé en quatre chapitres ;

Le premier chapitre présente une recherche bibliographique sur les pathologies humaines liées à *Escherichia coli* et *Salmonella, sp.*

Le second chapitre renferme une étude sur le pouvoir thérapeutique des plantes médicinales, associés à la monographie de chaque plante utilisée comme matériel végétal, ainsi que leurs habitats, descriptions botaniques, usages thérapeutiques et leurs effets toxiques.

Le troisième chapitre présente les différentes méthodes et matériels utilisés.

Le quatrième chapitre englobe les résultats et les discussions obtenus.

Et enfin une conclusion et perspectives sur les résultats obtenus dans ce travail.

Etude bibliographique

Chapitre I

*Les Pathologies humaines liées à
E. coli et Salmonella*

I.1. *Escherichia coli* (*E. coli*)

I.1.1 Définition et habitat

Theodor Escherich décrit en 1885 l'espèce *Bacterium coli* commune, isolée des selles de bébés nourris exclusivement au lait maternel. *E. coli* est un élément important de la flore intestinale des bébés humains (Ari & Sezonov, 2008).

A ce stade, il s'établit préférentiellement dans le colon, d'où son nom. Il vit également dans l'intestin de nombreux autres animaux : presque tous les mammifères (Ari & Sezonov, 2008).

Les *Escherichia coli* font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches (figure01), Gram négatifs, anaérobies facultatifs, non sporulés. Ils sont capables de fermenter plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. La multiplication à 44°C, la production d'indole et la présence d'une activité β -glucuronidase sont également caractéristiques (Ghafir & Daube, 2007).

Les plus proches parents du genre *Escherichia* (genres *shigella*, *Salmonella* et *Klebsiella*) comprennent quelques pathogènes bien connus. Ce sont toutes des entérobactéries dont l'organisation génétique est très proche de celle d'*E. coli* (Ari & Sezonov, 2008).

La présence d'*E. coli* dans les aliments et l'eau est considérée comme une indication de contamination fécale et dès lors, l'indication d'une possible présence de microorganismes pathogènes d'origine fécale. La contamination a lieu le plus souvent lors de la production et la transformation d'aliments crus d'origine animale, ou indirectement, via la contamination de l'eau. *E. coli* peut être affecté par la dessiccation, la congélation et un pH bas de façon plus rapide que certains agents pathogènes intestinaux (Ghafir & Daube, 2007).

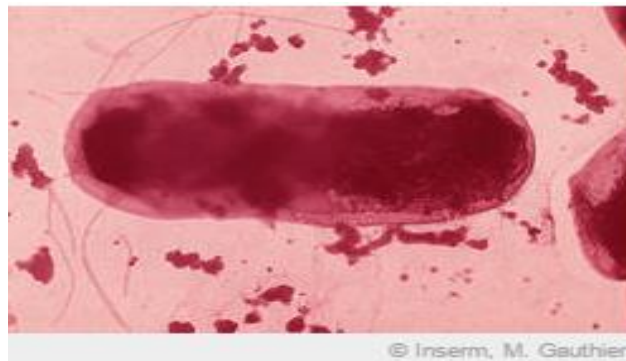


figure01 : *Escherichia coli*, photographiée au microscope électronique (Lucet, 2015).

I.1.2 Classification

La détermination des sérotypes est le premier système qui a permis, dans une certaine mesure, de différencier les souches pathogènes des souches commensales. Par la suite des propriétés de virulence, directement ou indirectement reliées au pouvoir pathogène des *E. coli* ont été reconnues. La combinaison de propriétés particulières associées à la virulence d'une souche constitue le pathotype (Mainil, 2003).

La classification la plus utilisée par les microbiologistes est fondée en grande partie sur les travaux de Kauffman (1947) et se base sur la détermination du :

- **Sérogroupe** : identifié par rapport aux antigènes somatiques O. Plus de 180 sérogroupe O de *E. Coli* sont actuellement connus.
- **Sérotype** : identifié au sein du sérogroupe par rapport aux antigènes d'autres structures présentes à la surface des bactéries (Vimont, 2007).

Il existe en effet plus de 190 Ag O (LPS), plus de 80 Ag K (antigène capsulaire) et 56 Ag H (flagelline) (Denis & al, 2011).

Cette classification permet d'obtenir, en considérant les trois antigènes O, H et K, plus de 800 000 sérotypes différents. Cependant seulement 2000 sérotypes environ, ont été réellement isolés à ce jour. Parmi ceux-ci, *E. coli* O157:H7 est le principal sérotype responsable de pathologie chez l'homme (Vimont, 2007).

I.1.3 Commensalité et pathogénicité d'*Escherichia coli*

Cette bactérie présente la caractéristique unique d'être à la fois un germe commensal de la flore intestinale présent chez tous les individus à des taux de 10^6 à 10^9 à ufc/g de selles et le premier germe pathogène responsable d'infections communautaires (Denis, 2002).

Les méthodes d'analyse génomique (MLST, ribotypage) ont montré que l'espèce *E. coli* pouvait être divisée en plusieurs groupes phylogénétiques dont quatre principaux (A, B1, B2 et D) regroupent la majorité des souches. Les souches d'*E. coli* commensales et celles responsables de diarrhées appartiennent majoritairement aux groupes A et B1, alors que celles responsables de pathologies extra-intestinales (infections urinaires, bactériémies et méningites) appartiennent majoritairement aux groupes D et B2 (Denis & al, 2011).

I.1.3.1 *Escherichia coli* commensale

E. coli colonise le tractus gastro-intestinal de l'homme dès les premières heures suivant la naissance et persiste dans le colon pratiquement toute la vie. Ce microorganisme représente le prototype de l'espèce commensale anaérobie facultative de ce segment du tube digestif et assure, avec les autres composants de la microflore (Collin & Simonet, 2006).

Il se peut qu'*E. coli* sécrète un peu de vitamines dans l'intestin et que sa présence rende plus difficile la colonisation par d'autres espèces éventuellement nocives (Ari & Sezonov, 2008).

Les *E. coli* commensales nichent au niveau du mucus dans le colon. Elles ne franchissent cette barrière qu'en cas de dysfonctionnement de la barrière gastro-intestinale comme chez des patients MICI par exemple et causent rarement des maladies (Sanda, 2013).

I.1.3.2 *Escherichia coli* entéropathogène

Cependant un petit groupe de ces *E. coli* ont acquis des facteurs de virulences qui leur ont permis de coloniser de nouvelles niches. Ces *E. coli* sont ainsi devenues capables de causer des diarrhées, des gastro-entérites et des infections urinaires (Sanda, 2013). Il existe six groupes distincts d'*E. coli* pathogènes:

Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* entérotoxigéniques (ECET), les *E. coli* entéroaggrégatives (EHECagg), les *E. coli* Entéroinvasives (EIEC), les *E. coli* à adhérence diffuse (EAD) et les *E. coli* entéropathogènes (EPEC) (Sanda, 2013).

- **Mécanisme de virulence**

E. coli possède des facteurs de virulence lui permettant de s'attacher aux cellules intestinales et de libérer des toxines, connues sous le nom de vérotoxines ou toxines de type Shiga en raison de leur ressemblance avec les toxines élaborées par *Shigella dysenteriae*. Les vérotoxines jouent un rôle important dans l'apparition des symptômes gastro-intestinaux mais l'étape cruciale dans la pathogenèse d'*E. coli* est l'attachement aux cellules de l'hôte. Suite à l'infection, des hémorragies, de l'œdème et une infiltration de neutrophiles situés au niveau de la *lamina propria* peuvent se produire au niveau des cellules intestinales (Bey, 2009).

I.1.4 Physiopathologie et symptomatologie d'*Escherichia coli*

I.1.4.1 Les *E. coli* entérotoxigéniques (ECET)

E. coli entérotoxigènes responsable de grave diarrhée aqueuse chez les enfants des pays pauvres, en particulier, et de la « tourista » la diarrhée du voyageur (Macagno, 2012), s'attachent à l'intestin grêle par l'intermédiaire des antigènes de facteur de colonisation et produisent des entérotoxines qui sont similaires à la toxine de *Vibrio cholerae* et sont soit des toxines thermostables (TS) codées par un plasmide soit des toxines thermolabiles (TL) codées par l'ADN chromosomique. Ces entérotoxines et leurs variantes respectives perturbent l'équilibre du chlorure de sodium dans l'intestin, ce qui entraîne une diarrhée aqueuse abondante (Njeumi & al, 2011).

I.1.4.2 Les *E. coli* Entéroinvasives (ECEI)

Les souches d'*E. coli* entéro-invasifs sont causes de diarrhées parce qu'elles pénètrent et se multiplient à l'intérieur des cellules de l'épithélium intestinal. Cette propriété invasive est associée à la présence d'un grand plasmide. Les ECEI produisent aussi une cytotoxine et une entérotoxine, pénètrent et se propagent dans les cellules intestinales en détruisant un grand nombre de cellules et en provoquant une diarrhée modérée à hémorragique similaire à la dysenterie (Lansing & al, 2010).

I.1.4.3 Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC)

E. coli entéro-pathogènes provoquent une diarrhée aqueuse profuse et parfois hémorragique, en particulier chez les nourrissons dans les pays en développement. Les EPEC adhèrent à l'épithélium intestinal en perturbant la fonction cellulaire. La pathologie est associée à la production de lésions effaçantes et attachantes similaires à celles des ECEH. Les EPEC ne produisent pas de Stx contrairement aux STEC (Njeumi & al, 2011).

I.1.4.4 Les *E. coli* entéro-hémorragiques (ECEH)

Escherichia coli entéro-hémorragiques (EHEC, *enterohemorrhagic E. coli*), dominés par le sérotype O157:H7, sont des agents pathogènes pour le colon authentiquement émergents, devenus en quelques années une menace de santé publique réelle et constante pour les pays développés (Rampal & al, 2000). Encore appelés *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC, *Shiga-toxin producing E. coli*) ou *E. coli* producteurs de vérotoxines (VTEC, *verotoxin producing E. coli*), sont des agents pathogènes associés à des manifestations digestives allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique, pouvant évoluer vers un syndrome

hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant ou une micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte. Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez les jeunes enfants. La létalité varie de 3 à 5 % et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme (Mariani-Kurkdjian, 2014).

I.1.4.5 Les *E. coli* entéroaggrégatives (ECEAgg ou ECEA)

L'implication d'EAEC (*E. coli* entéroaggrégatifs) dans les épidémies diarrhéiques a confirmé le fait qu'au moins certaines souches présentant le phénotype d'AA étaient de vrais agents pathogènes humains. La présentation clinique de l'infection EAEC comprend une diarrhée aqueuse, parfois avec du sang et du mucus. Plusieurs études ont suggéré que l'inflammation intestinale manifeste EAEC, marqué par la présence de lactoferrine fécale et les cytokines pro-inflammatoires, notamment l'interleukine (IL)-8. Les données actuelles suggèrent que certaines souches d'EAEC peuvent ensuite élaborer des cytotoxines, y compris la toxine plasmidique et les entérotoxines EAST 1 et ShET 1 (Harrington & al, 2006).

I.1.4.6 Les *E. coli* à adhérence diffuse (ECAD)

E. coli à adhérence diffuse sont moins bien définis et provoquent de la diarrhée chez les enfants plus âgés. Les ECAD se distinguent des ECEP et ECEAgg par leur adhérence diffuse aux cellules de culture tissulaire (Njeumi & al, 2011). Les principales caractéristiques et les distinctions entre les pathotypes sont montrées dans la figure 02.

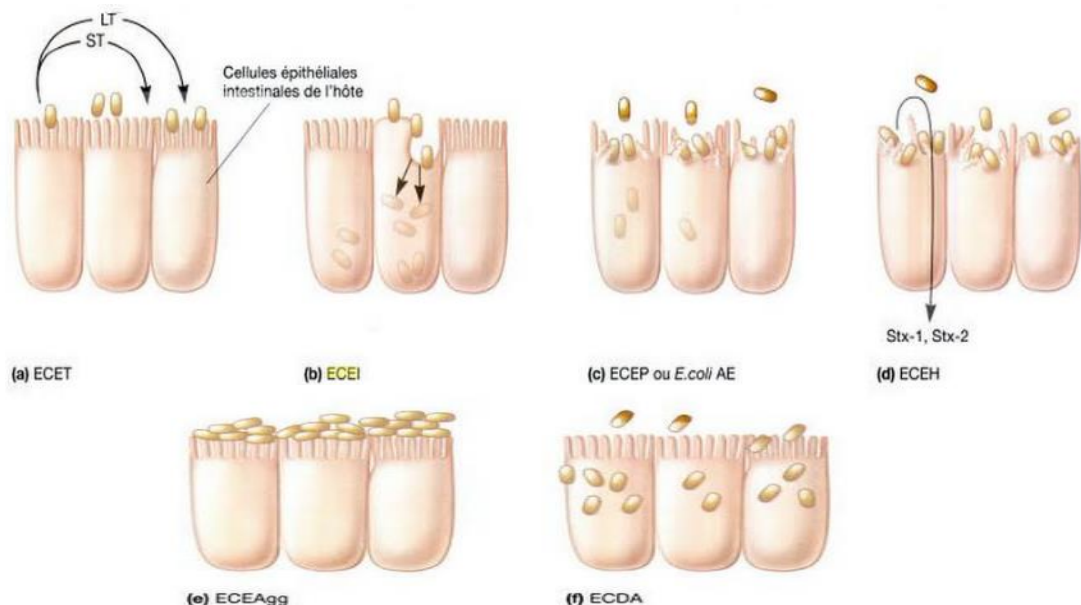


Figure 02 : Les six classes d'*E. coli* diarrhéogènes (Lansing & al, 2010).

I.1.5 Les infections extra-intestinales

Les souches responsables d'infections extra-intestinales sont isolées principalement d'infection urinaire. *E. coli* est de loin le premier germe responsable d'infection urinaire, (Figure 03) En l'absence de malformations ou de reflux vésicouréthral, les souches dites « uropathogènes » parviennent à coloniser l'arbre urinaire grâce à des adhésines (*pili* ou *fimbriae*) (Denis & al, 2011).

E. coli est également responsable d'infections maternofoetales, de prostatites et de suppurations diverses à partir de la flore digestive (infections des voies biliaires, péritonites, salpingites, infections postopératoires). Toutes ces infections peuvent se compliquer de septicémies. Chez le nouveau-né, la complication la plus redoutable et la méningite associée à la présence de l'antigène capsulaire K1 similaire à celui de *Neisseria meningitidis* du groupe B (Denis & al, 2011).

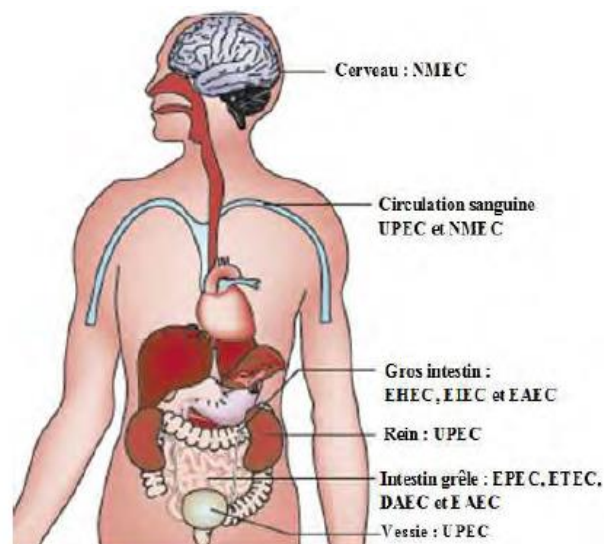


Figure 03 : Sites de colonisation des *Escherichia coli* pathogènes (Diallo, 2013).

E. coli uropathogène (UPEC) colonise le tractus urinaire jusqu'à la vessie et est à l'origine de cystites. En fonction des facteurs de virulence hébergés par les souches, les UPEC peuvent remonter jusqu'aux reins et entraîner une pyélonéphrite. De plus, les UPEC comme les *E. coli* à l'origine de méningites néonatales (NMEC) peuvent entraîner une septicémie. Adapté de (Croxen & Finaly, 2010).

I.1.6 Diagnostic

Le diagnostic chez l'humain s'effectue soit par l'isolation de la bactérie *E. coli* ou la détection de la présence des vérotoxines dans des échantillons fécaux ou la détection d'une augmentation d'anticorps anti-*E. coli* dans le sérum. L'incidence de ces infections varie avec la classe d'âge, mais l'incidence maximale des cas notifiés s'observe chez l'enfant de moins de 15 ans (Bey, 2009).

I.1.7 Les moyens thérapeutiques

I.1.7.1 Les médicaments

Le traitement de la diarrhée aiguë dysentérique constitue une urgence pour pallier le risque de déshydratation avec perte de sel et de potassium. La réhydratation compense les pertes qui sont estimées à 200 ml par selle liquide avec une perte sodée de l'ordre de 50 mmol par litre de selles. Le recours aux solutés de réhydratation par voie IV s'impose quand la diarrhée est massive et en cas de déshydratation clinique. Les mesures diététiques associées à la réhydratation sont essentielles lorsqu'il n'existe pas de vomissements (Schlienger, 2011).

Une antibiothérapie est indiquée dans les cas sévères, et réduit sensiblement la durée des symptômes. L'acide nalidixique (quinolone de 1^{re} génération) est devenu le premier choix dans de nombreuses régions du monde. Le traitement doit en principe être administré durant 5 jours. Dans les régions où la résistance à l'acide nalidixique est rependue, il faut faire appel aux céphalosporines de 3^{ème} génération (ciprofloxacine, ofloxacine, pefloxacine), par voie orale pour les sujets plus âgés (Gentilini, 2012).

I.2 Salmonella

I.2.1 Définition et habitat

Le genre *Salmonella*, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, doit son nom au Dr Vétérinaire Salmon, bactériologiste américain du 19^e siècle. Ce genre est caractérisé par des bacilles à coloration Gram-négative, non sporulants, la plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella Gallinarum*). La taille des bâtonnets varie entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur (figure 04). Ils sont aéro-anaérobies, réduisent les nitrates en nitrites, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, fermentent le glucose mais pas le lactose ni le sucrose et produisent du gaz à partir du glucose (sauf *Salmonella Typhi*) (Korsak & al ,2004).

Depuis 2004, le genre *Salmonella* comporte, trois espèces : *Salmonella enterica*, *S. bongori* et *S. subterranea*. L'espèce principale est *S. enterica* qui comprend elle-même six sous-espèces dont la plus fréquente est *S enterica enterica*, elle même divisée en plusieurs sérovars : *dublin*, *enteritidis*, *infantis*, *paratyphi*, *typhi*, *typhi*, *murium*, *virchow*, etc (Aubry & al ,2015).

S.typhimurium et *S.enteridis* sont les deux bactéries les plus importantes d'un groupe dont il existe plus de 2000 sérotypes, et qui provoquent des salmonelloses zoonotiques chez l'homme leur habitat est l'intestin de l'animal et de l'homme (Pellegrims ,1994).

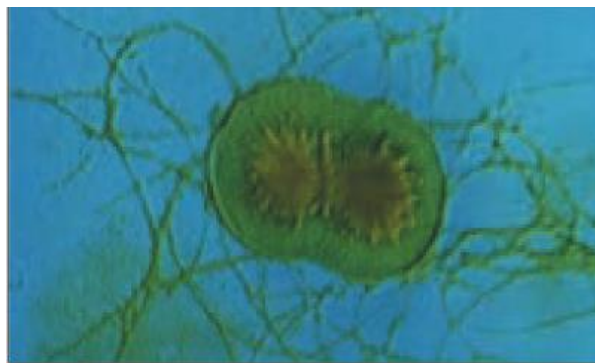


Figure 04: Salmonelle en microscope électronique a balayage (Rambaud & al, 2004).

I.2.2 Classification

I.2.2.1 classification sérotypique et antigénique de *salmonella*, sp.

La désignation « *enterica* » a d'ailleurs progressivement remplacé le nom « *choleraesuis* » qui correspond également à un sérotype particulier. Les *Salmonella* par leur sérotype, et il est autorisé de simplifier la désignation taxonomique complète à la seule mention du sérotype, même si c'est incorrect. Ainsi, *salmonella enterica* sous espèce *enterica* sérotype *Typhimurium* peut être désignée plus simplement par *Salmonella typhimurium* (Gentilini & al, 2012).

Leur structure antigénique est complexe :

- **L'antigène somatique ou antigène de paroi ou antigène O (Ag O) :** c'est l'endotoxine thermostable (qui résiste à la chaleur), responsable de la plus ou moins grande gravité du choc endotoxique. Il provoque une forte fièvre (la fièvre typhoïde) avec de graves désordres métaboliques.
- **Les antigènes flagellaires ou Ag H thermolabiles :** (détruits par la chaleur) ne se rencontrent bien sûr que sur les formes mobiles munies de flagelles. Un sérotype peut avoir 1, 2 ou 3 Ag H différents et sera alors mono, di ou triphasique.
- **L'antigène Vi ou antigène virulence :** ne se rencontre que sur certaines salmonelles. Il est thermolabile et masque l'Ag O (Villate & Gavard-Gongallud, 2000).

I.2.2.2 classification clinique

- **Les salmonelloses majeurs**

La fièvre typhoïde et paratyphoïde, ces affections ont régressé dans les pays industrialisés grâce aux progrès de l'hygiène, il n'en est malheureusement pas de même dans les pays en voie de développement. C'est l'antigène de paroi (Ag O) qui est responsable du syndrome typhique par choc endotoxique (Villate & Gavard-Gongallud, 2000). Ils constituent des septicémies graves chez n'importe quel individu (Gentilini & al, 2012).

- **Les salmonelloses mineurs**

(Non typhique) dues à de nombreux autres sérotypes de salmonelloses (Gentilini & al, 2012), qui entraînent des affections variées en aviculture et des gastroentérites infectieuses plus ou moins graves, voir mortelles en pathologie humaine (Villate & Gavard-Gongallud, 2000). Sont plus souvent à l'origine de manifestations digestives bénignes dans un contexte

de toxi-infection alimentaire chez le patient immunocompétent mais peuvent aussi provoquer des septicémies graves chez les immunodéprimés, les enfants en bas âge et les personnes âgées (Gentilini & al, 2012).

Il existe encore d'autres techniques pour poursuivre le classement des types de *Salmonella*, telles que la lysotypie, l'analyse plasmidique, le typage d'ADN, etc. Ces techniques ont leur utilité pour les analyses épidémiologiques, car on peut par exemple de cette manière déterminer quels sont les types présents /persistants dans une exploitation, ainsi que le lien entre les types présents dans les exploitations et ceux observés dans les abattoirs, etc. Ces techniques sont également utilisées sur les souches qui ne peuvent pas être caractérisées selon le schéma de Kaufmann-White-Le Minor (Pierre, 2013).

I.2.3 Commensalité et pathogénicité de *salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries c'est-à-dire des hôtes normaux du tube digestif des animaux et de l'homme, exceptées *Salmonella Typhi* et *Salmonella paratyphi* A et B qui sont des parasites de l'intestin (Villate & Gavard-Gongallud, 2000). La plupart des quelque 2600 sérovars de *Salmonella* ne sont pas pathogènes au sein de leur hôte naturel (Denis & al, 2011).

La quasi-totalité des sérotypes pathogènes pour l'homme et les animaux à sang chaud fait partie de l'espèce *S.choleraesuis* sous-espèce (*enterica*). Cette sous espèce comprend plus de 2500 sérotypes (sérovars) différents, identifiés sur la base des antigènes somatiques (O), capsulaires (Vi) et flagellaires (H) (Villate & Gavard –Gongallud, 2000).

Parmi les sérovars pathogènes :

- *Salmonella* (*Typhi*, *Paratyphi* A, *Paratyphi* B et *Paratyphi* C) sont à l'origine des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (Denis & al, 2011), suite à la consommation d'eaux ou d'aliments contaminés, principalement dans les PVD.

-*Salmonella* *Thyphimurium*, *salmonella* *Enteridis* sont fréquemment rencontrées et sont agents de gastro-entérites lors de toxi-infections alimentaires individuelles (TIA) ou collectives (TIAC) (Delarras, 2010).

- **Mécanisme de virulence**

Salmonella est internalisée dans les cellules épithéliales en culture au sein de projections membranaires. Il a donc été suggéré que les effecteurs de l'entrée de *Salmonella* pourraient reconnaître des déterminants communs à une variété de récepteurs, dont le récepteur de l'EGF, qui stimuleraient des voies de signalisation variables avec la lignée cellulaire et le type de récepteur impliqués (Menard & Sansonetti, 1996).

L'interaction avec les cellules phagocytaires, en particulier avec les macrophages des dômes folliculaires, constitue le véritable carrefour qui va déterminer le profil évolutif ultérieur de l'infection. *Salmonella* pénètre et survit dans le macrophage pour infecter le parenchyme d'organes à distance, notamment le foie et la rate (Menard & Sansonetti, 1996).

I.2.4 Physiopathologie et symptomatologie de *Salmonella*

Deux pathologies reliées à *Salmonella enterica* sont de grandes importances en matière de santé publique mondiale et seront décrites en détail : la fièvre typhoïde et paratyphoïde et la gastro-entérite (Sabbagh, 2013).

I.2.4.1 La fièvre typhoïde et paratyphoïde

- **Transmission**

La fièvre typhoïde se transmet toujours d'individu à individu, bien que la transmission puisse parfois se faire à travers l'eau ou la nourriture (Schechter & al, 1999). Au cours des siècles passés, la maladie apparaît en grandes épidémies. La période d'incubation est de 10 à 14 jours l'entrée de la bactérie dans l'intestin grêle (Lanzing & al, 2010).

- **Physiopathologie**

La fièvre typhoïde (une fièvre entérique), dont l'agent causal est le sérovar *Typhi*. De plus, *S. Paratyphi* A, B et C sont responsables de la fièvre paratyphoïde : une fièvre entérique moins fréquente que la fièvre typhoïde dans les régions en développement, mais cliniquement similaire (Sabbagh, 2013). Les germes ingérés ne provoquent pas de réaction inflammatoires dans l'intestin (figure 05), ils traversent la muqueuse intestinale au niveau de l'iléon terminal, sont ingérés par des macrophages des tissus sous-muqueux et rejoignent les ganglions mésentériques locorégionaux, où s'effectue une première multiplication (bactériémie primaire transitoire), dans les 24 heures qui suivent l'ingestion (Gentilini & al, 2012).

Les bactéries colonisent l'intestin grêle, pénètrent dans l'épithélium et se répandent dans le tissu lymphoïde, le sang, le foie et la vésicule biliaire (Lanzing & al, 2010).

Suite à une nouvelle multiplication bactérienne dans ces organes, d'énormes quantités de bactéries pénètrent dans la circulation sanguine (bactériémie secondaire), correspondant au début des symptômes cliniques (période d'incubation de 8 à 14 jours) peu d'organes échappent à l'invasion bactérienne pendant cette bactériémie secondaire, qui persiste durant la majeure partie de la maladie clinique (Gentilini & al, 2012).

La vésicule biliaire est vraisemblablement infectée à partir du foie. La cholécystite qui s'ensuit est en général subclinique mais la bile infectée est responsable des cultures de selles positives, et d'une possible « ré-invasion iléale ». Les plaques de Peyer, quant à elles, peuvent être infectées lors de la bactériémie primaire, secondaire, et lors du passage subséquent de bile infectée (Gentilini & al, 2012).

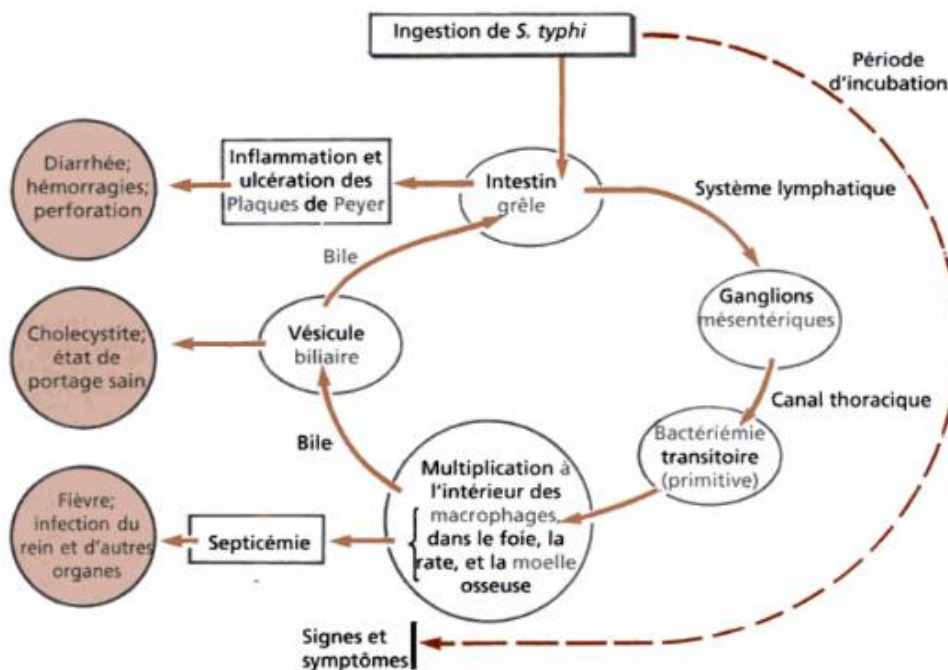


Figure 05 : Pathogénie de la fièvre typhoïde (Schechter, & al 1999).

