

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen**  
**Faculté des Science de la Nature et de la vie, des Science de la Terre et de**  
**l'Univers**  
**Département de Biologie**  
**Laboratoire de recherche : PPABIONUT**

**Mémoire**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science Biologique**  
**Option : Toxicologie Industrielle et Environnementale**

**Thème**



**Etude de la toxicité sub-aigue et la détermination de**  
**l'hématotoxicité de l'extrait méthanolique des grignons**  
**d'olives**

***Présenté par :***

***Metahri Asma***

***Meghraoui Dounya zed***

**Soutenue le : 25 juin 2020**

**Devant le Jury composé de :**

**Présidente : Dr.Guermouche Baya**

**M.C. A, Université de Tlemcen**

**Encadreur : Dr. Haddam Nahida**

**M.C.A, Université de Tlemcen**

**Examinatrice : Dr. MEDJDOUB Amel**

**M.C. B, Université de Tlemcen**

**Année universitaire 2019-2020**

## **REMERCIEMENTS**

*Après Cinq ans d'études et de travail continu, le moment attendu et arrivé. Pour cette heureuse occasion, nos sincères remerciements s'adressent à priori à Allah qui nous protège à tout moment de notre vie et qui nous a donné la force et la patience pour réussir à nos études.*

*Un merci particulier à notre encadreur Mme Haddam Nahida maître de conférence au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen), pour sa simplicité, sa disponibilité, son attention, sa prudence et sa générosité scientifique. Qu'elle veuille trouver ici les expressions de considération et de gratitude*

*Merci à ceux qui prennent le temps d'évaluer notre travail, mes dames membres de jury.*

*Nous ne remercierions jamais assez siagh hannane pour les nombreux services qu'elle nous a rendus durant la réalisation de ce travail, qu'elle trouvent ici le témoignage de nos remerciements les plus amicaux.*

*Enfin, nous dirons merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail. Merci pour votre Attention et soutien.*



## *Dédicace*

*Je commence ma dédicace au nom du dieu et le salut sur Mohamed le  
messager de dieu*

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail à :*

*A mes chers parents symbole de courage et de patience*

*Ma mère « Zoulikha », Mon père « Lahcene »*

*Que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments,  
pour leur amour, leur soutien, leur sacrifice et pour tous les efforts  
qu'ils ont déployé durant toute ma vie, je vous aime énormément*

*Mes frères : « Alaa » et « Mohamed »,*

*A toute la famille « Metahri » et « Habi »*

*A tous mes amis d'étude et mes amis les plus  
proches : « Affaf », « Bouchra », « Hadjer », « Laila », « Kawther »,  
et un grand merci à « innocent mateyaunga » pour ces aides et temps*

*A toutes les personnes qui m'a encouragé pour continue ce travail.*



## ***Dédicace***

*Je commence ma dédicace au nom du dieu et le salut sur Mohamed le  
messenger de dieu.*

*Avant tout, j'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour a mes  
chers parents.*

*A ma chère mère Khalida qui a été toujours à mes cotés, qui n'a pas  
cessée de m'encourager durant toutes mes années d'études.*

*A mon père Mohamed qui a su me faire confiance et me soutenir en toute  
circonstance, et pour la bonne éducation que tu nous as donnée, sans  
votre soutien, votre compréhension, votre amour je ne serais jamais ce  
que je suis aujourd'hui, les mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas  
tout ce que j'aimerais vous dire j'espère pouvoir vous rendre une petit  
partie d'amour.*

*A cher mari Oussama j'aimerais bien que tu trouve dans ce travail  
l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car  
grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour.*

*Tout mon respect et affection.....*

*A mes sœurs : Ikhlas et Malak*

*A mon frère islam*

*A ma belle famille : Abdelkader, Fadila, Djamila*

*A mes chers grands-parents*

*A mes meilleurs amies : Wafaa, Hanna, Rania, Imen, Samah, Youssra,  
Aya*

*A toute la promotion TOXICOLOGIE INDUSTRIELLE ET  
ENVIRONNEMENTALE pouvoir vous rendre une petite partie de votre  
amour .*

*Dounya Zed*



*A toutes les personnes qui nous ont encouragé pour continué ce  
travail*

## Sommaire

Sommaire.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	III
Liste d'abréviation.....	X
Introduction générale.....	1

### Synthèse bibliographique

#### *Chapitre I : généralité sur l'olivier*

I.1.Généralités sur les plantes médicinales.....	03
I.2.Généralité sur l'oléiculture en Algérie.....	05
I. 3. Fabrication d'huile d'olive .....	05
I. 3.1.Procédé d'extraction d'huile d'olive.....	06
I.4. Les principaux sous produits.....	08
I.4.1.Déchets liquide (margine).....	08
I.4.2.Déchets solides (grignons d'olive).....	09

#### *Chapitre II : grignon d'olive*

II.1.Composition de l'olive.....	10
II.1.1 Composition physique de l'olive .....	10
II.1.2 Composition chimique de l'olive .....	10
II.2.Caractéristique du grignon.....	11
II.3.Composition du grignon.....	12
II.3.1.Composition physique du grignon .....	13
II.3.2.Composition chimique du grignon .....	13

II.4.Utilisation du grignon .....	14
-----------------------------------	----

### ***Chapitre III :généralité sur la toxicité***

III.1.Notions de toxicité.....	15
III.2. Définitions .....	15
III.3.Classification .....	15
III.3.1.Toxicité aigue.....	15
III.3.2.Toxicité sub-aigue.....	15
III.3.3. Toxicité sub-chronique.....	16
III.3.4. Toxicité chronique.....	16
III.3.5. Devenir d'un toxique dans l'organisme .....	16
III.4. Méthodes d'études de toxicité.....	17
III.4.1. Méthodes in vitro .....	17
III.4.2 .Méthodes in vivo.....	17

### ***Chapitre IV :les poly phénols***

IV.1.Généralité sur les composés phénoliques des plantes.....	20
IV.2. Propriétés .....	20
IV.3.Classification.....	21
IV.4.Pharmacocinétique.....	22
IV.5.Mécanisme d'actions des poly phénols.....	23
IV.6.Intérêts thérapeutiques des poly phénols.....	24

### ***Chapitre V : Hématotoxicité***

V.1.Le sang.....	27
V.1.1. Généralité sur les érythrocytes .....	27
V.1.2.Composition de sang .....	28
V.1.3.Le rôle physiologique.....	28

V.2.Hématotoxicité.....	29
V.2.1. Définition.....	29
V.2.2. Mécanisme d'action toxique.....	29.
V.2.2.1.Myélotoxicité.....	29
V. 2.2.2.Toxicité érythrocytaire.....	31
V.2.2.3.Toxicité touchant les globules blancs.....	31.
V.2.2.4.Toxicité plaquettaire.....	32
V.2.3.Hémato toxicité induite par des plantes.....	33

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre VI : Matériels et Méthodes**

VI.Matériels et méthodes.....	37
VI.1.Matériels.....	37
VI.1.1. Produits chimiques.....	37
VI.1.2. Matériel végétal .....	37
VI.1.3.Choix des animaux et conditions d'hébergement.....	37..
VI.2.Méthodes.....	38
VI.2.1.Les étapes d'extraction des grignons d'olives.....	38
VI.2.1.1.Séchage et broyage.....	38
VI.2.1.2.Macération .....	38
VI.2.1.3.Fltration.....	38
VI.2.1.4.Evaporation.....	39
VI.2.2.Calcul du rendement.....	39
VI.2.3. Préparation de solution de gavage.....	40
VI.2.4.Etude de la toxicité de l'extrait des grignons d'olives.....	40
VI.2.4.1.Etude de la toxicité sub-chronique .....	40
VI.2.4.1.1.Répartition des rates .....	40
VI.2.4.1.2.Procédure expérimentale.....	41
VI.2.4.1.3.Dosage de quelque paramètres hématologique.....	41
VI.2.4.1.4.Observation du comportement des animaux.....	41
VI.2.4.1.5..Etude de l'évolution pondéral des rates.....	41
VI.2.5.. Analyse statistiques.....	42.

### **Chapitre VII:Résultats et Discussion**

VII.1.Résultats.....	43
VII.1.1.Evaluation de la toxicité .....	44.



VII.1.1.1.Toxicité sub-chronique .....	44
VII.1.1.2.Comportement des animaux et signes de toxicité .....	44
VII.1.1.3.Evolution pondérale.....	44
VII.1.1.4.Etude des paramètres hématologiques.....	46
VII.2.Discussions.....	56
VII.2.1.Rendement.....	57
VII.2.2.Toxicité sub-chronique .....	57
VII.2.3.Hématotoxicité.....	59
<b>Conclusions et perspectives.....</b>	
<b>Références bibliographiques.</b>	

## La liste d'abréviations

**COI** : Conseil oléicole international

**PH** : Le potentiel hydrogène

**FMS** : La fermentation en milieu solide

**ADME** : Absorption, distribution, métabolisme, élimination

**Cd** : Cadmium

**DDT** : Dichloro-diphényle-trichloro-éthane

**LFDA** : La fondation droit animal

**OH** : Fonction hydroxyle

**WBC** : Les Globules Blanc(Leucocytes)

**HCT**: Hématocrite.

**MCV** : Volume globulaire moyen .

**RBC** : Globule rouge.(Erythrocytes)

**HGB** : Hémoglobine HB.

**MCH** : Concentration moyen en HB.

**MCHC** : Concentration corpusculaire moyen DHB.

**MPV** : Valeur plasmatique moyenne .

**GB** : Globules blancs

**GR** : Globules rouges

**DL50** : Dose létal 50

**Mg** : Milligramme

**Kg** : Kilogramme

**g** : Gramme

**NAOEL**: No Observable Adverse effect level

**L**: Litre

**P.C**: Poids corporal

**J**: Jour

**TM**: Témoins

## La liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Production mondiale d'olive de table et d'huile d'olive de compagne (2013-2014).....	22
<b>Tableau 02</b> : Composition chimiques des composants de l'olive mûre.....	34
<b>Tableau 03</b> : Résumé Les différents composants du grignon d'olive (Sansoucy, 1981).....	36
<b>Tableau 04</b> : La composition de grignon en pourcentage du matière sèche.....	36
<b>Tableau 05</b> : La composition de grignon d'olive en hémicellulose ,cellulose et lignine dans la littérature.....	37
<b>Tableau 06</b> : Classification de toxicité (Bensimon et al.,2006).....	39
<b>Tableau 07</b> : Grades d'hématotoxicité (Rhone –Alpes ,2015).....	62
<b>Tableau 08</b> : Taux d'hémolyse des extraits des plantes médicinales utilisées dans la région de Tlemcen .....	70
<b>Tableau 09</b> : Les plantes hématotoxiques.....	72
<b>Tableau 10</b> :Les symptômes observés lors de 28 jours chez les raets en fonction de la dose administrée.....	83
<b>Tableau 11</b> : Mortalité après administration d'une dose unique de l'extrait méthanolique de grignons d'olive.....	84

## La liste des figures

<b>Figure 01</b> : Plante-médicinales .....	5
<b>Figure 02</b> : Répartition des zones géographique de l'oléiculture algérienne.....	6
<b>Figure 03</b> : Procédé d'extraction d'huile d'olive par pression .....	8
<b>Figure 04</b> : Schéma des types procédé d'extraction d'huile d'olive continu (deux phases et trois phases).....	9
<b>Figure 05</b> : Section transversale (a) et composition physique de l'olive (b) .....	11
<b>Figure 06</b> : Les étapes de devenir d'un toxique dans l'organisme.....	17
<b>Figure 07</b> : Structure du noyau phénol .....	21
<b>Figure 08</b> : Les différentes classes des composés phénoliques.....	22
<b>Figure 09</b> : Les rates wistar et leur aliment.....	37.
<b>Figure 10</b> : Broyage des grignons secs.....	38
<b>Figure 11</b> : Filtration de solution de grignon.....	38
<b>Figure 12</b> : Montage d'évaporation à sec de l'extrait.....	39
<b>Figure 13</b> : Administration du l'extrait par voie orale.....	39
<b>Figure 14</b> : Évaluation du poids corporel durant le test de la toxicité sub-aigue.....	45
<b>Figure 15</b> : Evaluation de taux des globules rouges des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	46
<b>Figure 16</b> : Evaluation de taux des hématorites des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	47
<b>Figure 17</b> : Evaluation de taux des hémoglobins des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	47
<b>Figure 18</b> : Evaluation de taux de plaquettes des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	48
<b>Figure 19</b> : Evaluation de taux des des MPV des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	48
<b>Figure 20</b> : Evaluation de taux Des MCH des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	49

<b>Figure 21</b> : Dosage de teneur MCHC des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	49
<b>Figure 22</b> : Dosage des hémoglobines des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	50
<b>Figure 23</b> : Evaluation des neutrophiles différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	50.
<b>Figure 24</b> : Evaluation de taux des lymphocytes des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	51
<b>Figure 25</b> : Evaluation de taux des monocytes des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	51
<b>Figure 26</b> : Evaluation de taux des basophiles des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	52
<b>Figure 27</b> : Evaluation de taux des éosinophiles des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue.....	52



*« Ce qui est une nourriture pour l'un , est un poison pour l'autre » a dit*

*Paracelse*

## INTRODUCTION :

Depuis des siècles, l'être humain a utilisé différentes substances extraites de son environnement afin de lutter contre les maladies. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (MA et al., 1997). Malgré l'origine naturelle de ces plantes, la plupart d'entre elles ont des propriétés toxiques.

Les toxines naturelles peuvent provoquer toute une série d'effets nocifs sur la santé et poser de graves risques pour la santé humaine et animale. Certaines de ces molécules sont très nocives voire mortelles. (OMS, 2020). Alors, l'identification des composés chimiques présents dans ces plantes est importante. En effet, il est primordial de vérifier leur toxicité et de déterminer la NAOEL afin d'éviter toute altération fonctionnelle humaine ou animale lors de leur utilisation à grande échelle. La notion toxique n'a pas une définition puisque le degré de toxicité d'une plante dépend de la dose « c'est la dose qui fait le poison (Paracelse 1493 1551) » (Richel, 2004).

Parmi les plantes médicinales les plus utilisées on a choisi d'étudier le fruit de l'olivier, particulièrement le grignon d'olive, résultant de l'extraction de l'huile d'olive, alors que les résidus liquides sont dénommés margines. Le grignon est constitué de composés très riches en matières organiques et poly phénols rejetés dans la nature induisant une certaine écotoxicité (MOUZAOUI K et al., 2014).

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, et neuro-dégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs par les industries de l'agroalimentaire, pharmaceutique, et cosmétiques. (Stanley et al, 2003).

C'est dans ce contexte que cette étude a été entamée et à travers laquelle, on essaiera d'évaluer la toxicité sub-aigue de l'extrait méthanolique de grignon d'olive sur des rates Albinos wistar, en déterminant les paramètres physiques et hématologiques et cela dans le but de valoriser les grignons d'olives.

- Ce travail comporte quatre parties :
- Généralité sur l'olivier et les composés phénoliques.

- Généralité sur la toxicité.
- Les polyphénols.
- L'hématotoxicité.
- Matériels et méthodes.
- Résultats et discussion.



# Synthèse bibliographique



### I.1-Généralité sur les plantes médicinales :

Depuis la préhistoire, l'être humain recherche dans son environnement (plantes, animaux, pierres, esprits) de quoi soulager ses maux et traiter ses blessures. La médecine moderne occidentale a rejeté la plupart de ces recours pour développer des médicaments chimiques (**Sofowora - 2010 - books.google.com**).

Une plante médicinales est une plante présentant des propriétés médicamenteuses, sans avoir ni ne pouvant avoir aucune utilisation alimentaire, condimentaire et hygiénique.( **La circulaire N° 346 du code de la santé publique (CSP) du 2 juillet 1979** ) .

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie de plante et qui possèdent des propriétés médicamenteuses. (**La Pharmacopée française**) .

Une plante médicinale est une plante qui, dans un ou plusieurs de ses organes, contient des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs de la synthèse de drogues utiles. Cette description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques ont été scientifiquement établies, et les plantes considérées comme médicinales mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique approfondie (**Sofowora et al. 2013**).

Les plantes contiennent d'autres composés également appelés métabolites secondaires, et qui sont dérivés des produits de métabolites primaires , Il est peu fréquent que la plante soit utilisée entière; le plus souvent il s'agit d'une ou de plusieurs parties – définies dans le Glossaire des termes anatomiques utiles pour l'identification A ou l'identification B (drogues végétales) employés dans la Pharmacopée française– qui peuvent avoir chacune des utilisations différentes. Par extension, on appelle souvent « plante médicinale » ou « plante » non seulement l'entité botanique, mais aussi la partie utilisée Des plantes ayant des propriétés médicamenteuses qui peuvent avoir également des usages alimentaires ou condimentaires, ou encore servir à la préparation de boissons hygiéniques. Pour ces diverses utilisations, il s'agit soit des mêmes parties de plantes, soit des parties différentes. **Pharmacopée française 2000..**



**Figure 01** : Plante-médicinales ([www.doctissimo.fr](http://www.doctissimo.fr))

➤ **L'olivier :**

L'Olivier est un arbre vivace et persistant qui peut vivre et produire des olives pendant plus d'un siècle. Dans quelques cas rares, des oliviers ont été signalés qui continuent à vivre et à porter des fruits à l'âge de 1800 ans. L'arbre peut atteindre une hauteur entre 5 et 20 mètres. Comme c'est le cas pour la plupart des arbres, la hauteur est influencée par la vitalité du sujet ou de la variété, par le sol et le climat et enfin par la méthode de culture. Le tronc est cylindrique, lisse sur les jeunes arbres et noueux pour les plus anciens, parce que des nœuds de différentes tailles apparaissent au fur et à mesure du temps. ([wikifarmer.com](http://wikifarmer.com))

L'Olivier est l'un des arbres les plus caractéristiques de la région méditerranéenne; il a une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique sur les populations de cette région où il est largement distribué (**CLARIDGE et WALTON, 1992**)

Dans le monde La surface oléicole totale est d'environ 11 millions d'hectares, comptabilisant près de 1,5 milliard de pieds (PLUVINAGE, 2013). La production mondiale d'olive de table et d'huile d'olive pour la campagne 2013-2014 est donnée dans le tableau 1. (**MSALLEM, 2009**)

**Tableau 01** : Production mondiale d'olive de table et d'huile d'olive de campagne (2013- 2014)  
(COI, 2014)

Producteurs	Production d'huile d'olive Unité : 1000 tonnes	Production d'olives de table Unité : 1000 tonnes
UE	1459	698
Algérie	66	168.5
Tunisie	220	22
Maroc	100	100
Syrie	198	172
Turquie	195	430
Argentine	-	145
Egypte	-	400
Autres	1840	569
Total	3098	2574.5

Les estimations du COI pour la campagne 2014-2015 indiquent une production mondiale autour de 2,5millions de tonnes. Près des trois quarts de la production (2,18 millions de tonnes) proviennent de l'Union Européenne, l'Espagne arrive en tête avec 62% de la production totale : 1,35 millions de tonnes.