- **Symptômes**

Les symptômes comprennent de la fièvre, des céphalées, des douleurs abdominales, de l'anorexie et des malades durant plusieurs semaines. La plupart des individus n'éliminent plus de bactéries dans leur selle après environ 3 mois. Cependant, quelques individus continuent à éliminer *S.typhi* pendant des périodes prolongées sans manifester de symptômes. Chez ces porteurs, les bactéries continuent à se multiplier dans la vésicule biliaire et atteignent l'intestin par le canal biliaire (Lanzing & al, 2010).

I.2.4.2 gastro-entérites

- **Transmission**

Les salmonelles responsables de diarrhées, qui ne sont pas adaptées à un hôte particulier, sont fréquemment transmises comme une zoonose par la chaîne alimentaire (Schechter & al, 1999) moins souvent par voie oro-fécale (Pellegrini, 1994). La durée de l'incubation d'une telle gastroentérite habituellement à salmonelle non typhoïdienne est de 6 à 72 heures (Geubelle, 2006).

- **Physiopathologie**

Les gastro-entérites sont généralement causées par les sérovars *Typhimurium* et *Enteritidis* (figure 06), d'autres sérovars peuvent cependant engendrer cette pathologie (Sabbagh, 2013). C'est une invasion de la muqueuse de l'intestin grêle et du colon, parfois pénétration dans le sang avec septicémie. La dose infectieuse est généralement très élevée, de l'ordre de plus de 100.000 bactéries. Cependant, dans certains aliments (le chocolat), la dose infectieuse est atteinte dès la présence de quelques dizaines de bactéries (Geubelle, 2006).

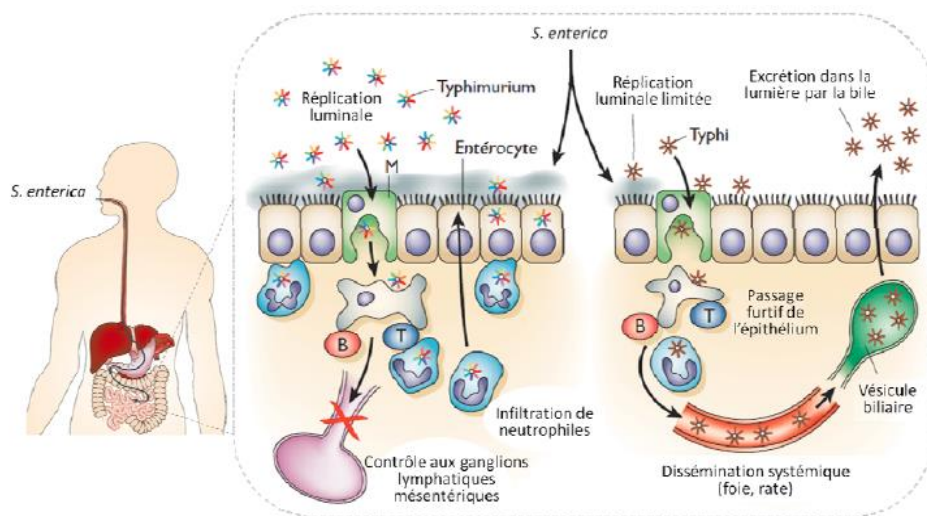


Figure 06 : Schéma comparatif de l'infection localisée et de l'infection Systémique causées par *Salmonella* (Sabbagh, 2013).

- **Symptômes**

Ces salmonelloses ou gastro-entérites se manifestent par des diarrhées, des vomissements et de la fièvre qui apparaissent 8 à 10 heures après l'ingestion d'un aliment contaminé (Delarras, 2010). Les facteurs prédisposant sont une acidité gastrique diminuée (résection gastrique, antacides et achlorhydrie), ainsi qu'une résistance générale diminuée (SIDA) (Pellegrini, 1994). Chez les jeunes nourrissons la gastroentérite à Salmonelles non-typhoïdiennes peut être accompagnée de bactériémie (avec un risque de septicémie) (Geubelle, 2006).

I.2.4.2.1 Aortites à salmonelles

- **Physiopathologie**

Cinq pour cent des gastro-entérites à salmonelles non *typhi* se compliquent d'une bactériémie. Parmi ces bactériémies le taux d'infection vasculaire à salmonelle est de 10 à 40 %. Ce risque d'infection vasculaire est surtout présent après 50 ans et presque nul en dessous de cet âge. L'atteinte aortique est beaucoup plus fréquente que l'atteinte des artères périphériques. Elle intéresse dans 83% des cas l'aorte abdominale et l'aorte thoracique dans les 17 % restants. Elle survient toujours sur une paroi artérielle lésée par l'athérosclérose (Prendergast & al, 2002 ; Song & al, 2003).

L'âge moyen des patients atteints d'aortite à salmonelles est de 61 ans. Ces infections touchent plus l'homme que la femme (Prendergast & al, 2002 ; Eggbrecht & al, 2004). Le délai diagnostique après l'apparition des premiers symptômes peut d'ailleurs être prolongé, évalué à 38 jours en moyenne, avec des extrêmes allant de 1 à 240 jours (Rousseau & al, 2009).

- **Symptômes**

La seule symptomatologie présente est souvent la fièvre. Elle est retrouvée dans 75% des cas les autres signes rencontrés sont les frissons, les sueurs, les douleurs dorsales, thoraciques et abdominales. Les signes de gastroentérites sont peu fréquents, même si la salmonelle est retrouvée à la coprocultures (Rousseau & al, 2009).

I.2.5 Toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

La TIAC est définie comme la survenue d'au moins deux cas similaires d'une symptomatologie dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Elle fait partie des maladies à déclaration obligatoire soit par le médecin qui a établi le diagnostic, soit par le principal occupant des locaux où les aliments suspects ont été ingérés (Schlienger, 2011).

La consommation de l'aliment dans lequel le nombre de *Salmonella* aura atteint au moins 10^6 germes par gramme entraînera une toxi-infection dont les signes cliniques variables en fonction de l'espèce et de l'âge et de l'état physiologique du consommateur apparaîtront entre 5 et 72 h après l'absorption. Ils sont caractérisés par une diarrhée, des douleurs abdominales, des frissons, de la fièvre, des vomissements, un état de prostration, une anorexie, une céphalée, des malaises. Une entérite ou une infection localisée surviennent parfois. Ces signes cliniques persistent généralement quelques jours, les enfants et les personnes âgées sont particulièrement sensibles à cette toxi-infection (Cuq, 2007).

Plus de 80 % des patients guérissent spontanément en trois jours. Les trois principaux agents responsables de TIAC sont les salmonelles, le *Clostridium perfringens* et le staphylocoque doré (90 % des TIAC). Une diarrhée glaireuse ou sanglante survenant après 12 ou 24 h de l'ingestion d'un aliment contaminé suggère une infection par des germes invasifs alors qu'une diarrhée aqueuse survenant quelques heures après est en faveur d'un mécanisme toxique (Schlienger, 2011).

I.2.6 Les infections extra-intestinales

Les sérovars « mineurs » peuvent cependant être responsables de rares infections extradigestives (infections ostéoarticulaires, septicémies voire méningites) de type opportuniste sur certains terrains favorisant (drépanocytose, immunodépression, période néonatale) (Denis & al, 2011).

I.2.7 Diagnostic

Le diagnostic est posé par les hémocultures qui sont positives dans 85% des cas. En cas de négativité, la coproculture peut être d'une certaine aide en retrouvant une salmonelle (Rousseau & al, 2009).

Une Salmonelle non typhique est identifiée dans les selles d'un enfant qui présente une gastro-entérite et de la diarrhée, il n'est pas nécessaire d'analyser les selles de son entourage dans le milieu d'accueil, en l'absence de symptômes. Il est inutile de donner des antibiotiques au patient sauf s'il est âgé de moins de trois mois (Geubelle, 2006).

I.2.8 Les moyens thérapeutiques

I.2.8.1 Les médicaments

L'antibiothérapie, qui n'est pas sans inconvénients puisqu'elle peut prolonger le portage asymptomatique de *Salmonella* ou favoriser l'émergence de souches résistantes, est en principe à réserver aux formes graves comportant des manifestations générales (Schlienger, 2011). Chez le patient, l'antibiothérapie n'influence pas la durée de la maladie, ni la durée de la présence de Salmonelles dans les selles après la période aiguë de l'affection, chez le porteur sains elle prolonge la durée de la période d'excrétion de la bactérie (Geubelle, 2006).

Les traitements par ceftriaxone, triméthoprime-sulfaméthoxazole ou ampicilline ont réduit les taux de mortalité à moins de 1% (Lanzing & al, 2010). Les mesures prophylactiques les plus efficaces sont la purification de l'eau potable, la pasteurisation du lait, la défense imposée aux porteurs de manipuler des denrées alimentaires et l'isolement complet des malades (Lanzing & al, 2010).

I.2.8.2 Les vaccins

Il existe deux types de préparations vaccinales : l'une a un principe actif est le polysaccharide de *S. Typhi*. Le vaccin polysaccharidique s'administre en une injection avec revaccination tous les 3 ans. Il est indiqué à partir de l'âge de 2 ans. Il confère un taux de séroprotection de 95 % dès J14 qui diminue avec le temps : 75% et 60% respectivement à M12 et M24. L'efficacité clinique est de l'ordre 60% et 70%. La vaccination peut être conseillée aux personnels de laboratoire et aux personnels de santé (Pichard, 2002).

L'autre préparation utilise une souche mutante ty21a de *S. typhi*. C'est un vaccin vivant, présenté en capsule gastro-résistante, administré par voie orale en trois doses à 2 jours d'intervalle. L'immunité apparaît 7 jours après la dernière dose et peut persister plusieurs années en zones d'endémie (67% à 7 ans). Ces deux vaccins sont bien tolérés, mais ils ne sont pas recommandés avant l'âge de 2 ans (Gentilini & al, 2012).

Etude bibliographique

Chapitre II *Pouvoir thérapeutique des plantes* *médicinales*

II.1 Les plantes médicinales

La phytothérapie utilise les plantes médicinales pour guérir ou prévenir les maladies ; c'est une thérapeutique utilisée par les peuples du monde entier depuis l'origine de l'humanité (Chemouny, 2012). Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont « au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses » (Vercauteren, 2011). Une plante n'est pas une « recette magique » dotée d'une action unique, mais un ensemble complexe pourvu de principes actifs qui ont une influence sur les différents systèmes de régulation du corps (Iserin & al ,2001).

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels .L'expérience du praticien combinée à celle du patient est souvent le guide le plus sûr pour connaître l'effet thérapeutique des plantes entières ; ensuite, que la valeur d'une plante médicinale ne peut être limitée à la liste de ses principes actifs (Iserin & al 2001).

II.2 Les principaux composés actifs des plantes médicinales

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites secondaires, classés en plusieurs selon leurs voies biosynthétiques et leurs caractéristiques structurales (Daayf & Vincenzo, 2008). Contrairement au produit du métabolisme primaire, qui sont communs à toutes les plantes, le profil chimique des composés secondaires varie énormément et est considéré comme résultat des pressions évolutives auxquelles sont soumises les différentes espèces de plantes (figure 07). On classe généralement ces différents composés en deux groupes selon la voie de biosynthèse, les composés phénoliques d'un coté et les composés azotés comme les alcaloïdes, les glycosides et les terpénoïdes de l'autre (Sauvion & al ,2013) Cependant, on peut aussi les diviser en quatre groupes :

- ✓ **Les terpénoïdes et stéroïdes :** Comme les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les saponines, les limonoïdes, les cucurbitacines, les cardénolides, les caroténoïdes, les phytoecdystéroïdes.
- ✓ **Les alcaloïdes**
- ✓ **Les composés phénoliques :** Comme les acides phénoliques, les flavonoïdes (Incluant les tanins), les quinones)
- ✓ **Les glycosides :** Incluant les glucosinolates et les glycosides cyanogéniques (Sauvion & al ,2013).

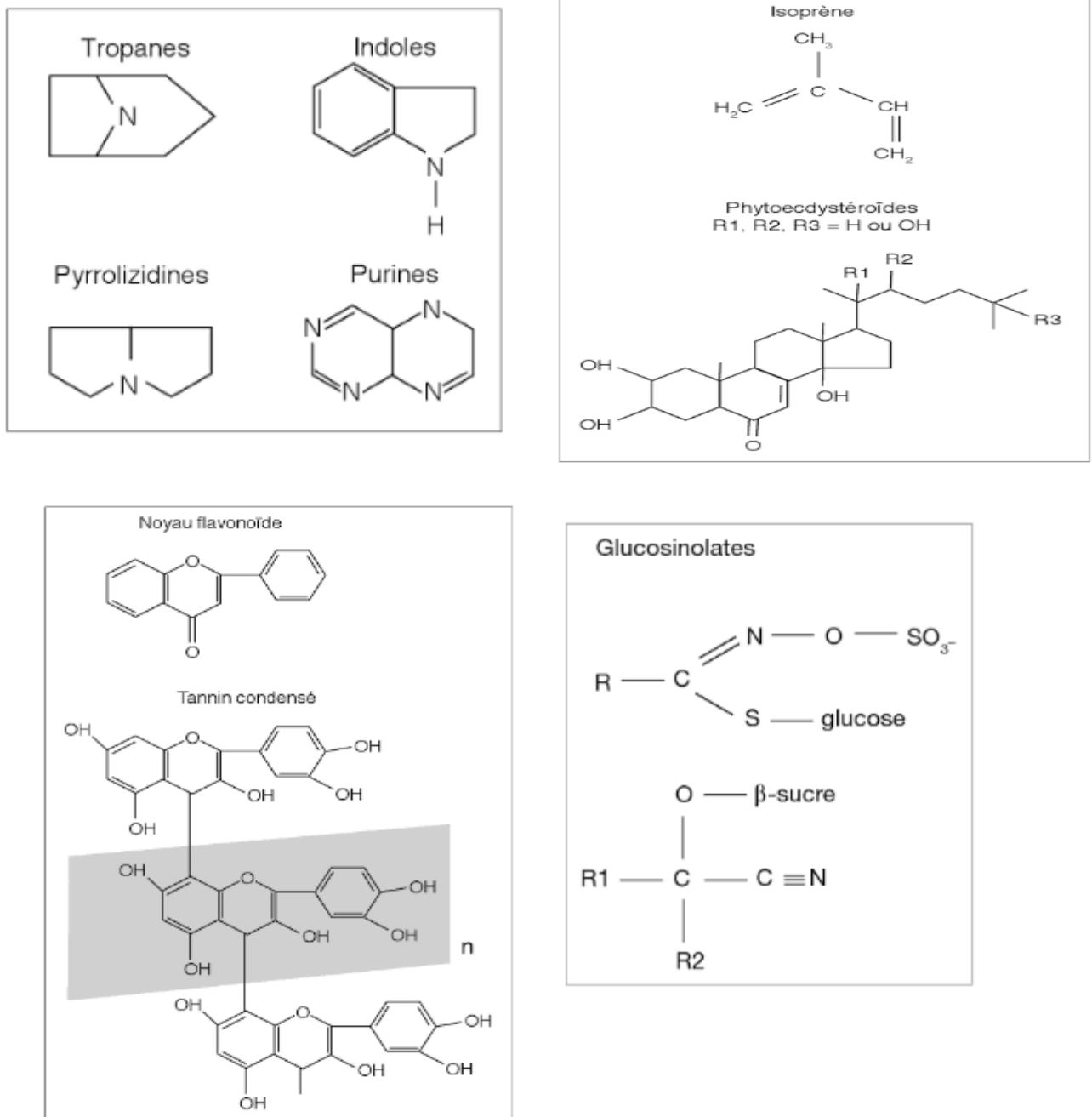


Figure 07 : Structure chimique des principaux composés secondaires (Sauvion & al ,2013).

II.2.1 Les terpénoïdes et stéroïdes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblages (Hopkins, 2003).

Les terpénoïdes se classent en fonction du nombre d'unités d'isoprène qui les constituent. (Sauvion & al, 2013).

La formation de structures cycliques, l'addition de fonction comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes.

La famille des terpènes comprend des hormones (gibbérellines et acide abscissique), des pigment caroténoïdes (carotène et xanthophylle), des stérols (par exemple : ergostérol, sitostérol, cholestérol), des dérivés de stérols par exemple (des hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum ou leur goût (Hopkins, 2003).

II.2.1.1 Huiles essentielles (HE) ou Essences

Les huiles essentielles sont des corps aromatiques généralement volatils, retirés du règne végétal ou on les rencontre soit préformés, soit combinés, par exemple sous forme d'hétérosides ; dans ce cas, les huiles essentielles sont « libérées » par l'action d'un ferment sur l'hétéroside ou simplement par l'action de la vapeur et de la chaleur au cours de la distillation. Parmi les innombrables substances présentes dans les huiles essentielles, on rencontre :

- Des carbures terpéniques (limonène, phellandrène)
- Des carbures saturés, des alcools (bonéol, menthol)
- Des phénols (thymol, carvacrol, eugénol),
- Des aldéhydes (benzoïque, cinnamique, citral),
- Des cétones (camphre, thuyone), des esters (acétate de linalyle, de gyanyle),
- Des composés sulfurés (Duraffourd & Lapraz, 2002).

II.2.1.2 Saponosides

Les saponosides sont des terpènes glycosylés, ils peuvent être des stéroïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques, la combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confère aux saponosides des propriétés tensioactives ou de détergent qui lorsqu'ils sont agités avec de l'eau, produisent une mousse savonneuse.

Les saponosides ont un goût amer et acide et provoquent, une fois ingérés, d'importantes irritations gastriques. S'ils sont injectés dans le circuit sanguin, ils provoquent l'hémolyse des globules rouges c'est sans doute une conséquence de leurs propriétés de détergents et de leur capacité générale à rompre les membranes (Hopkins, 2003).

II.2.2 Les alcaloïdes

La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910 « Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose ».

Représentant un groupe fascinant de produits naturels (Beddou, 2015). Ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures (Beddou, 2015).

Les alcaloïdes ou des extraits qui en renferment ont été utilisés comme médicaments, relaxants musculaires, analgésiques, tranquillisants et psychotropes. Tous les alcaloïdes possèdent une activité biologique et certains sont fortement toxiques, par exemple la nicotine.

Beaucoup d'alcaloïdes possèdent des propriétés antibiotiques, ce qui suggère qu'ils constituent un moyen de défense contre les infections microbiennes (Hopkins, 2003).

II.2.3 Les polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par les plantes et constituent un groupe important de substances naturelles présentes dans le règne végétal (Massaux, 2012).

Les termes «phénol» et «polyphénol» peuvent être définis chimiquement comme les substances qui possèdent un cycle aromatique portant un (phénol) ou plus (polyphénol) à un substituant hydroxyle (Daayf & Vincenzo, 2008).

A ce jour, les scientifiques en ont identifié plus de 8000, allant de molécules simples à des composés hautement complexes. Ils sont regroupés en différentes classes aux noms : silybins, d'acides cinnamiques, d'acides benzoïques, de flavonoïdes, de lignines et de lignanes, de coumarines, de stilbènes, de tanins... (figure8) (Massaux, 2012).

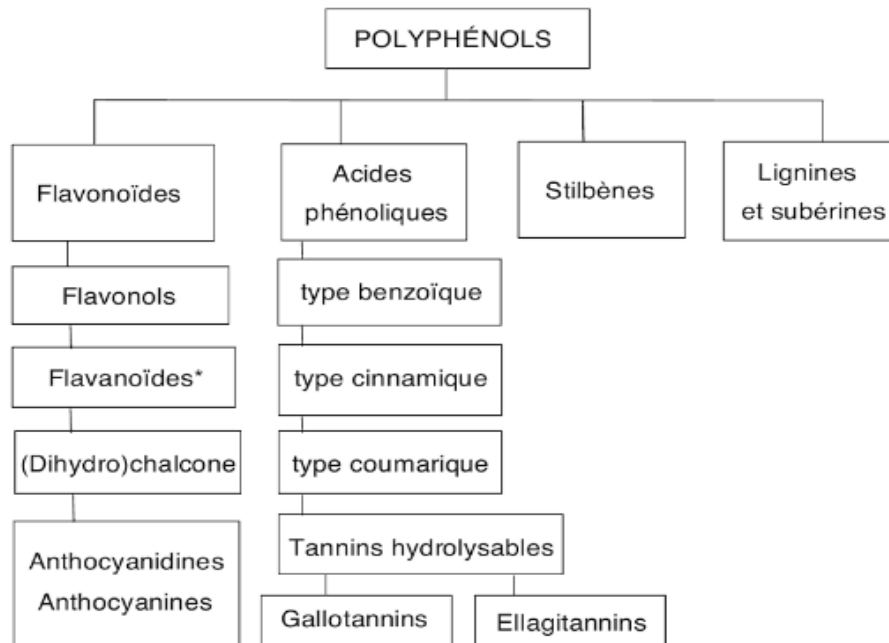


Figure 08: Différents familles des polyphénols (Collin & Crouzet, 2011).

La recherche biomédicale a révélé que les phénols alimentaires, en raison de leur propriété antioxydant et de balayage les radicaux libres jouent un rôle important dans la prévention d'un grand nombre des maladies chroniques (Daayf & Vincenzo, 2008).

Des études épidémiologiques permettant de soutenir l'idée que les régimes riches en phénols (dérivés des fruits et légumes) sont associées à des risques plus faibles de cancer, l'ostéoporose, les maladies cardiovasculaires, les cataractes et les maladies associées au dysfonctionnement immunitaire.

En outre, les composés phénoliques, qui constituent les substances actives Trouvés dans les extraits de plantes médicinales couramment utilisés, modulent l'activité de l'amplitude des enzymes et des récepteurs cellulaires (Daayf et Vincenzo, 2008).

II.2.3.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents identifiés dans le règne végétal. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun, (Massaux, 2012) de base à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane. (Bruneton, 2009).

En fonction du nombre et de la structure chimique des carbones constitutifs ainsi que sur base de la nature des substituants, les flavonoïdes sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes (Massaux, 2012).

Ils sont entre autre et pour certains, responsable de la coloration des fleurs dont le pouvoir attracteur conditionne la pollinisation entomophile .tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aures, favonols jaunes) ou celui des anthocyanosides rouges ou mauves .ils peuvent aussi participer a la résistance des végétaux aux maladies (Bruneton, 2009).

Les flavonoïdes ont un caractère réducteur (électron-donneur d'hydrogène), Cette propriété en grande partie sous la tendance des propriétés antioxydantes in vitro bien connues des flavonoïdes, c'est-à-dire leur aptitude à réduire rapidement les espèces réactives d'oxygène ou d'azote (ROS / RNS) surproduit dans les conditions inflammatoires qui accompagnent fréquemment le développement de pathologies chroniques (stress oxydatif), ou de régénérer des amphiphiles endogènes (Daayf & Vincenzo, 2008).

II.2.3.2 Les anthocyanidines

Les anthocyanidines sont largement répandus chez les fruits tropicaux sous forme de dérivés glycosylés encore appelés anthocyanines ou anthocyanes (Collin & Crouzet, 2011).Des études plus récentes ont rapportés des mécanismes anti-inflammatoires tels que l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et l'activité de la prostaglandine synthase cyclooxygénase.

Les anthocyanes affectent la perméabilité des capillaires sanguins et inflammatoires des articulations. La propriété des anthocyanines de diminuer la fragilité Et la perméabilité des capillaires sanguins est également commun à d'autres flavonoïdes et était à l'origine identifié par Albert Szent-Györgyi, qui a inventé le terme Vitamine P pour les composés qui réduisent la perméabilité capillaire (Daayf & Vincenzo, 2008).

II.2.3.3 Les tanins

Les tanins sont des polyphénols de structure complexe, avec une activité antioxydante très puissante due au piégeage d'O₂ grâce aux différents groupes phénoliques. Les deux familles les plus importantes sont les gallotanins et les ellagitanins (Bouguerne, 2012). Quelques tanins ellagiques s'opposent à la mutagénicité de certains cancérigènes et à la transplantation de tumeurs (par stimulation des mécanismes immunitaires). Des effets inhibiteurs de la réplication des virus ont été décrits in vitro : inhibition de l'adsorption du virus sur les cellules et inhibition de la transcriptase inverse par des dimères procyanidoliques et des dérivés galliques (Bruneton, 2009).

II.2.4 Les glycosides

Les glycosides sont des molécules constituées d'une fonction glucidique associée à divers autres types de molécules. Beaucoup de plantes stockent ces glycosides sous une forme inactive. Ces molécules sont constituées de 2 parties distinctes : le glycone, qui correspond aux groupements glucidique (constitué d'une ou plusieurs fonctions glucidiques), et l'aglycone qui est la partie non glucidique de la molécule. Les glycosides peuvent être classés selon la fonction chimique de la partie aglycone (Sauvion, 2013).

Les glycosides tonocardiaques, inhibiteurs de la Na⁺-K⁺ATPase sont produits par de nombreuses plantes. Des stéroïdes cardiotoniques sont utilisés pour accroître la force contractile du muscle cardiaque, pour ralentir le rythme de ses pulsations, et rétablir le fonctionnement (régulariser) du cœur lors de la fibrillation auriculaire. L'inhibition de la pompe à sodium cardiaque accroît la concentration intracellulaire de l'ion sodium, ce qui stimule l'échange Na⁺ Ca²⁺ avec pour conséquent la sortie du Na⁺ et l'entrée de Ca²⁺, stimule la contraction musculaire (Reginald & al, 2000).

II.3 Monographie des plantes étudiées

II.3.1 *Juniperus phoenicea*, L.

Nom vernaculaire : Genévrier de Phénicie, Genévrier rouge, Genévrier de Lycie, le Thuya

Nom arabe : Ar'ar'.

Nom berbère : Aghagh, Taqa, Tawrirt, (Ait Youssef, 2006 ; Quezel & Gast ,1998).

II.3.1.1 Habitat

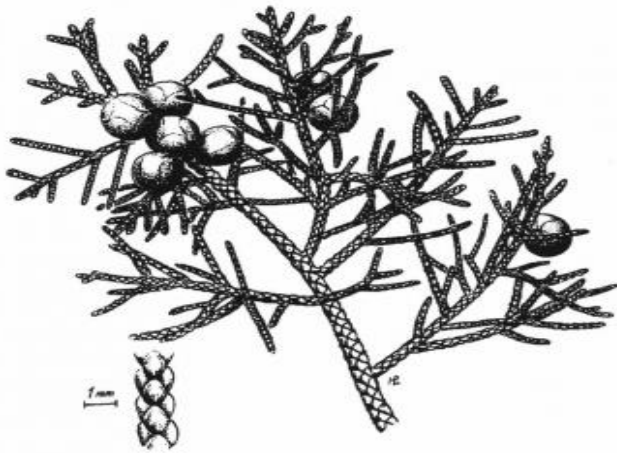
Le genévrier de Phénicie ou genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.). C'est certainement l'espèce la plus répandue en Afrique du Nord où elle est présente depuis les dunes littorales jusqu'aux limites sahariennes. Généralement, les peuplements de genévriers de Phénicie sont constitués par des arbustes de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres, notamment sur les Hauts Plateaux. (Quezel & Gast ,1998).

La série du *juniperus phoenicea* apparaît dans la partie supérieure de la zone aride avec des précipitations moyennes généralement supérieurs 250 mm ; on peut quelquefois en trouver des vestiges dans des zones de pluviométrie moyenne allant jusqu'à 160-200 mm sur des collines ruellées, plus ou moins isolées en raison de difficultés d'accès ou de l'insuffisance permanente des recoures en eau .la surface occupé par ce type de garrigue et de quelque 15000 km² dont 5500 en Tunisie.6000 en Algérie.200 au Maroc et 1500 en Libye (Le Heouerou ,1980).

II.3.1.2 Description botanique

Généralement, les peuplements de genévriers de Phénicie sont constitués par des arbustes de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres, notamment sur les Hauts Plateaux (Quezel & Gast ,1998). Les feuilles sont presque toutes squamiformes, en écailles très petites et courtes, à bords cartilagineux finement denticulés, serrées contre les rameaux. Les ramilles sont lisses au toucher (Cassan & al ,2009).Les cônes ayant l'apparence de baies, par soudure des écailles entre elles, ils sont brun rouge brillant à maturité (au bout de 2 ans), d'environ 6-10mm de diamètre.les graines sont 6 à 9 par cônes (figure 09).

Le genévrier de phénicie n'est pas dioïque mais généralement monoïque. (Botineau, 2015). La floraison a lieu en hiver-printemps. Les parties utilisées sont les feuilles et les fruits de baies (Molino, 2005).



D'après (Quezel & Gast,1998)



Photo (2017)

Figure 09 : *Juniperus phoenicea*, L.

II.3.1.3 Classification botanique

La classification botanique de la plante *Juniperus phoenicea*, L, est présentée dans la figure 10.

| | |
|-----------------------------|------------------------------|
| Règne : | Plantae |
| Embranchement : | Spermatophytes |
| Sous-embranchement : | Gymnospermes |
| Ordre : | Pinales |
| Famille : | Cupressacées |
| Genre : | Juniperus |
| Espèce : | <i>Juniperus phoenicea</i> . |

Figure 10 : Classification botanique de *Juniperus phoenicea* .D'après Quezel & Santa (1962).

II.3.1.4 Composition chimique

Juniperus phoenicea a une huile essentielle (0,5-2% .min 0,75%) dont l'aspect qualitatif et quantitatif dépend de l'origine de la plante et de la maturité des baies qui sont constitués par :

Une résine, des oligosaccharides (environ 30%), des tanins catéchiques (3-5%), des biflavonoïdes, des leucanthocyanes, des acides alcooliques et un alcool terpénique (sabinol) (Molino, 2005).

IL a permis d'identifier 73 des composés, les composés majoritaires sont l' α -pinène, le Δ^3 -carène, β - phellandrène, le myrcène, linalol-tetrahydroxy-, germacrène-D et β -phellandrenedrene (Ramdani & *al*, 2013).

II.3.1.5 Usage thérapeutiques

Les espèces de *phoenicea* sont utilisées sous la forme de décoctions pour traiter La diarrhée, les rhumatismes. Le mélange de feuilles et de baies de cette plante est utilisé comme agent hypoglycémiant oral, Tandis que les feuilles sont utilisées contre les maladies broncho-pulmonaires et En tant que diurétique (Ramdani & *al*, 2013).

Les lignines de la plante agissent contre le cancer, en plus, la bibliographie mentionne des activités hypoglycémiques, diurétiques et antiseptiques pour les voies urinaires (Molino, 2005). L'huile essentielle du Genévrier Phénicie a des propriétés antimicrobiennes et antifongiques (Molino, 2005).

La décoction de graines de *Juniperus* est utilisée contre les maladies du rein, l'isolement de certains diterpénoïdes présente une activité anti-inflammatoire (Ramdani & *al*, 2013).

II.3.1.6 Toxicité de la plante

La revue internationale de toxicologie (2001) a publié sur l'extrait *Juniperus phoenicea*, un des nombreux extraits de genévrier utilisés comme additifs biologiques dans les produits cosmétiques (Duke, 2008).

Le sabinol présent dans la plante est un irritant puissant et cause des troubles digestifs, neurologiques, cardio-respiratoires et hépatorénaux (Molino, 2005 ; Botineau, 2015).

II.3.2 *Olea europaea*

Nom vernaculaire : L'olivier

Nom arabe : Zitoune, Zebboû(d) ja, Zebboujes (Quezel & Santa, 1962 ; Ait_Youssef, 2006)

Non berbère : Azemmur (Haddadou ,1994).

II.3.2.1 Habitat

L'olivier (*Olea europaea* L.) est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité (Djenane, 2011).

Au Maghreb, l'olivier est caractéristique de l'étage semi-aride et ne se rencontre qu'exceptionnellement dans l'étage subhumide .Il est pratiquement absent des étages arides et humide, sa limite supérieure en montagne dépend de l'humidité, il s'élève jusqu' au 1200 m dans le Tell algérien, mais il atteint 1650 m dans le Haut Atlas qui est plus sec (White, 1986).

II.3.2.2 Description botanique

Arbre à feuillage persistant à tronc grisâtre cannelé (Figure 11) à petites feuilles coriaces, à petites fleurs blanc verdâtre en grappes et à fruits verts ovoïdes devenant noirs à maturité (Iserin & al 2001). Dont en tire une huile de table excellente, l'olive verte ou noire consomme également conservée dans de la saumure (Djerroumi & Nacef, 2013). Il semble que la teneur en principes actifs des feuilles soit plus élevée lorsque celles-ci proviennent de l'espèce sauvage (Iserin & al, 2001).



D'après (Quezel & Santa, 1963)



Photo (2017)

Figure 11 : *Olea europaea*, L.

II.3.2.3 Classification botanique

La classification botanique de la plante *Olea europaea*, L, est présentée dans la figure 12.

| | |
|----------------------|----------------------|
| Règne : | Plantae |
| Sous-règne : | Tracheobionta |
| Division : | Magnoliophyta |
| Classe : | Magnoliopsida |
| Sous-classe : | Asteridae |
| Ordre : | Scrophulariales |
| Famille : | Oleaceae |
| Genre : | <i>Olea</i> |
| Espèce : | <i>Olea europaea</i> |

Figure 12 : Classification botanique d'*Olea europaea*, L. D'après Aouidi (2012).

II.3.2.4 Composition chimique :

Olea europaea, L. est une source riche d'une variété des triterpénoïdes pentacycliques, y compris l'acide oléaolique, l'acide maslinique, l'érythrodiol et l'uvaol, ont montré de nombreux effets biologiques. Ce sont les triterpénoïdes les plus abondants dans la fraction insaponifiable de l'huile d'olive vierge. (Preedy et Wastson, 2010). On note également la présence de triterpènes, d'acides phénols (acide caféique), de verbascoside et de flavonoïdes, 7-O-glycosides de l'apigénol et du lutéolol et rutoside. (Bruneton, 2009). La feuille d'olivier est caractérisée par la présence de plusieurs sécoiridoïdes :

- Oleuropéoside (ester de l'hydroxytyrosol, majoritaire, 60-90mg/g).
- 11-diméthyle-oleuropéoside, diester méthylique (7.11) de l'oléoside.
- Ligstroside, oleuroside et aldéhydes séco-iridoïdiques non hétérosidiques (oléacéine).

II.3.2.5 Usages thérapeutiques

Les feuilles abaissent la tension artérielle et améliorent la circulation. Légèrement diurétiques, elles peuvent être utilisées pour soigner les cystites. Capables de réduire le taux de glucose dans le sang, elles sont conseillées aux diabétiques. L'huile équilibre le taux de graisse dans le sang. Elle exerce une action protectrice sur l'appareil digestif et sur les peaux déshydratées (Iserin & al 2001).

Les qualités de l'huile d'olive sont innombrables .on se contentera de citer ses vertus fortifiantes, laxatifs ainsi que sa capacité à préserver des troubles circulatoires et par la-même, à prévenir les accidents cardiovasculaires (Djerroumi & Nacef, 2013).

L'extrait de feuilles d'olivier montre une :

- **Activité antioxydante et anticancéreux**

L'extrait de feuilles d'olivier, connaître ses propriétés antioxydantes, apparaît comme ingrédient dans de nombreux produits de beauté peuvent aussi hydrater et nettoyer la peau .Parmi les avantages attribués à l'application topique de L'extrait de feuilles d'olivier est une réduction des dommages à la peau causés par le rayonnement UVB Dans de plus, des études réalisées à l'extrait de feuilles d'olivier sec montrent qu'il est très prometteur pour la prévention ou le traitement du cancer de la peau, y compris le mélanome. Les propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires de l'extrait de feuilles d'olivier font une étoile montante dans les traitements de l'acné de la peau (Barrett ,2015).

- **Activité antibactérienne et antivirale**

L'extrait de feuilles d'olivier est très efficace comme agent antiviral et antibactérien. Non seulement les composants spécifiques de cette plante «tue» les envahisseurs pathogènes, mais stimule la fonction du système immunitaire plus efficacement pour lutter contre ces microbes.

C'est très important pour certains problèmes de santé causés ou aggravés par des infections très communes comme : le rhume, la grippe, les otites, les sinusites, les boutons de fièvre, certaines formes de diarrhée, la pneumonie, la méningite, l'amygdalite, l'intoxication alimentaire etc. (Ritchasond ,1999). L'extrait de feuille d'olivier (*Olea europaea*) est une version moderne d'un remède traditionnel employé pour prévenir la fièvre dans les pays méditerranéens (Saunders & al ,2005).

II.3.2.6 Toxicité de la plante

Les observations cliniques chez l'humain sont rares, anciennes, d'une méthodologie sommaire et peu probantes. Malgré cela et en dépit d'une toxicité peu étudiée, les adeptes de la phytothérapie ont volontiers recours à la feuille de l'olivier pour aider à maintenir un niveau de pression artérielle raisonnable. La faible stabilité des iridoïdes les conduit à préférer les formes stabilisées. Des émulsions d'oleuropéside semblent réduire l'érythème cutané du aux UVB (Bruneton, 2009).

II.3.3 *Urtica dioica*

Nom vernaculaire : Grande ortie, Ortie dioïque, Ortie piquante.

Nom arabe : Horraig.Hariq, Bout en nar

Non berbère : Azegduf (Ait Youssef, 2006 ; Quezel & Santa, 1962).

II.3.3.1 Habitat

Une plante commune dans toutes les régions tempérées du monde, originaire d'Europe et d'Asie mais largement naturelles. (Hickey & King ,1988) Les orties poussent dans les ravins frais des montagnes bien arrosées. (Djerroumi & Nacef, 2013). Commune autour des habitations, dans les décombres et les fossés, (Allais,2009) dans les stations riches en nitrate. Djurdjura, Atlas de Blida, Miliana, Akfadou (Djerroumi & Nacef, 2013).

II.3.3.2 .Description botanique

L'ortie dioïque est herbacée mais vivace, de 60 à 120 cm de haut, Les parties souterraines sont constituées par des rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur et de longues racines de 1 à 5 mm d'épaisseur portant d'autres racines plus fines. Une tige à fleur de sol, rampante et ramifiée, produit chaque année des rejets, Ces rejets ont une tige quadrangulaire, dressée, portant des feuilles opposées, vert sombre, à fortes dents triangulaires (Allais,2009) (Figure 13). Les fleurs dioïques parfois monoïques de 4 à 15 cm sur 2 à 8 cm de large, en grappe rameuses bien plus longue que le pétiole (Beloued, 2009). Ces feuilles sont ovoïdes, acuminées et recouvertes de poils urticants et hérissés .Les poils se composent, à la base, d'un bulbe renflé auquel fait suite une longue cellule creuse terminée par une pointe recourbée ou globuleuse remplie d'une substance vésicante. L'extrémité de ces poils, très fragile, se brise au moindre contact avec la peau et se vide de sa substance urticante (Allais,2009).



D'après (Quezel & Santa, 1962)



Photo (2017)

Figure 13 : *Urtica dioica*, L.

II.3.3. 3Classification botanique

La classification botanique de la plante *Urtica dioica*, L, est présentée dans la figure 14.

| | |
|-------------------------|------------------------------------|
| Règne : | <i>Plantae</i> |
| Sous règne : | <i>Tracheobionta</i> |
| Super division : | <i>Spermatophyta</i> |
| Division : | <i>Magnoliophyta</i> |
| Classe : | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sous classe : | : <i>Rosidaeae dialycarpellées</i> |
| Ordre : | Urticales |
| Famille : | <i>Urticaceae</i> |
| Genre : | <i>Urtica</i> |
| Espèce : | <i>Urtica dioica</i> L |

Figure 14 : Classification botanique d'*Urtica dioica*, L. D'après Afif Chaouche (2015)

II.3.3.4 Composition chimique

La composition de l'ortie est assez éloquente pour que l'on ne s'étonne pas de ces capacités thérapeutiques : de la chlorophylle en abondance selon Iserin & al (2001) de (10 à 60%) ,des nitrates, tanins, acides organiques, minéraux a foison, oligoéléments dont le fer beaucoup, et le silicium, des vitamines B,C,E,F, et k ainsi que de la provitamine A , des protéines 40% dans ses feuilles et les 8 acides aminés essentiels (Fuinel, 2002).

II.3.3.5 Usages thérapeutiques

La plante active la circulation, élimine l'acide urique soulage l'arthrite, la goutte En cataplasmes, elle est proposé en cas d'eczéma, de brulures ou d'hémorroïde. Les grains étaient administrés contre la tuberculose et pour les poumons après une bronchite (Bremness, 2005). C'est pour son activité sur le sang que l'ortie a toujours été appréciée : hémostatique, dépuratif, régénérateur du sang (Iserin & al 2001 ; Fuinel ,2002).

Il stimule la production de globules rouges, freine les hémorragies internes et calme les hémorroïdes. L'ortie joue également un rôle d'accélérateur dans les échanges métaboliques, il renforce le système immunitaire en stimulant l'activité des glandes endocrines .Il est bien évidemment tonique, c'est la plante de l'énergie .Le sang est un facteur essentiel de l'énergie (Fuinel ,2002).

L'ortie traite aussi l'inflammation de muqueuse de nez (Small & Catling, 2000).Les feuilles stimulent la montée de lait. L'ortie soulage le rhume des foins, l'asthme, les piqûres d'insecte et les démangeaisons, la racine est présente pour traiter l'hypertrophie de la prostate (Iserin & al 2001 ; Asgarpanah & Mohajerani ,2012).

L'extrait de l'ortie montre une :

- **Activité antioxydante et anticancéreux**

L'ortie a montré un effet bénéfique dans le cancer de la prostate par l'inhibition de l'activité de l'adénosine désaminase dans le tissu prostatique. L'extrait aqueux d'ortie a montré une activité anti-proliférative significative contre les cellules cancéreuses du sein par induction de l'apoptose. (Soodabeh ,2015 ; Asgarpanah & Mohajerani ,2012).

L'évaluation des enzymes hépatiques et des histopathologique des tissus du foie ont indiqué que *Urtica dioica* a eu des effets bénéfiques sur le foie, peut être considéré comme un agent de traitement préventif des lésions hépatiques ischémie-reperfusion (Asgarpanah & Mohajerani ,2012).

En outre, l'ortie peut améliorer la toxicité de l'agent chimiothérapeutique. Une étude a révélé une activité hépatoprotective, néphroprotective et antioxydante de l'extrait méthanique d'ortie contre la toxicité du cisplatine chez les souris porcines d'ascites d'Ehrlich. Aussi, il a utilisé comme l'une des CAM les plus courantes pour réduire la toxicité radiologique (Soodabeh ,2015).

II.3.3.6 Toxicité de la plante

Les poils urticants contiennent de l'acide formique, de l'histamine, de l'acétyl choline et de la sérotonine qui irritent la peau en contact (Boullene ,2012).

Une douleur de chaque piqure, résulte, une papule dite « ortiée », avec au centre une rougeur entourée d'une auréole érythémateuse de 1 cm de diamètre, et tout autour une papule œdémateuse irrégulière, avec chaleur locale et prurit ; et en grattant on disperse le produit.

Cette succession de phénomènes caractérisé aussi une maladie de peau, l'urticaire, ainsi nommée parce quelle évoque l'effet de la piqure d'ortie (Botineau, 2010).

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1 Matière végétale

Les plantes ont été cueillies de différentes régions de la wilaya de M'sila durant le mois de Février 2017. Les parties aériennes de chaque plante ont été séchées pendant 15 jours et broyées en poudre.

A partir de chaque plante broyée, on a pesé une quantité de 40g qui était mise dans une cartouche de papier filtre placé dans le siphon de Soxlet.

III.1.2 méthode d'extraction par Soxlet

- **Principe**

L'extraction dans l'appareil appelé Soxlet est toujours considérée comme une technique standard et la principale référence pour la comparaison avec les autres méthodes. (Waksmundzka- Hajnos & al, 2008)

L'échantillon est placé dans un manchon et pendant le fonctionnement est rempli en continu avec une partie fraîche de solvant provenant d'un ballon de distillation. Dans notre travail, on a utilisé 400 ml de méthanol qui lors du chauffage, émet des vapeurs qui passent par le siphon et rentrent dans le réfrigérant en formant des gouttelettes de solvant traversant la plante.

Lorsque le liquide atteint le niveau de débordement, le siphon élimine le soluté de la cartouche et le renvoie dans le ballon de distillation, transportant les analytes extraits par le solvant. L'opération est effectuée jusqu'à ce que l'extraction soit complète pendant 5-6 heures, (Figure 15)



Figure 15 : Extracteur Soxlet

La séparation du solvant de l'extrait est fait à l'aide de l'appareil appelé Rotavapor (BUCHI R-210), .Les extraits secs des 03 plantes sont conservées a 4°C jusqu' a l'utilisation. (Figure 16)



Figure 16 : Evaporation du solvant par Rotavapor

Le protocole expérimental intégral est présenté sur la Figure 17.



Séchage et broyage des parties aériennes des plantes
(*Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica*)



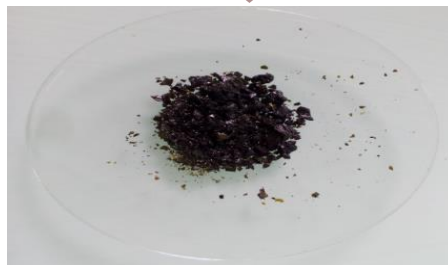
Extraction par un extracteur Soxlet
Solvant (méthanol)



Filtration de l'extrait méthanolique



Evaporation de solvant par Rotavapor



Extrait sec

Figure 17 : Protocole expérimentale d'extraction du matériel végétal

III.1.3 Rendement de l'extraction

Il est calculé par la formule donnée par Falleh & al (2008) :

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

Où :

- **R** : est le rendement en %
- **M ext** : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg
- **M éch** : est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

III.2 Analyse qualitative

III.2.1 Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique de base consiste à effectuer des tests chimiques simples pour détecter la présence d'alcaloïdes, tannins, saponines, anthraquinones, cardénolides, etc., dans un extrait de la plante. Des tests chimiques simples, standards ont été développés pour un tel criblage, mais l'opérateur doit être conscient de la possibilité qu'il ya d'obtenir de faux – positifs (Harbone ,1973).

Les tests phytochimiques se font sur le résidu sec et l'extrait aqueux de la plante qui a été préparé a partir du 5 g de la poudre de chaque plante infusé dans 200 ml d'eau distillée.

III.2.1.1 Alcaloïdes

Deux réactifs sont utilisés : réactif de Mayer et réactif de Wagner qui sont préparés comme suit :

- *Réactif de Mayer* : 5 g de KI et 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.
- *Réactif de Wagner* : 2 g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée.

Ce test se fait par ajout de quelques gouttes de chaque réactif, séparément, aux différents extraits étudiés. L'apparition d'un précipité confirme la présence des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

III.2.1.2 Les composés phénoliques

III.2.1.2.1 Flavonoïdes

Traiter 5 ml de chaque extrait avec quelques gouttes de HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (Laisser agir), la présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (Karumi & al, 2004).

III.2.1.2.2 Saponosides

2 g de poudre de la plante est mélangé à 80 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. On filtre, l'extrait est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 min .La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (Hamidi, 2013).

III.2.1.2.3 Tanins

A 2 ml de la solution à tester on a ajouté 2 à 3 gouttes de solution de Fe Cl₃ à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (laisser reposer quelques min) (Karumi & al, 2004)

III.2.1.2.4 Terpénoïdes

5 ml de l'extrait est ajouté à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré .la formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (Khan & al, 2011).

III.2.1.2.5 Quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1 %. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyde, 2005).

III.2.1.2.6 Composés réducteurs

1ml de l'extrait est chauffé dans un bain marie, puis 200 µl de réactif de Fehling est ajouté à l'extrait .Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (Cai & al, 2011).

III.2.2 Chromatographie sur couche mince CCM

- **Principe**

Les méthodes chromatographiques en général sont des techniques séparatives, qui isolent avec une efficacité mathématiquement quantifiable les constituants d'un mélange. Cette séparation est toujours réalisée dans l'espace. Puisqu' une phase mobile intervient pour faire la migration des produits, une vitesse lui est assignée ; la constante spatiale est alors transformée en une autre dimension : le temps (Kintz ,1998).

Dans notre étude on a utilisé une plaque CCM standard de (20cm×20cm) recouverte de gel de silice (Silicagel 60 F254 de 0.25mm d'épaisseur) à support en aluminium (Merck) qui est ensuite découpé en des plaques de (4cm×10cm).

On dépose 10 µl de chaque extrait de la plante à l'aide d'une micropipette sur la plaque

à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base. Les dépôts sont séchés et la plaque est ensuite mise dans le bécher en verre fermée (chambre de migration) contenant la phase mobile (Figure 18).



Figure 18: Développement d'une plaque CCM dans la chambre de migration.

Les différentes composées de la plante migrent par capillarité à une vitesse qui dépend de leur affinité pour la phase stationnaire et pour l'éluant (solvant). Les systèmes solvants choisis sont mentionnés dans le tableau I.

Tableau I : Les trois systèmes solvants préparés pour l'étude de CCM sur gel de silice

| Systèmes solvants (S) | | (V : V) ml |
|------------------------------|----|------------|
| Chloroforme/Acétate d'éthyle | S1 | (8 :2) |
| Chloroforme /Méthanol | S2 | (9 :1) |
| Chloroforme /Méthanol | S3 | (7 :3) |

Quand le front du solvant arrive du bord de RF supérieur de la plaque, les plaques sont retirés séchés et en observant l'apparition des différents spots colorés. En utilisant une loupe UV à 366nm et 254nm (figure 19) pour la révélation et l'identification des différents spots remarquables. Le rapport frontale R_f est calculé à partir l'équation suivante :

$$R_f = D_c / D_s \quad \text{Où}$$

D_c : Distance parcourue par le composé.

D_s : Distance parcourue par le front du solvant. (Cheymol & Hoff, 1999)

Pour faciliter la comparaison des résultats et l'identification des solutés par la CCM des bibliothèques de valeur de R_f ont été établies.



Figure 19: Révélation sous une lampe UV.

III.3 Analyse quantitative

III.3.1 Dosage des polyphénols totaux (réactif de Folin Ciocalteu)

- Principe

Le dosage des composés phénoliques totaux est déterminé selon la méthode décrite par Ozturk et ses collaborateurs (2011) en utilisant le réactif folin ciocalteu (FCR) (Slinkard & Singleton, 1977). Avec légère modification :

1ml d'extrait méthanolique de chaque plante convenablement dilué a été ajouté à 46 ml H₂O et 1 ml de réactif folin ciocalteu (dilué 1/10 dans l'eau distillée) l'ensemble a été mélangé à fond. Au bout de 3 min, 12 µl de carbonate de sodium (2%) ont été ajoutés au mélange et secoué par intermittence pendant 2 h à température ambiante. L'absorbance a été lue à 760 nm. La concentration des composés phénoliques a été calculée selon l'équation suivante qui a été obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique standard :

$$\text{Absorbance} = 0.0037 + 0.054$$

Les concentrations de teneur phénolique dans tous les extraits ont été exprimées en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µgEAG/mg Ext).

III.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

- **Principe**

La méthode du trichlorure d'aluminium selon Bahorun & al (1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica*.

À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 415 nm.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (Talbi, 2015).

La quercétine a été utilisée comme standard pour tracer la courbe d'étalonnage et la concentration a été calculée selon l'équation suivante établie à partir de cette courbe :

$$\text{Absorbance} = 0.207x - 0.173$$

III.4 Etude des activités biologiques des plantes

III.4.1 Activité antioxydante

- **Principe de la méthode DPPH**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre (Figure 20) a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène d'un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2,2- diphényl-1-picrylhydrazin) est formé, qui est jaune. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Manallah, 2012).

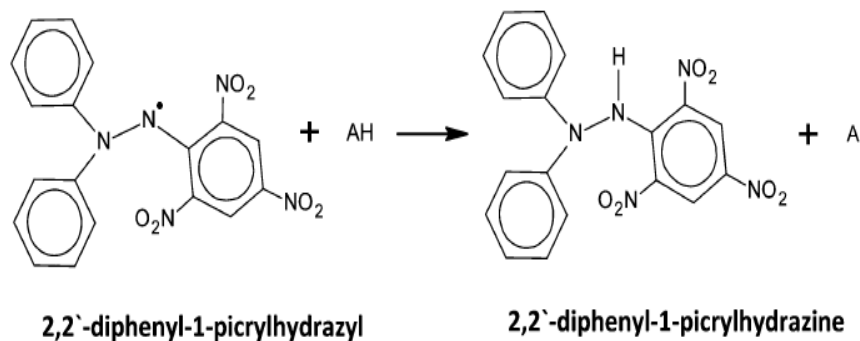


Figure 20 : Structure chimique de DPPH et sa réaction avec un antioxydant AH (Pyrzynska & Pekal, 2013).

L'activité de balayage des radicaux libres des extraits méthanoïques de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* étaient déterminé par l'essai DPPH décrit par Osturk & al (2007). Dans sa forme radicale, le DPPH absorbe à 517 nm, mais sur réduction par un antioxydant ou une espèce radicale son absorption diminue.

En bref, une solution 0,1 mM de DPPH a été préparée dans le méthanol et 4 ml de cette solution ont été ajoutés à 1 ml de solution d'échantillon préparé aussi dans le méthanol à différentes concentrations (10, 25, 50,100 µg/µl). Trente minutes plus tard, l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

Dans les mêmes conditions en utilisent un antioxydant standard l'hydroxytoluène butylé ou BHT pour comparer leur activité antioxydante avec les extraits méthanoliques des plantes (Osturk & al ,2011).

La capacité à éliminer le radical DPPH a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{DPPH Scavenging Effect (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

A control : Absorbance de contrôle négatif.

A sample : Absorbance de l'extrait méthanolique de la plante.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures séparés ± écart type.

III.4.1.1 Expressions des résultats

Les résultats exprimés en IC50 (définie comme étant la concentration en substrat entraînant une diminution de 50 % de l'absorption) (Beddou ,2015). Qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur d'EC50 est petite, plus l'activité antioxydante des extraits est grande. (Boubekri, 2014)

III.4.2 Activité antibactérienne

III.4.2.1 Matériel biologique

Les souches bactériennes utilisées sont :

-*Escherichia coli* (ATCC25922)

-*Salmonella*, sp.

III.4.2.2 Méthode de culture en milieu solide Muller Hinton (MH)

- **Protocole expérimentale (méthode in vitro)**

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des plantes nous avons utilisées la technique de diffusion sur milieu solide Muller Hinton (MH).

La gélose (MH) est fondue dans un bain-marie à 80°C, puis coulée dans des boîtes de Pétri à une épaisseur de 4 mm, qui sont laissées refroidir jusqu'à prendre une consistance ferme.

III.4.2.2.1 Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum)

La Préparation de l'inoculum s'effectue par un prélèvement de 1 à 2 colonies à partir des boîtes de Pétri contenant les espèces bactériennes repiquées sur un milieu nutritif, puis mélangées avec 9 ml de l'eau physiologique stérile (Na Cl 0.9 %).

Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la Densité Optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08-0.1 correspond à 10⁸ UFC/ml (Haddouchi, 2009).

III.4.2.2. 2Ensemencement

La suspension bactérienne diluée est déposée à l'aide d'un écouvillon trempé dans les tubes, puis étalé sur la gélose. La gélose est ensemencée sur sa totalité par des stries en surface en faisant tourner la boîte à 120° environ (Figure 21).

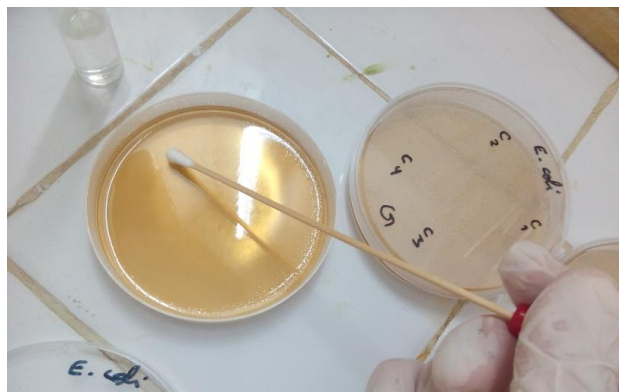


Figure 21: Ensemencement de la suspension bactérienne

III.4.2.2 .3 Placement des disques et les extraits des plantes sur la gélose MH

Les disques de papier wattman de 6 mm sont stérilisés dans des tubes en verre introduits dans l'autoclave à 120° C pendant 20 min.

En dépose quatre disques a l'aide d'un pince stérile a la surface de la gélose de chaque boîte et en met sur chaque disque 20 µl d'extrait a différents concentrations (50, 100, 150,200 mg/ml) dissoudraient dans 1 ml de DMSO (Figure 22).