Même si la production mondiale est en baisse de 7 %, la consommation mondiale d'huile d'olive devrait atteindre 2,8 millions de tonnes en 2014/2015 (COI, 2015).

## I.2.Généralité sur l'oléiculture en algérie :

L'oléiculture est la première richesse arboricole de l'Algérie. L'Algérie pourra exporter 20 milliards de dollars de l'huile d'olive dans trois ans à condition de mettre en place une stratégie de développement de la filière oléicole. l'oléiculture a besoin d'être développée au plan technique et scientifique et organisée notamment au plan logistique.l'Algérie pourra produire après l'application de ce plan de développement de la filière environ 5 millions de litres de l'huile d'olive.et l'algérie pourrait devenir un géant de l'oléiculture. (said bakhtaoui , président de l'ANDO 2018).

l'Algérie jouit des meilleures conditions climatiques et dispose de surfaces importantes de terres propices aux différentes cultures. Ce qui permet indique-t-il, à l'Algérie de se positionner en avant sur la scène internationale.(M.bekhtaoui,2018).

En Algérie, l'oliculture est concentrée au niveau de sept principales wilayas (Béjaïa, Tizi-Ouzou, Bouira, Bordj-Bou-Arréridj, Jijel, Sétif et Mascara) dont la région centre représente un taux de plus de 75% de la superficie oléicole globale de ces sept wilayas comme le montre la figure 2 . (Noredine Izouaouen,2020)

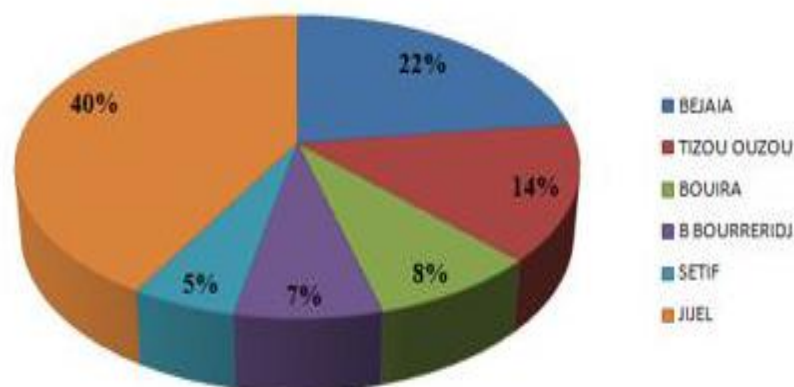


Figure 2. Répartition des zones géographique de l'oléiculture algérienne

## I.3.Fabrication de l'huile d'olive :

La méthode de base pour produire de l'huile d'olive est demeurée la même pendant des millénaires : cueillir les olives au bon moment, les presser pour en faire une pâte, séparer les solides des liquides, puis extraire l'eau végétale de l'huile. Il faut savoir que toute extraction influence la saveur et, au bout du compte, la qualité de l'huile produite. Et que les nombreux changements apportés à ce procédé mécanique ont permis d'accroître à la fois la qualité et la productivité.(olio et cie).

### I.3.1.Procédé d'extraction d'huile d'olive :

L'huile d'olive proprement dite est contenue dans les lipovacuoles des cellules du mésocarpe (pulpe). Le processus prévoit donc l'extraction de la phase liquide des cellules, la séparation des fractions solides et la séparation de la fraction lipidique de la fraction aqueuse. L'huile d'olive « vierge » se distingue nettement des autres types d'huiles par deux caractéristiques : la matière première, constituée par la pulpe des olives, la méthode d'extraction, faite de processus de nature exclusivement Mécanique Il existe principalement deux procédés : un procédé discontinu et un procédé en continu.

#### I.3.1.1.Procédé discontinu ou système à presse :

**Broyage :** Il est réalisé par des meules en pierre de granit. Elles tournent dans un bac dont le sol est également en pierre. Les meules utilisées pour le broyage sont légèrement décentrées par rapport à l'axe de rotation, ce qui accentue la possibilité d'écrasement des olives.

**Malaxage :** Des raclettes ramènent en permanence la pâte sous les meules qui jouent alors le rôle de malaxeuses. La pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ.

**Séparation des phases :** La pâte est placée en couche de 2 cm d'épaisseur environ sur des disques en fibre de nylon (les scourtins), eux-mêmes empilés les uns sur les autres autour d'un pivot central (appelé aiguille) monté sur un petit chariot.

L'ensemble est placé sur un piston de presse hydraulique qui permet de faire subir à la pâte une pression de l'ordre de 100 kg/cm<sup>2</sup>. La phase liquide s'écoule dans un bac. Le grignon reste sur les scourtins. Cette opération dure environ 45 minutes. Ensuite chaque scourtin est débarrassé de son grignon en le tapant comme un tapis.

**Décantation :** L'huile ayant une densité inférieure à celle de l'eau (0,920 g/litre) remonte à la surface. Il s'agit de la décantation naturelle. Cependant cette méthode n'est presque plus utilisée, en raison de sa lenteur et de la difficulté pour bien séparer l'huile de l'eau dans la zone de limite entre les deux fluides. Ce sont des centrifugeuses verticales à assiettes qui permettent aujourd'hui de séparer l'huile d'olive des margines.

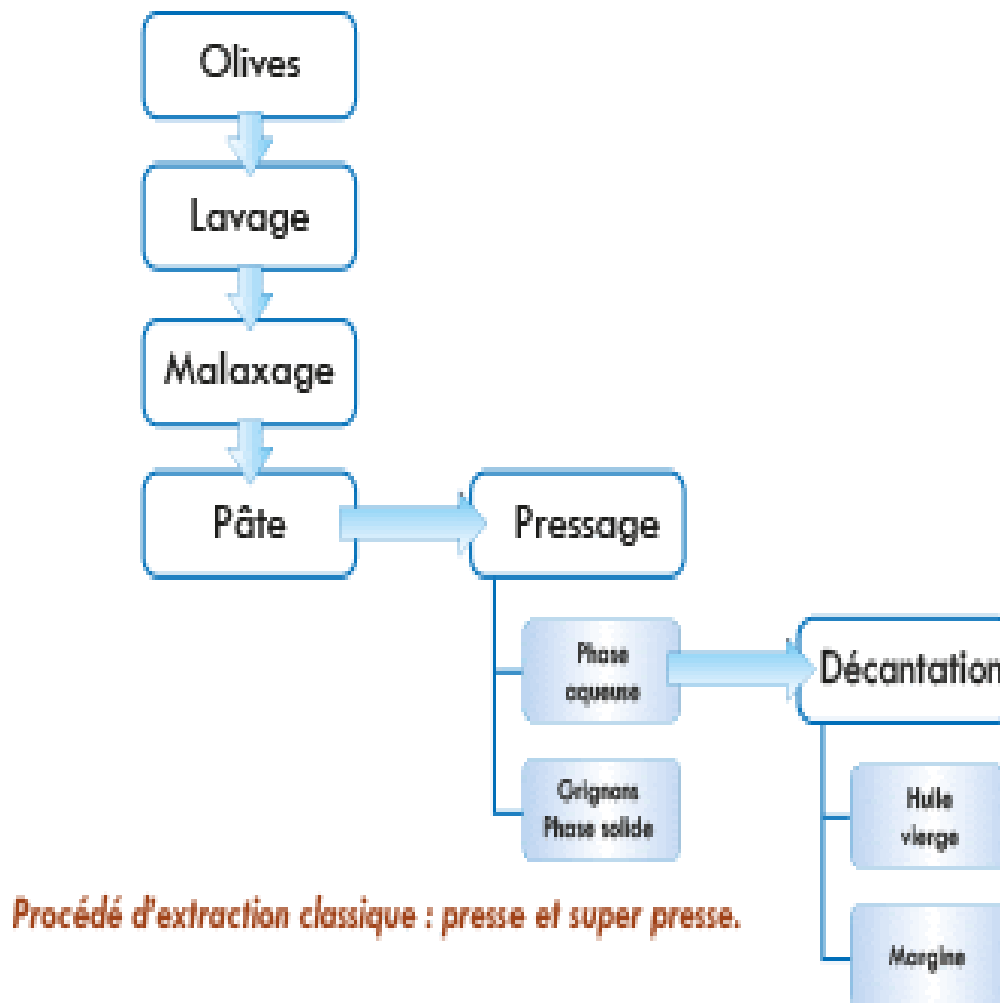


Figure 3 : Procédé d'extraction d'huile d'olive par pression (tunisia olive oil.com)

### I.3.1.2.Procédé continu ou système a centrifugation :

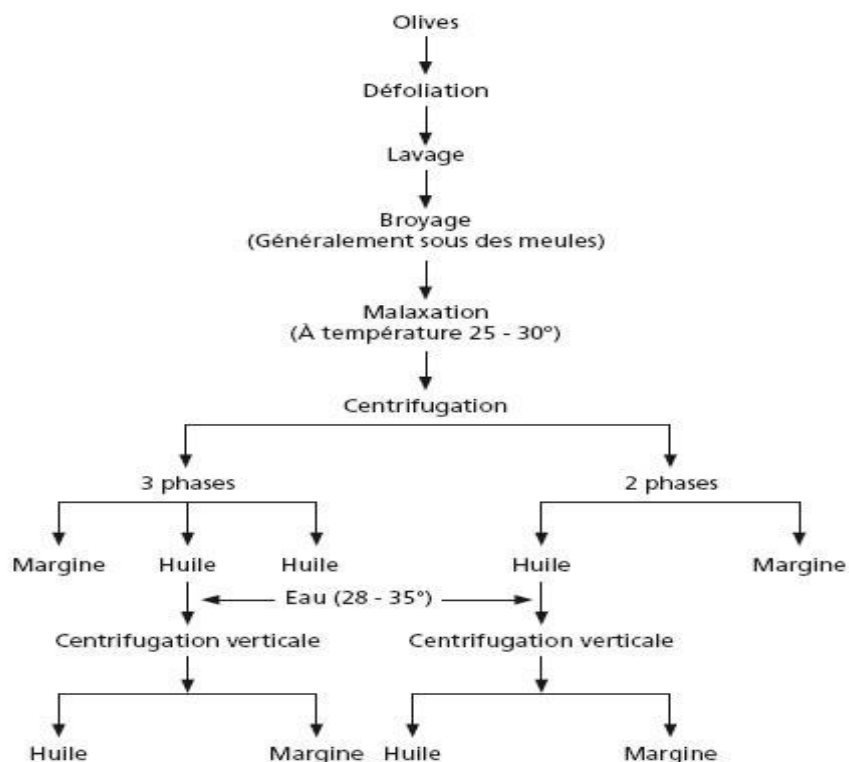
**Broyage** : Il est réalisé par des broyeurs mécaniques à disques ou à marteaux. Ces broyeurs peuvent travailler en continu, la pâte étant obtenue presque instantanément.

**Malaxage** : La pâte est versée dans un bac en inox, dans lequel tourne une spirale ou une vis sans fin, également en inox.

**Séparation des phases** : La pâte malaxée est injectée par une pompe dans une centrifugeuse dont l'axe est horizontal. Cet appareil est appelé décanteur horizontal.

**Décantation** : On utilise des centrifugeuses verticales à assiettes qui permettent de séparer l'huile d'olive des margines. (Helleas,2012)

Et il'y'a 2 type de procédé continu :procédé d'extraction continu a deux phases et procédé d'extraction continua trois phases , expliqué dans le shéma suivant :



**Figure 04:**Shéma des types procédé d'extractiob d'huile d'olive continu(deux phases et trois phases).

#### I.4. Les principaux sous-produit :

Il est important de définir les différents sous-produits car il existe une certaine confusion dans les publications qui ne permet pas toujours d'identifier clairement de quel sous-produit il s'agit. L'on distinguera donc :

##### I.4.1. Les déchets liquides (margines) :

La composition des margines est très variable et dépend d'une multitude de facteurs parmi lesquels il faut distinguer le type d'olive et le processus d'élaboration de l'huile. Le pressage de 1 tonne d'olives produit en moyenne 1,5 tonnes de margines avec les modes de production modernes. Les variations constatees dependent des processus d'extraction a savoir le lavage prealable ou non des olives et l'humidification des pates durant le pressage (**Benyahia et Zein, 2003**).

Le pouvoir polluant des margines est dû à des causes diverses, parmi lesquelles nous soulignerons les principales :le PH , teneur e matière grasse ,le contenu organique qui contribue à la consommation de l'oxygène dissous(**H. Fernández 1991**).

Les teneurs en éléments organiques et minéraux des margines sont, comme on l'a déjà dit, très variables. Pour les utiliser comme fertilisants, il faudra en tous cas bien les caractériser pour chaque huilerie.(**CAR/PP**).

### **I.4.2.Les déchets solides (grignon) :**

Les grignons sont des résidus solides issus de la première pression ou centrifugation et sont formés des pulpes et noyaux d'olives. Ils peuvent être transformés en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite de grignons d'olive après extraction chimique (**Benyahia et Zein, 2003**).

Grignon conventionnel, issu des systèmes de pressoir ou en continu à trois phases et Grignon humide ou à deux phases et Restes végétaux et terreux et cailloux générés lors du processus de nettoyage de l'huile de récolte.

Les grignons sont disponibles en quantités importantes dans de nombreux pays méditerranéens. Selon le procédé d'extraction et l'équipement des huileries, il est possible de distinguer trois types de grignons (**Chaabane et al, 1997**) :

➤ **Le grignon brut :**

C'est le résidu de la première extraction de l'huile par pression de l'olive entière, ses teneurs relativement élevées en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est laissé à l'air libre.

➤ **le grignon épuisé :**

C'est le résidu obtenu après deshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane. Il diffère, essentiellement, par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite du fait qu'il ait été déshydraté au cours du processus de l'extraction (**FAO, 1984**).

➤ **le grignon partiellement dénoyauté :**

Résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation, il est dit "gras" si son huile n'est pas extraite par solvant il est dit "degraisse ou épuisé" si son huile est extraite par solvant.

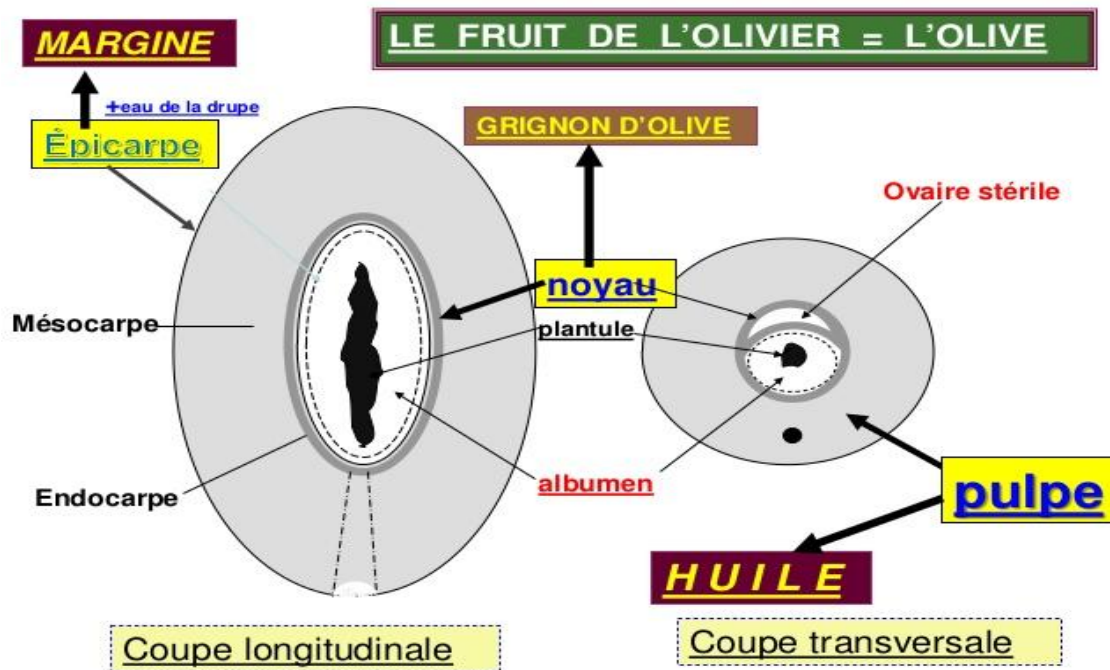


Les grignons d'olive sont un sous-produit du processus d'extraction de l'huile d'olive composé des peaux, des résidus de la pulpe et des fragments des noyaux.

## II . 1. La composition d'olive :

### II.1.1.La composition physique de l'olive .:

L'olive est une drupe, sa composition physique est indiquée dans la **Figure 5**:



**Figure 05:** Section transversale (a) et composition physique de l'olive (b)([fao.org](http://fao.org))

Pourcentage de poids sec d'olive :

- Epicarpe : 2.0 à 2.5%
- Mésocarpe(=pulpe) : 71.5 à 80.5%
- Endocarpe(paroi de noyau) :17.3 à 23.0 %
- Albumen : 2.0 à 5.5 %

### II. 1.2.La composition chimique de l'olive :

Afin de comprendre plus facilement les variations de composition chimique des différents types de grignons il peut être utile de rappeler (Tableau 2) la composition chimique des différents composants de l'olive.

Tableau02 : Composition chimiques des composants de l'olive mûre

Partie	Matières Az. Totales	Matières Grasses	Cellulose brute	Matières minérales	Extractif non azoté
Epicarpe	9,8	3,4	2,4	1,6	82,8
Mesocarpe	9,6	51,8	12,0	2,3	24,2
Endocarpe (noyau et amande)	1,2	0,8	74,1	1,2	22,7

Il est clair que la partie la plus riche en huile est le mésocarpe (ou pulpe), et celle plus riche en cellulose brute l'endocarpe (ou noyau) ( **Maymone et al, 1961**).

### II.2. Les caractéristiques du grignon :

Le principal déchet solide généré lors de l'élaboration de l'huile d'olive est le grignon. Comme indiqué plus haut, ce déchet contient une quantité donnée d'huile résiduelle qu'ils n'est pas possible d'extraire par des moyens physiques et qui est extraite dans les installations d'extraction d'huile de grignons.

Il est évident que la composition des grignons dépend du système employé lors de l'élaboration de l'huile d'olive. le grignon issu du système à deux phases est connu comme " grignon humide ", ou aussi " grignon à deux phases " ou simplement grignon ( **cal. 1998**).

On peut constater une nette différence entre le rendement gras des grignons de pressoir et les grignons des systèmes en continu. La différence est due fondamentalement à l'efficacité d'extraction des systèmes en continu par rapport aux systèmes traditionnels. Les diminutions du rendement gras des grignons a mis le secteur de l'extraction d'huile de grignons en difficultés. En effet, le secteur était structuré pour traiter des grignons qui avaient une humidité oscillant entre 25 % et 30 %. Lorsque le processus en continu des trois phases fut implanté, les grignons arrivaient dans les installations d'extraction avec une humidité de l'ordre de 35 à 45 %, ce qui exigeait de gros investissements dans les coûts de séchage et entraînait des difficultés supplémentaires (phénomènes de caramélisation).