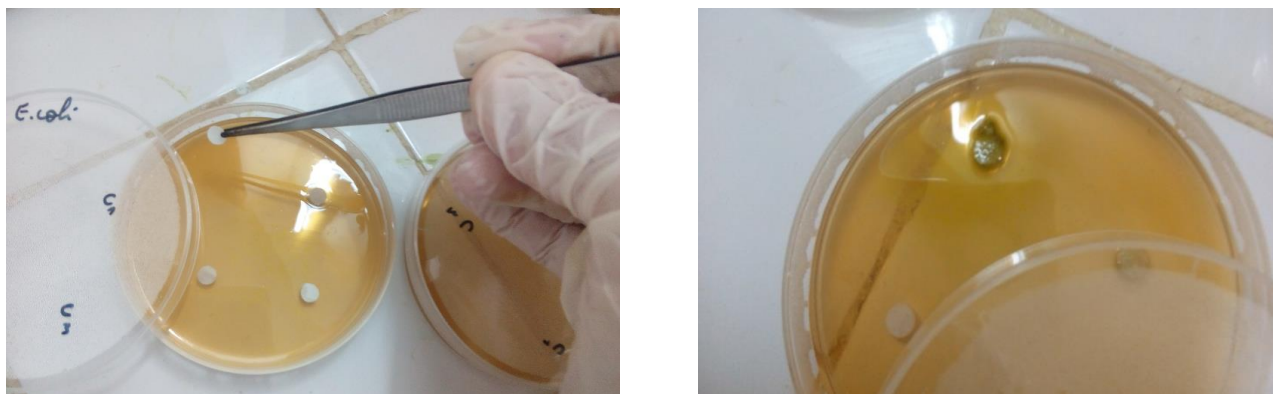


Figure 22 : Placement des disques et des extraits de plantes sur la gélose MH

III.4.2.2 .4 Incubation

Les boîtes de Pétri sont incubés en 24 h à 37 C°, norme AFNOR NF T 90 401 conditions optimales pour les bactéries d'origine animale et humaine (Bonnefoy & al ,2012) .

III.4.2.2 .5La lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (Halo) en mm à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle .Le diamètre des zones d'inhibition est désigne selon la sensibilité vis-à-vis des extraits des plantes :

- Non sensible (-) pour un diamètre total inférieur à 8 mm
- Sensible (+) pour diamètre total 9-14 mm
- Très sensible (++) pour diamètre total 15-19 mm
- Extrêmement sensible (+++) pour le diamètre total supérieur à 20 mm (Celikel & Kavas, 2008).

III.4.2.3 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La détermination de l'efficacité antimicrobienne à l'égard d'organismes pathogènes spécifique est essentielle pour une thérapie appropriée. La CMI est la concentration Inhibitrice la plus faible d'un antibiotique (dans ce cas l'extrait de la plante) capable d'empêcher le développement d'un microorganisme particulier (Lanzing & al, 2010).

Dans notre travail la CMI de chaque extrait de plante a été déterminé à partir les concentrations des différents extraits testés.

III.5 Evaluation de la toxicité aigue des extraits des plantes sur des rats Hamsters

III.5 .1Matériel animale

Notre étude de la toxicité est réalisée sur des rats Hamsters pesant entre 114et 160 g provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ils sont hébergés dans une cage en plastique transparente d'une longueur de 39 cm, d'une largeur de 25 cm et d'une hauteur de 19 cm. (Figure 23) .Les rats ont disposé a des légumes (carottes, radis, le fenouil commun...), l'expérimentation était réalisée au niveau du département d'Agronomie, à l'Université de M'sila.



Figure 23 : Les rats Hamsters

III.5 .2 Méthode

La toxicité aigue permet d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court après l'administration d'une substance à dose unique.

La détermination de la toxicité a été menée chez les rats Hamsters en utilisant l'essai limite à 5000 mg/kg de poids corporel (PC) de la méthode de « l'ajustement des doses » du protocole 425 de l'OCDE (Ocde, 2006) (Kone & al, 2009).

Les animaux ont été privés de nourriture avant l'expérimentation, L'extrait sec de chaque plante a été dissous dans le DMSO, puis dans l'eau physiologique, il est ensuite administré quotidiennement en une seule prise de 2 ml/100 g de PC, par voie orale selon la concentration CMI de la bactérie *E. coli* (ATCC25922) déterminée pour chaque plante in

vitro. Les animaux sont repartis en groupes de 03 animaux, est un rat gardé comme témoin.

Le traitement des rats a été réalisé pendant trois jours, où les trois rats ont reçu des doses de la CMI correspondantes pour chaque plante, *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica doica* (Figure 24) :

- CMI ×3 pour le premier jour
- CMI×4pour le deuxième jour
- Le rat témoin n'a pas reçu aucune dose.



Figure 24 : l'extrait administré par voie orale

III.5 .2.1 Observation clinique

Les principaux effets recherchés sont :

- Les signes cliniques.
- Les modifications pathologiques visibles à l'œil nu.
- La létalité (mortalité)

III.5.3 Evaluation in vivo de l'effet de la CMI sur les organes des rats hamsters

III.5.3.1Technique anatomopathologique

Dans le cadre de l'étude des altérations provoquées par les extraits polyphénoliques des plantes sur les organes des rats Hamsters, après le sacrifice et la dissection des rats on a prélevé de chaque rat les organes suivantes: Le foie, le rein, l'intestin grêle qui servent de l'examen histologique des coupes minces.

Ces organes sont des organes d'élimination ou émonctoires, l'intestin joue le rôle de centrale immunitaire ; le foie usine chimique du corps par ou transit les toxines et les reins ; un filtre (Nkoengoua, 2012).

- **Examen histologique**

Les organes ont été fixés dans une quantité importante du liquide fixateur (le formol) à (10%). Les échantillons du foie, rein et l'intestin grêle qui servent à l'étude histologique sont mis dans des cassettes spéciales puis subis un traitement en plusieurs étapes selon Asselah (2012) :

III.5.3.1.1 Déshydratation

- Élimination du fixateur par lavage à l'eau courante.
- Extraction à l'alcool éthylique de l'eau et des graisses.
- Imprégnation par un solvant de la paraffine (xylène, benzène).

III.5.3.1.2 Inclusion en paraffine

La paraffine est solidifiée le tissu (figure 25) permettant les coupes au microtome de 3-5 μm , pouvant être traversées par la lumière (figure 26).

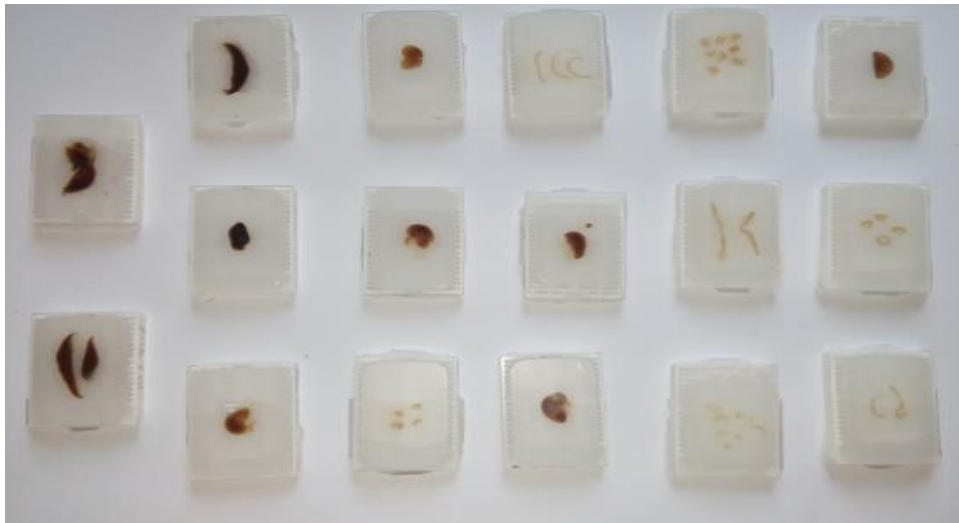


Figure 25 : Inclusion des échantillons dans la paraffine



Figure 26 : Réalisation des coupes au microtome

Les coupes sont étalées sur des lames portes objet (à l'aide de plaques chauffantes thermostatées ou de bain marie) puis sont déparaffinées par d' xylène et sont ensuite réhydratés les tissus par l'alcool éthylique.

III.5.3.1.3 Coloration des lames à l'HE (Hématéine - Eosine)

Après l'hydratation des lames par l'alcool à des concentrations décroissantes et l'eau du robinet, suivie par un rinçage à l'eau distillée. La coloration des lames sont effectués par L'immersion dans un bain à l'HE. L'hématine est coloré en bleu le noyau et l'éosine en rose le cytoplasme (figure 27), Les préparations ont ensuite été séchées puis observées et diagnostiqués au microscope optique.



Figure 27 : Coupes des tissus étalés sur les lames et colorés en hématoxyline-éosine

Ces coupes histologiques sont réalisées au laboratoire Ben Toumi d'anatomopathologie à M'sila.

Partie expérimentale

Chapitre IV *Résultats et discussions*

IV.1 Rendement d'extraction des plantes

Les résultats du rendement d'extraction des parties aériennes de *Juniperus phoenicea*, des feuilles de l'olivier cultivé *Olea europaea* de la variété « Chemlal » et *Urtica dioica*, par l'appareil Soxlet sont résumés dans le tableau II et montrés sur la figure 28.

Tableau II : Rendement d'extraction des plantes choisis

| Les plantes | <i>Juniperus phoenicea</i> | <i>Olea europaea</i> | <i>Urtica dioica</i> |
|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| Masse de l'extrait sec (g) | 9.2 | 13 | 4.1 |
| Rendement (R%) | 23 | 32.5 | 10.25 |

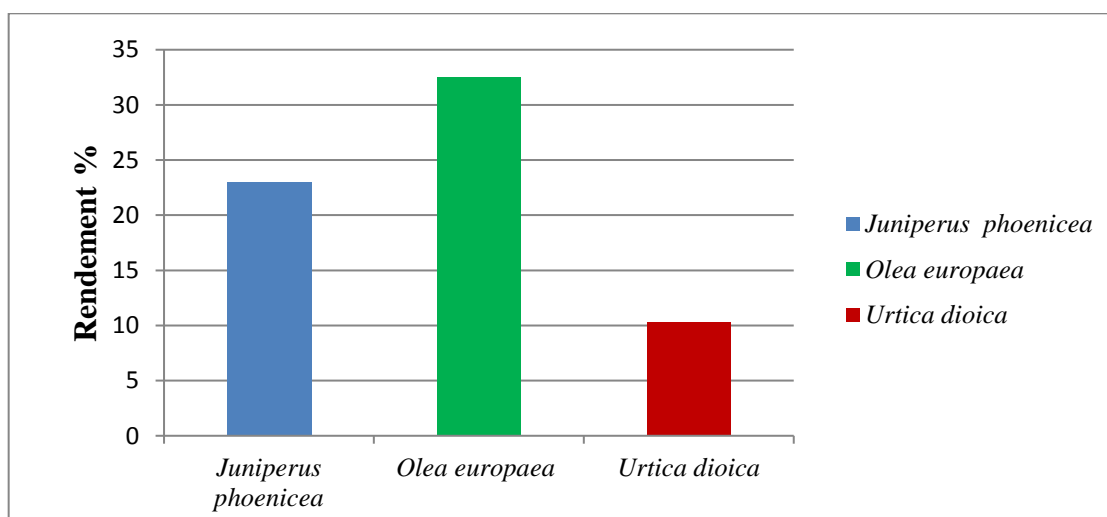


Figure 28: Graphique du rendement d'extraction méthanolique des plantes

D'après les résultats nous remarquons que *Olea europaea* a permis d'obtenir le meilleur rendement d'extrait sec de (32.5 %) et suivi par le *Juniperus phoenicea* (23 %) et enfin *Urtica dioica* de (10.25 %).

Des études ont montré d'une part l'influence de la technique d'extraction et les facteurs de l'environnement : la région, le climat, le sol...

Selon l'étude de Zemmouri (2015) les feuilles ont été prises d'Annaba a montré que l'extrait aqueux de l'ortie présente le meilleur rendement d'extraction avec une valeur de (40%) alors le pouvoir d'extraction à l'éthanol a le plus faible rendement d'extraction avec un rendement de (7,26%). L'étude d'Arab & al (2013), sur des feuilles d'olivier récoltées dans la région de Tizi Ouzou (Algérie) a permis de récupérer une quantité importante en polyphénols obtenus à partir de 5g des feuilles sont macérés dans 100 ml du méthanol pendant 5 jours est de (38,74%) pour l'olivier sauvage et de (35,72%) pour le cultivé.

IV.2 Dosage qualitatif

IV.2.1 Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique réalisé sur les trois extraits aqueux des plantes sont présentés dans la figure 29 et dans le tableau III.



Figure 29 : Criblage phytochimique des extraits des plantes

Tableau III: Résultats des réactions du criblage phytochimique

| Extrait aqueux | <i>Juniperus</i> | <i>Olea</i> | |
|---|------------------|-----------------|----------------------|
| Classe | <i>phoenicea</i> | <i>europaea</i> | <i>Urtica dioica</i> |
| Les alcaloïdes | - | +++ | + |
| Les flavonoïdes | - | + | + |
| Les tanins | +++ | +++ | +++ |
| Les saponosides | +++ | +++ | +++ |
| Les terpénoïdes | +++ | +++ | +++ |
| les quinones libres | +++ | - | - |
| Composés réducteurs | - | + | - |
| +++ : Réaction fortement positive ; ++ : Réaction moyennement positive + : faiblement positive ; - : Réaction négative | | | |

L'analyse de résultats du dosage qualitative a permis l'existence ou l'absence potentiellement des différents composés phénoliques pour chaque plante.

Les réactions fortement positive de *Juniperus phoenicea* sont indiquées la présence des tanins des saponosides, des terpénoïdes et les quinones libres alors que les réactions négatives expliquent l'absence potentiellement des alcaloïdes et des flavonoïdes.

Les réactions fortement positives d'*Olea europaea* sont indiquent la présence des alcaloïdes, des tanins, des saponosides et des terpénoïdes.

Les réactions faiblement positives pour les flavonoïdes, les composés réducteurs et l'absence des quinones libres.

Les réactions fortement positives d'*Urtica dioica* montrent l'existence des tanins, des saponosides et des terpénoïdes et les réactions faiblement positives pour les alcaloïdes et les flavonoïdes et l'absence des quinones libres et des composés réducteurs.

IV.2.2 Chromatographie sur couche mince CCM

Après le séchage des plaques de gel de silice, nous observons la séparation des constituants chimiques des plantes a partir de l'apparition des taches colorées pour chaque plante (figure 30) et la révélation des spots a été réalisé sous une lampe UV à 365nm et 254nm montrée dans les Figures 31 et 32.

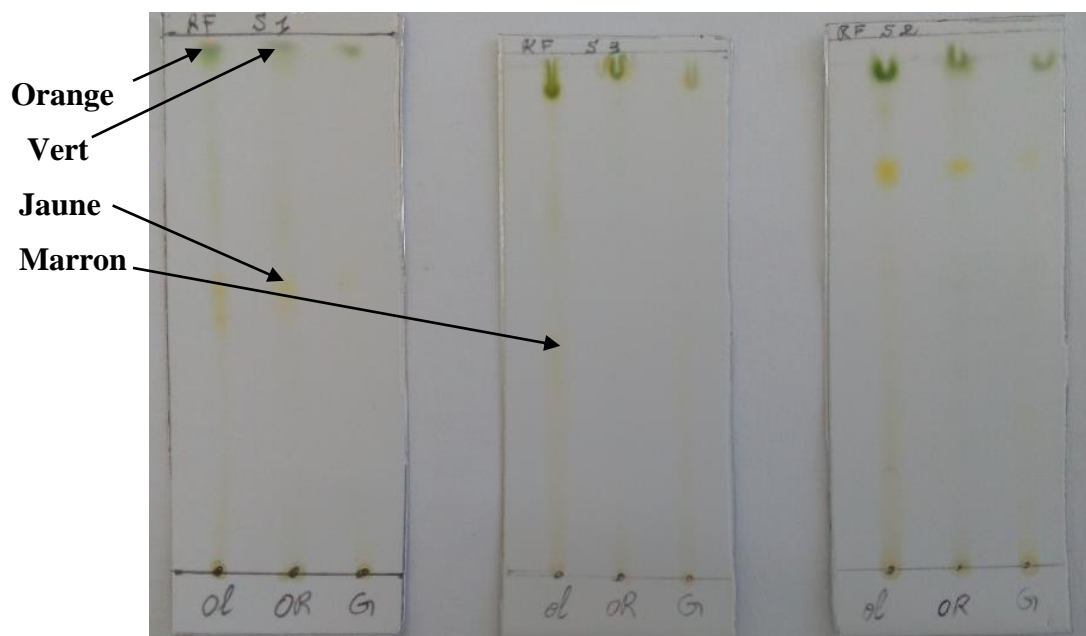


Figure 30: Les spots colorés après séchage de la plaque de silice

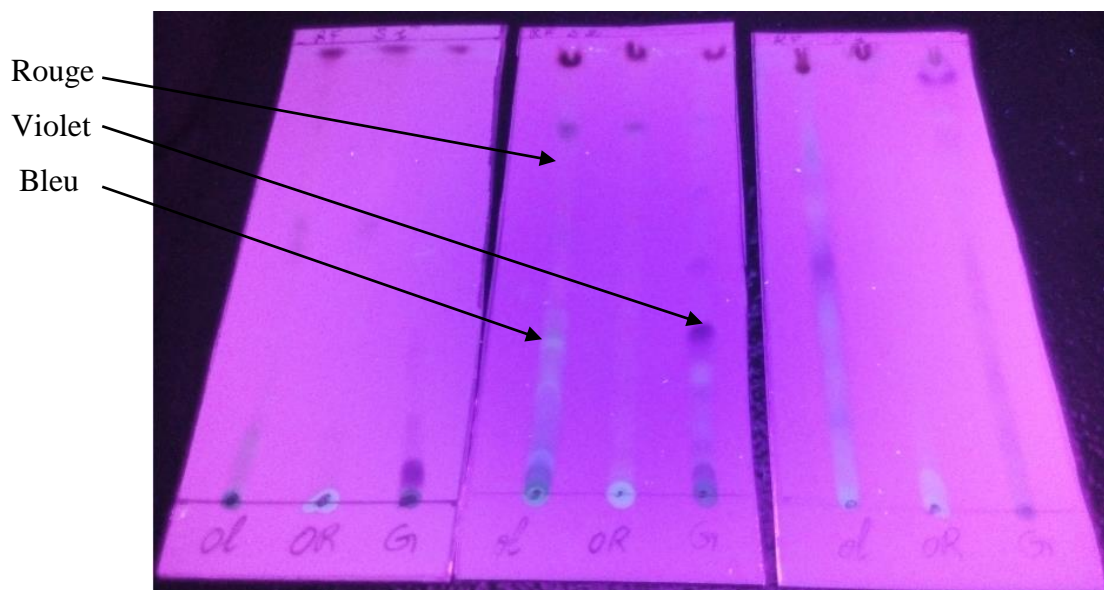


Figure 31 : Les taches fluorescentes sous UV à 365nm

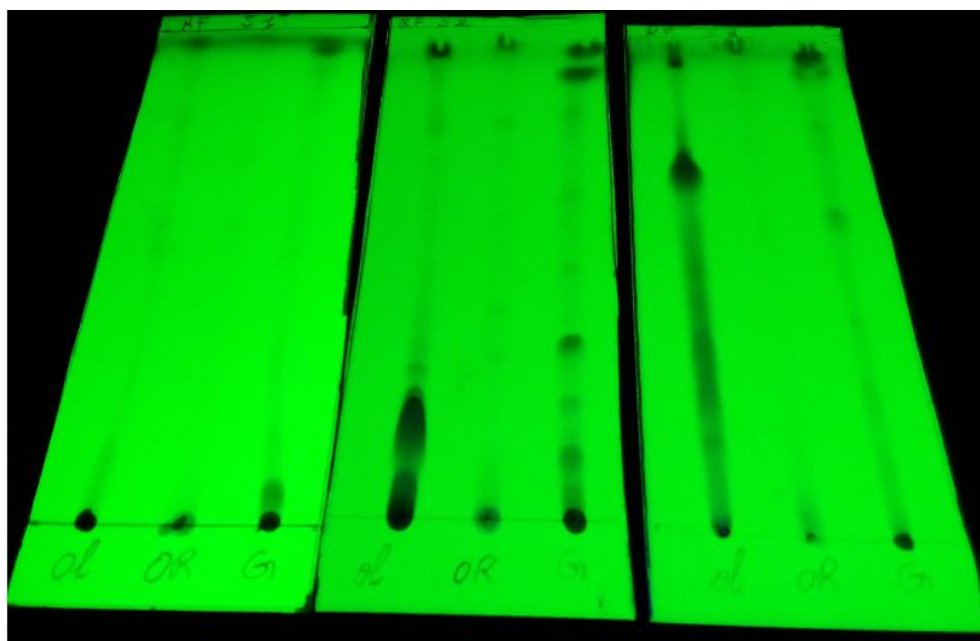


Figure 32 : Les taches fluorescentes sous UV à 254nm

La révélation des spots sous UV pour les trois systèmes solvants indique l'efficacité de chaque système solvants qui permet la détection de plusieurs taches selon la polarité et l'élution des composés des plantes. Le système solvants 2 est le meilleur solvant utilisé pour *Oléa europaea* et *Urtica dioica* permet la détection respectivement de 9 spots, 5 spots par rapport le (système 1) 07 spots, 3 spots et (système 3) 05 spots, 2 spots respectivement. Alors que le système solvants 1 est le meilleur solvant utilisé pour *Juniperus phoenicea* a permis la détection de 7 spots par rapport le(système 2) 06 spots et (système 3) 03 spots.

Les résultats de mesures du rapport frontale Rf de la chromatographie sur couche mince sont indiqués dans le tableau IV.

Tableau IV: Les mesures de rapport frontale Rf de la chromatographie sur couche mince

| La plante | Système solvant(S) | Couleur de spot | Dc / Ds | Rf | composé possible |
|----------------------------|--------------------|-----------------|---------|------|---|
| <i>Olea europaea</i> | S1 | Marron | 2/8.7 | 0.22 | Coumarine |
| | | Jaune | 4.5/8.7 | 0.51 | |
| | | Vert clair | 7/8.7 | 0.80 | |
| | | Vert foncé | 8.3/8.7 | 0.95 | Pigments |
| | | Gris | 8.5/8.7 | 0.97 | |
| | | Orange | 8.6/8.7 | 0.98 | |
| | | bleu | 0.9/8.7 | 0.1 | |
| <i>Urtica dioica</i> | S1 | Jaune | 4.5/8.7 | 0.51 | Coumarine |
| | | Vert | 8.3/8.7 | 0.95 | |
| | | Gris | 8.1/8.7 | 0.93 | |
| <i>Juniperus phoenicea</i> | S1 | Jaune | 5/8.7 | 0.57 | Flavone méthylée, Quercétine ; flavonol ou aurone |
| | | Vert | 8.4/8.7 | 0.96 | |
| | | Gris | 8.6/8.7 | 0.98 | |
| | | Marron | 0.5/8.7 | 0.05 | |
| | | Rouge | 1.4/8.7 | 0.16 | Flavones 5- OH et 4'-OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavone, dihydroflavonols, flavonones |
| | | Violet | 6.7/8.7 | 0.77 | |
| | | Rouge | 8.5/8.7 | 0.97 | |
| <i>Olea europaea</i> | S2 | Rouge | 7.5/8.7 | 0.86 | Flavonoïde anthocyane |
| | | rouge | 4.8/8.7 | 0.55 | |
| | | bleu | 3/8.7 | 0.34 | |
| | | Jaune | 2.4/8.7 | 0.27 | |
| | | Violet | 0.5/8.7 | 0.05 | |
| | | Marron | 1.7/8.7 | 0.19 | Pigments |
| | | Jaune | 6.5/8.7 | 0.74 | |
| | | Vert clair | 7.5/8.7 | 0.86 | |
| | | Vert foncé | 8/8.7 | 0.91 | |

| | | | | | |
|----------------------------|----|--|---|--------------------------------------|---|
| <i>Urtica dioica</i> | S2 | Marron Jaune Jaune Vert clair Vert foncé | 2.7/8.7 1.8/8.7 6.5/8.7 7,5/8.7 8/8.7 | 0.31 0.20 0.74 0.86 0.91 | Flavonoïde pigments |
| <i>Juniperus phoenicea</i> | S2 | Jaune Vert Marron Violet | 6.5/8.7 8.2/8.7 2.5/8.7 8.5/8.7 | 0.74 0.94 0.28 0.97 | Flavonoïde Flavones 5- OH et 4'- OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavone, dihydroflavonols, flavonones |
| | | Jaune Marron | 1.7/8.7 2.6/8.7 | 0.19 0.29 | |
| <i>Olea europaea</i> | S3 | Marron Jaune Vert Marron Violet | 3.4/8.7 7.9/8.7 8/8.7 6.5/8.7 4.9/8.7 | 0.39 0.90 0.91 0.74 0.56 | Flavonoïde Flavones 5- OH et 4'- OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavone, dihydroflavonols, flavonones |
| <i>Urtica dioica</i> | S3 | Vert Jaune | 8.4/8.7 8.5/8.7 | 0.96 0.97 | |
| <i>Juniperus phoenicea</i> | S3 | Jaune Vert Marron | 8.2/8.7 8.4/8.7 6.5/8.7 | 0.94 0.96 0.74 | |

A partir des résultats obtenus, la révélation des extraits à l'œil nu et sous UV à 365 nm sans révélateur dévoile la richesse des plantes *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* et *Urtica dioica* en composés phénoliques et particulièrement en flavonoïdes à partir des données bibliographiques de Mamyrbekova-Bekro & al (2013) et l'étude de Khelfallah (2013) qui ont permis la détermination des composés probables qui rentrent dans la constitution de nos extraits :

Olea europaea est riche en coumarines de Rf (0.51) et 7hydroxycoumarines ou 7-hydroxy-6alkoxycoumarines de Rf (0.1) et aussi des flavonoides, anthocyane de Rf (0.55).

Les flavonoides sont de type : flavones 5- OH et 4'- OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavone, dihydroflavonols, flavonones de Rf (0.56).

Alors l'*Urtica dioica* possède des flavonoïdes de Rf (0.74) et coumarine de Rf (0.51).

Juniperus phoenicea montre la présence des flavonoïdes de type : flavones 5- OH et 4'-OH flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH ou flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavone, dihydroflavonols, flavonones de Rf (0.77) et il est confirmé aussi la présence de flavone méthylée, quercétine ; flavonol ou aurone de Rf (0.57)

De meilleurs résultats peuvent être obtenus avec des réactifs spécifiques, à vaporiser ou pour l'immersion de la plaque, qui forment avec les substances à détecter, des taches colorées ou fluorescentes. Selon leur sensibilité, ces méthodes sont non seulement utilisées pour la caractérisation spécifique d'une substance ou d'une classe de substances (en plus de la valeur du Rf) mais aussi pour la quantification jusqu'à leur analyse en tant que trace.

IV.3 Dosage quantitative

IV.3 .1 Dosage des phénols totaux

Les contenus en phénols totaux des différents extraits de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu à partir des concentrations exprimés en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait de plante sont présentés dans le tableau V.

Tableau V : Les teneurs en phénols totaux des extraits de plantes.

| Extrait méthanolique | Les phénols totaux ($\mu\text{gEAG}/\text{mg Ext}$) |
|----------------------------|---|
| <i>Juniperus phoenicea</i> | 15.27 \pm 0.57 |
| <i>Olea europaea</i> | 14.46 \pm 1.71 |
| <i>Urtica dioica</i> | 14.60 \pm 1.14 |

Les trois plantes étudiés montrent une teneur presque égale en phénols totaux, l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea* a une teneur élevé en phénols de (15.27 ± 0.57 $\mu\text{gEAG/mg Ext}$) et d'*Urtica dioica* à (14.60 ± 1.14 $\mu\text{gEAG/mg Ext}$) puis *Olea europaea* de (14.46 ± 1.71 $\mu\text{gEAG/mg Ext}$).

IV.3 .2 Dosages des flavonoïdes totaux

Les concentrations obtenues de dosage des flavonoïdes totaux, par la méthode du trichlorure d'aluminium, exprimés en μg d'équivalentes quercétine par mg d'extrait de plante sont présentés dans le tableau VI.

TableauVI : résultats du dosage des flavonoïdes totaux

| Extrait méthanolique | Les flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg Ext}$) |
|-----------------------------|---|
| <i>Juniperus phoenicea</i> | 3.504 ± 0.05 |
| <i>Olea europaea</i> | 4.02 ± 0.02 |
| <i>Urtica dioica</i> | 8.75 ± 0.06 |

L'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* a une teneur élevé en flavonoïdes totaux (8.75 ± 0.06 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$) par rapport les autres extraits des plantes, l'*Olea europaea* (4.02 ± 0.02 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$) et *Juniperus phoenicea* (3.504 ± 0.05 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$).

Ces taux des phénols et flavonoïdes totaux des trois plantes sont comparés relativement à ceux rapportés par d'autres études :

- ***Juniperus phoenicea***

Dans notre étude les teneurs en phénols et flavonoïdes totaux de *Juniperus phoenicea* sont respectivement (15.27 ± 0.57 $\mu\text{g EAG/mg Ext}$) et (3.504 ± 0.05 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$) sont plus élevés par rapport une autre étude faite en Turquie Selon Elmhdwi & al (2015) , il a été trouvé que la teneur totale en phénols et flavonoïdes trouvé dans l'extrait méthanolique ($1,361, 1,266$ à 500 $\mu\text{g / ml}$) respectivement .