Certaines installations d'extraction de grignons qui reçoivent les trois types de grignons ont opté pour homogénéiser la teneur en humidité du grignon à extraire, en mélangeant les trois types de grignons dans la proportion adéquate jusqu'à atteindre une humidité de mélange de l'ordre de 48% à 50 %, très similaire à celle du grignon à trois phases, dont le problème de séchage a été résolu avant l'apparition du grignon humide ( **cal . 1998**).

### II.3.la composition de grignon :

#### II.3.1.la composition physique du grignon :

Les grignon brute renferment la coque de noyau réduite en morceaux , la peau et la pulpe broyé de l'olive environ 25% d'eau et encore une certaine quantité d'huile qui favorisent leur altération rapide.

Les grignons épuisés diffèrent essentiellement par une plus faible teneur en huile et une teneur en eau réduite de qu'ils ont été déshydratés au cour de processus d'extraction .

Les grignons épuisés partiellement dénoyautés sont constitués partiellement par la pulpe (mésocarpe)et contient encore une petite proportion de coque qui ne peuvent etre séparé complètement par les procédés de tamisage ou de ventilation utilisé .

**Tableau 03:** Résumé des différents composants du grignon d'olive (**Sansoucy, 1981**) :

Composants	Olive (%)	Grignon brut (%)	Grignon épuisé (%)
Eau	49	27	17
Huile	27	9	2
Coque	14	43	55
Pulpe	9	21	26

La composition du grignon en pourcentage du matière sèche est présenter dans **le tableau 04** :

	Grignon brut	Tourteau tamisé	Tourteau
Matière sèche	69,8-90,3	86,0-95,0	88,2-90,5
Cendres totales	3,1-14,7	5,8-9,3	11,0-22,3
M. azotées totales	5,0-10,3	12,4-16,2	9,6-11,3
Matière grasse	5,3-12,5	1,1-7,4	2,0-6,5
Cellulose brute	32,0-47,5	32,6-53,3	14,5-26,3

À ce sujet, il faut faire les commentaires suivants :

Les teneurs en matières azotées sont de l'ordre de 10 %, bien que pour la plupart elles sont liées à la fraction pariétale et sont, pour cela, moins disponibles pour l'animal. La composition en acides aminés est similaire à celle de l'orge, sauf pour ce qui est de l'acide glutamique, la proline et la lysine, qui sont déficitaires.

Teneur élevée en matières grasses, fondamentalement en acide oléique (65 %), linoléique (12 %) et palmitique (10,5 %).

Teneur très basse en substances phénoliques, que, pendant longtemps, l'on a cru responsables de la valeur nutritionnelle limitée des grignons.

Teneur élevée en fibre, mais avec une présence importante de fractions pariétales comme la lignine, indigestible. Le tamisage réduit la teneur de ces fractions.

La composition de grignon d'olive en hémicellulose, cellulose et lignine dans la littérature est résumé en **tableau 05** :

<b>Auteurs</b>	<b>Hémicellulose (%)</b>	<b>Cellulose(%)</b>	<b>Lignine(%)</b>
<b>Demirbas, 2004</b>	<b>23.6</b>	<b>24</b>	<b>48.4</b>
<b>Jauhiainen <i>et al</i> 2005</b>	<b>44</b>	<b>44</b>	<b>45</b>
<b>Gracia-Ibanez <i>et al</i> 2006</b>	<b>21.5</b>	<b>24.3</b>	<b>38</b>
<b>Kaci <i>et al</i> 2007</b>	<b>22</b>	<b>39</b>	<b>20.5</b>
<b>Berthet <i>et al.</i> 2015</b>	<b>10</b>	<b>38</b>	<b>49</b>

Les grignons en plus de la matière grasse, azotées et pariétales, renferment aussi des Matières minérales dites cendres brutes qui sont faible (3 à 5%). Les teneurs élevées qu'on peut rencontrer sont dues à l'absence de lavage et aux contaminations prévenant du sol (**Nefzaoui, 1988**).

#### II.4.L'utilisation du grignon :

Le grignon a plusieurs utilisations dont :

- L'extraction de l'huile résiduelle par solvant. Cette technique permet la récupération d'au moins 6% d'huile alimentaire appelée souvent « huile de grignons ».
- Fertilisant : Dans le domaine agricole, les grignons d'olives peuvent être employés comme fertilisant, après avoir subi une pré-décomposition ou un compostage pour faciliter sa dégradation et éliminer ses effets phytotoxiques. Par ailleurs l'analyse de la composition de cendres issues de la combustion des grignons d'olives permet de les utiliser comme un fertilisant.
- Mieux encore, ce sous-produit de l'industrie oléicole peut être utilisé en tant qu'aliment pour bétail. Les grignons épuisés tamisés (sans noyaux), sont de conservation facile et ont une meilleure valeur alimentaire. Ils constituent des réserves alimentaires disponibles pendant les périodes de disette.
- La biosorption des métaux lourds et de phénols par les grignons d'olives est une technologie alternative dans le traitement des eaux usées et de la mer. Cette technique remplace les méthodes conventionnelles qui sont très chères et peu efficaces.
- Charbon actif : les grignons d'olive peuvent être valorisés en les transformant, par voie thermo-chimique, en charbon actif et cela en utilisant de l'acide phosphorique comme agent d'activation. (**Ouederni et Gharib (2005)**).
- Emploi comme combustible pour le chauffage. Le grignon d'olive est un combustible de valeur calorifique moyenne.
- Fabrication du savon de Marseille.
- Le grignon est un additif très approprié pour les unités de gazéification pour la production de biogaz.

### III.1. Notions de toxicité :

La toxicologie est une discipline scientifique qui s'intéresse à l'étude des substances susceptibles de nuire à l'organisme (substances toxiques ou poison), mais aussi à la prise en charge des intoxications. (Marion Spée Juillet 2016).

### III.2. Définition :

La toxicité d'une substance dépend de la dose du toxique, la durée d'exposition, des facteurs environnementaux physiologiques et pathologiques. L'effet toxique peut être modifié lors de l'ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination) du toxique ou bien à travers son mécanisme d'action. (Ayoub Bensakhria toxicologue ; Department of Pharmacy Algiers, Algeria)

### III.3. Classifications :

En fonction de l'intensité et de la rapidité des effets, on distingue une toxicité aiguë, une toxicité subaiguë et une toxicité à long terme comme le montre le tableau 06. (Bensimon et al., 2006).

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée de l'exposition
AIGUË	Unique	< 24 heures
SUBAIGUË	Répétée	<= 1 mois
SUBCHRONIQUE	Répétée	de 1 à 3 mois
CHRONIQUE	Répétée	> 3 mois

#### III.3.1. Toxicité aiguë (à courte terme) :

La toxicité aiguë est une forme de toxicité qui résulte d'une exposition de courte durée suite à une absorption rapide du toxique par dose unique ou multiple ne dépassant pas 24 heures. Les manifestations cliniques se développent rapidement en général, la mort ou la guérison survient sans retard. (Ayoub BENSAXHRIA 4 avril, 2017).

L'évaluation de la toxicité aiguë est une étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques résultant d'une administration unique d'un xénobiotique.

#### III.3.2 Toxicité sub aiguë :

C'est une toxicité réitérée pendant au maximum 28 jours. L'intoxication subaiguë correspond à des expositions fréquentes et répétées sur une période de plusieurs jours ou semaines pour que les symptômes d'intoxication apparaissent. (Lauwerys et al., 2007)

### III. 3.3 Toxicité sub-chronique :

Toxicité réitérée pendant plus de 28 jours et moins de 90 jours (Lauwerys et al., 2007).

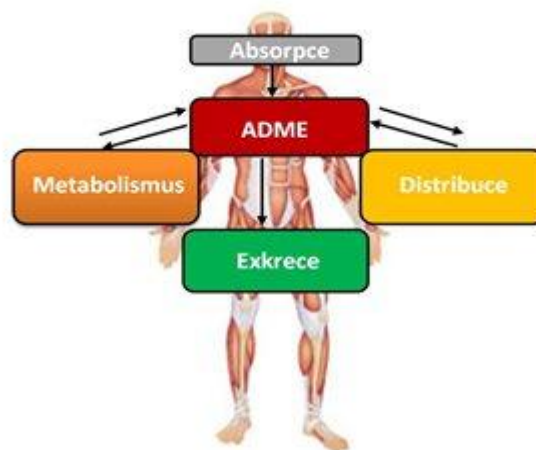
Dans une étude de toxicité subchronique, des animaux de laboratoire (habituellement des rongeurs) sont exposés quotidiennement à la substance testée pendant au moins 90 jours, avec une option de groupes satellites, puis ils sont observés pendant une période d'au-moins 14 jours après laquelle les animaux sont sacrifiés. Une étude subchronique peut fournir de l'information sur les effets cliniques, biochimiques, hématologiques et histopathologiques de la substance testée qui peuvent se produire après des expositions prolongées et répétées. (Lauwerys et al., 2007).

### III.3.4 Toxicité chronique (à long terme) :

Toxicité réitérée pendant plus de 90 jours. Dans le cas d'une intoxication chronique, les expositions sont répétées sur de longues périodes, la manifestation de l'intoxication dépend soit du poison qui s'accumule, soit des effets engendrés qui s'additionnent. (Lauwerys et al. 2007)

### III.3.5 Devenir d'un toxique dans l'organisme :

La toxicocinétique est une étude descriptive chargée d'enregistrer de manière quantitative le sort d'un toxique dans l'organisme c'est-à-dire son absorption – distribution – métabolisme – et élimination.



**Figure 06** : Les étapes de devenir d'un toxique dans l'organisme

**L'absorption** : C'est le processus par lequel le toxique passe de son site d'administration à la circulation générale. Ce processus est influencé par différentes propriétés physicochimiques à savoir : l'hydrosolubilité ou la liposolubilité du toxique, son état d'ionisation, sa masse molaire. (Ayoub Bensakhria /juin2018) .

**La distribution :** C'est le processus de répartition du toxique dans l'organisme. Depuis son passage à la circulation générale jusqu'à sa diffusion dans les tissus. Il comprend : le transport sanguin (phase plasmatique) et la diffusion tissulaire (phase tissulaire) (Ayoub BENSAKHRIA - 13 janvier, 2015)

**Le stockage :** C'est le processus d'accumulation de toxiques dans certains tissus et organes tels que le foie et le rein (Cd) tissu adipeux (DDT) les Os (F<sup>-</sup>). (Ayoub BENSAKHRIA - 13 janvier, 2015)

**Le métabolisme :** Les biotransformations sont importantes en toxicologie, de nombreuses réactions permettent de transformer un composé liposoluble en métabolites hydrosolubles, aisément excrétés. Ces réactions enzymatiques conduisent à des métabolites moins toxiques que le produit initial (détoxication), mais des métabolites réactifs peuvent aussi se former (toxification). Les systèmes enzymatiques responsables de ces biotransformations métabolisent les substances naturelles (stéroïdes, vitamines...) aussi bien que les xénobiotiques. (Jean-Pierre GOULLÉ, Michel LHERMITTE 10 mars 2005.)

**L'Excrétion :** C'est un processus qui englobe in extenso l'élimination d'une partie des déchets métaboliques par excrétion dans les urines ou dans les excréments (sueur, salive). (Ayoub BENSAKHRIA - 13 janvier, 2015)

#### **IV.4.Méthodes d'études de toxicité :**

Il est temps de cesser de se référer à la recherche animale et d'utiliser les méthodes dites « alternatives » (par les autorités), en fait les méthodes véritablement scientifiques et fiables pour l'homme. (Hélène Sarraseca, cofondatrice et directrice administrative d'Antidote Europe,2011)

On ne peut pas remplacer la recherche sur l'animal par des méthodes alternatives dans toutes les circonstances, parce que les éléments à reproduire sont trop complexes. Les modèles animaux évoluent au cours du temps et, surtout, ils permettent d'apporter des réponses que l'on n'est pas capable d'anticiper dans des modèles simplifiés. (François Lachapelle, président du Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche,2011)

##### **IV.4.1. Méthodes in vitro :**

Un essai réalisé in vitro (latin: «dans le verre») signifie qu'il est réalisé en dehors d'un organisme vivant et implique généralement des tissus, des organes ou des cellules isolés .



➤ **Avantages :**

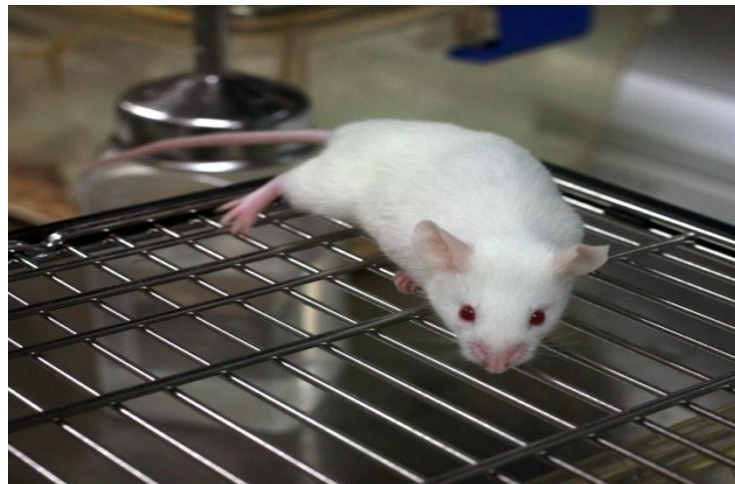
- Plus rapides que les tests in vivo.
- Moins onéreux.
- Reproductibles.
- Les tests in vitro permettent d'évaluer séparément les effets biologiques de chacun des composants du matériau.

➤ **Inconvénients :**

- Ils n'ont que peu de rapport avec la clinique.
- Ils sont trop sensibles. (**Jill Seladi-Schulman, 2019**)

#### IV.4.2 Méthodes in vivo :

Cette forme d'expérimentation vient en réponse à la phrase du professeur Jean-Claude Nouët, médecin biologiste, vice-doyen de la faculté de médecine Pitié- Salpêtrière et président de la LFDA de 1991 à 2012 : « N'importe qui pouvait faire n'importe quoi n'importe comment. »



**Figure 07 :** Un rat albinos wistar de laboratoire

L'expérimentation in vivo n'est pas à proprement parler une méthode substitutive puisqu'elle est de l'expérimentation animale. Cette appellation met l'accent sur le fait qu'elle est réalisée en prenant en compte au maximum le bien-être de l'animal. Cet aspect est pris en compte au moment de l'expérience, mais aussi en amont, dans tout le traitement de l'animal. Elle est normalement réalisée par du personnel qui a suivi une formation validée par l'État (**Ayoub BENSAXHRIA ;2015**)

**Avantages :**

- Ils sont beaucoup plus proches de la clinique
- Ils permettent d'évaluer les effets d'un matériau sur des organes loin de l'organe cible.

- Ils permettent d'évaluer la toxicité des métabolites. Un matériau peut en effet se révéler biocompatible alors que ses produits de dégradation, une fois métabolisés par l'organisme se révèlent être dangereux.
- L'interprétation des résultats est parfois plus facile car le rapport avec la clinique est souvent plus évident.
  - **Inconvénients :**
- Les tests réalisés sur des animaux de laboratoire (deux espèces de mammifères) peuvent ne pas avoir de rapport avec l'espèce humaine.
- L'effet néfaste peut passer inaperçu s'il est non recherché donc non évalué.
- Timing incorrect de l'essai (l'effet délétère se manifeste après les périodes d'observation) l'évaluation et l'interprétation des résultats peut être difficile. **(Jill Seladi-Schulman, 2019)**

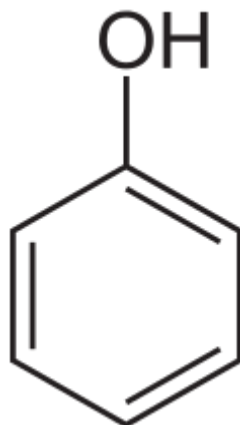
### IV.1 Généralités sur les composés phénoliques des plantes :

Les composés phénoliques ou les polyphénols rassemblent un vaste ensemble, plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure au moins d'un cycle aromatique à 6 atomes de carbone, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles(OH) (**Hennebelle, 2004**).

### IV.2. Définition de Polyphénols :

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des végétaux qui disposent d'une extrême variété de structures et d'activités biologiques (**Bouayed, 2008**). Ils sont présents dans toutes les parties des plantes (**Boubekri, 2014**) ; (**Mohammedi, 2006**).

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés. (**Salta et al, 2007**) ; (**Japon-Lujan et al, 2008**). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (figure 08) auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction (**Omar, 2010**) ; (**karabourniotis et al., 1996**). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (**Boubekri, 2014**) ; (**Harbone, 1993**).



**Figure 08:** Structure du noyau phénol (**Sarni-Manchado et al., 2006**).

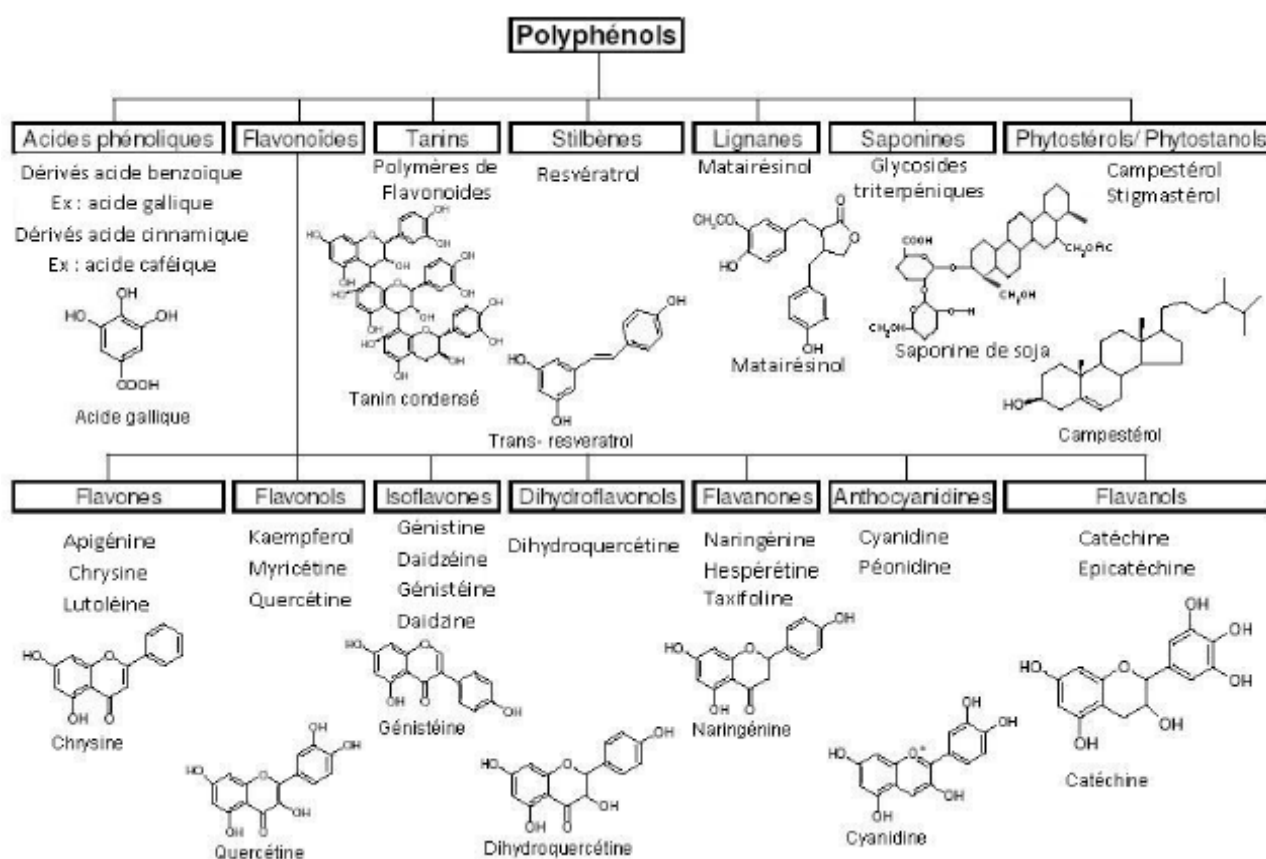
### IV.3. Propriétés :

- Les polyphénols ont une structure chimique identique.
- Ils ont un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxyles.
- Activité antioxydants.
- Ils peuvent aller à des molécules simples, comme les acides phénoliques.
- Classification selon le nombre de noyaux aromatiques. (**Boros B et al., 2010**)

**IV.4. Classification :**

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants [Salunkhe, 1990]. Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.