Pour les autres extraits préparés dans l'éthanol et l'acétone de feuilles *Juniperus phoenicea* pousse dans Al-Jabal Al Akhdar les teneurs en polyphénols étaient ($2,21$ et $2,69$ à 500 $\mu\text{g/ml}$), respectivement, les résultats sont exprimés en fonction de pyrogallol comme composé phénolique ($2,105$) à 500 $\mu\text{g / ml}$ de concentration, et les flavonoïdes totaux étaient ($1,340$ et $1,690$ à 500 $\mu\text{g / ml}$) respectivement par rapport à la quercétine ($1,300$ à 500 $\mu\text{g / ml}$).

Menaceur & al (2013) a trouvé L'équivalent d'acide gallique représentant des constituants phénoliques totaux de l'extrait éthanolique de *Juniperus phoenicea* était de 308 mg GAE/g et l'équivalent de quercétine représentant les flavonoïdes totaux était de 20 mg QE / g.

- ***Olea europaea***

Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux d'*Olea europaea* (14.46±1.71µg EAG/mg Ext) et (4.02 ±0.02 µg EQ/mg Ext) respectivement.

Selon Ferreira & al (2007), les extraits de feuilles *Olea europaea* ont montré une teneur en phénols plus élevée de (12,7 ± 0,040 mg / g).

- ***Urtica dioica***

On a trouvé les teneurs en phénols et flavonoïdes totaux d'*Urtica dioica* sont respectivement (14.60 ±1.14 µg EAG/mg Ext) et (8.75 ±0.06 µg EQ/mg Ext).

D'après l'étude de Zemmouri (2015), les concentrations de polyphénols totaux de l'extrait à l'éthanol d'ortie (85,11 ± 0,35), et l'extrait aqueux (30,79 ± 0,96) en mg d'AG/g d'extrait.

Pour les concentrations en flavonoïdes des extraits éthanolique et aqueux d'ortie sont respectivement (39.96 ± 2.56, 22,58 ± 1,02 mg de Qe/g d'extrait).

Selon Bhuwan & al ,2015 La teneur phénolique totale *Urtica dioica* la plus élevée était de 13,06 ± 0,15 mg GAE / g dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

Otles, (2012) montre que l'analyse du teneur des phénols totaux des parties d'ortie (racine, tige et feuilles) ont été effectuées par la méthode FC, ont été donnés en tant que racine 7,82, 9,91 tige et feuilles 7,62 mg GAE / g.

Deliorman Orhan & al, (2012) ont trouvés la teneur totale en phénol dans l'extrait éthanolique de feuilles d'ortie est élevé (208,37 mg GAE/g), alors que la teneur en flavonoïdes totaux et flavonols est relativement faible (20,29 et 22,83 mg QE/g, respectivement).

IV.4 Etude des activités biologiques des plantes

IV.4.1. Activité antioxydante

IV.4.1.1 Méthode DPPH

Après les mesures de l'absorbance à 517 nm des extraits méthanoliques pour chaque plante, les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont résumés dans le tableau VII.

Tableau VII: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

| [C] µg/ml | % BHT | % <i>Juniperus phoenicea</i> | % <i>Olea europaea</i> | % <i>Urtica dioica</i> |
|-----------|-------|------------------------------|------------------------|------------------------|
| 10 | 53.18 | 30.81 | 26.72 | 19.88 |
| 25 | 79.83 | 62.14 | 48.59 | 32.32 |
| 50 | 91.98 | 90.4 | 89.38 | 49.43 |
| 100 | 92.09 | 94.24 | 90.02 | 79.04 |

Les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits méthanoliques préparés des plantes a (10, 25, 50,100 µg/ml), montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits méthanoliques pour chaque plante *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* et *Urtica dioica* (figure 34) et dans les mêmes conditions pour la molécule de référence BHT (Figure 33).

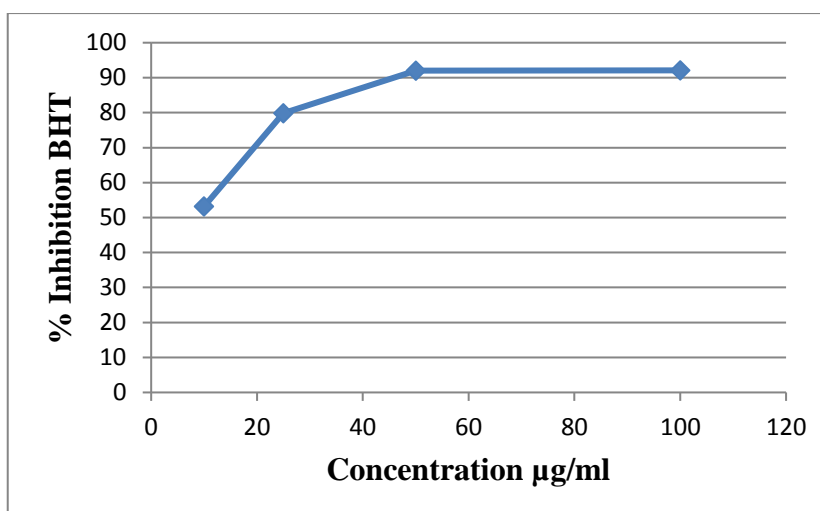


Figure 33: Pourcentage d'inhibition de BHT par la méthode DPPH.

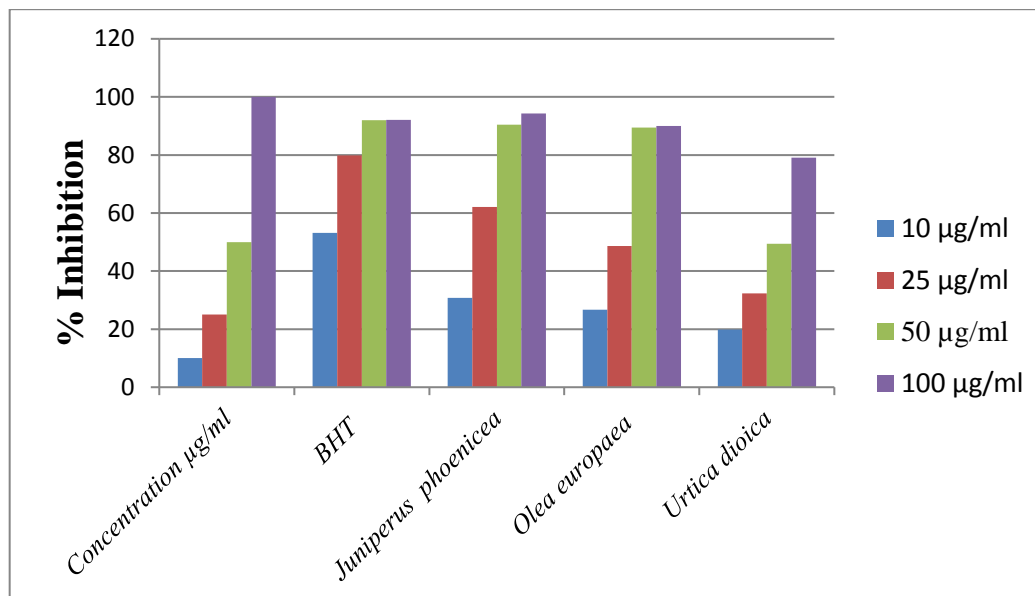


Figure 34 : Graphique de pourcentage d'inhibition des extraits méthanoliques des plantes par la méthode DPPH.

IV.4.1.2 Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Khoudali & al, 2014).

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés (Zemmouri, 2015).

Les résultats de l'activité antioxydante pour chaque plante sont exprimés en des concentrations IC50 % par la méthode DPPH, sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Activité antioxydante des extraits de plantes exprimées en d'IC50% DPPH

| Extrait méthanolique | IC50% (µg/ml) |
|----------------------------|---------------|
| <i>Juniperus phoenicea</i> | 15.75 |
| <i>Olea europaea</i> | 26.16 |
| <i>Urtica dioica</i> | 53.73 |

Les polyphénols sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (Arab & al ,2013).

Les résultats de ce test ont montré que 50% des radicaux libres ont été éliminés par les polyphénols totaux de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* à partir des concentrations de 15.75, 26.16, 53.73 en µg/ml respectivement.

Ces résultats sont comparées avec l'extrait de BHT a utilisé comme un antioxydant standard d'IC 50% ≤ 10 µg/ml est bien plus inférieur à ceux des trois extraits est donc, le BHT possède une activité antioxydante très élevé par rapport les plantes étudiés.

D'après l'analyse des valeurs d'IC50% dans cette méthode l'extrait d' *Juniperus phoenicea* a un pouvoir antioxydant puissant d'IC50% 15.75 µg/ml suivi d'*Olea europaea* d'IC50% 26.16 µg/ml et enfin *Urtica dioica* d'IC50% 53.73 µg/ml, malgré la teneur élevé des flavonoïdes de cette plante de (8.75 \pm 0.06 µg EQ/mg Ext) (figure 35).

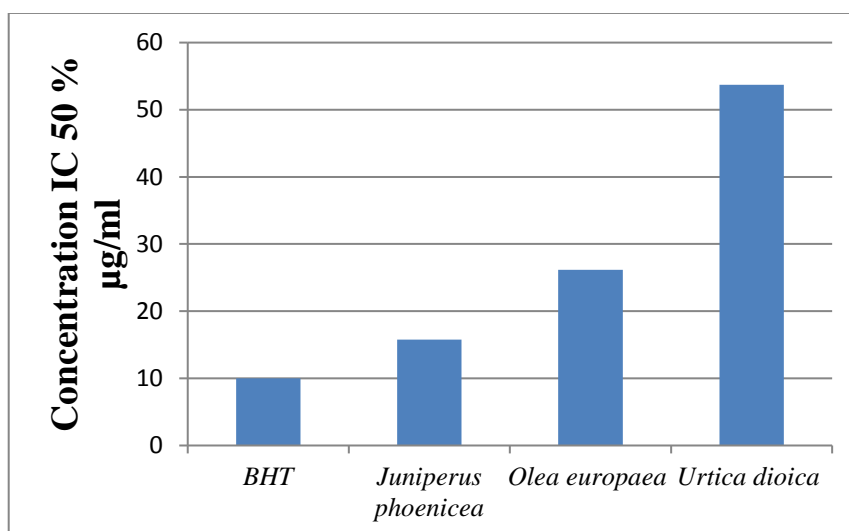


Figure 35: Graphique de la concentration IC50% (µg/ml) de chaque extrait.

En peut dire que les plantes comparables sont douées d' activité antioxydante élevé pourtant les teneurs en phénols presque égaux dans notre résultats mais la composition chimique et l'interaction avec les radical libre DPPH sont différentes pour chaque plante, ou bien la méthode DPPH ne permet pas l'évaluation exacte de pouvoir antioxydant de *Urtica dioica*, il est nécessaire de coupler avec cette méthode d'autres méthodes pour l'estimation de l'activité antioxydante, nos résultats montre que *Urtica dioica* a un pouvoir antioxydant élevé par rapport les donnés bibliographique.

IV.4.1.2.1 *Juniperus Phoenicea*

Une étude de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a été fait par Elmhdwi & al (2015) sur des extraits : acétonique, éthanolique et méthanolique de *Juniperus phoenicea*.

Les résultats de pourcentage d'inhibition selon les concentrations(100,200,300,400,500 µg/ml) sont (37,59,70,83,92%) respectivement de l'extrait méthanolique .L'acide ascorbique a utilisé comme antioxydant standard a une pourcentage d'inhibition de (72.3,80.8,89.1 ,92.896.7%) et l'huile essentielle présentait une capacité antioxydante relativement faible.

Selon Menaceur & al (2013), l'extrait d'éthanol de *Juniperus Phoenicea* est révélé être efficace pour l'inhibition de DPPH, par rapport à l'antioxydant chimique BHT (IC = $9,8 \pm 0,1$ et $28 \pm 0,7$ mg /l respectivement).

L'extrait éthanolique de *Juniperus phoenicea* en a présenté une 'activité de balayage des radicaux libres la plus forte par rapport aux huiles essentielles et BHT.

IV.4.1.2.2 *Olea europaea*

Les résultats de l'activité antioxydante de Arab & al (2013) ont montré un pouvoir antiradicalaire des extraits méthanoliques vis-à-vis de DPPH, des feuilles de l'olivier sauvage 0.29 mg/ml, contre 0.30mg/ml pour l'olivier cultivé, proche que celui de la vitamine E soit 0.24 mg/ml.

IV.4.1.2.3 *Urtica dioica*

Selon El Ouar & al (2016), l'IC₅₀ de l'extrait était de $8,73 \pm 0,96$ µg / ml en tant que opposée à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = $6,13 \pm 0,79$ µg / ml).

Zemmouri (2015) a trouvé l'IC₅₀ par la méthode DPPH de l'extrait éthanolique d'*Urtica dioica* est de ($95,21 \pm 1,71$ µl/ml) et pour l'extrait aqueux $152,34 \pm 0,37$ µl/ml sont comparés a deux antioxydants standard BHT et Vit C de (289.27 ± 6.23 , 167.47 ± 1.40) respectivement.

Deliorman Orhan & al (2012), a trouvé que l'extrait *Urtica dioica* a une activité de balayage des radicaux DPPH de (21.5 ± 0.2) et les capacités de ces extraits ont été jugées a peu près à celui de la BHT ($86,5 \pm 0,5\%$, 50 µg / ml) utilisé comme référence. L'auteur est signalé que l'étude n'a montré aucune corrélation entre l'activité antioxydante et le contenu phénolique pour les extraits.

Bhuwan & al (2015) a rapporté que les valeurs IC₅₀ par modèle DPPH pour différents extraits (éther de pétrole, acétate d'éthyle, n-butanol, éthanol) d'*Urtica dioica*, L a été estimé à ($215,96 \pm 0,066$, $78,99 \pm 0,171$, $168,24 \pm 0,346$ et $302,90 \pm 0,141$) respectivement sont

comparés avec l'acide l'ascorbique en standard avec d'IC50 de $26,24 \pm 0,193$ et par d autre méthode d'activité de balayage des radicaux d'oxyde nitrique, les valeurs IC50 se sont révélées être ($172,38 \pm 0,635$, $101,39 \pm 0,306$, $141,23 \pm 0,809$, $202,26 \pm 0,67$ et $55,38 \pm 0,56$) pour différents extraits et l'acide L-ascorbique respectivement.

D'après l'étude bibliographique de Afif Chaouche (2015), elle a trouvé que les extraits méthanoliques d'Ortie ont des valeurs d'IC50 de 145 mg/ml (Semih, 2012), 105,16 µg/ml (Kataki & al., 2012) et 175 µg/ml (Nikolova, 2009).

Kukrica & al (2012), il a été montré que l'extrait éthanolique de feuilles d'ortie avait une activité antioxydante significativement plus élevée ($31,38 \mu\text{g/ml}$) de certains des extraits méthanoliques allant de 1,45 mg/ml, et 105.16 µg/ml, à 175 µg/ml.

D'après Khare & al (2012), l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica dioica* présente des résultats positifs pour l'activité antioxydante avec une valeur IC50 de $88,33 \pm 2,88 \mu\text{g/ml}$. L'acide ascorbique standard a montré une valeur IC50 de $2,8 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$.

IV.5 Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des plantes par la technique de diffusion sur milieu solide Muller Hinton (MH) se manifeste par l'apparition des zones d'inhibition de la croissance des bactéries autour des disques par les extraits des plantes, figure 36 et 37.

La plus grande sensibilité des bactéries Gram+ par rapport aux bactéries Gram- est signalée par plusieurs auteurs. Cela n'exclut pas une possible activité des extraits végétaux sur les bactéries Gram-, mais la dose doit être plus élevée. En plus, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (Afif Chaouche, 2015).

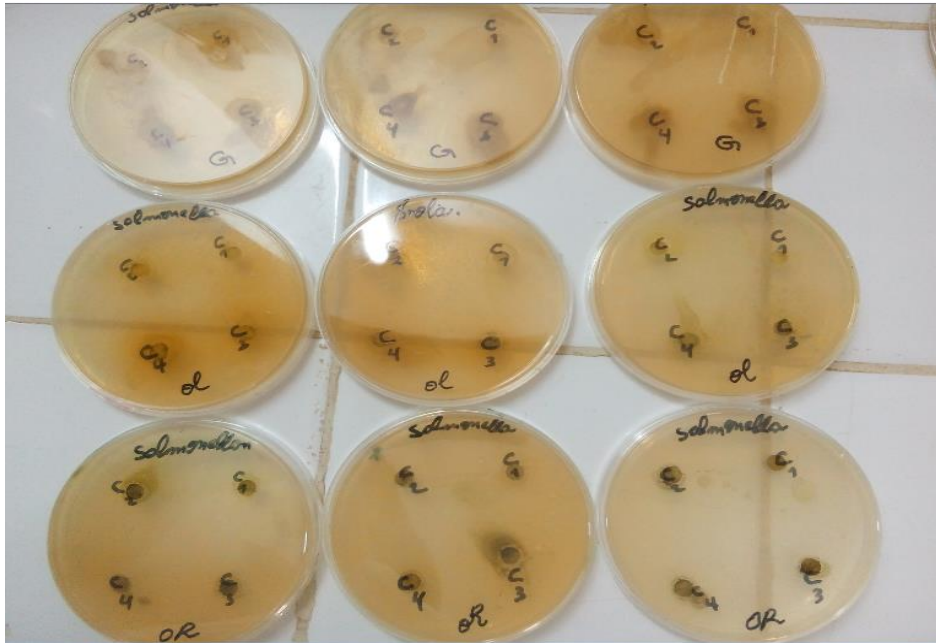


Figure 36: Les zones d'inhibition des extraits d'*Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* et *Urtica dioica* contre *Salmonella*, sp.

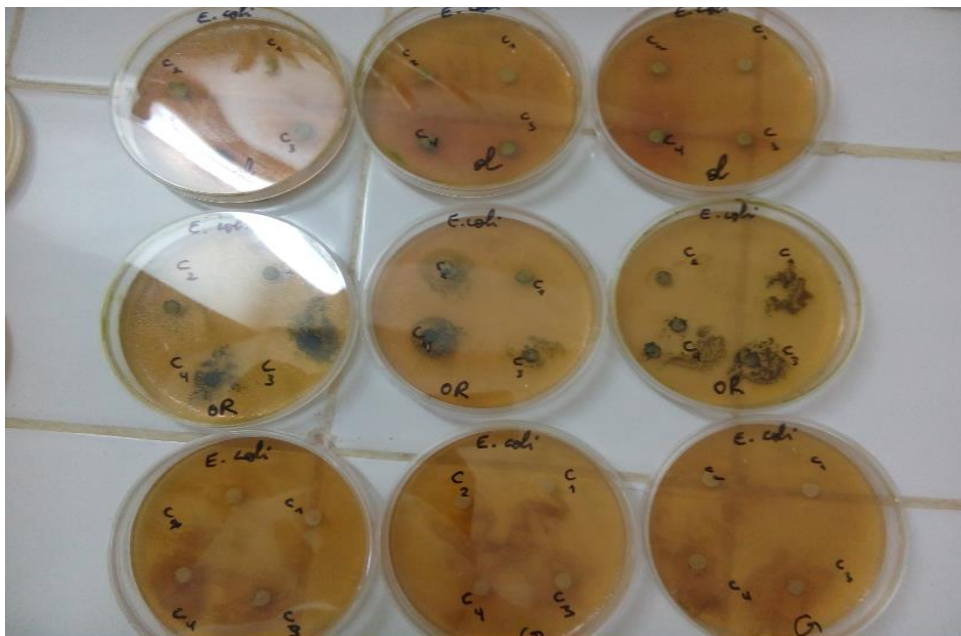


Figure37 : Les zones d'inhibition des extraits d'*Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* et *Urtica dioica* contre *E. coli* (ATCC25922)

Les résultats de la lecture des diamètres d'inhibition de l'activité antibactérienne sont présentés dans le tableau IX.

Tableau IX: Les diamètres d'inhibition des extraits testés sur les entérobactéries

| L'extrait Entérobactéries | <i>Juniperus phoenicea</i> | <i>Olea europaea</i> | <i>Urtica dioica</i> |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| <i>E.coli</i> (ATCC25922) | 13.5±0.70mm | 10mm | 14±1.41 |
| <i>Salmonella</i> ,sp | – | 9 ±1.41 | 11.25±0.35 |

Les entérobactéries *E. coli* (ATCC25922) et *Salmonella*, sp présentent une sensibilité vis-à-vis des extraits des plantes. Nous remarquons que la meilleure activité antibactérienne est observée de l'extrait *Urtica dioica* a une diamètre d'inhibition (14±1.41mm) contre *E.coli* (ATCC25922) et (11.25±0.35 mm) pour *Salmonella* sp.

L'extrait de *Juniperus phoenicea* présente un diamètre d'inhibition de (13.5±0.70mm) contre *E. coli* (ATCC25922) et contrairement pour *Salmonella*, sp qui ne présente pas un effet antibactérien remarqué. En considérant que l'huile de *Juniperus phoenicea* est présente une activité antibactérienne puissante contre les salmonelles.

L'extrait d'*Olea europaea* montre un diamètre d'inhibition de 10 mm contre *E.coli* (ATCC25922) et de 9 ±1.41mm pour *Salmonella*, sp.

Nos résultats presque comparables a des données bibliographiques selon des auteurs :

Mansouri & al (2011), il note qu'il y a une efficacité d'inhibition plus marquée des huiles essentielles des rameaux de *Juniperus phoenicea* des deux sous-espèces par rapport aux huiles essentielles des fruits. Ceci a été observé aussi par d'autres auteurs comme El-sawi & al (2007), au cours de leurs travaux sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux et des fruits de *Juniperus phoenicea* d'Égypte. Il corrobore aussi les résultats d'Angioni & al (2003).

Ghaima & al ,2013 montre que les résultats ont révélés que l'extrait d'acétate d'éthyle de l'ortie était plus efficace sur tous les isolats bactériens parmi eux *Escherichia coli* avec zone d'inhibition le plus élevé (24 mm) il a été constaté que l'ortie a donné grande zone d'inhibition à *S. typhi* (22mm).

Djenane & al (2012), a rapporté que les diamètres d'inhibition enregistrés des extraits de feuilles d'olivier vis-à-vis de *S. Enteritidis* étaient de 16,20±1,2 mm et 13,70±2,10 mm,

respectivement pour les polyphénols et l'extrait brut. Tandis que les diamètres d'inhibition enregistrés pour *S. aureus* étaient de 30,18±2,10 mm et 16,33±1,80 mm, respectivement pour les polyphénols et l'extrait brut.

Il a aussi réalisé des travaux sur l'activité antimicrobienne de deux extraits bruts de feuilles d'olivier de deux variétés Kabyles (Chemlal et Azerradj) et d'un extrait polyphénolique vis-à-vis d'*E. coli*. Les résultats (non publiés) ont montré que la bactérie présente certaine résistance aux extraits testés. En effet des diamètres d'inhibition de 9,60 mm, 10,97 mm et 9,5 mm sont enregistrés respectivement pour les extraits bruts Chemlal et Azerradj et l'extrait polyphénolique. Selon certains auteurs, les molécules polyphénoliques comme l'oleuropéine pourraient s'hydrolyser, ce qui provoque une baisse dans l'activité antimicrobienne.

Elmhdwi & al (2015) a indiqué que l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea* sur *E.coli* a été enregistré des zones d'inhibition de (11 mm ± 0.02, 12 mm ± 0.11 13 mm ± 0.03) selon les concentrations (20, 30,40%).

IV.5.1 Détermination de CMI des extraits des plantes

Les valeurs de CMI obtenus in vitro par la méthode de culture en milieu solide (MH) contre les souches d'*E. coli* et *Salmonella, sp* sont présentés dans le tableau X.

Tableau X : les valeurs de CMI des extraits des plantes déterminés in vitro sur les entérobactéries.

| L'extrait | CMI / <i>E.coli</i> (ATCC25922) | CMI (mg/ml) / <i>Salmonella, sp</i> |
|----------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Juniperus phoenicea</i> | 50 mg/ml | - |
| <i>Olea europaea</i> | 200 mg/ml | 100 mg/ml |
| <i>Urtica dioica</i> | 200 mg/ml | 150 mg/ml |

Les concentration CMI déterminés pour les extraits des plantes *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* testés sur *E.coli* (ATCC25922) sont respectivement 50,200,200 mg/ml ,et pour *Salmonella spp* sont 100,150 mg/ml enregistrés d'extrait d *Olea europaea* , *Urtica dioica* respectivement , alors l'extrait de *Juniperus phoenicea* n'a pas d'activité antibactérienne comme nous avons vu précédemment .

IV.6 Evaluation de la toxicité aiguë des extraits des plantes sur des rats

Hamsters

IV.6 .1 Observation clinique :

Les doses administrées des extraits polyphénoliques pour chaque plante CMI×3 et CMI×4 pendant un traitement de trois jours ne provoquent pas la mort chez les trois rats Hamsters confirment que les plantes *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* sont des plantes médicinales non toxiques.

Après l'administration de la dose CMI×3 pour chaque extrait chez les rats Hamsters on observe une hyperactivité, des urines sanglantes chez le rat traité par l'extrait d'*Olea europaea* pour le premier jour. Dans le deuxième jour on administrant la dose CMI ×4 on remarque une faiblesse chez le rat traité par l'extrait d'*Urtica dioica*. Alors que la troisième rat traité par le *Juniperus phoenicea*, en n'observe aucuns signes cliniques pathologiques remarqués.

IV.6 .2 Etude macroscopique des organes prélevés après le sacrifice des rats

Les rats sont sacrifiés et les organes prélevés (foie, rein, intestin grêle) sont examinés, mesurés, pesés, les résultats sont présentés dans les tableaux XI et XII.

Tableau XI : Résultats des mesures du poids (g) des organes prélevés.

| | | Poids d'organe (g) | | Diamètre (cm) |
|-------------------|--------------|--------------------|----------------------|-------------------|
| Rat Hamster | CMI×4(mg/ml) | Foie | Reins | Intestin |
| Rat témoin | / | 3.7 | R1 :0.3 R 2 :0.3 | 0.4 |
| Rat 1 | 200 | 3.6 | R1 :0.3 R 2 :0.3 | 0.4 et partie 0.3 |
| Rat 2 | 800 | 3.6 | R1 :0.3 R 2 :0.2 | 0.4 |
| Rat 3 | 800 | 3.7 | R1 : 0.3 R 2 :0.3 | 0.4 partie 0.5 |

L'analyse de résultats obtenus montre que l'administration de la dose CMI×4, provoque un changement du poids et de la taille d'organe du rat Hamster selon l'extrait administré.

Daprès le tableau XI, Il ya une diminution remarqué du poids des foies des rats traités par l'extrait d'*Olea europaea* et l'extrait d'*Urtica dioica* de 3.6 g par rapport le poids du rat témoin 3.7g. Et aussi une diminution pour le rein de rat traité par l'extrait d'*Olea europaea* de 0.2 par rapport le rein de rat témoin de 0.3g.

Enfin, une diminution du diamètre d'une partie de l'intestin grêle du rat traité par l'extrait de la plante *juniperus phoenicea* de 0.3cm et une augmentation de diamètre d'une autre partie de l'intestin grêle de 0.5 cm par rapport le diamètre du rat témoin de 0.4 cm.

Tableau XII : Résultats de la mesure des dimensions (cm) des organes prélevés.

| | | Mesure des dimensions (cm) | |
|-------------------|--------------|----------------------------|---------------------------------------|
| Rat Hamster | CMI×4(mg/ml) | Foie | Reins |
| Rat témoin | / | 3.5×2.2×0.8 | R1 : 1×0.7×0.3 R 2 : 1.1×0.7×0.3 |
| Rat 1 | 200 | 3.3×2.2×0.7 | R1 : 1.2×0.7×0.3 R 2 : 1.2×0.7×0.3 |
| Rat 2 | 800 | 3.5×2×0.7 | R1 : 1.2×0.7×0.3 R 2 : 0.8×0.7×0.3 |
| Rat 3 | 800 | 3.2×2.5×0.7 | R1 : 1.2×0.8×0.3 R 2 : 1.2×0.8×0.3 |

Rat 1 : traité par l'extrait de *Juniperus phoenicea*

Rat 2 : traité par l'extrait d'*Olea europaea*

Rat 3 : traité par l'extrait d'*Urtica dioica*

R1 : Rein droit

R2 : Rein gauche

D'après le tableau XII, Les résultats obtenus sont révèlent une diminution significative de la taille du foie pour les trois rats traités par les extraits des plantes de *juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* de 3.3×2.2×0.7, 3.5×2×0.7, 3.2×2.5×0.7 (cm) comparé avec la taille du rat témoin de 3.5×2.2×0.8 cm, et une augmentation de la taille des deux reins pour les rats Hamsters traités par l'extrait de *Juniperus phoenicea* et l'extrait d'*Urtica dioica*, R1 (1.2×0.7×0.3), R 2 (1.2×0.7×0.3), R1 (1.2×0.8×0.3) R 2 (1.2×0.8×0.3) respectivement comparé avec la taille du rat témoin de R1 (1×0.7×0.3), R 2 (1.1×0.7×0.3).

IV.6.3 Evaluation in vivo de l'effet de la CMI ×4 sur le foie, rein et l'intestin grêle

IV.6.3 .1Analyse microscopique des coupes histologiques

Les résultats de l'analyse anatomopathologique confirment qu'il n'y a pas de toxicité et des impacts pathologiques (tissu inflammatoire, nécrose cellulaire) observés chez les coupes représentatives colorés à l'HE des foies, reins et les intestins grêles pour les rats Hamsters traités par la dose CMI×4 de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica*.