**Figure 09 :** Les différentes classes des composés phénoliques. (Bruneton ,1999)

Il existe 4 grandes classes de polyphénols :

**IV.4.1. Les phénols simples et acide phénoliques :** sont présents dans le thé, le café, la cerise, la myrtille, les agrumes, les prunes, les céréales complètes, le vin. Le plus abondant des acides phénoliques présents dans notre alimentation est l'acide caféique que l'on trouve dans de nombreux fruits et dans le café.

**IV.4.2. Les flavonoïdes** : Qui comprennent plusieurs classes :

IV.4.2.1. Anthocyanines : présents dans les baies rouges, vins, raisins, thé.

IV.4.2.2. Flavanols : abricot, thés, vins, raisins, chocolat, pommes.

IV.4.2.3. Flavanones : Agrumes.

IV.4.2.4. Flavones : persil, poivre rouge, céleri, agrumes, oignons .

IV.4.2.5. Flavonols : oignons, chou frisé, poireau, brocoli, myrtilles, vins, thés verts, tomates .

IV.4.2.6. Isoflavones : Graine de soja, feuilles de trèfle rouge, orge, riz brun, blé entier, graine de lin .

IV.4.2.7. Proanthocyanidines (ou polymères de flavanols) : fruits (poires, pommes, raisins), vin, thé.

**IV.4.3. Les stilbènes et lignanes** : Dans les raisins rouges, le vin, les baies rouges (lire article), les cacahuètes, la graine de lin, les céréales complètes, l'ail, l'asperge .

Parmi les stilbènes, qui peu abondants dans notre alimentation de tous les jours, l'un d'entre eux, le resvératrol, présent en grande quantité dans le vin fait l'objet de recherches approfondies sur son potentiel anticancéreux et éventuellement anti-Alzheimer.

**IV.4.4. Des polymères phénoliques variés** : Se trouvent dans les vins et les thés .

Ils sont souvent issus de la transformation de polyphénols naturels lors de la fermentation (vin et thé noir), le stockage ou la cuisson des aliments. **(Jean Bruneton Pharmacognosie, 2014)**

**IV.5. Pharmacocinétique** :

Les polyphénols existent dans les plantes sous des formes conjuguées avec différents sucres et, sous forme de polymères, comme les tanins. Les polyphénols les plus abondants dans notre alimentation ne sont pas nécessairement ceux qui sont retrouvés majoritairement dans notre organisme, soit parce qu'ils sont mal absorbés au niveau intestinal, soit parce qu'ils sont fortement métabolisés et rapidement éliminés après absorption.

Si certains glucosides de polyphénols peuvent être absorbés au niveau de l'intestin grêle, en revanche les polyphénols liés à d'autres sucres (rhamnose, arabinose, xylose ...) ne peuvent être déconjugués que par des glycosidases bactériennes dans le côlon. Ainsi, la biodisponibilité de la quercétine, est décroissante selon qu'elle est apportée par l'oignon (glucosides de quercétine), la pomme (divers

monosaccharides de quercétine) ou le thé (rhamnoglucoside de quercétine)(**Emmanuelle Reboul,2017**).

#### IV.5.1.Métabolisme :

Le site de métabolisation le plus important est le foie. Aussi, sauf exception, les formes circulantes des polyphénols sont des métabolites conjugués, qui conservent une potentialité biologique, mais peuvent présenter des activités biologiques différentes de celles des molécules natives que l'on trouve dans nos aliments.

Une bonne connaissance de la biodisponibilité et du métabolisme des phytomicronutriments est donc essentielle pour appréhender l'étude des effets « santé » associés à ces composés. (**Marie-Josèphe Amiot-Carlin 2017**)

#### IV.5.2.Excrétion :

Les produits métabolisés sont transportés dans la circulation sanguine jusqu'à ce qu'ils soient sécrétés sous formes conjuguées par l'urine. Les produits non absorbés sont sécrétés par les matières fécales. Enfin, les polyphénols atteignant le sang et les tissus ont une forme différente à ceux présents dans les aliments (**Kanti Bhooshan Pandey et al, 2009**).

#### IV.5.3.Mécanisme d'action :

Les polyphénols exercent une activité antioxydante selon divers mécanismes:

- Piégeage des radicaux libres.
- Elimination des ERO.
- Chélation des ions métalliques.
- L'induction de la biosynthèse d'enzymes anti oxydantes. (**Sabiha Achat, 2013**).

➤ **Piégeage des radicaux libres** : La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante.

A cause de leur faible potentiel redox, les polyphénols (Ar-OH), sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, les peroxydes (ROO•), les alkoxydes (RO•) et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène



Où X• Représente l'une des ERO mentionnées ci-dessus ; Ar-O•: radical aryloxyde qui, s'il s'agit d'un noyau catéchol, peut réagir avec un autre radical pour former une o-quinone plus stable.. (**Sabiha Achat, 2013**)

- **Chélation des ions métalliques** : Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^{+}$ ), qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant ( $\text{Fe}^{2+}$  pour la catalase et  $\text{Cu}^{+}$  pour la superoxyde dismutase).

Cependant, ils peuvent aussi être responsables de la production du radical  $\text{OH}\cdot$  par la réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  lors de la réaction de Fenton.



En outre, l'autoxydation des ions  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^{+}$  est une source de  $\text{O}_2\cdot^-$  et de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. Les polyphénols abondants dans l'alimentation, notamment les flavonoïdes, séquestrent ces ions métalliques au niveau de différents sites.

**(Sabiha Achat, 2013)**

- **Inhibition des enzymes** : Les polyphénols possèdent une affinité pour une grande variété de protéines, via des interactions de van der Waals (cycles aromatiques) et des liaisons hydrogènes (groupements OH phénoliques). Par exemple, les aglycones des flavonoïdes, essentiellement les flavones et les flavonols (noyaux tricycliques plans et polarisables), ont une capacité de se lier avec beaucoup de protéines globulaires, notamment des enzymes, des récepteurs et transporteurs. **(Sabiha Achat, 2013)**
- **Élimination des ERO** : Les polyphénols possèdent une affinité avec les protéines globulaires telles que les enzymes, les récepteurs, les transporteurs. Ils vont former avec les enzymes génératrices des radicaux libres des complexes inhibiteur-enzyme **(Sabiha Achat, 2013)**.

#### IV.6. Intérêt thérapeutique des poly phénols :

Les polyphénols, principalement les flavonoïdes sont de plus en plus étudiés sur le plan pharmacologique à l'aide de modèles de la biologie moléculaire utilisant des enzymes et des préparations de récepteurs variés. Toutes ces études constituent une base scientifique montrant l'implication des flavonoïdes dans la prévention de maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, inflammation, le cancer qui doit être élargie par des études épidémiologiques à long terme.

Les polyphénols jouent un rôle préventif majeur dans toutes les maladies qui mettent en cause une détérioration de la cellule. C'est la raison du succès des compléments alimentaires. La voie externe ne permet pas leur pénétration et ils doivent être ingérés sauf pour traiter la partie la plus externe de la peau, l'épiderme qu'ils contribuent à régénérer et protéger des agressions externes.

Les polyphénols permettent de:

- Lutter contre la prolifération anarchique des cellules. Comme tous les composés antioxydants, les polyphénols préviennent la formation des tumeurs. En effet, ils vont empêcher la formation des agents à l'origine des mutations génétiques nocives. . **(Jean Bruneton Pharmacognosie, 2014)**

L'effet antitumoral peut être causé par une interaction directe avec l'ADN ou avec la synthèse des protéines. Il peut également intervenir par des effets inhibiteurs de protéines kinases ou des effets immunomodulateurs. De nombreuses publications rapportent la cytotoxicité de divers flavonoïdes à l'égard de lignées cellulaires cancéreuses très variées **(Kaneda et al., 1990 ; Cushman et Nagarathnam, 1991)**. Cette sélection de composés cytotoxiques constitue la première étape dans la recherche d'agents antitumoraux potentiels. La chimioprévention des cancers consiste en l'administration de produits qui préviennent l'initiation (ou la mutation) et la promotion/progression, deux phénomènes intervenant durant le processus de développement d'une tumeur (carcinogénèse). **(Gao et al., 1994)**.

- Prévenir les maladies cardiovasculaires. Les polyphénols pris lors d'un repas permettraient de lutter contre l'oxydation du mauvais cholestérol. Cela empêcherait ainsi les phénomènes à l'origine de l'obstruction des artères. . **(Jean Bruneton Pharmacognosie, 2014)**

En revanche, les polyphénols sont des inhibiteurs puissants de l'oxydation des LDL qui est l'un des mécanismes clés dans le développement de l'athérosclérose **(Kanti Bhooshan Pandey et al, 2009)**.



- Prévenir les maladies neuro-dégénératives .(**Jean Bruneton Pharmacognosie,2014**)
- Prévenir et traiter les maladies inflammatoires. Encore faut-il dans ce cas éliminer les causes de l'inflammation et notamment les aliments proinflammatoires (graisses saturés, excès de sucre etc.). . (**Jean Bruneton Pharmacognosie, 2014**)

Une étude a été faite sur des rats Albinos Wistar montrant que l'OC (oleocanthal : un Polyphénol extrait de l'huile d'olive extra-vierge) a un rôle anti inflammatoire, il réduit l'expression d'ENOS (endothélial nitrique oxyde synthase) dans le TBI (traumatic brain injury) dans le but de supprimer les réponses inflammatoires. (**Kok-Lun Pang 1 and Kok-Yong Chin 2,2018**).

- Lutter contre l'ostéoporose. Certains polyphénols peuvent agir comme des hormones par exemple les isoflavones de soja. . (**Jean Bruneton Pharmacognosie, 2014**)
- Activités antivirales : Même si les travaux sur les flavonoïdes n'ont pas dépassé le stade expérimental, de nombreuses molécules ont été étudiées sur un grand nombre de virus (**Che, 1991 ; Vlietinck et van den Berghe, 1991** ). L'évaluation de l'activité antivirale est réalisée par la mesure de la réduction d'infectivité virale sur cultures de cellules Véro ou Hela et par l'étude du mécanisme d'action au niveau des différentes étapes du cycle viral (fixation du virus sur la cellule hôte, pénétration du virus dans la cellule hôte, réplication des constituants viraux, assemblage et sortie du virus de la cellule hôte). Les virus impliqués dans les maladies respiratoires (virus coxsackie), les virus de l'hépatite B, de l'herpès simplex, de l'herpes génital et le virus HI V-I, sont parmi ceux ayant suscité le plus d'intérêt dans les études réalisées. Il a été montré par Che **en 1991 que catéchine et lutéoline** glucoside présentaient des activités in vivo contre le virus de l'hépatite B et le virus de l'herpes simplex respectivement. De même, la 5,7,4'-trihydroxy-8-méthoxyflavone de *Scutellaria baicalensis* a montré une activité in vivo contre les virus influenza A et B (**Nagai et al., 1995**).

## V.1.Le sang :

### V.1.1. Définition :

Le sang est un fluide corporel dont la fonction principale est de transporter l'oxygène vers les tissus biologiques. Il joue également un rôle primordial sur le système immunitaire. Les cellules du sang sont les érythrocytes ou globules rouges (environ 99 % des cellules du sang), les leucocytes ou globules blancs (0,2%) et les thrombocytes ou plaquettes (entre 0,6 et 1 %) (**Hoffman .,2008**)

### V.1.2.Généralité sur les érythrocytes :

Un globule rouge est une cellule sanguine qui permet le transport de l'oxygène. Le globule rouge prend aussi les noms d'érythrocyte (erythros = rouge) et d'hématie.

Un globule rouge est une cellule discoïde biconcave dépourvue de noyau, de mitochondries et de ribosomes, et contenant une grande quantité d'hémoglobine lui donnant sa coloration. Les globules rouges fixent l'oxygène dans les tissus grâce au fer contenu dans l'hémoglobine, leur pigment rouge. Il y a 5 millions d'érythrocytes par microlitre (un millième de millilitre) de sang. Ils sont synthétisés, comme toutes les cellules sanguines, au niveau de la moelle osseuse par maturation des cellules hématopoïétiques. On parle alors d'érythropoïèse, un mécanisme qui a lieu en permanence pour renouveler le stock de globules rouges à raison de 1 % par jour. Les érythrocytes transportent le dioxygène (O<sub>2</sub>) des poumons à toutes les cellules de l'organisme et une partie du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) des cellules aux poumons. Le glucose est la seule source d'énergie des érythrocytes. Les globules rouges sont responsables des groupes sanguins (système ABO et rhésus) car ils en portent les antigènes en surface des cellules. (**linda 2012**) .

L'hémoglobine est une hétéroprotéine du groupe hématies où elle se trouve à l'état dissout et sous une concentration maximale (**Leblanc.,1979**). C'est une molécule comprenant deux parties : la partie hème constituée de fer et la partie globine, une composante protéique (**Wilson et al., 2010**).

L'hémoglobine permet aux globules rouges d'assumer leur principale fonction qui est de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus. La réaction chimique fixant l'oxygène à l'atome de fer contenu dans l'hème est appelée oxydation. Ce phénomène responsable de la couleur rouge du sang est aussi celui qui fait rouiller la carrosserie des automobiles. (**lewis et al .2011**)

La membrane érythrocytaire est constituée d'une double couche lipidique dans laquelle s'insère nombre important des protéines reliées au cytosquelette sous membranaire .

Certaines de ces glycoprotéines et certains glycolipides expriment à la surface du globule des déterminants des groupes sanguins, le cytosquelette comprend plusieurs protéines dont la spectrine, l'ankyrine et l'actine (Manaargadoo-catin *et al.*, 2016)

## V.2. Les compositions de sang :

### ➤ Les globules rouges (hématies) :

Sont des cellules dépourvues de noyau qui contiennent l'hémoglobine protéine spécialisée dans le transport de l'oxygène. La quantité de globules rouges peut être évaluée grâce à trois paramètres :

- La numération des globules rouges par mm<sup>3</sup>.
- Le taux d'hématocrite : exprimé en pourcentage, qui est le volume occupé par les globules rouges par rapport au sang total.
- Le taux d'hémoglobine exprimé grammes pour 100 ml. (Wilson, D.D., S. Lahaye, J. Courchesne et E 2010), -Rose Marie Hamladji, 2015)

### ➤ Les globules blancs (leucocytes) :

Sont des cellules nucléées, spécialisées dans la réaction de défense de l'organisme. Ils sont trois types:

- Les polynucléaires ou granuleux : représentent 50% à 70% des globules blancs ; ils assurent la défense immédiate contre les bactéries par phagocytose
- Les lymphocytes : représentent 20 à 40 % des globules blancs ; ils assurent la défense contre des antigènes déjà connus.
- Les monocytes : représentent 6 à 8% des globules blancs ; ils participent à la réaction de défense en aidant à l'identification de l'antigène -Rose Marie Hamladji, 2015). (Marieb, E.N. 2009). (Dean, L)

### ➤ Les plaquettes :

Sont des fragments de cytoplasmes, elles ont un rôle prépondérant dans l'hémostase primaire. (Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter. 2007)

## V.3. Le rôle physiologique :

Le sang assure plusieurs fonctions :

- Transport de l'oxygène aux tissus grâce à l'hémoglobine contenue dans les globules rouges.
- Défense de l'organisme contre les antigènes grâce aux globules blancs.
- Arrêt des hémorragies lors d'une blessure grâce aux plaquettes et aux facteurs de la coagulation. (Rose Marie Hamladji, 2015)

**V.4.Hématotoxicité:****V.4.définition :**

Manifeste leur activité vis-à-vis de l'hémoglobine des éléments figurés du sang ou des facteurs de la coagulation. (Alain Viala, Alain Botta,2007)

Cela se traduit par l'atteinte d'une ou plusieurs des lignées cellulaires : globules rouges (anémie), granulocyte (granulopénie), lymphocytes (lymphopénie), plaquettes (thrombopénie) ou toutes les lignes (aplasie médullaire). (Estelle Menu, Maud Mehring,2015)

Selon les tables de toxicité de l'OMS, le grade 1 montre un trouble léger, le grade 2 un trouble important mais ne perturbant pas la vie quotidienne, le grade 3 requiert un traitement, le grade 4 est sévère, nécessitant un traitement énergique et une hospitalisation.

Echelle OMS présenté dans le **Tableau 10**: les grades d'hématotoxicité (Rhone –Alpes , 2015)

Toxicité	Grade0	Grade1	Grade2	Grade3	Grade4
Hémoglobine (Hb) VN = 13 à 17 g/dl	> 11	<LIN-10.0g /dl	<8.0-10g/dl	<6.5-8.0g/dl	<6.5g/dl
Leucocytes VN = 4000 à 10 000	>4000	<LIN-3000/mm <sup>3</sup>	<2000-3000/mm <sup>3</sup>	<1000-2000/mm <sup>3</sup>	<1000/m <sup>3</sup>
Polynucléaires neutrophiles VN = 40 à 80%	>2000	<LIN-1500 /mm <sup>3</sup>	<1000-1500 /mm <sup>3</sup>	<500-1000/mm <sup>3</sup>	<500/mm <sup>3</sup>
Plaquettes VN = 15 000 à 400 000	>100.000	<LIN-75000/mm <sup>3</sup>	<50000-75000/mm <sup>3</sup>	25000-50000/mm <sup>3</sup>	<25000/mm <sup>3</sup>
Hémorragies	Absence	Pétéchies	Modérées	Moyenne	Importantes

LIN : Limite inférieure à la normale

## V.5.Mécanisme d'action toxique :

### V.5.1 Myélotoxicité :

- Destruction des cellules souches hématopoïétiques.
- Troubles de la prolifération et/ou de la différenciation cellulaire. ( **Estelle Menu, Maud Mehring,2015**

#### ➤ Atteinte d'une seule lignée :

##### V.5.1.1.Anémie :

Diminution du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobineA.(**Ben Saad ,S.Jaballi, A.Elkamel,2017**)

- **Anémie sidérolitique** : accumulation de fer dans la mitochondrie, sidéroblastes <<en couronne>> provoque un défaut de synthèse de l'hème qui induit un avortement intra médullaire des érythroblastes.
- **Anémie normochrome régénérative** : Diminution des érythrocytes dans les mêmes proportions, suppression des érythroblastes. .( **Estelle Menu, Maud Mehring,2015**)

C'est la forme d'anémie dans laquelle la taille moyenne et la teneur en hémoglobine des globules rouges sont dans les limites normales sont appelées anémies normocytaires normochromiques. L'examen microscopique des globules rouges montre qu'ils ressemblent beaucoup aux cellules normales. Dans d'autres cas, il peut y avoir des variations marquées de taille et de forme, mais celles-ci sont telles qu'elles s'égalisent mutuellement, entraînant ainsi des valeurs moyennes normales. Les anémies normocytaires sont un groupe divers, nullement aussi homogène que les anémies mégaloblastiques.

L'anémie causée par la soudaine perte de sang est nécessairement normocytaire au départ, car les cellules qui restent dans la circulation sont normales. La perte de sang stimule la production accrue et les jeunes cellules qui pénètrent dans le sang en réponse sont plus grandes que celles déjà présentes dans le sang. Si les jeunes cellules sont présentes en nombre suffisant, l'anémie devient temporairement macrocytaire (mais pas mégaloblastique). Le traitement de l'anémie causée par une perte de sang soudaine comprend la transfusion. (**Bruce Furie, Maxwell M. Wintrobe et autres, 2018**)

##### V.5.1.2.Leucopénie :

Diminution du nombre des globules blancs ou leucocytes. Elle réduit la résistance de l'organisme aux infections. Agranulocytose (PN<500/mm<sup>3</sup>),(lymphocytes < 1500

##### V.5.1.3.Thrombopénie :

Diminution du nombre des plaquettes sanguines (plaquettes <150G/L ou 150 000 mm<sup>3</sup>). Elle augmente le risque d'hémorragies (toujours doit être vérifiée par un frottis sanguin à la recherche d'agrégats EDTA dépendants). (Emanuel. A, Thierry.W, Laure. F , Mustapha.M. , 2008.)

➤ **Atteinte de plusieurs lignées :**

Inhibition de la synthèse de l'ADN .Elle résulte d' une perturbation de la division cellulaire, accumulation de cellules souches de grande taille et cytotoxicité qui atteint les cellules souches totipotentes ou pluripotentes.

**V.5.1.4.Aplasia :**

- Par cytotoxicité directe (mort par apoptose).
- Par formation de métabolites toxiques et cytotoxicité. (Estelle Menu, Maud Mehring,2015 )

**V.5.2.Toxicité érythrocytaires :**

➤ **Hémolyse intra vasculaire d'origine immunologique :**

- Réversible à l'arrêt du traitement.
- Formation d'AC anti-érythrocytaire.

**V.5.2.1.Hémolyse par anticorps anti-molécules médicamenteuses ou chimiques :**

Liaison covalente entre le médicament et les protéines de surface de l'érythrocyte. Elle conduit à la formation d'Anticorps dirigés contre le complexe et leur destruction provoque une hémolyse (hypersensibilité de type 2).

**V.5.2.2.Hémolyse par complexe immun :**

Formation du complexe (molécule-anticorps) qui se fixe à l'érythrocyte et induit une réaction d'hypersensibilité de type 2.

**V.5.2.3. Anémie hémolytique auto-immune :**

Formation d'auto-AC de type IgG dirigés contre l'antigène de la membrane des érythrocytes.

**V.5.2.4.Hémolyse oxydative :**

Lipoperoxydation de la membrane cellulaire, oxydation des protéines membranaires et destruction de la membrane de l'érythrocyte( -Estelle Menu, Maud Mehring 2015 ),( M.C .Husson,2001)

**V.5.3. Toxicité touchant les globules blancs :**

Destruction d'origine immunologique mécanisme semblables à ceux décrits pour érythrocytes.

**V.5.3.1.Pseudoneutropénie :**

- Adhérence des granulocytes à l'endothélium vasculaire (margination).
- Le pool de cellules circulantes diminue mais le nombre de cellules sanguines reste le même.
- Inhibition de l'adhérence, du chimiotactisme et de la phagocytose.

### V.5.3.2.La neutropénie :

C'est une diminution du nombre de neutrophiles circulants. Si elle est sévère, le risque et la gravité des infections bactériennes et mycosiques augmentent. Les signes infectieux locaux peuvent être atténués, mais la fièvre est présente lors de la plupart des infections sévères. Le diagnostic repose sur la numération des globules blancs avec formule, mais le bilan exige l'identification de la cause. Si la fièvre est présente, une infection est suspectée et une antibiothérapie empirique à large spectre est alors immédiatement nécessaire, en particulier si la neutropénie est sévère. Un traitement par granulocyte colony-stimulating factor est parfois utile.

Les neutrophiles (granulocytes) constituent la principale défense de l'organisme contre les infections bactériennes et les infections mycosiques. Lorsque la neutropénie est présente, la réponse inflammatoire à de telles infections est inefficace.

**La sévérité de la neutropénie** est liée au risque relatif d'infection et est classée comme suit:

- Légère (1000 à 1500/ $\mu\text{L}$ )
- Modérée (500 à 1000/ $\mu\text{L}$ )
- Grave (< 500/ $\mu\text{L}$ )

**Une neutropénie aiguë** (survenant en quelques heures ou quelques jours) peut être liée à

- Utilisation ou destruction rapide des neutrophiles
- Production diminuée

**La neutropénie chronique** (qui dure des mois, voire des années) est habituellement due à une production réduite ou une séquestration splénique excessive. (Mary Territo ,2018)

### V.5.4. Toxicité plaquettaires:

L'étiologie est la suivante :

- Dégradation d'origine immunologique.
- Inhibition de l'adhérence, de l'agrégation des plaquettes.( Estelle Menu, Maud Mehring,2015)

La valeur normale du taux de plaquettes est comprise entre 150 000 et 400 000 par  $\text{mm}^3$  Une baisse des plaquettes, appelée thrombopénie, entraîne un risque hémorragique. Les plaquettes sont basses, lorsque leur nombre est inférieur à 100 000/ $\text{mm}^3$ .







Lorsque la chute des plaquettes importantes, l'apparition de pétéchies, qui sont des petits points rouges survenant sur la peau témoigne de l'impossibilité des petits vaisseaux à retenir le sang, et peut faire craindre des hémorragies plus importantes (hémorragie digestive par exemple).

Une augmentation du taux de plaquettes (thrombocytose) provoque un risque de thrombose ou caillot par formation d'agrégats plaquettaires provoquant une obstruction vasculaire, veineuse ou artérielle. Elles sont élevées lorsqu'elles dépassent 500 000/ mm<sup>3</sup>.( **Dr Anne-Christine Della Valle,2019**).


**II-3 Hématotoxicité induit par les plantes :**

Des plantes responsables de troubles de la coagulation (hémorragies, dues essentiellement à des anti-vitamine K), des plantes qui agissent sur les cellules sanguines (hémolyse) ou leur production (hématopoïèse), d'autres enfin qui agissent spécifiquement sur le coeur (troubles du rythme surtout) Le tableau suivants montrent les plantes à effet hématotoxique :

**Tableau 11 : Les plantes hématotoxiques (J. Bruneton,2005)(Paul MONDOLY Jean-Louis PONCELET,novembre , 2005)**

Nom scientifique	Famille	Substance toxique	Symptôme	
<i>Wisteria sinensis</i>	<u>Fabaceae</u> ,	Hémagglutinine	leucocytose	
<i>L'abrus à chapelet</i>	<u>Fabaceae</u> .	Abrine	hémorragie	
<i>Arnica des montagnes</i>	<u>Asteraceae</u> .	lactones sesquiterpéniques, hélénaline	hématomes,	
<i>Colchicum autumnale</i>	Liliacées	alcaloïdes tropoloniques	Neutropénie, thrombocytopénie confusion avec le safran)	
<i>Equisetum telmateia</i> <i>Equisetum arvense</i> <i>Equisetum palustre</i>	Equisétacées		Un syndrome hémorragique	
<i>Pteridium aquilinum</i>	Dennstaedtiacées	le ptaquiloside	Un syndrome hémorragique	



<i>Ferula communis</i>	Ombellifères	acide férulique	Un syndrome hémorragique	
------------------------	--------------	-----------------	--------------------------	---

Le tableau suivant présente le taux d'hémolyse de quelques plantes médicinales utilisées dans la région de Tlemcen

**Tableau 08** : Taux d'hémolyse des extraits des plantes médicinales utilisées dans la région de Tlemcen

Plante, partie utilisée	Extrait	Concentration	Taux d'hémolyse
<i>Berberis vulgaris</i> , racines (Elalaoui, 2015)	Extrait des alcaloïdes totaux	5 mg/ml	54,21%
<i>Nigilla sativa</i> , Graines (Elalaoui, 2014)	Extrait hydroalcoolique	1mg/ml	88%
<i>Zizyphus lotus</i> , partie aerienn (Kadi et Mellouki 2013)	Extrait hydroalcoolique	20 mg/ml	68 %

*Partie*  
*Expérimentale*



## VI-Matériels et méthodes :

### VI-1- Matériels

#### VI-1-1 Produits chimiques :

Eau physiologie, diméthylsulfoxyde (DMSO), Méthanol, Chloroforme, Trichlorate de Fer ( $\text{FeCl}_3$ , Anhydride acétique,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (l'acide sulfurique), KOH (l'hydroxyde de potassium), Formol, Liqueur de Fehling, le réactif Folin-Ciocalter, Carbonate de Sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).

#### VI-1-2-Matériel végétal :

Récolte et préparation : grignons d'olive, un matériel végétal issu d'une extraction à système continu au niveau de la wilaya de Tlemcen (Algérie) après la récolte qui a lieu entre les mois d'octobre et décembre. D'abord on le sèche à une température ambiante pendant trois semaines, puis on tamise via un tamis de 1mm de diamètre.

#### VI-1-2-Choix des animaux et conditions d'élevage :

Note étude a été réalisée sur des rates femelles de variété albinos wistar, adultes (8 semaines) dont le poids corporel varie entre 110-289g. Les rates ont été logées dans des cages en plastique tapissées d'une litière renouvelable 3 fois par semaine. L'élevage des rates ainsi que tous les tests ont été réalisés au niveau de l'animalerie du PRABIONUT, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université ABOU BEKR BELKAID (TLEMEN).

Les rates ont eu un régime standard complet sous forme des granules (EL AALF) et l'eau. Elles sont exposées à une température ambiante et à la lumière pendant 12 H par jour et au noir pendant les 12 H restantes et acclimatées. Les autres conditions comme l'éclairage et la ventilation ont été respectés.



**Figure 10:** Les rates wistar et leur aliment (Cliché Meghraoui, 2020)

**VI-1-4-Appareillage :**

- Agitateur, Balance de précision (OHAUS), Moulinex.
- Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA), Evaporateur rotatif (BUCHI).
- Spectrophotomètre UV Visible (SHINADZU).

**VI-2-Méthodes :****VI.2-1- Etapes d'extraction d'extrait brut des grignons d'olives :****VI.2-1-1-Séchage et broyage de grignons d'olive :**

Grignons d'olive ont été séchés à une température ambiante pendant trois semaines. Puis broyées finement à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine (**figure 11**)



**Figure 11:** Broyage des grignons secs.( cliché Metahri )

**VI.2.1.2.Macération sous agitation :**

Dans un bécher, mettre 10g du matériel végétal séché et broyé avec 160 ml du méthanol et 40ml d'eau distillée puis recouvert par papier aluminium pendant 24h.

**VI.2.1.3.Filtration**

Le mélange est été séparé par filtration pendant 1h.



**Figure 12:**Filtration de solution de grignon (photo du laboratoire).

#### **VI.2.1.4.Evaporation :**

Evaporation à sec à une température d'environ 45°C.

Récupération du résidu sec dans un bécher et mettre le dans l'étuve jusque l'extrait devenir sèche (1 jour ou 2 jours).



**Figure13 :**Montage d'évaporation à sec de l'extrait (photo du laboratoire).

#### **VI.2.2.Calcul du rendement :**

- Le rendement en extrait sec obtenu après évaporation est calculé selon le rapport suivant :

$$\text{Rdt}(\%) = (p1-p2/p3) \times 100$$

**P1 :** poids de boîte de pétrie après évaporation.

**P2 :** poids de boîte de pétrie avant évaporation (boîte vide).

**P3** : poids de matière végétale de départ.

### **VI.2.3.Préparation de solution du gavage :**

la dilution d'extrait sec se fait par utilisation de diméthyl sulfoxyde et l'eau physiologique. Au début, on pipette avec la micropipette le DMSO en raclant la boîte de pétrie, puis on ajoute l'eau physiologique en terminant de même façon jusqu'on obtient une solution aqueux.

### **VI.2.4.Etude de la toxicité de l'extrait des grignons d'olives :**

#### **VI.2.4.1. Etude de la toxicité sub- aigue :**

Dans une étude de toxicité sub- aigue , les animaux de laboratoire (habituellement des rongeurs) sont exposés quotidiennement à la substance testée pendant 28 jours , puis sont observés journalière ment. Au bout de cette période les animaux sont sacrifiés. Une étude sub – aigue peut fournir de l'information sur les effets cliniques, biochimiques, hématologiques et histopathologiques de la substance testée qui peuvent se produire après des expositions répétées (**François Lachapelle, président du Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche,2011**)

#### **VI.2.4.2 Répartition des rates :**

Pour cette étude ; nous avons utilisés 18 rates Albinos wistar femelles répartis en 5 lots de 3 rates et un lot et témoin .

- Témoin : Rates avec injection d'eau physiologique avec DMSO .
- Lot 1: Soumis à des injections orales journalières (6 jours sur 7 et la 8<sup>ème</sup> était répartie sur les jours de la semaine) d'extrait des grignons d'olives à une dose de 3.12mg/kg.
- Lot 2 : Soumis à des injections orales journalières (6 jours sur 7 et la 8<sup>ème</sup> était répartie sur les jours de la semaine) d'extrait des grignons d'olives à une dose de 31.25 mg/kg.
- Lot 3 : Soumis des injections orales journalières (6 jours sur 7 et la 8<sup>ème</sup> était répartie sur les jours de la semaine) d'extrait des grignons d'olives à une dose de 125mg/kg.
- Lot 4 : Soumis des injections orales journalières (6 jours sur 7 et la 8<sup>ème</sup> était répartie sur les jours de la semaine) d'extrait des grignons d'olives à une dose de 500 mg/kg.
- Lot 5 : Soumis des injections orales journalière (6 jours sur 7 et la 8<sup>ème</sup> était répartie sur les jours de la semaine ) d'extrait des grignons d'olives à une dose de 2000 mg/kg.

### VI.2.4.3 Procédure expérimentale :

#### ➤ Administration de l'extrait :

En utilisant une sonde gastrique orale l'administration d'extrait a été effectuée par gavage. L'évolution du poids corporel est suivie périodiquement tout au long de l'expérimentation.



**Figure 14:** Administration du l'extrait par voie orale( cliché meghraoui ; 2020)

### VI.2.4.4 Observation du comportement des animaux :

Les animaux ont été pesés avant le gavage (une semaine) et après le gavage (chaque semaines pendant 5 semaines). Après l'administration de l'extrait des grignons d'olive par gavage orale, les animaux sont observés chaque jour pendant 5 semaines. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience.

### VI.2.4.5 .Étude de l'évolution pondérale des souris :

Le poids corporel des rates utilisées dans cette étude a été mesuré chaque semaine pendant 5 semaines.

## VI.3. Dosage de quelques paramètres hématologiques :

La mesure de la formule de numération sanguine(FNS) a été effectuée en utilisant un automate d'hématologie( Service d'hématologie , CHU de Tlemcen ) . Les tubes à EDTA contenant le sang ont été placé dans l'automate, et la mesure de la FNS pouvait commencer. Les paramètres hématologiques mesurés étaient: globules blanc ,globules rouges ,hémoglobines ,hématocrites ,les plaquettes, les lymphocytes , les basophiles , les monocytes, les éosinophiles ; ce qui nous a permet de rechercher l'effet toxique sur l'appareil circulatoire de l'extrait des grignons d'olives. Les prélèvements du sang sont effectués à la fin de l'expérimentation (J28) avant le sacrifice à l'aide d'une pipette Pasteur à travers le sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale des rats.

**Frottis sanguin** : Après fixation , les cellules ont été colorées au MGG (May Grünwald Giemsa) . Un frottis sanguin est du sang étalé sur une lame de microscope, dans le but d'observer ses cellules et aussi les dénombrer. Le frottis doit subir une coloration pour révéler certaines cellules qui sans cela seraient transparentes, donc non visibles. Il permet également de repérer un éventuel parasite dans le sang comme l'agent du paludisme, le *Plasmodium falciparum*.

#### VI.4.Analyses statistiques :

Les analyses statistiques permettent l'évaluation de la précision et l'exactitude d'analyse. La moyenne :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

La variance :

$$V_x = \frac{1}{n} \sum_i (x - \bar{x})^2$$

L'écart-type :

$$\sigma_x = \sqrt{V_x}$$

Les résultats obtenus ont été réalisés à l'aide du logiciel SPSS (version 21) par analyse ANOVA. La comparaison des paramètres a été réalisée à l'aide du test Tukey, test de Student, test de Mann Whitney, les différences sont considérées significatives à  $p \leq 0,05$  :

- Peu significative :  $p < 0.01$  (\*).
- Significative :  $p < 0.05$  (\*\*).
- Très significative :  $p < 0.001$  (\*\*\*) .
- Hautement significative :  $p < 0.0001$  (\*\*\*\*).



***Résultat et***  
***discussion***

**VII. Les Résultats :****VII.1. Evaluation de la toxicité sub – aigue :**

Les résultats obtenus après administration de différentes doses (2000mg/kg P.C, 500mg/kg P.C, 125mg/kg P.C, 31.25mg/kg P.C et 3.12mg/kg P.C) par gavage, de l'extrait méthanolique de grignons d'olive chez des rates normaux, sont les suivants :

**1-1 Les symptômes de la toxicité observés après 28 jours :**

Les symptômes présentés par les rates après 28 jours d'observation qui suivent l'administration des doses testées sont présentés dans le tableau10 :

**Tableau 10** : Les symptômes observés lors de 28 jours chez les rates en fonction de la dose administrée.

SYMPTOMES	Lot témoin		Lots traités	
	4h	Chaque jour	4h	Chaque jour
Peau et fourrure	Normale	Normale	Normale	Normale
Yeux	Normale	Normale	Normale	Normale
Muqueuse	Normale	Normale	Normale	Normale
Comportements	/	/	/	/
anormaux	/	/	/	/
salivation	Normale	Normale	Normale	Normale
léthargie	/	/	/	/
somnolence	/	/	/	/
diarrhée	/	/	/	/
coma	/	/	/	/
Tremblements	/	/	/	/

On n'observe aucun changement de comportement ou signes de toxicité.