IV.6.3 .1.1 foie

Le diagnostic microscopique des coupes histologiques indiquent qu'il ya des artéfacts de la technique résultant par la déchirure du ruban au niveau des coupes. Les observations sont comparées avec le rat témoin sain figure 38 et 39.

Les observations remarqués révèlent que les foies traités par le *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* conservent leurs architectures, et les espaces portes de taille normale ne sont pas agrandies et l'absence d'infiltrat (inflammation) au niveau des espaces portes.

Mais il ya des congestions vasculaires au niveau des espaces portes et des veines centrolobulaires montrées dans les figures 40.41.42.43.

A forte grossissement, au niveau des hépatocytes pas de changement structurale remarqués, les cellules sont cuboïdes de taille normale et le cytoplasme est éosinophile et ces granuleuses sont dus a la technique utilisé et les noyaux sont normaux donc il n'a pas de souffrance hépatocytaires.

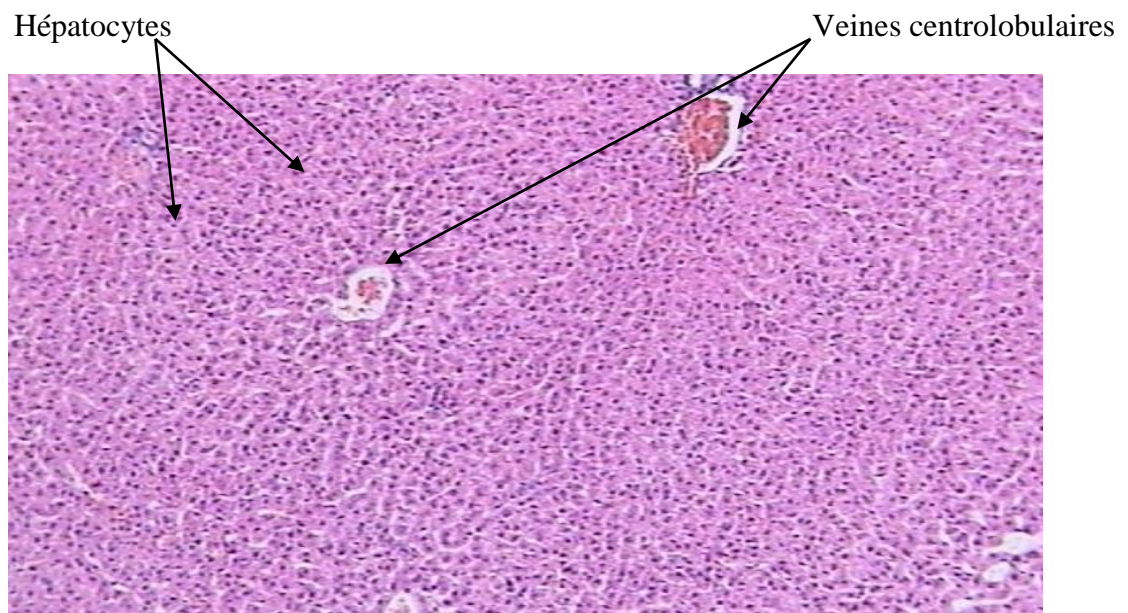


Figure 38: Coupe histologique du foie de rat Hamster témoin, coloration HE (G× 10).

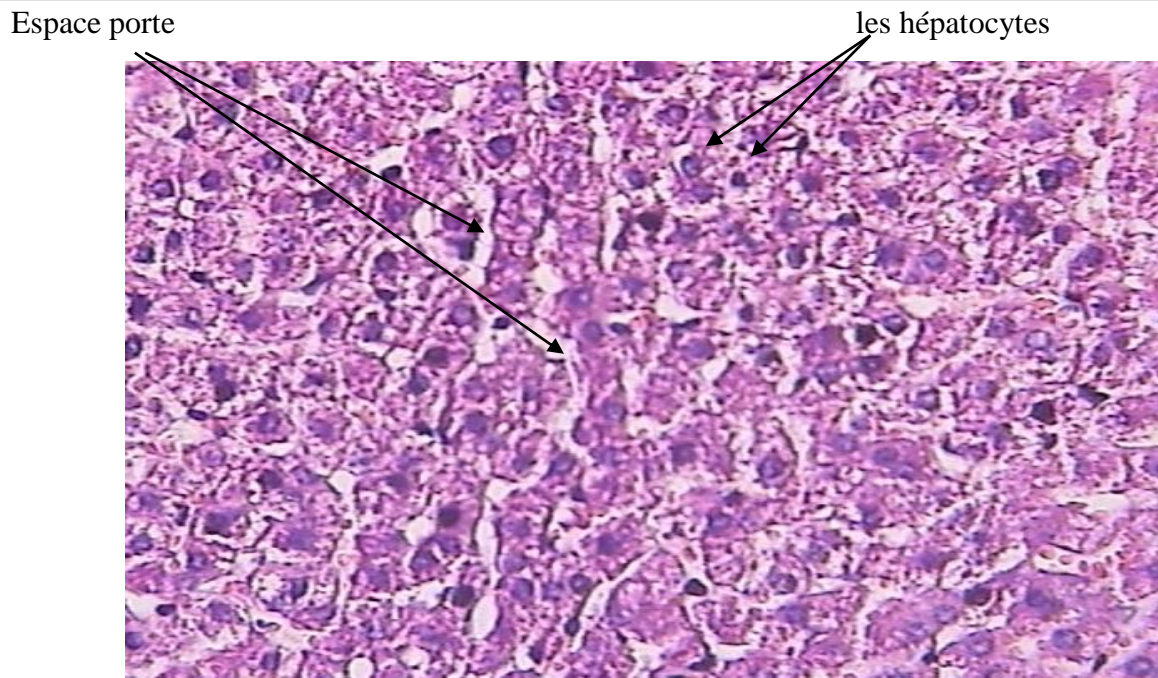


Figure 39: Coupe histologique du foie de rat Hamster témoin, coloration HE (G× 40).

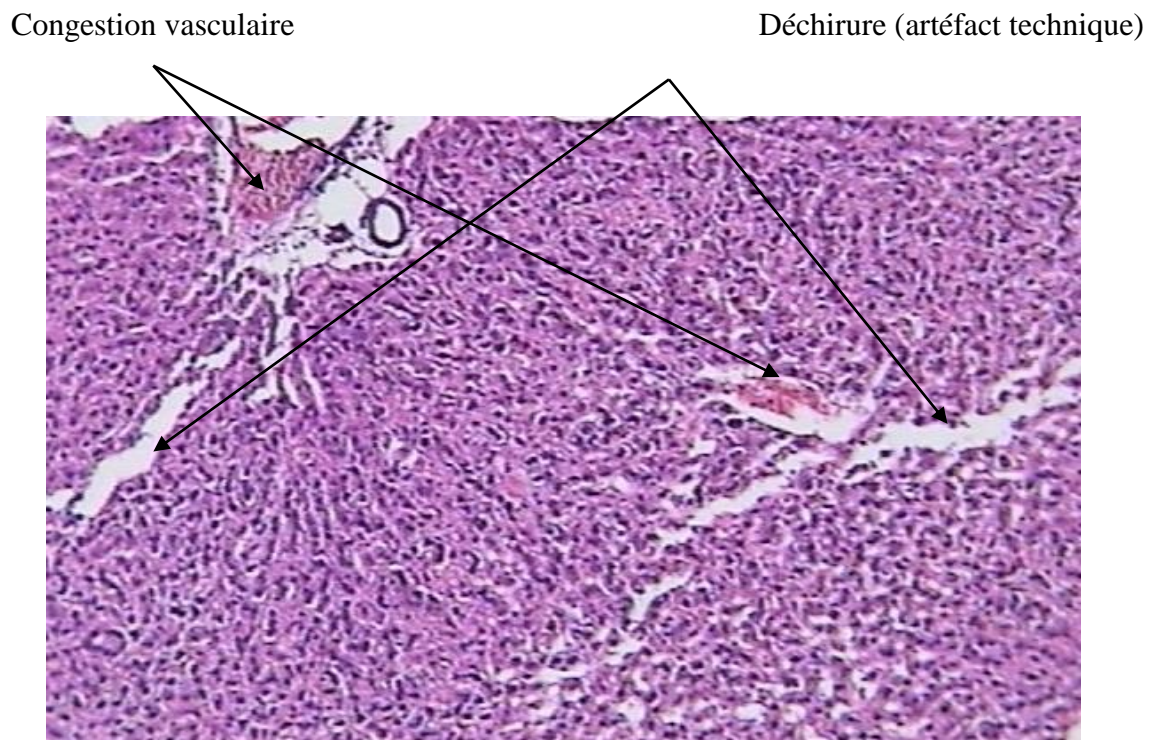


Figure 40: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par *Juniperus phoenicea*, coloration HE (G× 10).

Congestion vasculaire au niveau des veines centolobulaires

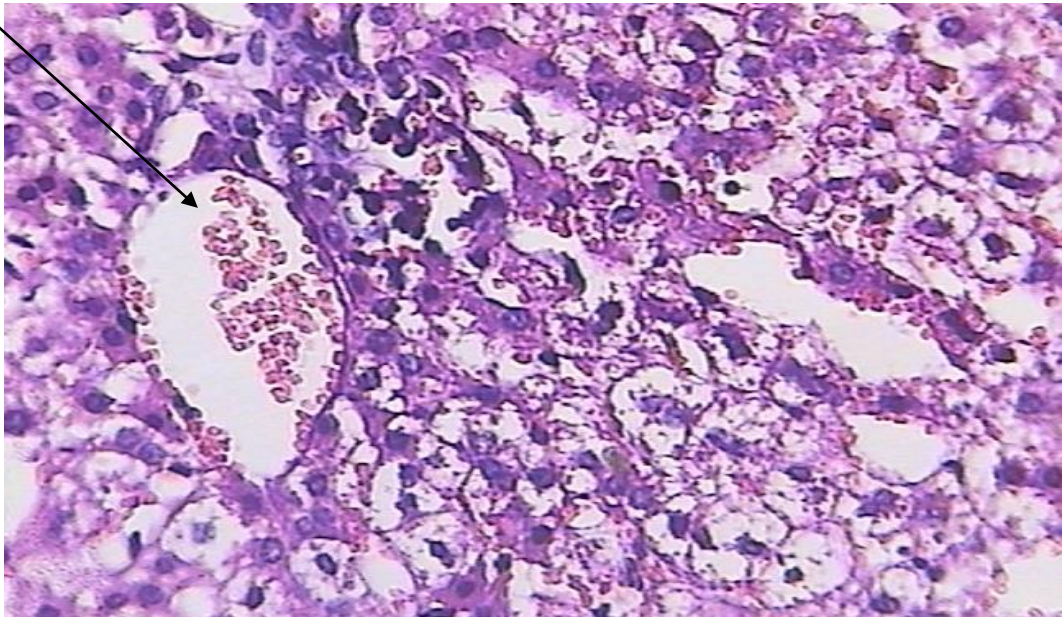


Figure 41: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par *Juniperus phoenicea*, coloration HE (G× 40).

Congestion vasculaire au niveau des veines centrolobulaires



Figure 42 : Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par *Olea europaea*, coloration HE (G× 10).

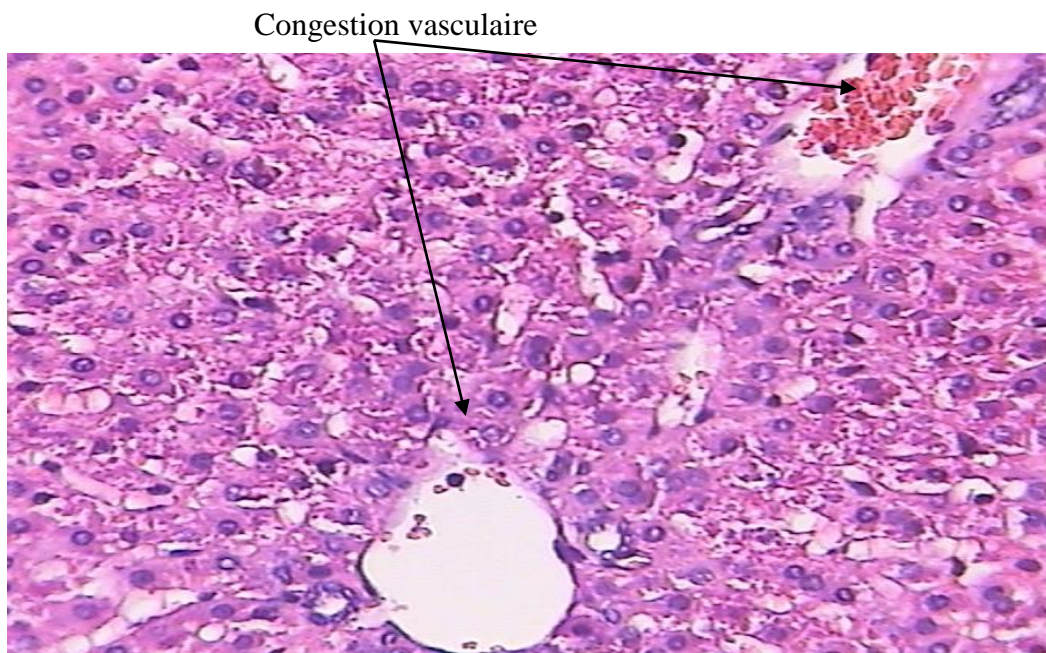


Figure 43: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par *Olea europaea*, coloration HE (G× 40).

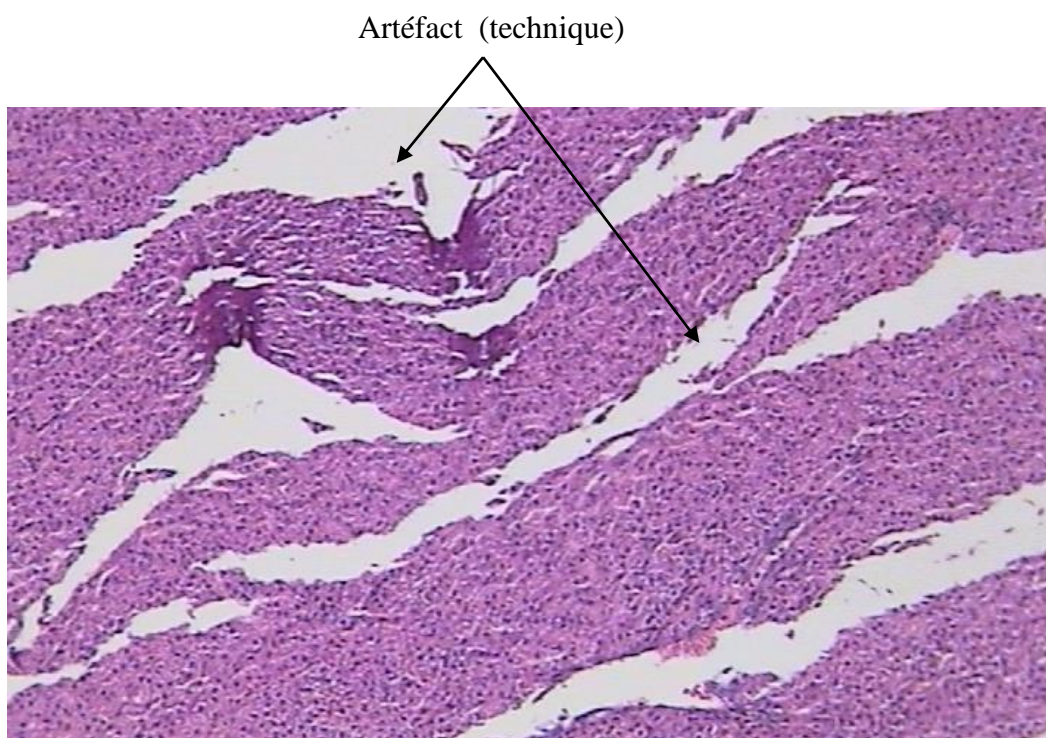


Figure 44: Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par *Urtica dioica* coloration HE (G× 10).

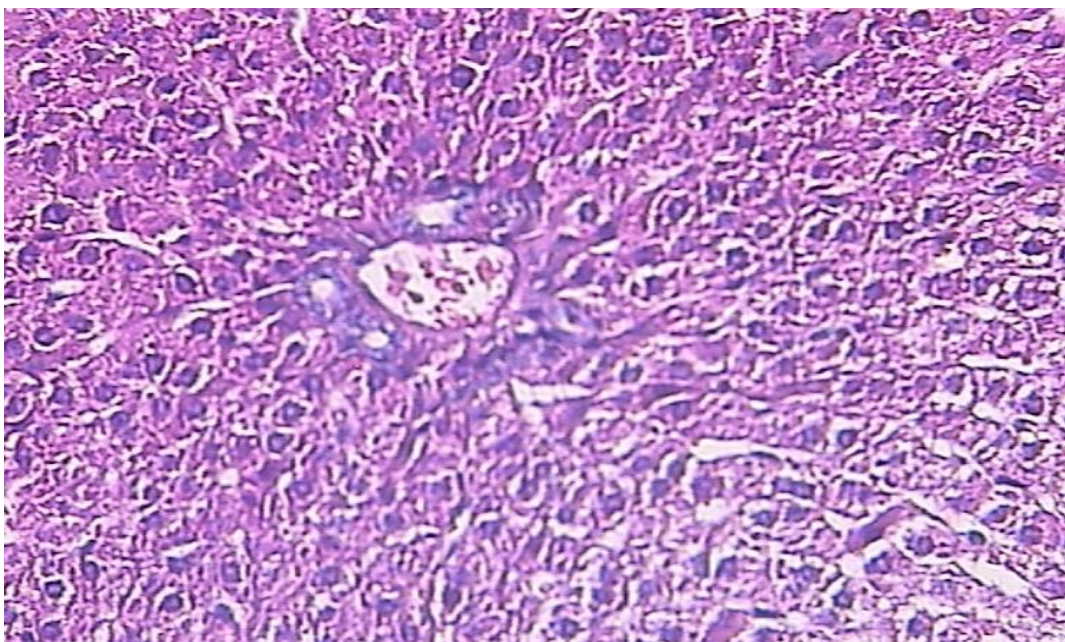


Figure 45 : Coupe histologique du foie de rat Hamster traité par *Urtica dioica*, coloration HE (G× 40).

Les mêmes observations et constatations remarquables pour le rat traité par l'extrait d'*Urtica dioica* mais les congestions sanguines sont moins importantes ou presque absentes par rapport aux deux autres extraits que montre la figure 46.

Des études récentes par des auteurs, montrent l'effet hépatoprotecteur et anti-inflammatoire de l'extrait d'*Urtica dioica* :

selon Fattahi & al (2016), l'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* également diminue les niveaux d'alanine transaminase (ALT), d'aspartate aminotransférase (AST), d'alkaline phosphatase (ALP) et la bilirubine totale du sérum, ce qui indique son effet hépatoprotecteur et une activité antihelminthique de l'extrait méthanolique a également été signalé dans *Pheretima posthuma* et les souris naturellement infectées par *Aspiculuris tetraptera*.

D'après l'étude d'Uyar & al (2016) indique la capacité potentielle et antioxydante amélioratrice de l'extrait de graines *Urtica dioica* (UDS) par la mesure des changements histopathologiques dans le foie et les reins, la mesure des enzymes marqueurs sériques, des systèmes de défense antioxydante et la peroxydation des lipides malondialdéhyde (MDA) contenu dans divers tissus de poulets de chair exposés à l'aflatoxine (AF). Il a été conclu que l'extrait d'*Urtica dioica* a un effet hépatoprotecteur dans les poulets de chair touchés par l'aflatoxicose, agissant probablement en promouvant les systèmes de défense anti-oxydante.

D'autre étude de Juma & al (2015) montre que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Urtica dioica* a été administré à la souris à travers Gavage oral à 450 mg / kg de poids corporel tous les jours pendant 4 jours. Une pathologie tissulaire a été observée chez des souris traitées avec de l'acétaminophène et administré avec 450 mg / kg .Ils ont conclu que l'acétaminophène à 250 mg / kg et 500 mg / kg sont hépatotoxiques, Tandis que *Urtica dioica* et cimetidine sont hépatoprotecteurs comme indiqué dans cette étude. Cette étude a fourni d'autres preuves pour montrer que *Urtica dioica* est hépatoprotecteur et a un potentiel d'exploitation.

Cette étude de Hajhashemi et Klooshani (2013) visait à examiner les effets antinociceptifs et anti-inflammatoires de l'extrait de feuilles d'*Urtica dioica* dans des modèles animaux. L'extrait a diminué de manière dépendante de la dose des courbatures abdominales provoquées par l'acide acétique. Dans le formalisme Test, l'extrait à des doses de 200 et 400 mg / kg inhibaient de manière significative la deuxième phase de Test de formaline. Dans le test de la carraghénine, l'extrait à une dose de 400 mg / kg a inhibé de manière significative la patte Œdème de 26%.

IV.6.3 .1.2 Rein

L'analyse microscopique des trois reins traités par les extraits d' *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica*, indiquent qu'il n ya pas des lésions rénales observés, les parties corticals et médullaires sont bien différenciées, les glomérules et les canaux excréteurs n'ont pas dilatés ou détruits et ils ne sont pas fibrosés. Les observations sont comparées avec le rat témoin sain figure 46 et 47. Et aucun changement structural remarqué pour le rat traité par l'extrait de *Juniperus phoenicea* , montrés dans les figures 48 et 49.

Toutefois nous observons seulement des congestions vasculaires au niveau du parenchyme et des glomérules rénaux des rats traités par l'extrait d'*Olea europaea* et *Urtica dioica*, montrés dans les figures 50, 51,52, 53.

Ces résultats de toxicité sont comparables a une étude de Elamrani (2013), qui comparé l'activité anti-tumorale et la cytotoxicité d'extraits éthanoliques préparés à partir des feuilles de quatre variétés de *Olea europaea*, L cultivées au Maroc sur les cellules rénales. Il a conclu que l'activité anti-tumorale sur les cellules Rhabdmyosarcom humaines (RD) (ligne CCL-136) de tous les échantillons était plus forte que leur cytotoxicité sur les cellules rénales de singe africain (ligne CCL-81).

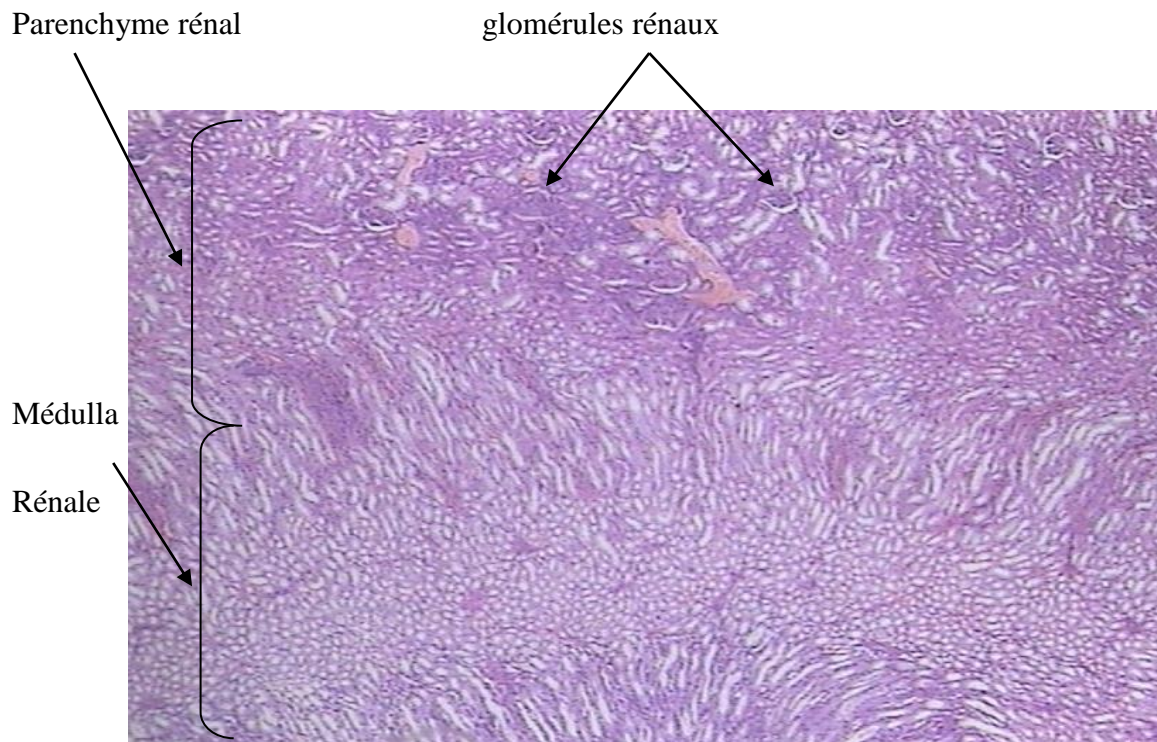


Figure 46: Coupe histologique du rein de rat Hamster témoin, coloration HE (G× 4).

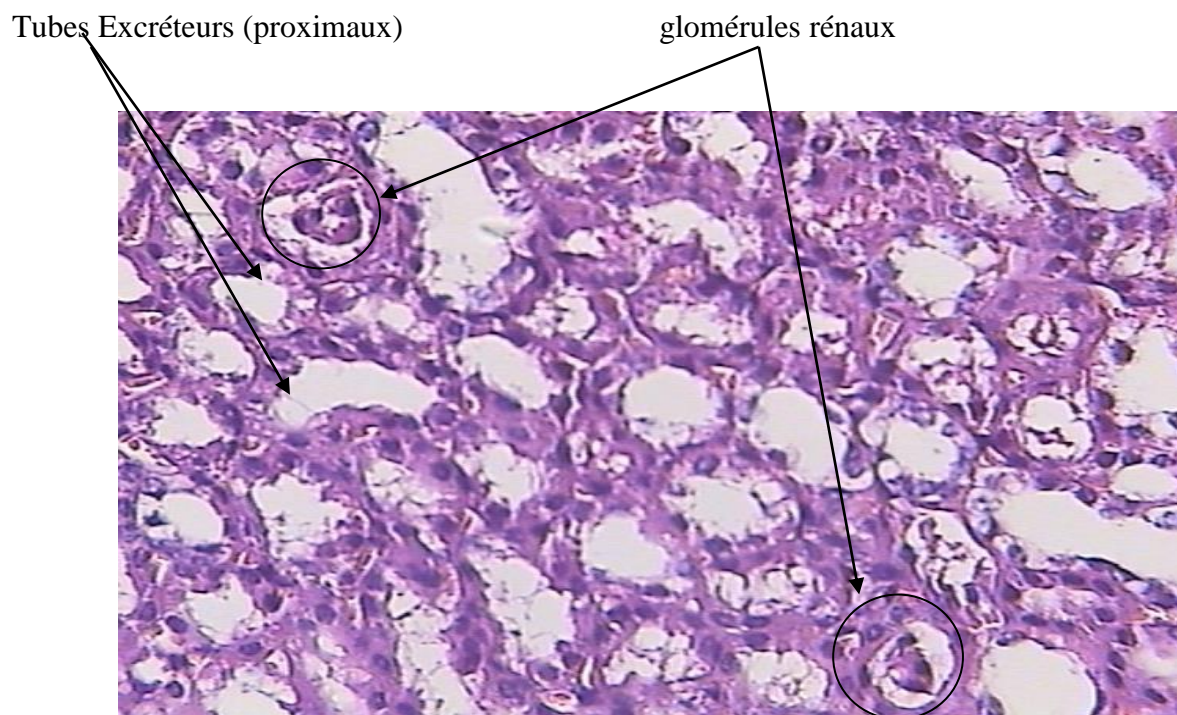


Figure 47: Coupe histologique du rein de rat Hamster témoin, coloration HE (G× 40).



Figure 48: Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par *Juniperus phoenicea* coloration HE (G×10).