### VII.2 Evaluation de la mortalité :

Le tableau présente les résultats de mortalité observée chez les rates traitées par 4 lots de l'extrait méthanolique de grignons d'olive pendant 5 semaines.

**Tableau 13:** Mortalité après administration d'une dose unique de l'extrait méthanolique de grignons d'olive.

Dose (mg /kg)	Mortalité	Latence de mortalité
3.12mg /kg	0/3	0
31.25 mg/kg	0/3	0
125 mg/ kg	0/3	0
500 mg/ kg	0/3	0
2000mg/ kg	1/3	0

D'après le résultat obtenu, nous constatons que les animaux qui reçoivent des doses de 3.1 mg/kg P.C, 32.25 mg/kg P.C, 125 mg/kg P.C et 500mg/kg P.C de l'extrait méthanolique des grignons d'olive n' ont aucun effet toxique , aucun changement de comportement et aucune létalité, alors que la dose 2000mg/kg P. C cause la mort d'une rate de ce lot à la deuxième semaine. Notez que rien n' est enregistré chez les autres rates du même lot au cours des semaines suivantes c'est-à-dire 3-4 et 5.

### VII.3. Evolution pondérale :

Lors d'une étude toxicologique Il est nécessaire de suivre l'évolution du poids des rates, car elle peut nous fournir des renseignements préliminaires sur la substance étudiée.

A l'aide d'une balance en gramme (g), nous avons mesuré périodiquement le poids corporel des rats traités tout au long de l'expérimentation. Les variations du poids corporel sont calculées selon la loi suivant :

$$\text{Variation du poids corporel en \%} = \frac{(\text{PJ} - \text{PJ0}) \times 100}{\text{PJ0}}$$

PJ0 : poids corporel au jour du gavage.

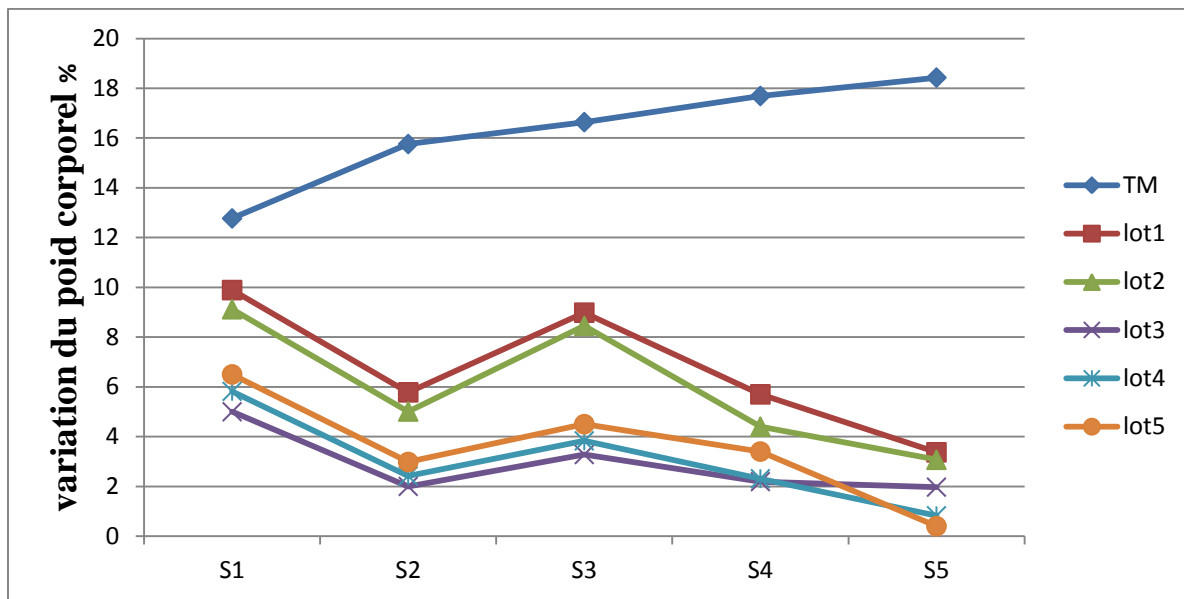
PS1 : poids corporel dans la première semaine.

PS2 : poids corporel dans la deuxième semaine.

PS3 : poids corporel dans la troisième semaine.

PS4 : poids corporel dans la quatrième semaine.

PS5 : poids corporel dans la cinquième semaine.

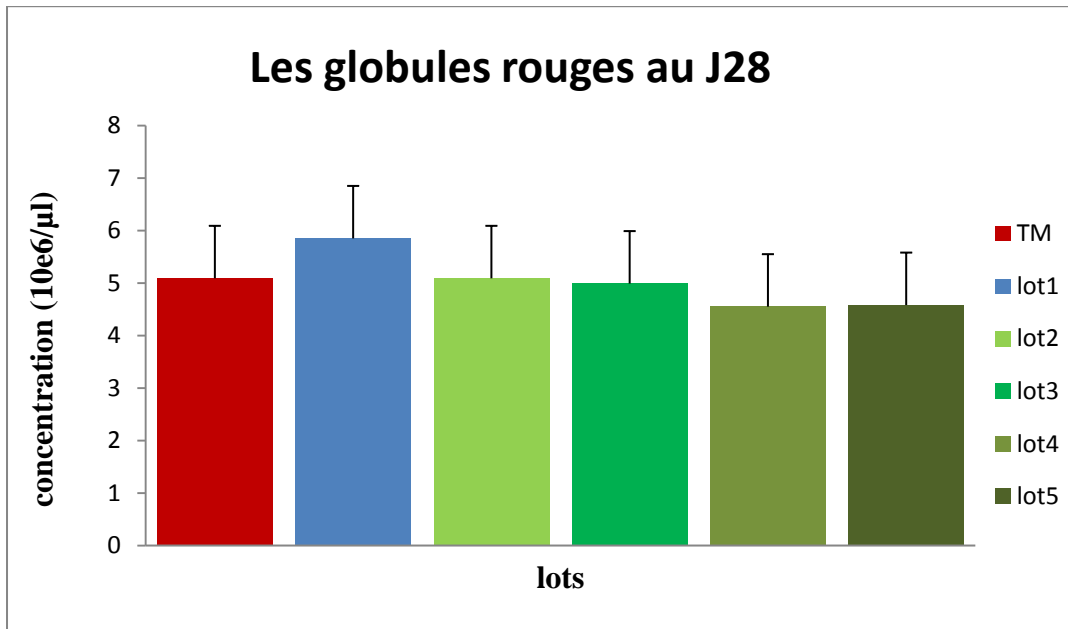


**Figure 15:** Évaluation du poids corporel durant le test de la toxicité sub aigue.

- Le suivi de variation du poids corporel des rates montre qu'après la deuxième semaine, l'administration de l'extrait entraîne une diminution du P.C chez les rates du lot 1(-5.78), le lot 2 (-5.23%), le lot 3(-4.52%), le lot 4(-2.22), et lot 5 (-2.81%) à la différence du lot témoin.
- Un regain du poids corporel pour tous les lots est enregistré entre la deuxième et la troisième semaine estimé respectivement à (+9.65%, +9.06%, +3.97%, +3.06%, +4.43%).
- Puis une chute des poids est retrouvée chez ces mêmes lots entre la semaine 3 et 5.

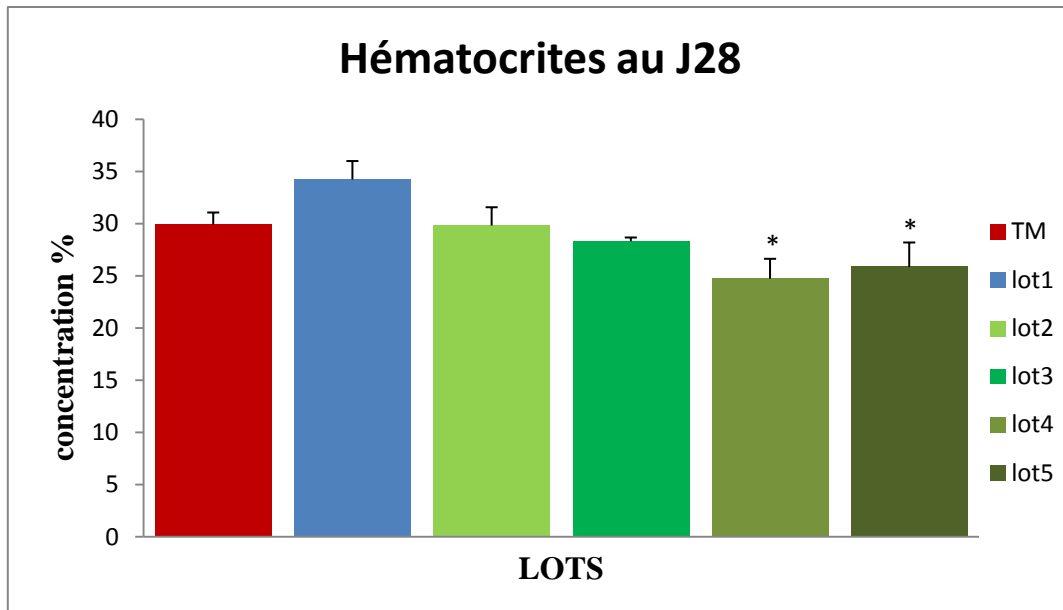
## VII.4. Etudes des paramètres hématologiques :

Les paramètres hématologiques sont présentés dans les figures si dessous :



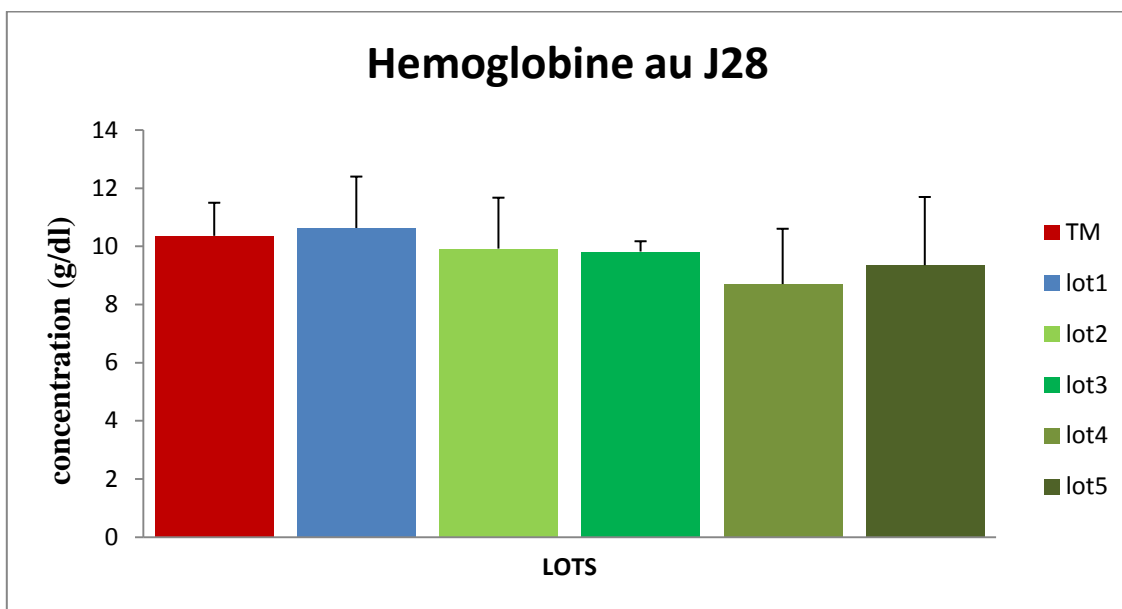
**Figure 16 :** Evaluation de taux des globules rouges des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses. Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg). (n=3) les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*  $p < 0.05$  est considéré comme résultat peu significatif)

- ✓ Les résultats de la détermination du taux des globules rouges révèlent une diminution mais non significative de ce paramètre dans les lots traités par 500 et 2000mg/kg P.C comparativement aux témoins.



**Figure 17:** Evaluation de taux des hématocrites des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) .(n=3) .les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart ( \*p < 0.05 est considéré comme résultat peu significatif)

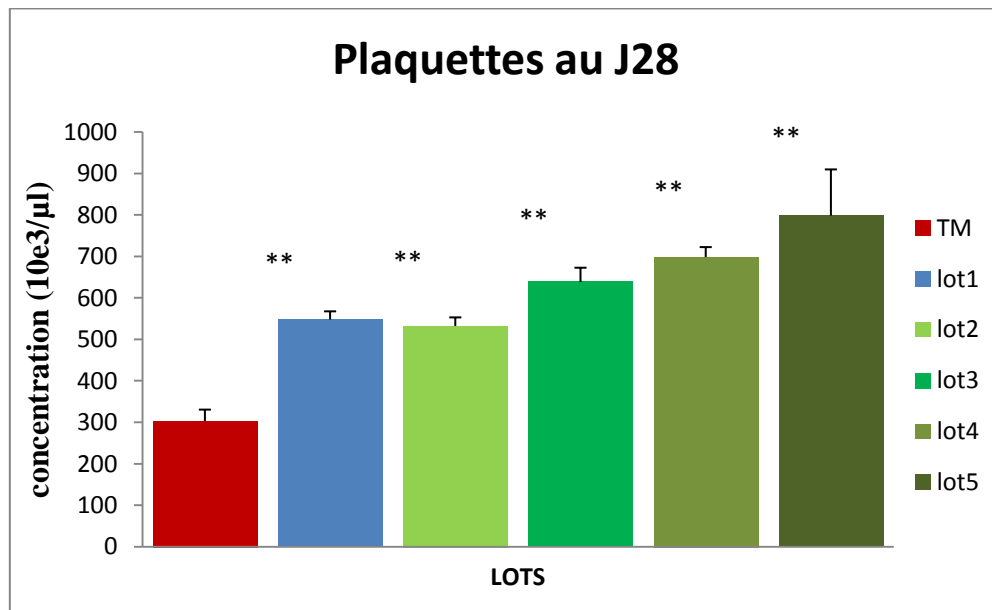
- ✓ Les résultats de la détermination du taux des hématocrites montrent une diminution significative dans les lots traités par 500 et 2000 mg/kg P.C par rapport aux témoins.



**Figure 18:** Evaluation de taux de hémoglobine des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) .(n=3) .les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart

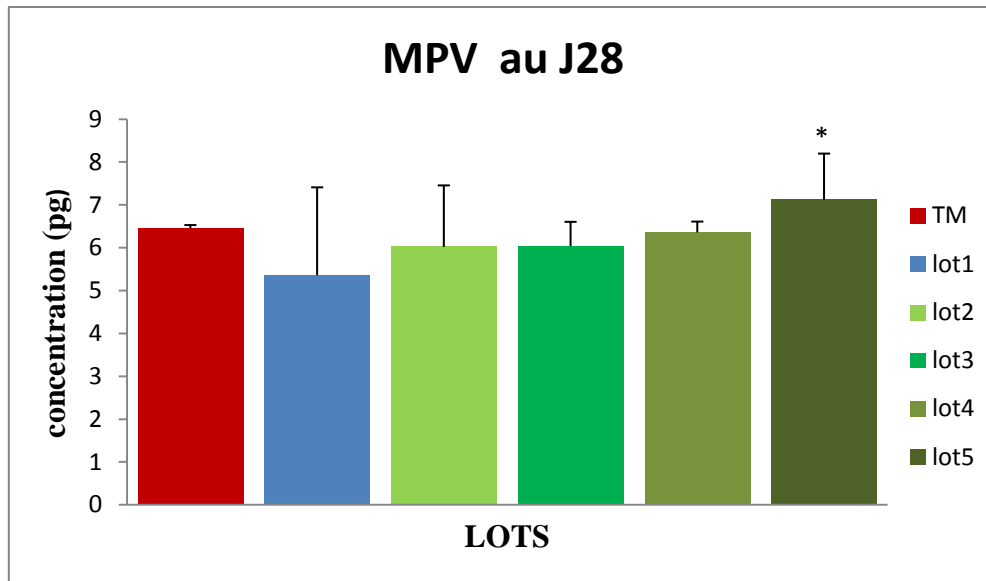
(32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) (n=3). les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\* p < 0.05 est considéré comme résultat peu significatif)

- ✓ Les résultats de la détermination du taux d'hémoglobine montrent une diminution non significative de ce paramètre dans les lots traités par 500 et 2000 mg/kg P.C comparativement aux témoins.



**Figure 19 :** Evaluation de taux des plaquettes des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) (n=3). les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*\*p < 0.01 est considéré comme résultat significatif)

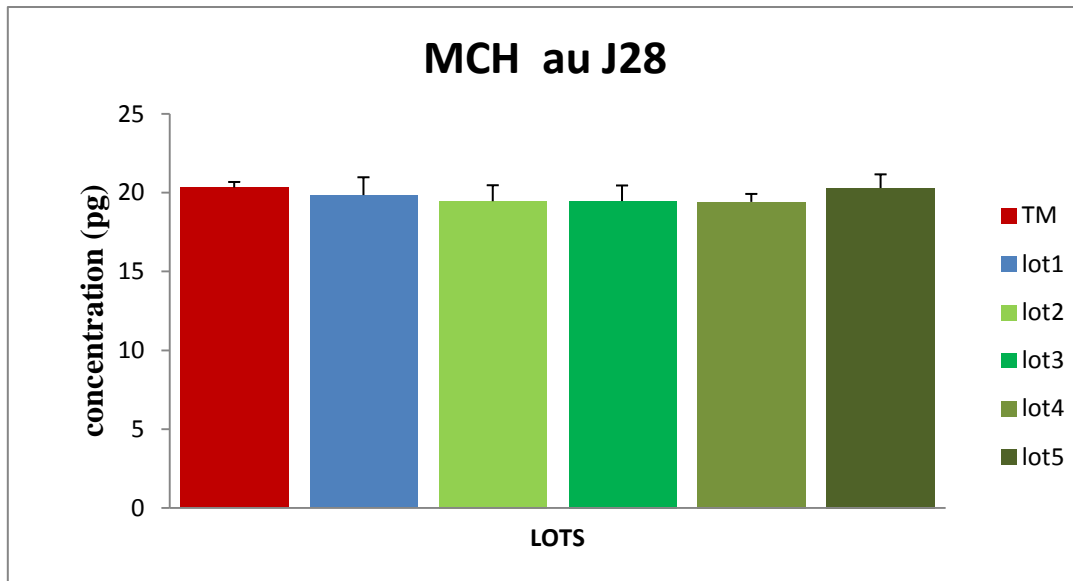
- ✓ Les résultats de la détermination du taux des plaquettes révèlent une augmentation significative de ce paramètre dans les lots 1-2-3-4 et 5 par rapport aux témoins.