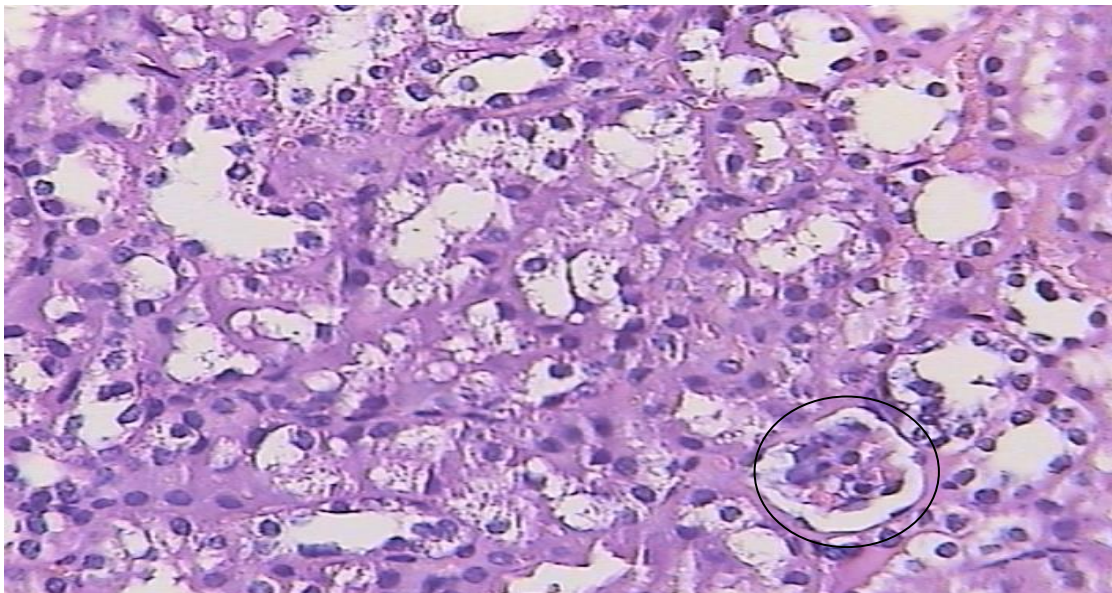


Figure 49: Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par *Juniperus phoenicea*, coloration HE (G×40).

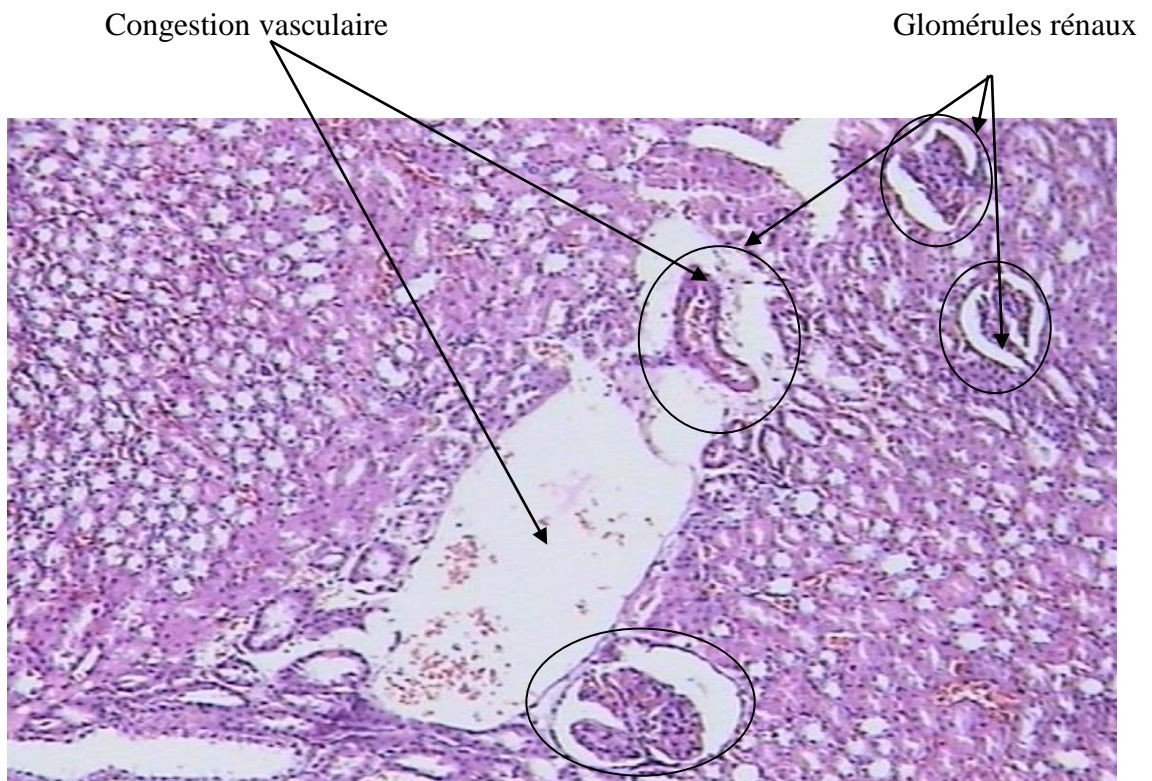


Figure 50 : Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par *Olea europaea*, coloration HE (G×10).

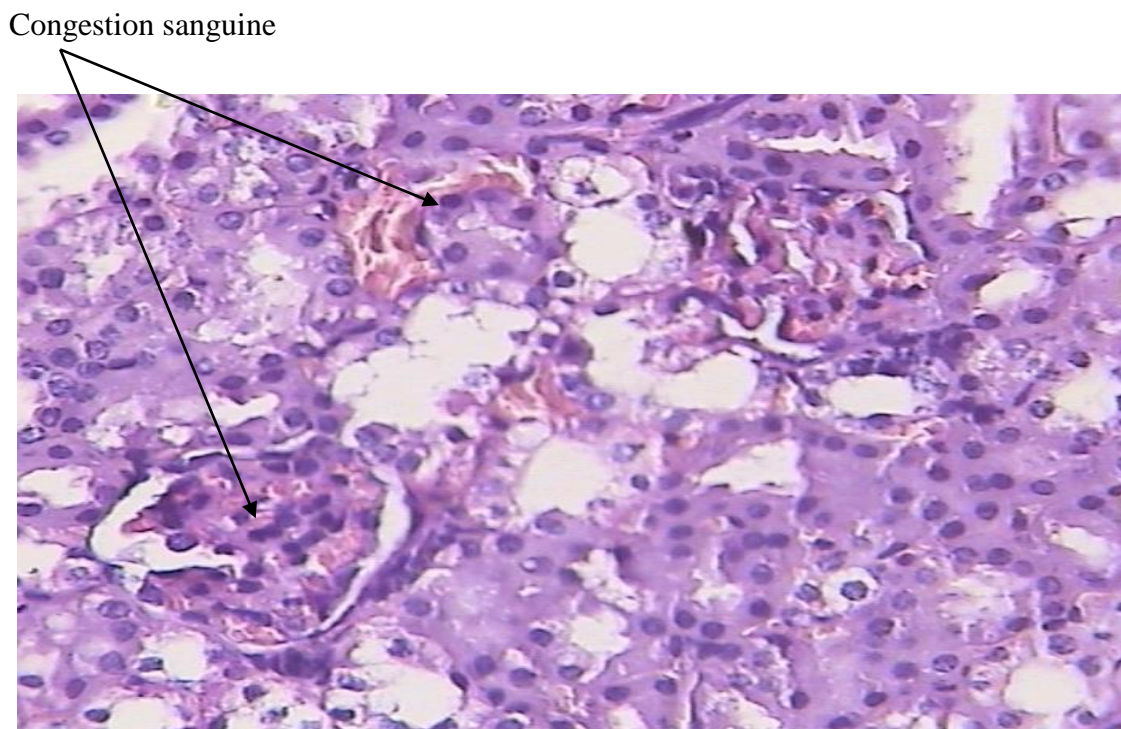


Figure 51 : Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par *Olea europaea*, coloration HE (G×40).

Congestion vasculaire

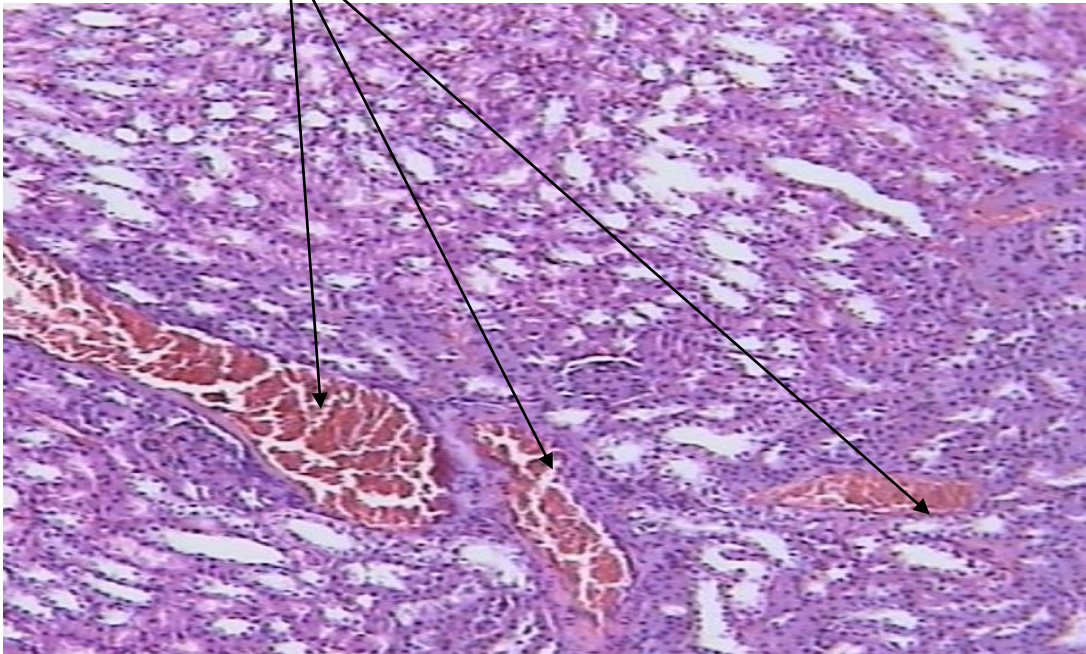


Figure 52: Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par *Urtica dioica*, coloration HE (G×10).

Congestion au
niveau des glomérules

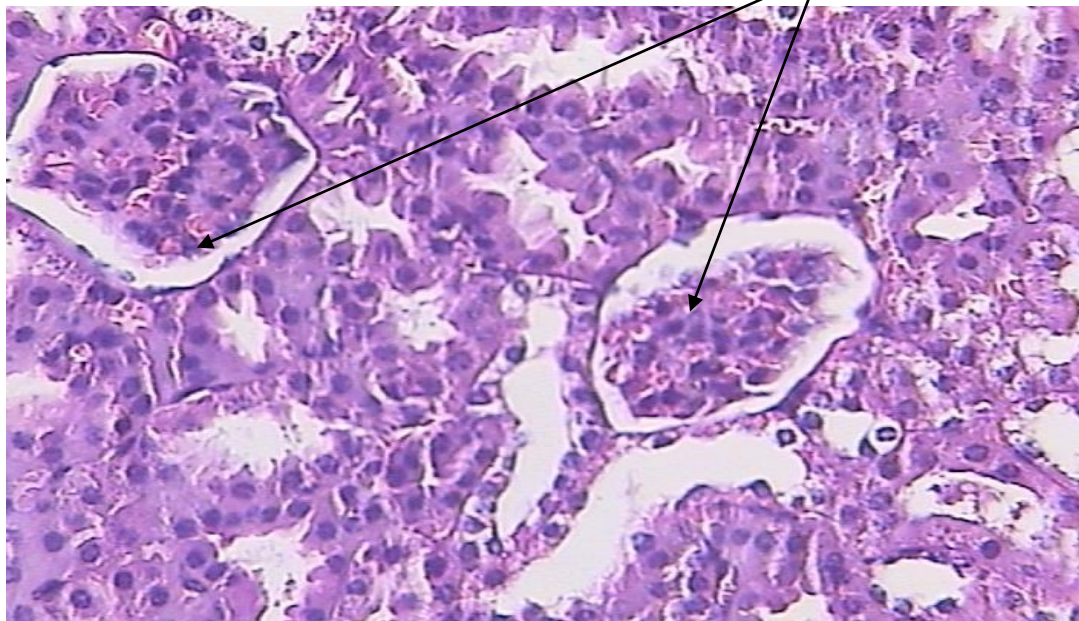


Figure 53 : Coupe histologique du rein de rat Hamster traité par *Urtica dioica*, coloration HE (G×40).

Notre étude a montré que les extraits de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* administrés à des doses CMI $\times 4$ de 200, 800, 800 mg/kg respectivement chez les rats Hamsters ne provoquent pas une toxicité rénale selon le diagnostic histopathologiques des tissus.

Il est nécessaire de l'utilisation de la technique complémentaire d'immunohistochimie (IHC), pour affiner le diagnostic surtout pour les structures fines ultra microscopique comme les néphrons qui sont des unités n'ont pas observés au microscope optique.

Selon les observations cliniques nous remarquons des urines sanglantes pour le rat traité par l'extrait d' *Olea europaea* et l'étude macroscopique révèlent la diminution de poids et du taille pour le rein traité par l'extrait d' *Olea europaea* et une augmentation des reins pour les deux autres rats.

Le changement du poids et de la taille pour les reins peut être expliqué par des œdèmes et des dilatations des veines centrolobulaires comme montrées les coupes histologiques précédentes.

IV.6.3 .1.3 Intestin grêle

L'intestin grêle est le lieu principale de l'absorption des produits alimentaire digérées, nous remarquons sur le microscope optique que l'architecture est normale pour les intestins des rats traités par les extraits de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* présentés par la muqueuse hérissée, des villosités bien développées, sont recouvertes d'un épithélium unistratifié cylindrique, et la couche sous muqueuse riche en éléments vasculaires suit d'une musculature. Les observations sont comparées avec le rat témoin sur les figures 54,55.

Le diagnostic microscopique sur des coupes transversales de l'intestin pour chaque rat montrent qu'il n'y a pas de disparition des villosités résultant d'une substance toxique ou a une malabsorption et la muqueuse ne perd pas son relief et aucune atrophie remarqué dans les figure 56,57,58,59,60,61.

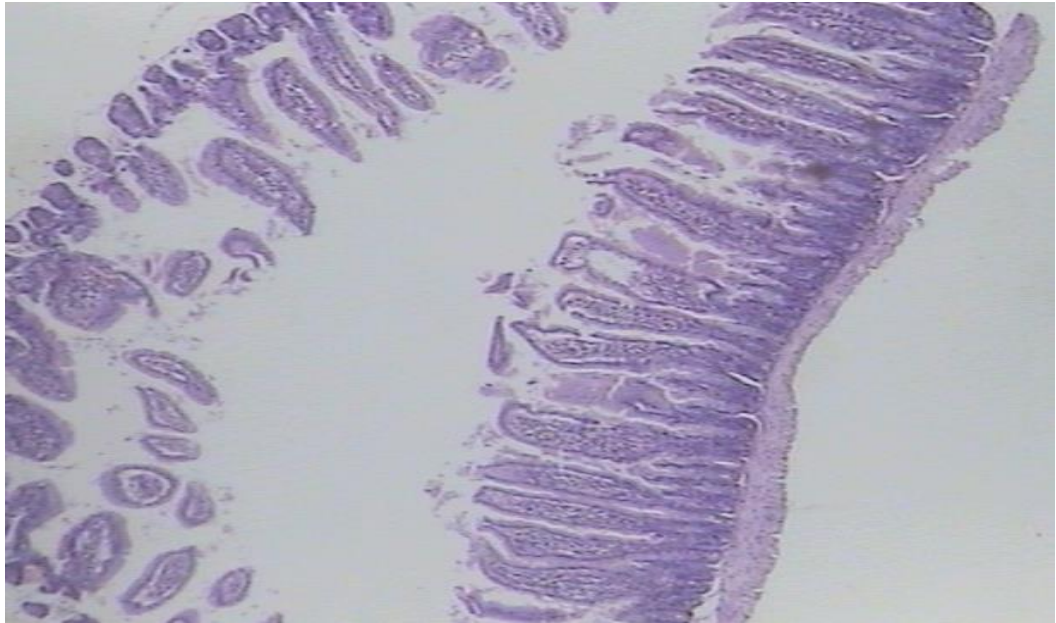


Figure 54 : Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster témoin coloration HE (G× 4).



Figure 55 : Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster témoin, coloration HE (G× 10).

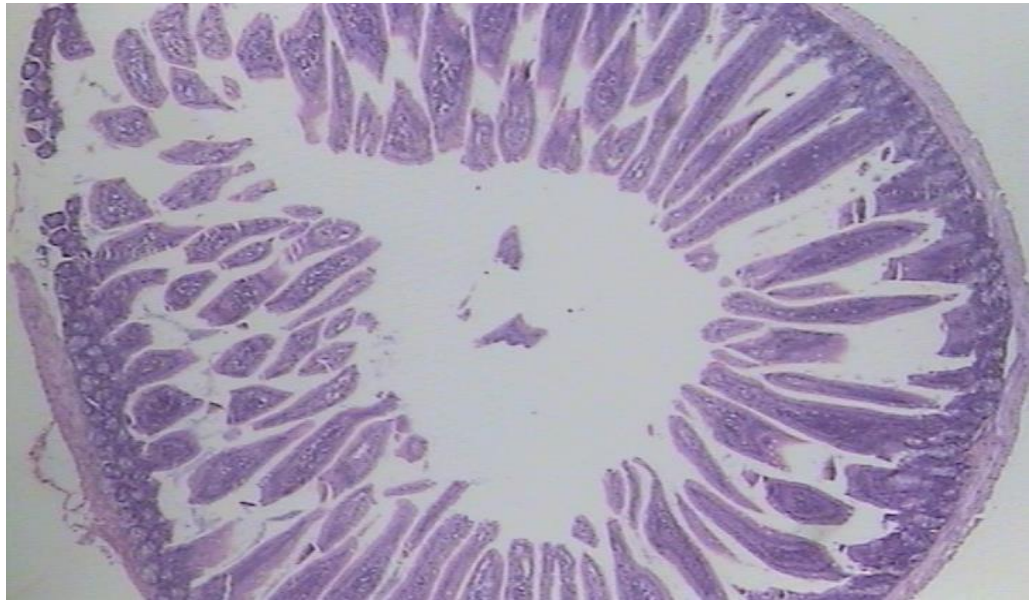


Figure 56: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par *Juniperus phoenicea*, coloration HE (G× 4).

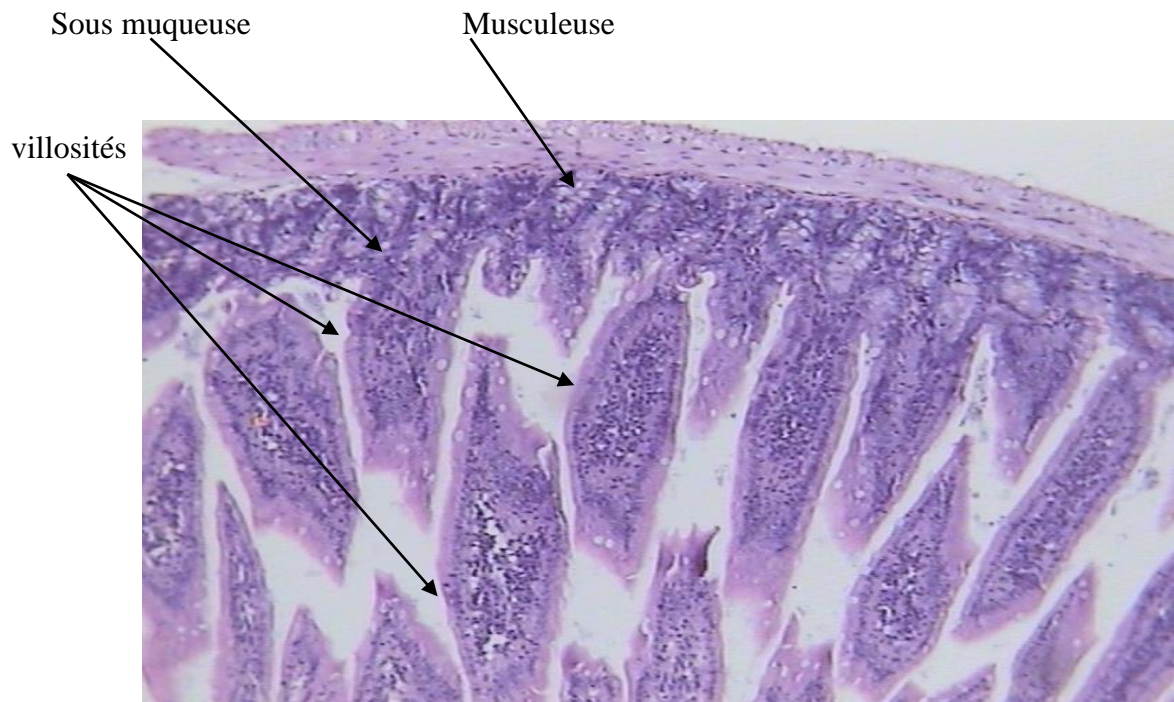


Figure 57: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par *Juniperus phoenicea*, coloration HE (G× 10).

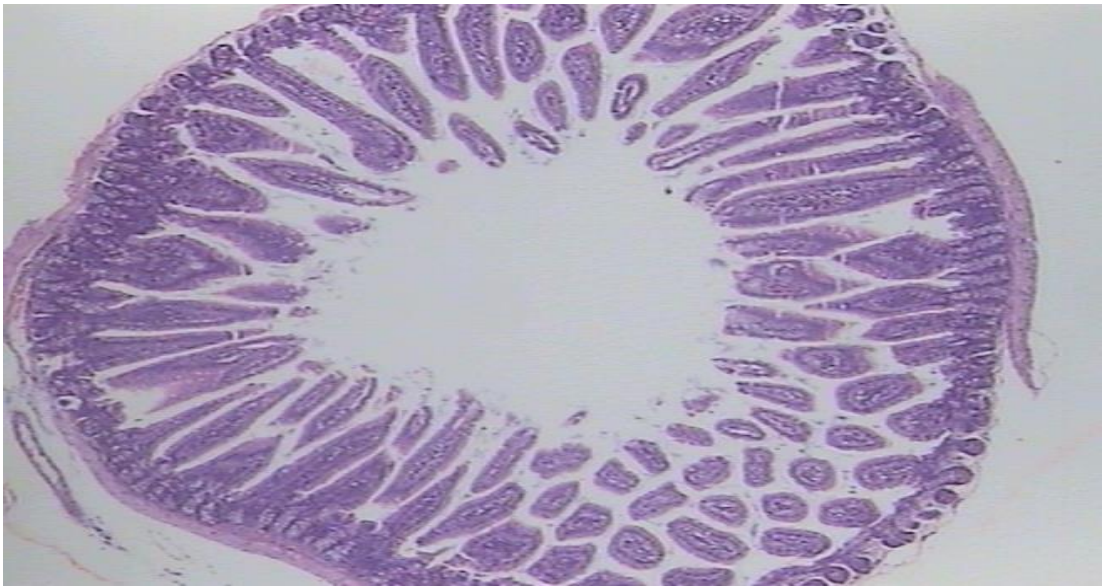


Figure 58: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par *Olea europaea* coloration HE (G× 4).

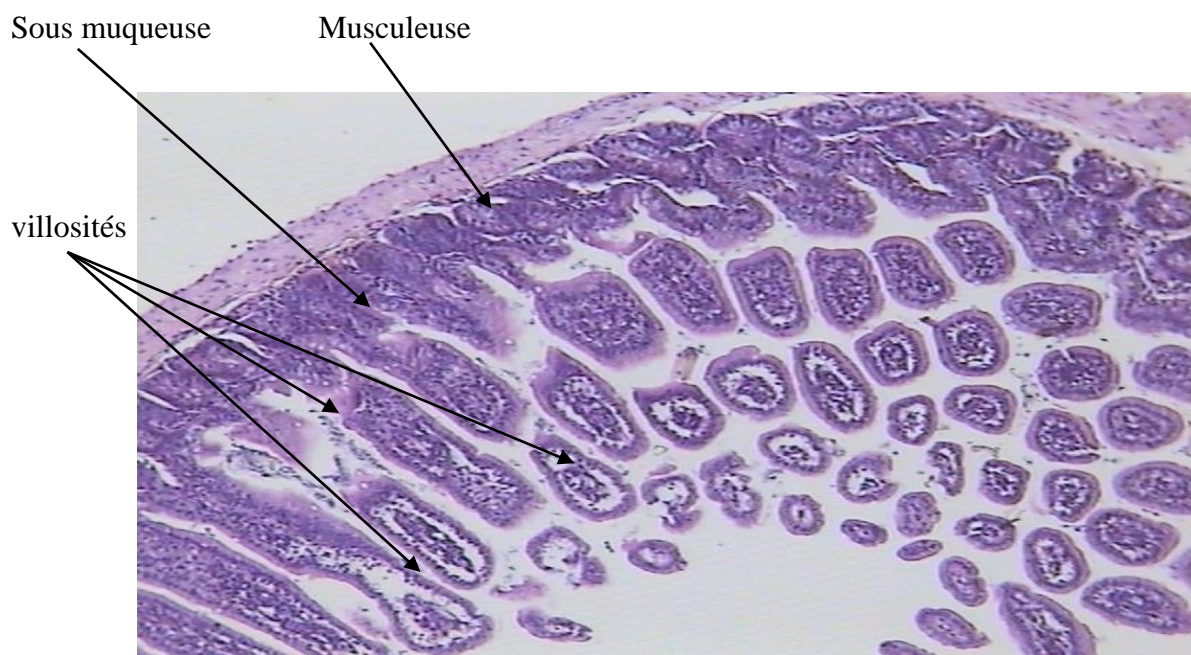


Figure 59: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par *Olea europaea*, coloration HE (G× 10).



Figure 60: Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par *Urtica dioica*, coloration HE (G× 4).

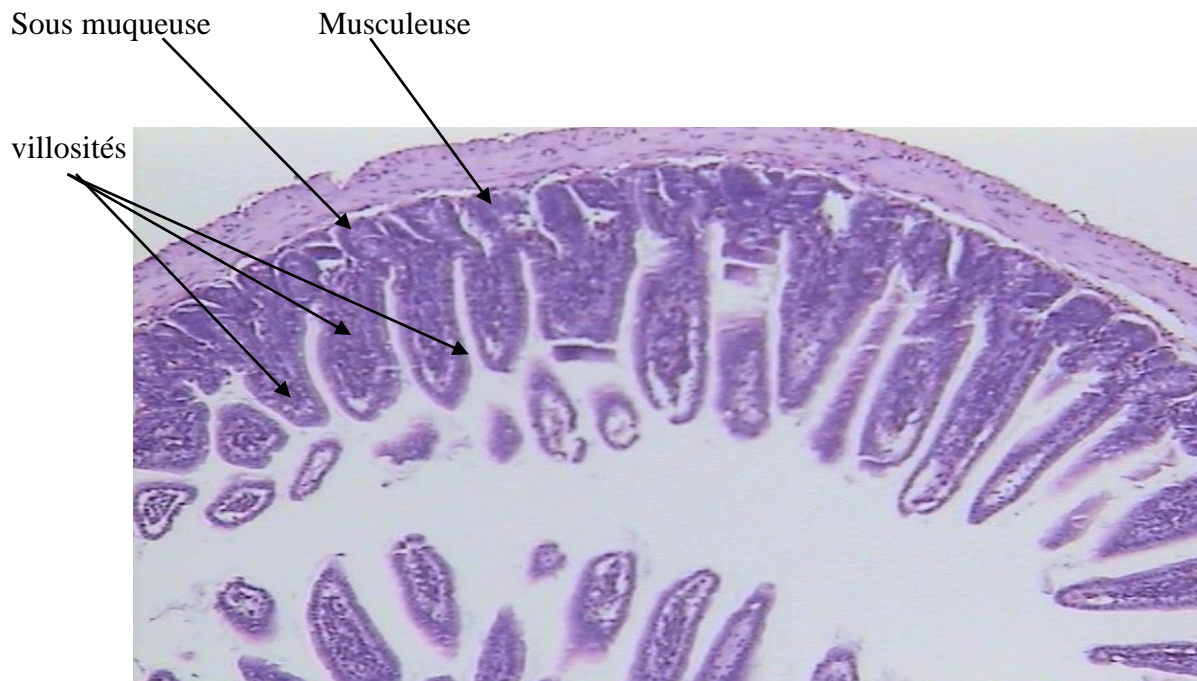


Figure 61 : Coupe histologique transversale de l'intestin grêle de rat Hamster traité par *Urtica dioica*, coloration HE (G× 10).

Conclusion

Conclusion

Les propriétés pharmacologiques des plantes médicinales *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* justifiant leurs importances thérapeutiques qui ont permis un large spectre d'application dans la phytothérapie traditionnelle en Algérie.

La présente étude a consacré la détermination du rendement des trois extraits des plantes et l'analyse qualitative par le criblage phytochimiques et chromatographique sur couche mince (CCM), qui permet de mettre en évidence la présence des composés bioactifs dans les extraits méthanoliques des parties aériennes de *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* : alcaloïdes, tanins, saponosides, terpénoïdes, flavonoïdes, les coumarines et les quinones libres.

L'analyse quantitative montre la richesse des extraits des plantes en phénols totaux de (15.27 ± 0.57 $\mu\text{gEAG/mg Ext}$) pour *Juniperus phoenicea*, l'*Urtica dioica* de (14.60 ± 1.14 $\mu\text{gEAG/mg Ext}$) et *Olea europaea* de (14.46 ± 1.71 $\mu\text{gEAG/mg Ext}$).

L'extrait méthanolique d'*Urtica dioica* montre une teneur élevée en flavonoïdes totaux (8.75 ± 0.06 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$) par rapport l'*Olea europaea* (4.02 ± 0.02 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$) et *Juniperus phoenicea* (3.504 ± 0.05 $\mu\text{g EQ/mg Ext}$).