**Figure 20:** Evaluation de taux des volume plaquettaire moyen des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) .(n=3) .les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\* $p < 0.05$  est considéré comme résultat significatif)

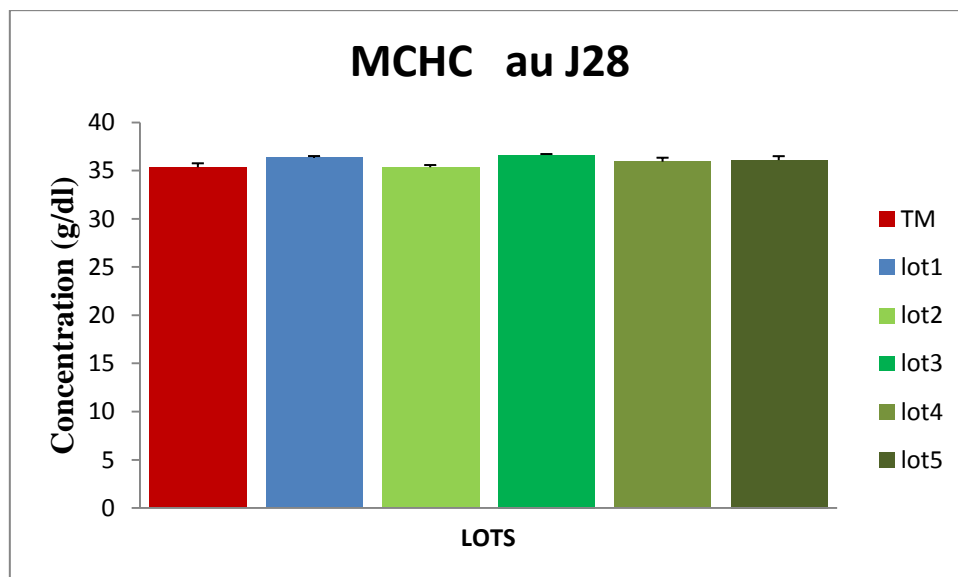
- ✓ Les résultats de la détermination du taux de MPV révèlent une augmentation significative de ce paramètre dans le lot traités par 2000 mg/kg P.C en comparaison avec les témoins.





**Figure 21 :** Dosage de teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg),lot 5 (2000mg/kg) .(n=3) . les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\* p < 0.05 est considéré comme résultat peu significatif)

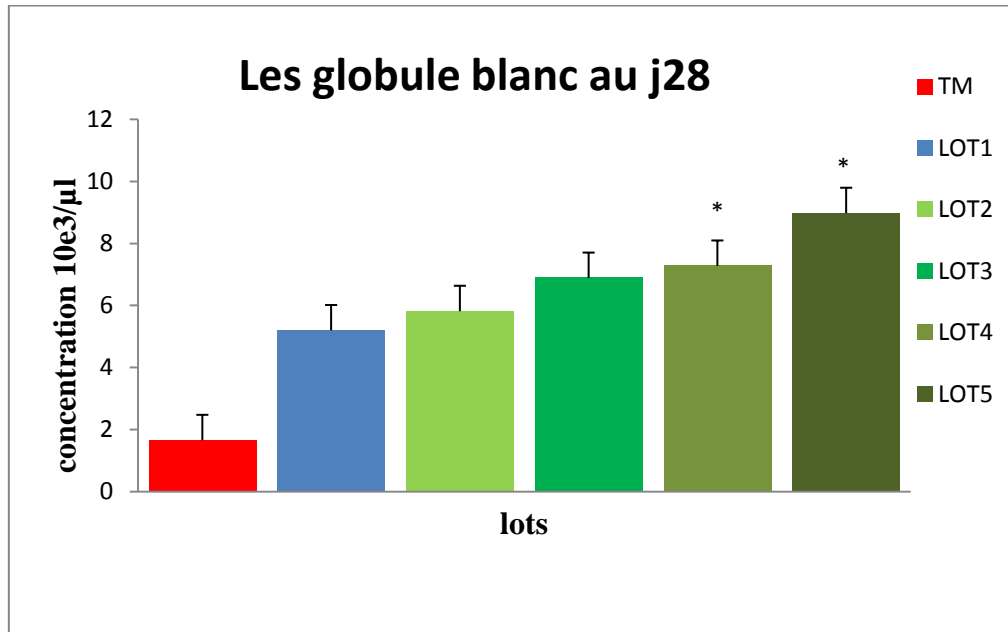
- ✓ Les résultats de la détermination du taux de MCH révèlent des valeurs comparables des différents lots traités par rapport aux témoins.



**Figure 22 :** Dosage de concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg),lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg),lot 5

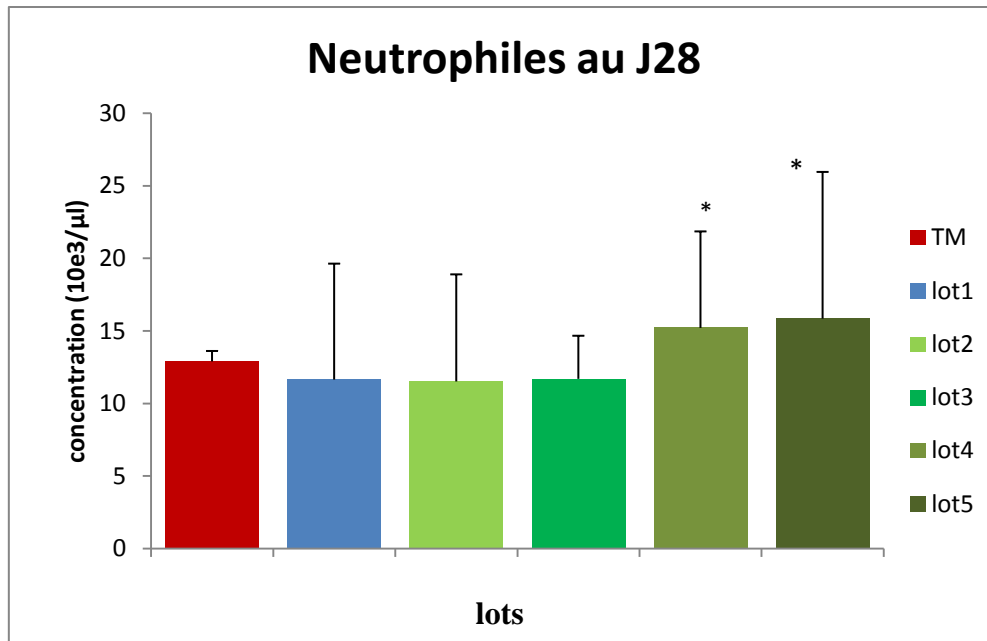
(2000mg/kg) .(n=3). les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\* p < 0.05 est considéré comme résultat peu significatif)

- ✓ Les résultats de la détermination du taux de MCHC révèlent aussi des valeurs comparables des lots 1-2-3-4 et 5 comparativement aux témoins.



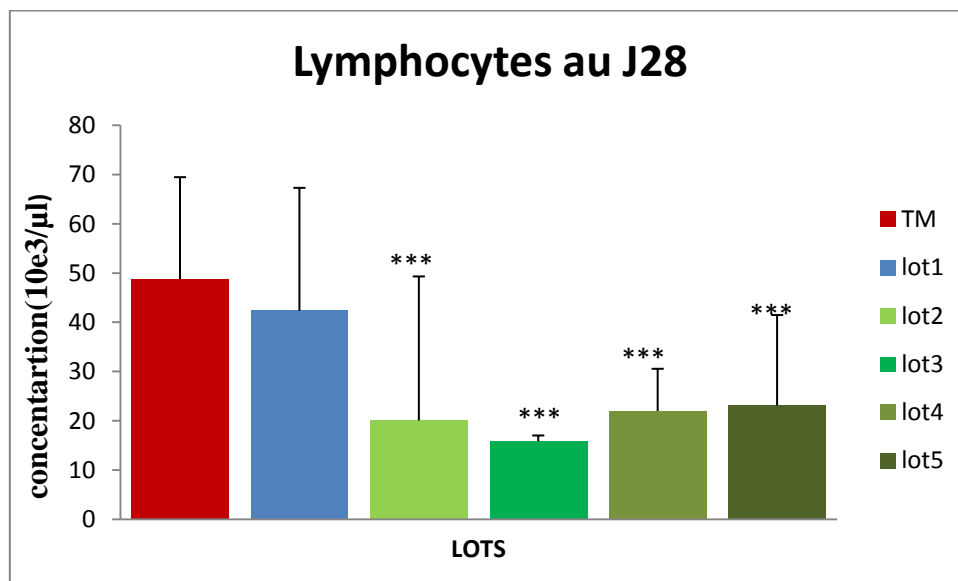
**Figure 23 :** Evaluation de taux des globules blancs des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub- aigue par doses. Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg),lot 5 (2000mg/kg) .(n=3) .les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\* p < 0.05 est considéré comme résultat peu significatif)

- ✓ Les résultats de la détermination du taux des globules blancs révèlent une augmentation significative de ce paramètre dans les lots traités par 2000 et 500mg/kg P.C par comparaison aux témoins.



**Figure 24 :** Evaluation des neutrophiles différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) .(n=3).les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*  $p < 0.05$  est considéré comme résultat peu significatif)

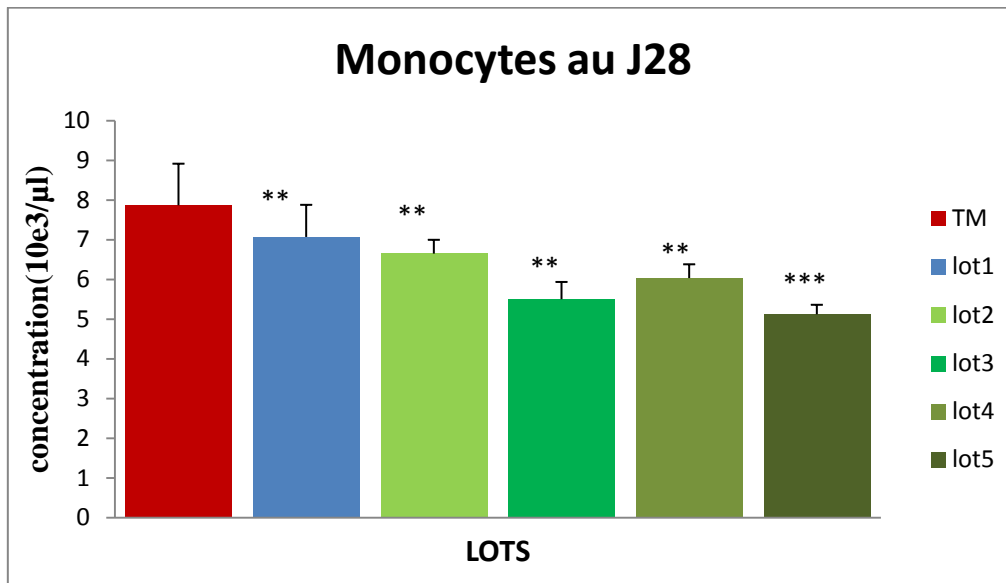
- ✓ Les résultats de la détermination du taux de neutrophiles révèlent une augmentation significative des neutrophiles dans le lot traités par 500 mg/kg P.C et 2000 mg/kg P.C en comparaison avec les témoins.



**Figure 25 :** Evaluation de taux des lymphocytes des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2

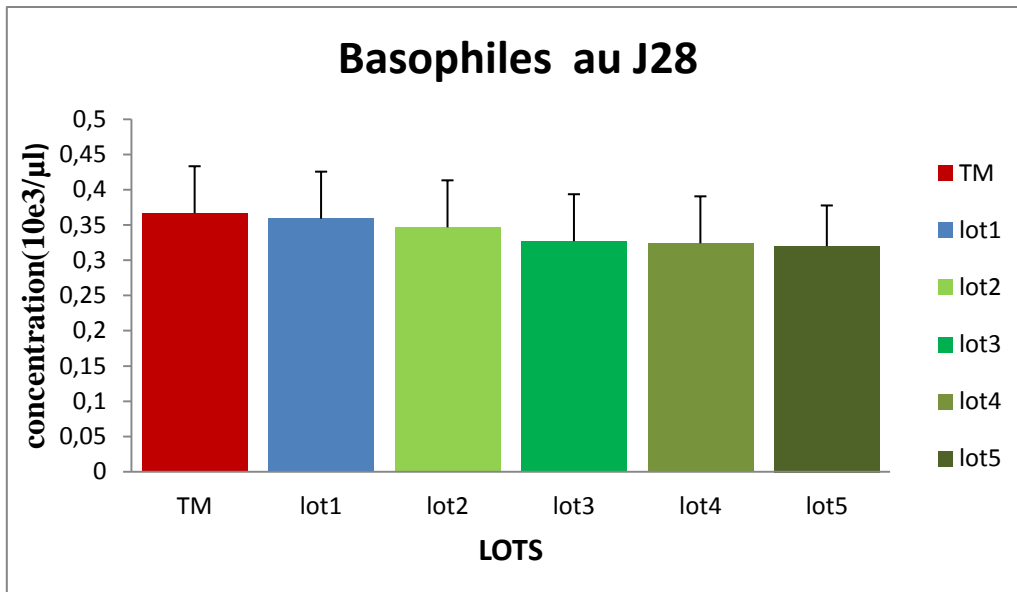
(32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg),lot 5 (2000mg/kg) .(n=3). les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*\* $p < 0.001$  est considéré comme résultat très significatif).

- ✓ Les résultats de la détermination du taux de lymphocytes montre une diminution très significative des taux de lymphocytes dans le lot traités par 31.25, 125, 500, 2000mg/kg P.C comparativement aux témoins .



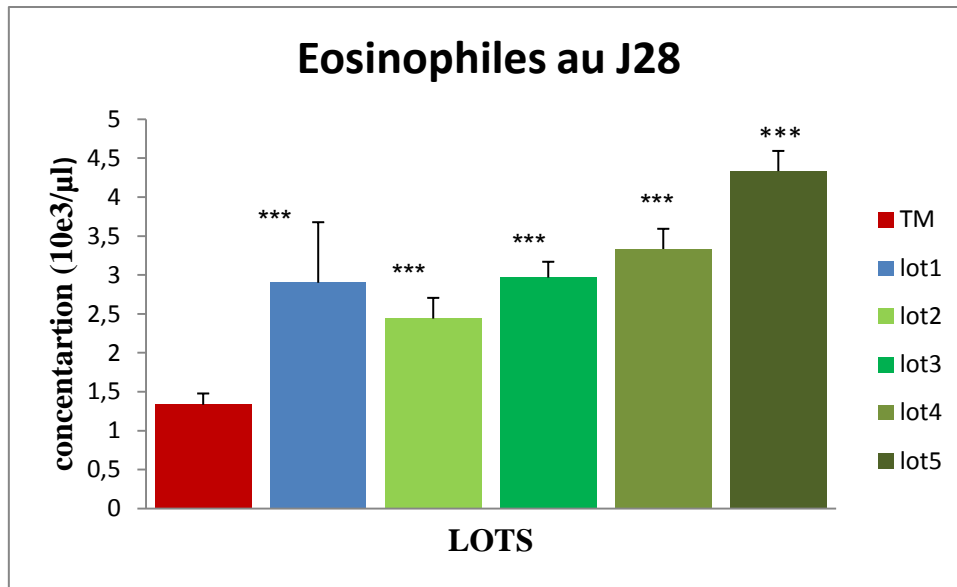
**Figure 26 :** Evaluation de taux des monocytes des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg),lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg),lot 5 (2000mg/kg) .(n=3) .les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*\* $p < 0.01$  est considéré comme résultat significatif ; et \*\*\*  $p < 0.001$  est considéré comme résultat très significatif ).

- ✓ Les résultats de la détermination du taux des monocytes signalent une diminution significative de ce paramètre dans les lots 1-2-3 -4 par rapport aux témoins .Cette réduction est encore plus marquée (\*\* $p < 0.001$ ) pour le dernier lot traités par 2000mg/kg P.C toujours en comparaison aux témoins.



**Figure 27 :** Evaluation de taux des basophiles des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) .(n=3). les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*\*p < 0.01 est considéré comme résultat significatif ; et \*\*\* p < 0.001 est considéré comme résultat très significatif ).

- ✓ Les résultats de la détermination du taux des basophiles révèlent des valeurs des différents lots traités comparables à ceux des témoins.



**Figure 28 :** Evaluation de taux des éosinophiles des différents lots traités et témoin dans les conditions de toxicité sub-aigue par doses Lot TM (0 mg/kg), Lot 1 (3.12 mg/kg P.C), lot 2 (32.25mg/kg), lot 3 (125mg/kg), Lot 4 (500mg/kg), lot 5 (2000mg/kg) .(n=3).les données sont exprimées par moyenne  $\pm$  écart (\*\*\*)  $p < 0.001$  est considéré comme résultat très significatif).

- ✓ Les résultats de la détermination du taux des éosinophiles révèlent une augmentation très significative dans les lots traités par 3.12 mg/kg P.C, 32.25mg/kg, 125mg/kg P.C, 500mg/kg, 2000mg/kg P.C par comparaison aux témoins.

Aussi, L'étude des frottis sanguins confirme les résultats retrouvés au niveau des formules de numération sanguines sauf pour la numération réticulocytaire (reflet de l'érythropoïèse) se révèle inférieure aux normes requises.

## VII. 2. Discussion :

Les plantes ont un rôle important dans la médecine traditionnelle connu depuis fort longtemps. En dehors de l'usage thérapeutique, certaines utilisations peuvent entraîner des intoxications graves telles que la manipulation de ces dernières par l'enfant ou leur usage à des fins criminelles .

Un bon nombre de plantes cultivées sont soit toxiques dans toutes les parties, soit dans certaines d'entre elles, Les recherches ont prouvés leur efficacité, mais aussi leur toxicité en se basant sur des données provenant de l'expérimentation *in vitro* et *in vivo*.

Parmi les plantes médicinales traditionnelles, il y en a celles qui peuvent être toxiques a de fortes doses ou après administration prolongée.

Il est nécessaire d'étudier la toxicité des plantes, car elles peuvent avoir des effets secondaires, des risques de toxicité, et des interactions avec d'autres plantes, ou avec des médicaments (**François et al., 2014**).

La toxicité hémolytique des extraits à partir des plantes est liée à leur composition chimique et aussi à leurs concentrations (**Costa-Lotufo et al., 2005**). Dans la littérature, aucune étude n'a fait l'objet du profile toxicologique sur l'appareil circulatoire des grignons d'olive. Notre travail de Master sur la toxicité sub- aigue des extraits méthanoliques de grignon d'olive contribue à la valorisation de ses déchets .Notre objectif est l'étude de l'hématotoxicité de l'extrait méthanolique des grignons d'olive dans le cadre d'une administration quotidienne pendant une durée de 28 jours (toxicité sub-aigue) chez des rates femelles Albinos Wistar. Avant d'aller plus Loing dans le sujet , il nous a paru important de citer les biais de l'étude, relatifs à :

- Tester les composés purifiés afin de déterminer le principe actif de l'extrait
- Doser les paramètres biochimiques .
- Faire une étude histopathologique .
- Ecarter l'effet sexe et inclure dans l'essai des rats males .
- Utiliser un plus grand nombre de rates.

### 1. Rendement et teneur des poly phénol totaux :

On définit le rendement d'extraction par le rapport de la quantité des substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Nos résultats montrent des taux d'extraction estimés à 9%.