L'étude des activités biologiques des extraits des trois plantes présente un intérêt réel et potentiel par leurs activités antioxydantes et antibactériennes.

L'activité antioxydante a été établie par la méthode DPPH, l'extrait de *Juniperus phoenicea* montre une activité antioxydante élevée par rapport les deux autres extraits d'*Olea europaea* et *Urtica dioica*.

L'effet antibactérien des extraits des plantes est important sur les entérobactéries *Escherichia coli* (ATCC25922) et *Salmonella, sp* sauf l'extrait de *Juniperus phoenicea* qui ne présente pas un effet remarqué vis-à-vis de la bactérie *salmonella, sp*. Les concentrations CMI déterminés pour les extraits des plantes *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea* et *Urtica dioica* testés sur *Escherichia coli* (ATCC25922) sont respectivement de 50, 200, 200 mg/ml.

L'étude de la toxicité aigue in vivo chez les rats Hamsters de ces plantes par l'administration de la dose CMI×4 a permis de conclure que l'extrait des parties aériennes pour chaque plante *Juniperus phoenicea*, *Olea europaea*, *Urtica dioica* n'est pas létale et toxique à cette dose sur la période de gavage par voie orale de trois jours.

L'évaluation de l'effet de la dose CMI×4 sur les reins, les foies, les intestins grêles chez les rats Hamsters montre l'absence d'impact pathologique ou des altérations morphologiques sur les tissus, établie par le diagnostic anatomopathologiques des coupes histologiques, sauf des congestions vasculaires remarquables.

On propose l'association des techniques complémentaires (hématologique, immunologiques...) pour affiner le diagnostic histopathologiques et apprécier les aspects des lésions ultramicroscopiques.

Et aussi l'utilisation des autres modèles expérimentaux par la réalisation des essais de toxicité à longue durée avec des lots importants d'animaux.

En perspectives ;

A la base des résultats obtenus, la corrélation des résultats observés de l'évaluation de l'activité antioxydante, l'effet antibactérien étudié in vitro et l'effet cytotoxique de la dose CMI×4 in vivo confirme le pouvoir thérapeutique et l'intérêt des extraits secs des plantes étudiés.

Dans cette optique ,il serait intéressant a travers de futur études de l'identification des molécules bioactives dans les extraits secs de ces plantes pour la fabrication des médicaments et l'investigation des nouveaux traitements des infections entériques liées a des entérobactéries comme *Escherichia coli* et *salmonella*, sp.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Afif Chaouche, T. (2015). Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée. Université Abou Bekr Belkaid .Tlemcen, 36-111-119.
- Ait Youssef, M. (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Ed Ibis Press .Paris, 8.
- Allais, D. (2009). Actualités pharmaceutiques, l'ortie dioïque .Elsevier, 490, 53–55.
- Angioni, A., Barra, A., Russo, M.T., Coroneo, V. Dessi, S., & Cabras, P. (2003). Chemical composition of the essential oil of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *Agricultural and Food Chemistry.*, 51, 3073–3078.
- Aouidi, F. (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea europaea* dans l'industrie agroalimentaire. Thèse de Doctorat En Génie Biologique .Université du Carthage .Tunisie, 3.
- Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé . *Afrique Science*, 09(3) ,159 – 166.
- Ari, R. & Sezonov, G. (2008) .Les organismes modèles Biologie et génétique d'*Escherichia coli* .P. Ed Belin .Paris ,11-14
- Asgarpanah J., & Mohajerani R. (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica* L. *Medicinal Plants Research*, 6(46), 5714-5719.
- Asselah, F. (2012). Bases anatomo-pathologiques des maladies. Médecine 3^{ème} année .Ed 3^{ème} Office des Publications Universitaires. Alger, 14.
- Aubry P., & Gauzere B, A. (2015). Les Salmonelloses. Médecine santé tropicale.
- Barrett, I. (2015). Olive Leaf Extract The Mediterranean Healing Herb. Ed Book Publishing Company .USA, 8.
- Beddou, F. (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L et *Anvillea radiata* Coss a Dur. Thèse de Doctorat en Produits naturels, aspects nutritionnels et activités biologiques .Université Abou Bekr Belkaid ,22-60.
- Beloued, A. (2013). Plantes médicinales d'Algérie, 5^{ème} Ed. Ed Office des Publications Universitaires .Alger ,152.

Références bibliographiques

- Bey, F. (2009) .Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactibacillus* sp. et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire de magister en Microbiologie Alimentaire. Université d'Oran Es-Senia, 14-15.
- Bhuwan, C.J., Minky, M., & Sushmita, S. (2015).Antioxydant potential and total phenolic content of *Urtica dioica* (Whole plant). *Applied Pharmacy*. 7(2), 120-128.
- Bonnefoy, C., Guillet, F., Leyral, G. & Bourdais, E. (2002).Microbiologie et qualité dans l'industrie agroalimentaires. Ed Services Culture DOIN. France, 48.
- Botineau, M. (2015). Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Ed Lavoisier, France., 128-129
- Botineau, M. (2010).Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs .Ed Lavoisier .Paris ,699.
- Boubekri, C. (2014).Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques Thèse de Doctorat en sciences. Université Mohamed Khider .Biskra, 79.
- Bouguerne, B. (2012).Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose).Thèse de doctorat en chimie- biologie- santé. Université de Toulouse, 21.
- Bremness, L. (2005).Plantes aromatiques et médicinales 700 espèces. Ed La Rousse .France, 224.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ème} Ed TEC et DOC.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.4^{ème}Ed Lavoisier, 361-466-718-719.
- Cai, L.Y., Shi F.X., & Gao, X. (2011).Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. *Medicinal Plants Research*, 5 (17), 4059 – 4064.
- Cassan, A., Saichi, N., Durand, Ph., & Durand, A.B. (2009).Guide des conifères et espèces apparentées .Ed Institut Klorane, Celikel, N., & Kavas, G. (2008).Antimicrobial Properties of Some Essential Oils against Some Pathogenic Microorganisms. *Czech Food Sciences*, 26, (3) ,174–181.
- Chemouny, B. (2012). Soigner le stress par l'homéopathie et la phytothérapie. Ed Odile Jakob .Paris, 77.
- Cheymol, N., & Hoff, M. (1999). La microchimie: Techniques et expériences.Ed De Boeck Université. France, 128.

Références bibliographiques

- Collin, S., & Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés. Ed Lavoisier. France. 6-293
- Collyn, F., & Simonet, M. (2006). E. coli une bactérie modèle pour appréhender l'émergence des agents infectieux. U 801 .Université de Lille .MAPAR.
- Croxen, M.A., & Finaly, B.B. (2010).Molecular mechanisms of *Escherichia coli* Pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology* , 8,26–38.
- Cuq, J.L. (2007). Microalimentaire. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. 2-22.
- Daayf, F., & Vincenzo, L. (2008). Récent Advances in Polyphenol Research. Ed Blackwell Publishing .USA, 2-22-23-68-74-233.
- Delarras, C., Trebaol, B., & Durand, J. (2010). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux (2^{ème} Ed), Ed Lavoisier. Paris .France, 140.
- Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E. & Quentin, R. (2011). Bactériologie médicale Techniques usuelles .Ed Elsevier Masson. Paris. 331-342.
- Denis, F. (2002).Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. Ed John Libbey Eurotext.Paris, 190.
- Diallo, A.A.(2013).*Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de Doctorat En Microbiologie. Université Toulouse III - Paul Sabatier, 18-31.
- Djenane, D.J., Yangüela, J., Derriche, F., Bouarabl, L., & Roncales, P. (2012).Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technologie*, 07,53–61.
- Deliorman Orhan D., Ozcelik, B., & Hoşbaş., S., Vural, M. (2012).Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish Journal of Biology* , 36, 672–686.
- Dextreit, R. (1984).La cure végétale, toutes les plantes pour se guérir .Ed de la revue « Vivre En Harmonie» .Paris, 218.
- Duraffourd, C., & Lapraz., J.C. (2002).Traité de phytothérapie clinique : Endobiogénie et médecine .Ed Masson. Paris, 06-07-24-25.

Références bibliographiques

- Eggebrecht, H., Naber, C.K., Beuch, C. & al. (2004). Value of Plasma Fibrin D-Dimers for Detection of acute Aortic Dissection. *The American College of Cardiology*, (44), 804-9.
- Elamrani, A. (2013). The Antitumoral activity and the Cytotoxicity on Renal Cells of Ethanolic Extracts from the Leaves of Four Varieties of *Olea europaea* L. Grown in Morocco. *Analytical Chemistry Letters*, (1), 63-69.
- Elmhawi, M.F., Attitalla, I.H., & Khan B.A. (2015). Evaluation of Antibacterial Activity and Antioxidant Potential of Different Extracts from the Leaves of *Juniperus Phoenicea*. *Plant Pathology & Microbiology*, 6(9), 2157-7471.
- El Ouar, I., Tartouga, M.A, Loucif, O.R., & Naimi, D. (2016). Antioxidant and hepatoprotective effect of *Urtica Dioica* extract against N-nitroso methyl urea induced injuries in mice. *Pharmacognosy and Phytotherapy*, 9(2), 19-23.
- El-Sawi, S.A., Motawae, H.M. & Ali A.M., 2007. Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 4(4), 417-426.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaib, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi., N.M., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus Biologies*. 331, 372-379.
- Fattahi, S., Golpour., M., & Akhavan-Niaki, H. (2016). *Urtica Dioica*, An Emerald in the Medical Kingdom. *International Biological and Biomedical Journal Winter*, 2, (1).
- Fleurentin, J., Cabalion, P., Mazars, G., Santos, J.D., & Younos, C. (1990). Ethnopharmacologie, sources, méthodes, objectifs. Ed ORSTOM. France, 230.
- Ferreira, C.F.R.I.A., Barros, L.A, Soares, M.E.B., Lourdes Bastos M.B, Pereira, A.J.A. (2007). Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea*, L leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chemistry*, 103, 188-195.
- Fuinel, G. (2002). Arbres et plantes médicinales du jardin. Ed Fernand Lanore, Paris, 107.
- Ghafir, Y.L., & Daube. (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Médecine Vétérinaire.*, 151, 79-100.
- Ghaima, Kais, Hashim, K., Makie, N., & Abdalrasool, A.S. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Applied Pharmaceutical Science*. 3(5), 096-099.

Références bibliographiques

- Gentilini, M., Caums, E., Danis, M., Richard– Lenoble, D., Begue, P. Touse, J.E., & Kerouedan D. (2012). Médecine tropicale - 6^{ème} Edition. Ed Lavoisier. Paris. France.582-591-1140.
- Geubelle, F. (2006). Protégé pour mieux grandir: prévention chez le jeune enfant. Ed de l'université de liège ULG. Belgique, 222-223.
- Haddadou, M. (1994). Guide de la culture et de la langue berbères. Ed ENAL, ENAP. Alger, 253.
- Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A., Benmansour, A. (2009).Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science* ,05(2) ,246 – 259.
- Hajhashemi, V., Klooshani, V. (2013). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Urtica dioica* leaf extract in animal models. *Avicenna Journal of Phytomedicine. Spring*, 3(2),193-200
- Hamidi, A. (2013). Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum* Mémoire de Magister En physico –chimie moléculaire .Université Kasdi Merbah Ouargla, 49.
- Harbone, J.B. (1973). Phytochemical méthodes : A Guid to modern techniques of plant analysis, chapman a hall. Ed Londres, 279.
- Harrington, E.G., Susan, M., Dudley, J., &Nataro, P. (2006).Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *FEMS Microbiology Letters* , 254 (1) ,12-18.
- Hopkins, W.G. (2003). Physiologie végétale .Ed De Boeck .Bruxelles .France, 268 -283.
- Iserin, P., Masson, M.P., Restellinii, J., Ybert, E., Moulard, F., Zha, E ., La Roque, R., Vican, P., Delesalle-Feat, T., Biaujeaud, M., Ringuet, J ., Bloch, J ., & Bortel, A. (2001).La rousse encyclopédie des plantes médicinales . Ed Larousse France, 11-240.
- Juma, K.K., Maina, S.G., Muriithi, J.N., Mwangi, B.M., Mworio, K.J, Mwonjoria, M.J., Ngeranwa, J.N., & Mburu, N.D.(2015).Protective Effects of *Urtica dioica* and Cimetidine[®] on Liver Function Following Acetaminophen Induced Hepatotoxicity in Mice. *Developing Drugs*, 4 (1) .1000129.
- Khan, A.M., Qureshi, R.A, Ullah, F., Gilani, S.A., Nosheen, A., Sahreen, S., Laghari, M.K., Laghari, M.Y., Rehman, S-U., Hussain, I ., & Murad,W.(2011). Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Medicinal Plants Research*, 5 (25), 6017 – 6023.

Références bibliographiques

- Khare, V., Kushwaha, P., Verma, S, Gupta, A., Srivastava, S., & Kumar, S.R.A. (2012). Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. *Chinese Medicine*, 3, 128-135.
- Khelfallah, A. (2012). Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. Mémoire de Magister en Biologie appliquée .Université Constantine. 1,73.
- Khoudali, S., Benmessaoud Left, D., Essaqui, A., Zertoubi, M., Azziz, M., & Benaissa. M. (2014).Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Materials and Environmental Science*, 5 (3) ,887-898.
- Karumi, Y., Onyeyili, P.A., & Ogugbuaja, V.O. (2004). Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *Medicinal Plants Research* . 4, 179 – 182.
- Kataki, M.S., Murugamani, V., Rajkumari, A., Mehra, S.P., Awasthi, D., & Yadav, R.S. (2012). Antioxidant, Hepatoprotective and Anthelmintic Activties of Methanol Extract of *U. dioica* L. Leaves. *Pharmaceutical Crops*. 3, 38-46.
- Kintz, P. (1998). Toxicologie et pharmacologie médicolégales .Ed Elsevier .France ,71.
- Kone, M., Bleyere, N.M., YAPO, A.P ., Vangah, M.O ., & Ehile E-E. (2009). Evaluation de la toxicité d'un extrait aqueux de *Sacoglottis gabonensis* (Baille) Urban (Humiriaceae) chez les rongeurs, une plante utilisée dans le traitement de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(6), 1286-1296.
- Korsak, N., Clinquart, A., & Daube, G. (2004).*Salmonella* spp dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ?. *Annales de médecine vétérinaire*, 148, 174-193.
- Kukrica, Z.Z., Topalic –Trivunovica L.N., Kukavicab BM, Snjezana, B., Matosa, Svetlana, S., Pavicica, Mirela, M., Borojab ., & Aleksandar, V.S. (2012).Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.).*Original scientific*, 43, 257-272.
- Labrune, Ph., Oriot, D., Labrune, B., & Huault, G., (2004). Urgences pédiatriques. Ed ESTEM. France, 319.
- Laifaix, C.H.,Dabernat,A.,Dublanchet.,& Dosso,M.(1986).Usefulness in survey of sensitivity of pathogenic bacterial strains in intertropical area .*Elsevier*.16,245-247.
- Lansing, M. P., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J. (2010).Microbiologie. 3^{ème} Ed de Boeck. France ., 557-558-840-841-933-986.
- Macagno G. (2012) .Les micro-organismes dominant –ils le monde ? Ed : de Boeck, 130.

Références bibliographiques

- Mariani-Kurkdjian, P., Bonacorsi, S. (2014). Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entéro-hémorragiques, 317.
- Le Houerou, H.N. (1980). Les fourrages ligneux en Afrique. Ed Le Houérou, ILCA, Addis Ababa, Ethiopia, 60.
- Lucet, J.C. (2015). Infections nosocomiales. Unité d'hygiène et de lutte contre l'infection nosocomiale, groupe hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris.
- Mainil, J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli*: Franchissement des muqueuses et propriétés invasives. *Annales de médecine vétérinaire*, 147, 159–171.
- Mamyrbekova-Bekro, J.A, Boua, B.B., Kouassi, K.C., & Békro, Y.A. (2013). Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes antihypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire. B- Sciences Agronomiques et Biologiques. *Nature & Technologie*, 08, 02–12.
- Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Diplôme magister en Biochimie Appliquée .Université de Sétif, 51.
- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L.H., & Aafi, A. (2011). Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 15(3), 415-424.
- Massaux, C. (2012). Polyphénols : des alliés pour la santé. 149.
- Menaceur, F., Benchabane, A., Hazzit, M., & Baaliouamer, A. (2013). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian *Juniperus phoenicea L.* Extracts . *Biologically Active Products from Nature*, 3(1), 87 – 96.
- Menard, R., & Sansonetti, Ph. (1996). Signaux moléculaires induisant l'entrée des bactéries entéro-pathogènes dans les cellules épithéliales : convergences et paradoxes. *médecine/sciences*, 12, 465–73.
- Molino, P. (2005), A guide to medicinal plants in North Africa, Ed IUCN, Espagne., 141.
- Nikolova M., & Dzhurmanski, A. (2009). Evaluation of Free Radical Scavenging Capacity Of Extracts From Cultivated Plants. *Biotechnology*. EQ, 23.
- Njeumi, F., Roeder, p., & Ambrosini, F. (2011). La bactérie *Escherichia coli* en tant qu'agent pathogène émergent transmis par les aliments. EMPRES Bulletin des maladies animales transfrontières, 39.

Références bibliographiques

- Nkoengoua, B. (2012). Pharmacie du pauvre: Se soigner simplement. Ed Lulu Publishing USA, XII -18.
- OCDE. (2006). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : toxicité orale aiguë – méthode de l'ajustement des doses. Ed OCDE. 425, 29.
- Osturk, M.A., Emin Duru, M.A., Kivark, S.B., Mercan –Dogan, N.C., Turkoglu, A.D., & Ozler, M.A.E. (2011). In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1353–1360.
- Osturk, M.A., Aydogmus –Osturk, F., Duruc, M.E., & Topcu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103, 623–630.
- Otles, S., & Yalcin, B. (2012). Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle. *ScientificWorld*. 564367.
- Paul, R., Saundes, R.L., Durand, C., Smith, M., Whittier, B., Lyons, L., Nambiar, D., Hosein, S., Rogers, T., Boutilier, A., & Design, M. (2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Ed CATIE (Le Réseau canadien d'info-traitements Sida), 17.
- Pebret, F. (2003). Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales et paramédicale. Ed Heure de France, 109.
- Pellegrims, E. (1994). Repères en Bactériologie Clinique Extra- Hospitalière. Ed Maklu. France, 55-56.
- Pichard, E. (2002). Malin Trop Afrique: manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique. Ed John Libbey Eurotext. Paris. France, 41-411.
- Pierre, E. (2013). Plan d'Action Salmonelles (PAS) Lutte contre les salmonelles zoonotiques chez les volailles. (FAO) Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire, 06.
- Preedy, V., & Waston, R. (2010). Olives and Olive Oil in Health and Disease Prévention. Ed Elsevier. France, 1431.
- Prendergast, B.D., Boon N.A., & Buckenham, T. (2002). Aortic dissection :advances in imaging and endoluminal repair. *Cardiovascular and interventional radiology*, 25, 85-97.
- Pyrzynska, K., & Pekal, A. (2013). Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods*, 5, 4288–4295.

Références bibliographiques

- Quezel, P., & Gast, M. (1998). Genévrier., Encyclopédie berbère.. *Gauda – Girrei*, (20) 3016-3023.
- Quezel, P., & Santa, S. (1962).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed du centre national de la recherche scientifique .France - Paris7 ,33-34-277.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed du centre national de la recherche scientifique .France - Paris7 ,740.
- Rambaud, J.C., Buts, J.P., & Corthier, G. (2004) .Flore microbienne intestinale: Physiologie et pathologie digestives. Ed John Libbey Eurotext., France, 154-174.
- Ramdani, M., Lograda, T., Silini, H., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, H.G., Bouchaalal, M., & Zerrar, S. (2013).Antibacterial Activity of Essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *Applied Pharmaceutical Science*, 3 (11) ,022-028.
- Reginald, H., Garrett, Charles, M., & Grisham. (2000).Biochimie. 2^{ème} Ed De Boeck .France, 306.
- Ritchasond, D.J., (1999).Olive leaf extract .Ed woodland publishing.INC, 9-13.
- Rousseau, H., Verhoye, J.Ph., & Heautot, J.F. (2009).Syndromes aortiques aigus. Ed Springer paris , 221.
- Sabbagha, S. (2013).Identification et caractérisation de gènes chez *Salmonella enterica* sérovar *Typhi* impliqués dans l'interaction avec les macrophages humains. Thèse de Philosophiæ Doctor (Ph.D.) en Microbiologie et Immunologie. Université de Montréal. Canada ,15
- Sanda, M. (2013).*E. coli* adhérentes et invasives et pathogénèse de la maladie de Crohn : Rôle du facteur hypoxique HIF-1.Thèse de doctorat en sciences agricoles. Université de Nice – Sophia Antipolis –UFR Sciences ,52.
- Sauvion, N., Calatayud, P.A., Thiery, D., Marion-Poll, F. (2013). Interactions insectes-plantes Ed IRD, Quae. Institut de recherche pour le développement .Marseille. France, 218-220.
- Schechter, M., Medoff, G., Barry, I., & Eisenstein. (1999) .Microbiologie et pathologie infectieuse. Ed De Boeck Bruxelles .Paris, 273.
- Schlienger, J.L. (2011). Nutrition clinique pratique. Ed Elsevier Masson .Paris, 258-259.
- Semih, O., & Buket, Y. (2012). Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk and Leaves of Nettle. *The Scientific World Journal*. 1-12.
- Small, E., Catling, P-M. (2000).Les cultures médicinales canadiennes. Ed CNRC Press scientifique du Canada, 221-224.

Références bibliographiques

- Song, H.S., Kim, J.M., Song, J.K & al .(2000) .Usfulness of the initial noninvasive imaging study to predict the adverse out-comes in the medical treatment of acute type a aortic intramural hematoma .*Circulation* .108, 324-328.
- Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L . *Materials and Environmental Science*. 6(4), 1111-1117.
- Uyar, A., Yener, Z., Dogan, A. (2016).Protective effects of *Urtica dioica* seed extract in aflatoxicosis : histopathological and biochemical findings. *British Poultry Science* , 57(2).
- Vercauteren, J. (2011).Plan, formules et illustrations du cours de pharmacognosie .Université Montpellier I, 9.
- Villate, D., & Gavard-Gongallud, N. (2000).L'élevage du gibier à plumes: élevage, pathologie, habitat, populations. Ed France Agricole, 213.
- Vimont, A. (2007).Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) .Thèse de Doctorat en Sciences du Vivant [q-bio]. Université Claude Bernard E – Lyon, 34.
- Winckle, R. (2006).Astro Plantes: Se soigner par les plantes selon son signe astral .Ed Alpen France,87.
- Waksmundzka–Hajnos, M., Sherma, J ., & Kowalska, T.(2008) .Thin Layer Chromatography in Phytochemistry. Ed CRC Press.USA, 22.
- Zemmouri, H. (2015). Etude des activités biologiques et effets comparatifs de *Borago officinalis* & *Urtica dioica* sur l'inflammation bronchique dans un modèle d'asthme experimental chez les rats de la souche Wistar.Thèse de Doctorat en biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba, 79-84.

Références bibliographiques

Résumé

Escherichia coli et *Salmonella, sp*, sont souvent liées à des pathologies humaines et présentent une résistance à un large spectre d'antibiotiques. Les plantes médicinales : *Juniperus phoenicea*, L, *Olea europaea*, L, *Urtica dioica*, L sont très utilisées et spécifiquement impliquées dans la phytothérapie traditionnelle en Algérie. L'objectif de ce travail est la mise en évidence de pouvoir thérapeutique de ces plantes dans le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne à base de leurs extraits.

Pour cela, l'étude qualitative et quantitative des extraits montre la richesse des plantes en composés phénoliques et notamment en flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH des extraits méthanoliques des plantes montre que l'extrait de *Juniperus phoenicea* possède un pouvoir antioxydant puissant par rapport les deux autres extraits.

L'activité antibactérienne des extraits des plantes par la méthode de culture en milieu solide (MH) est importante vis-à-vis les espèces bactériennes *Escherichia coli* (ATCC25922) et *Salmonella, sp*. Les concentrations CMI déterminés in vitro pour ces extraits des plantes sur *Escherichia coli* (ATCC25922) ont permis l'évaluation de la toxicité aigue in vivo chez les rats Hamsters par l'administration de la dose CMI×4 par gavage orale.

Le diagnostic anatomopathologique des coupes histologiques du rein, foie et l'intestin grêle chez les rats Hamsters montre l'absence d'impact pathologique ou des altérations morphologiques sur les tissus, à l'exception des congestions vasculaires remarquables sur le foie et le rein.

Cette étude in vitro et in vivo suggère que ces extraits des plantes médicinales constituent des alternatives à certains additifs synthétiques qui sont utilisés dans le traitement des infections entériques liées à *Escherichia coli*.

Mots clés : *Escherichia coli*, *Salmonella, sp*, plantes médicinales, activité antioxydante, activité antibactérienne, effet toxique, CMI, diagnostic.

Abstract

Escherichia coli and *Salmonella, sp*, are often related to human pathologies and have resistance to a large spectrum of antibiotics. The medicinal plants: *Juniperus phoenicea*, L, *Olea europaea*, L, *Urtica dioica*, L are very used and specifically involved in traditional herbal medicine in Algeria. The aim of this work is to demonstrate the therapeutic power of these plants in the treatment of infectious diseases of bacterial origin based on their extracts.

For this, the qualitative and quantitative study of the extracts shows the richness of the plants in phenolic compounds and in particular in flavonoids .The evaluation of the antioxidant activity by the DPPH method of the methanolic extracts of the plants shows that the extract of *Juniperus phoenicea* has a powerful antioxidant power over the other two extracts.

The antibacterial activity of plant extracts by the solid culture method (MH) is important with respect to the bacterial species *Escherichia coli* (ATCC25922) and *Salmonella, sp*. The in vitro MIC concentrations determined for these plant extracts on *Escherichia coli* (ATCC25922) allowed evaluation of acute toxicity in vivo in Hamsters rats by administration of the CMI \times 4 dose by oral gavage.

The pathological diagnosis of histological sections of the kidney, liver and small intestine in Hamsters rats shows no pathological impact or morphological alterations on the tissues except for remarkable vascular congestions on the liver and kidney.

This in vitro and in vivo study suggests that these extracts of medicinal plants could be alternatives to certain synthetic additives that are used in the treatment of enteric infections associated with *Escherichia coli*.

Keywords: *Escherichia coli*, *Salmonella, sp*, medicinal plants, antioxidant activity, antibacterial activity, toxic effect, MIC, diagnosis.

ملخص

البكتيريا القولونية *Escherichia coli* والبكتيريا السالمونيلا *Salmonella, sp* ، غالبا ما ترتبط بالأمراض التي تصيب الإنسان وهي مقاومة لطائفة واسعة من المضادات الحيوية.

النباتات الطبية العرعار (*Juniperus phoenicea, L*)، الزيتون (*Olea europaea, L*)، الحرايق (*Urtica dioica, L*) مستعملة بكثرة في التداوي بالأعشاب التقليدية في الجزائر . الهدف من هذه الدراسة هو إعطاء نظرة لفعالية هذه النباتات في معالجة الأمراض الالتهابية الناتجة عن البكتيريا عن طريق استعمال مستخلصاتها .

ولهذا، الدراسة النوعية و الكمية أظهرت ثراء النباتات بالمركبات الفينولية و خاصة المركبات الفلافونيدية. تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة DPPH للمستخلصات الميثانولية اظهر أنها ذات نشاط مهم مضاد للأكسدة حيث تبين أن المستخلص الميثانولي لنبات العرعار، (*Juniperus phoenicea, L*) يملك نشاطا مضادا للأكسدة عالي مقارنة بالمستخلصات النباتية الأخرى.

دراسة النشاط المضاد للبكتيريا باستعمال طريقة (MH) أظهرت فعالية ضد البكتيريا القولونية *Escherichia coli* (ATCC25922) و البكتيريا السالمونيلا حيث تم تحديد في المختبر التراكيز CMI المثبطة لنمو البكتيريا القولونية (*Escherichia coli* (ATCC25922) للمستخلصات النباتية. هذه التراكيز المثبطة $CMI \times 4$ سمحت بتقييم السمية الحادة للمستخلصات النباتية و تجريبيها على الفئران عن طريق تقديمها بواسطة أنبوب مغذي في الفم.

التشخيص المرضي للمقاطع النسيجية للأعضاء الكبد، الكلى و المعى الدقيق بين غياب و عدم وجود سمية أو أعراض مرضية للأنسجة الخلوية ماعدا حدوث احتقان للأوعية الدموية على مستوى الكبد و الكلى.

هذه الدراسة في المختبر و في داخل الجسم الحي اقترحت أن تكون مستخلصات هذه النباتات الطبية مركبات بديلة عن بعض المواد المضافة الاصطناعية التي تستعمل في علاج الالتهابات المعوية الناتجة عن البكتيريا القولونية .

كلمات البحث: الإشريكية القولونية، السالمونيلا، النباتات الطبية ، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم، سمية، CMI ، التشخيص.