Selon les travaux antérieurs le méthanol, l'éthanol et l'eau sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (SAHREEN et al., 2010; XIA et al., 2010; BOUZID et al., 2011). Le méthanol est le solvant utilisé dans cette étude pour obtenir l'extrait brut à partir des grignons d'olive.

Les teneurs en extraits sont influencées par le solvant, les conditions du développement, de croissance de la plante, le conditionnement, la maturité, la température et les conditions de stockage. Dans l'étude actuelle, la méthode de macération permet de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait et d'accélérer le processus d'extraction, tout en assurant la bio-activité de ses constituants. De plus, cette extraction permet de récupérer le maximum des composés et d'éviter leur dénaturation ou modification probable grâce au déroulement à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite et donc éloigner les températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (ZANG et HAMAURU, 2003).

### 1. Toxicité sub-aigue :

La toxicité est classée en trois formes essentielles : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (subaiguë ou sub-chronique) et la toxicité chronique. (Viala et Botta, 2005).

La toxicité sub-aiguë est une toxicité répétée pendant une période de 28 jours. Elle correspond à des expositions fréquentes et répétées sur une période de plusieurs jours ou semaines pour que les symptômes d'intoxication apparaissent (Lauwerys et al., 2007).

Des doses croissantes de l'extrait méthanolique sont administrées, quotidiennement par voie orale, à des rats pendant 5 semaines. Ainsi, 18 rats Wistar sont répartis en 5 lots (3 rats par lot) et un lot témoin puis observés pendant l'expérience.

Nous remarquons dans notre travail que les animaux qui reçoivent des doses de 3.12 mg/kg P.C, 32.25 mg/kg P.C, 125 mg/kg P.C et 500mg/kg P.C de l'extrait méthanolique des grignons d'olive ne présentent aucun effet toxique, aucun changement de comportement et aucune létalité. Alors que la dose de 2000mg/kg, cause la mort d'une rate de ce lot à la



deuxième semaine. Notez que rien n'est enregistré chez les autres rates du même lot au cours des semaines suivantes c'est-à-dire 3-4 et 5.

D'après la classification de toxicité de **Hodge et Sterner** chez les rats de laboratoire (**Hodge et Sterner, 1949**) ; une DL 50 comprise entre 1500 mg/kg P.C et 5000 mg/kg P. C ( $5\ 000 < DL50 < 15\ 000 \text{ mg/kg}$ ) correspond à une substance presque non toxique. Nos résultats montre ainsi que notre extrait est non toxique puisque sa DL50 est supérieure a 5000mg/kg P.C qui représente la dose d'essai .

Selon **Diezi (1989)**, les substances ayant une DL50 supérieure a 5000 mg/kg sont presque non toxiques. Les études D'**Angelo et al. (2001)**, **Sreeraj Gopi et al. (2016)**, ont démontré que l'administration de l'hydroxytyrosol (2000mg/kg P.C) et l'hydrogenated curcuminoid (300 et 2000mg/kg P.C) respectivement n'ont montré aucuns signes de toxicité et de décès. Egalement les études de **Affy Mataphouet et al (2018)**, ont signalé que l'administration de l'extrait aqueux de *Amaranthus viridis* à la dose limite (2000 mg / kg) n'a pas entraîné une mortalité et aucun signe de toxicité n'ont été observés. Cela montre que la dose létale était au-dessus de cette dose limite .

Un des paramètres étudiés dans ce travail est l'évolution du poids . Pour évaluer la toxicité d'une substance, on doit vérifier l'évolution du poids corporel, et le comportement parce qu'ils sont les premiers signes de toxicité (**Mbaka et al, 2010; Almanca et al, 2011; Panunto et al, 2011**). Dans notre travail, le suivie de la variation du poids corporel des rates montre qu'après la deuxième semaine, l'administration de l'extrait entraine une diminution du P.C chez les rates du lot1- 2 – 3- 4et 5 par rapport au lot témoin. Cette diminution peut être expliquée soit par une réduction de la consommation des aliments, soit par les interactions dose/absorption (**Hilaly et al, 2004**). Un regain du poids corporel des rates a été enregistré par la suite pour les lots 1 et 2 entre la deuxième et la troisième semaine estimé respectivement à ( + 8.65% et + 8.55%) suivis respectivement par les lots 3-4 et 5. Ce résultat suggère que l'extrait a des effets réversibles probables sur la croissance des rates Albinos Wistar. Cependant, cette récupération semble temporaire puisqu' une chute des poids est retrouvée au niveau de tous lots et particulièrement pour les lots 3, 4 et 5 entre la semaine 4 et 5.

Des résultats similaires ont été aussi rapporté par **guirou ,2008** dans le cadre de l'étude de la toxicité sub-aigue du décoté *Argemone mexicana*, aux différentes doses (100 mg/kg ,300

mg/kg, 1500 mg/kg) .Les auteurs ont constaté une baisse de poids chez les rats mâles et femelles au bout des quatre semaine de l'étude ; en plus deux rats mâles sont à morts contre une femelle à la dose de 1500 mg/kg, en début de test.

De même ,**Affy Mataphouet et al ( 2018)** ont montré que l'administration de 400 mg / kg d'extrait aqueux d'A. Viridis, pendant 28 jours a entraîné une diminution du poids corporel de 23,66% par rapport aux témoins. Pour les concentrations de 200 et 600 mg / kg e P.C , il a été enregistré une diminution respective de 1,58% et 14,48% par rapport au poids des témoins . **Odynis-Liebert J et al ( 2010 )** ont rapporté une réduction du poids corporel chez des rats à des concentrations beaucoup plus basses que celles utilisés dans notre étude. En effet ,ces auteurs ont montré une réduction du poids à des doses 10 mg / kg de P.C, 30 mg / kg de P.C et 100 mg / kg de P.C dans le cadre de l'étude de la toxicité sub aigue de la didecyldimethylammonium saccharinate (liquide ionique) . Ce résultat a été être expliquée par deux hypothèse : Une réduction de la consommation des aliments ou des interactions dose/absorption (**Hilaly et al, 2004**).

A l'opposé ,les résultats de l'étude de la toxicité sub-aigue obtenu par **Michel Bleu GOME et al ( 2011)** , ont montré une augmentation significative du poids des animaux traités avec l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn par rapport aux témoins quelque soit la dose. Cette hausse du poids était liée à une stimulation de l'appétit des animaux par l'extrait, qui avait pour conséquence une augmentation de leur consommation de nourriture. Ce même résultat a en effet été obtenu par **Pieme et al. (2006)** sur des rats traités pendant 26 jours avec l'extrait aqueux de *Senna alata*.

## 2. Hématotoxicité :

Le travail déjà réalise par **siagh et bekkouche , 2019** sur la toxicité aigue de l'extrait méthanolique de grignon d'olive a révélé la présence des flavonoïdes, tanins, saponines, triterpenes hétérosidiques et les quinones. On a noté particulièrement, la présence des flavonoïdes et des tanins.

A forte concentration, parmi les constituants de plantes, les flavonoïdes sont impliqués dans l'oxydation de l'hémoglobine, la perturbation de la structure membranaire et l'augmentation de la conductimétrie et donc l'hémolyse des érythrocytes, en raison d'effets pro-oxydants qu'ils peuvent exercer (**Galati et al., 2002**).

Notre étude portant la toxicité sub aigue de l'extrait méthanolique de grignon montre justement une perturbation de quelques paramètres hématologiques ; notamment :

- Une diminution mais non significative au niveau des lots 4 et 5 des taux de globules rouges ( $4.55 \times 10^6/\mu\text{l}$ ) versus ( $7.07-9.03 \times 10^6/\mu\text{l}$ ) et ( $4.58 \times 10^6/\mu\text{l}$ ) respectivement .
- Une diminution significative de la concentration de l'hémoglobine et de l'hématocrite au niveau des lots 4 et 5 ( $8.7 \text{ g/dl}$ ) versus ( $13.7-16.8 \text{ g/dl}$ ) et ( $9.35 \text{ g/dl}$ ) respectivement pour l'HB puis ( $24.73 \text{ g/dl}$ ) versus ( $37.9-49.9 \text{ g/dl}$ ) et ( $25.85 \text{ g/dl}$ ) respectivement pour l'hématocrite .
- Les valeurs de CMH , CCMH et VGM demeurent comparables aux valeurs du lot témoin . Aussi , la numération réticulocytaire effectuée sur frottis par microscopie (reflet de l'érythropoïèse ) est inférieure aux normes requises .

Cela est donc en faveur d'une légère anémie (grade 1 ) normo chrome , normo cytaire et régénérative induite soit par une hémolyse résultant de l'action de l'extrait administré surtout à fortes doses ou encore par une inflammation par suite d'une infection présente chez les rates .Rappelons que pour cette dernière hypothèse ; nous avons noté une augmentation significative des taux de globules blancs au niveau des lots 4 et 5 avec élévation des taux des éosinophiles au niveau de tous les lots et des neutrophiles au niveau des lot 4 et 5 .

Pour comparer nos résultats par rapport à la littérature, nous n'avons pas trouvé de travaux portant sur l'hématotoxicité de l'extrait méthanolique de grignon d'olive. Cependant nos résultats sont proches de ceux de **Rhiouani H et al ,2008** qui ont montré que l'administration orale quotidienne pendant 90 jours de l'extrait brut de *Heirniaria Glabra* a entraîné une augmentation significative à la dose la plus élevée des érythrocytes et des plaquettes. Les auteurs ont conclus que l'extrait de HG ne semblait pas avoir de toxicité significative sauf à fortes doses. Nos résultats se rapprochent de ceux e de **Michel Bleu GOME et al (2011)** qui montrent que l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn à la dose de 1200 mg/kg a induit une diminution significative des taux de globules rouges et de l'hématocrite. Cette baisse pouvait t être liée à une possible présence dans cet extrait de l'hémolysine.

Nos réultats sont en accord avec ceux de ( **Michael McClain R et al (2006)** dans le cadre de l'étude de la toxicité sub- aigue de la génistéine, Les auteurs ont rapporté que les principaux paramètres hématologiques ont été perturbés et marqués par une diminution des

globules rouges à 500 mg / kg / jour avec une augmentation compensatoire des réticulocytes à cette même concentration .Ces résultats étaient en faveur d'une anémie.

Les résultats de la détermination du taux des plaquettes révèlent une augmentation significative de ce paramètre dans les lots 1-2-3-4 et 5 par rapport aux témoins . Les taux de MPV révèlent par contre une augmentation significative que dans le lot traité par 2000 mg/kg P.C en comparaison avec les témoins .Ces résultats pourraient être en faveur d'une Hyperplaquetose (Thrombocytose) principalement dans le lot 5 , suite probablement à une thrombocytose d'entraînement .Cette dernière devrait être associée à une anémie hémolytique aiguë ,cependant rappelons dans ce contexte que le taux d'hémoglobine dans notre étude n'était pas significativement diminué et ne reflétait pas vraiment une anémie aiguë. L'étiologie la plus courantes de la thrombocytose peut être aussi une pathologie inflammatoire ou infectieuse . Cette probable thrombocytose a été retrouvée dans l'étude des frottis sanguin mais doit être confirmée en plus de ça par des tests adéquats .

Des résultats similaires ont été rapporté par **Alain Dit Philippe BIDIE et al (2016)** qui ont réalisé une étude de toxicité sub-aigue de 28 jours sur l'extrait totale aqueux de *CHRYSOPHYLLUM PERPULCHRUM* à des doses de 700 ,1300,2000 et 3000 mg / kgP.C . En effet, les auteurs ont retrouvé une augmentation des taux sériques des globules blancs et des plaquettes sanguines à 2000 , 3000 mg/kg de P.C. D'autres résultats d'études réalisés par **Adeneye et al.( 2006)** ont déclarés que la thrombocytose retrouvée était importante et produite par l'administration respectives des extraits de *Hunteria umbellata* à 1500 mg/kg et ont suggéré que malgré l' effet hématopoïétique bénéfique induit par l'extraits dans la réparation de l'anémie, la thrombocytose qui en résultait pouvait provoquer une prédisposition à un AVC thrombotique et à une cardiopathie ishémique.

Concernant les cellules blanches , on enregistre une augmentation significative des GB et des neutrophiles au niveau des lots 4 et 5 ( $8,98 \times 10^3/\mu\text{l}$ )des GB versus ( $1.13-7.49 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) et(15.85%) versus (0.15-1.5%) pour les neutrophiles.(**Mary.L.A.Giknis,Charles B.Cliford,2008**).Cette polynucléose neutrophile d'entraînement pourrait être causé soit par une hyperstimulation de la production médullaire, suite à une hémolyse induite probablement par l'extrait de grignons surtout à forte concentration ou encore par une cause pathologique infectieuse entraînant une inflammatio. (**Dr Claire Lewandowski ,2019**).

On enregistre également une augmentation des éosinophiles dans tous les lots . Selon **Anais Thiébaux ;2020**, l'éosinophile augmentent en cas de réactions allergiques ou lors d'une infection parasitaire.

Pour ce qui est de la diminution des lymphocytes retrouvée , l'étiologie la plus fréquente est une infection bactérienne. ( **Mary Territo et David Geffen,2018** ) .

La diminution des monocytes est une monocytopenie probablement transitoire , généralement réactionnelles à des pathologies infectieuses ou inflammatoires (**Alexey Portnov , 2018**)



## Conclusion et perspectives

---

D'après les résultats obtenus, nous avons retenu que : les grignons d'olives, récoltées dans la wilaya de Tlemcen dans la région d'Ouzidane , sont très riches en flavonoïdes, saponines, tanins , les quinones et les tritépènes hétérosidiques.

L'étude de la toxicité sub-aigue de l'extrait méthanolique des grignons d'olive après administration orale d'une dose de 3.12 mg/kg PC, 31.25 mg/kg PC, 125 mg/kg PC et 500 mg/kg PC, n'a pas entraîné un changement de comportement et aucun signe de toxicité. Cependant, la dose 2000 mg/kg a causé la mort d'une rate de lot2 à la deuxième semaine .

En outre , cet extrait peut influencer dans un premier temps la croissance des rates par une diminution du poids puis une récupération de courte durée est observée pendant une semaine . Après cette dernière , une chute dans la croissance est enregistrée et principalement pour les fortes concentrations . D'après les résultats hématologiques, il apparaît que l'extrait méthanolique des grignons d'olive a un effet hématotoxique, puisque la majorité des paramètres hématologiques on subit un changement significatif particulièrement pour les concentrations 500 mg/kg PC et 2000 mg/kg .Ce changement est incarné sous forme d'une légère anémie , thrombocytose probable et la perturbation des taux des cellules blanches induite probablement par une infection pathologique ou inflammation .

Ce travail mérite d'être amplifié, car il a tracé plusieurs voies de recherche de part les résultats obtenus qui doivent obligatoirement être confirmés par des études plus détaillé et plus vaste. C'est pourquoi, il serait appréciable de développer les points suivants :

- Etude des coupes histologique des différents organes prélevés lors de l'étude de la toxicité sub- aigue .
- Etudes de toxicité sub-chronique des grignons d'olives pendant 90 jours, afin de déterminer les effets à moyen terme et long terme, d'évaluer la dose sans effet toxique.
- Etude de la toxicité chronique de grignon d'olive pendant un ans ou deux ans,pour établir les normes de sécurité concernant l'exposition humaine.

# Résumé

---

## Résumé

Le grignons d'olive renferme la plus grande partie de la matière sèche de l'olive (peau, pulpe, petits morceaux de noyau) et une certaine proportion d'eau de végétation qui contient à son tour les composants hydrosolubles de l'olive, proportion qui dépend du système d'extraction utilisé. Notre travail porte sur l'étude de l'hématotoxicité dans le cadre de la toxicité sub-aigüe de l'extrait méthanolique des grignons d'olives issu d'une extraction continue au niveau de la wilaya de Tlemcen (Algérie). Nous avons administré des doses uniques par la voie orale (3.12mg/kg, 31.25mg/kg, 125mg/kg, 500mg/kg, 2000mg/kg) chez les rates femelles. L'analyse phytochimique effectuée dans les études précédentes a participé à identifier les composés chimiques présents dans l'extrait et a révélé la présence des composés phénoliques avec une teneur importante en polyphénols, des flavonoïdes, tanins, saponines, triterpènes hétérosidiques, quinones avec l'absence des autraquinones et des composés réducteurs. Notre étude a enregistré un cas de décès pendant l'expérimentation. L'évaluation pondérale des rates a changé (diminution à la deuxième semaine, récupération pendant une semaine puis diminution à la fin de l'expérience). Les résultats révèlent aussi une altération dans la fonction hématologique principalement pour les fortes concentrations (500mg/kg, 2000mg/kg) avec présence d'une légère anémie, thrombocytose et signes inflammatoires.

**Mot clés : grignons d'olive, hématotoxicité, toxicité subchronique, polyphénols.**

## Abstract :

Olive pomace contains most of the dry matter of the olive (skin, pulp, small pieces of stone) and a certain proportion of vegetable water which in turn contains the water-soluble components of the olive, proportion which depends on the extraction system used. Our work relates to the study of hematotoxicity and the sub-acute toxicity of methanolic extract of olive pomace resulting from a continuous extraction at the level of the wilaya of Tlemcen (Algeria). We administered single doses orally (3.12mg / kg, 31.25mg / kg, 125mg / kg, 500mg / kg, 2000mg / kg) in female rats. phytochemical analysis carried out in previous studies participated in identifying the chemical compounds present in the extract, this study revealed the presence of phenolic compounds with a significant content of polyphenols, flavonoids, tannins, saponins, heterosidic triterpenes, quinones with the absence of autraquinones, reducing compounds. Our study recorded a case of death during the experiment. The weight assessment of the rats changed (decrease at the 2nd week and increase then decrease at the end of the experiment). the results reveal an alteration in the hematological function by anemia



## Résumé

and thrombocytosis and inflammatory sign, afterwards there is a very high hematotoxic effect in the batch treated with the dose 2000 mg / kg compared to the other remaining batches. , recovery for a week then decrease at the end of the experiment). the results reveal an alteration in the hematological function mainly for high concentrations (500mg / kg, 2000mg / kg) with the presence of a slight anemia, thrombocytosis and inflammatory signs.

**Key words : pomace , hematotoxicity and the subchronic toxicity , polyphenols**

### ملخص

يحتوي ثفل الزيتون على معظم المواد الجافة من الزيتون (الجلد ، اللب ، قطع صغيرة من الحجر) ونسبة معينة من الماء النباتي الذي يحتوي بدوره على مكونات الزيتون القابلة للذوبان في الماء ، النسبة التي تعتمد على نظام الاستخلاص المستخدم. يتعلق عملنا بدراسة السمية الدموية والسمية شبه الحادة لمستخلص الميثانول من ثفل الزيتون الناتج عن الاستخراج المستمر على مستوى ولاية تلمسان (الجزائر). قمنا بإعطاء جرعات مفردة عن طريق الفم (3.12 مغ / كغ ، 31.25 مغ / كغ ، 125 مغ / كغ ، 500 مغ / كغ ، 2000 مغ / كغ) للفئران الأنتوية. شارك التحليل الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه في دراسات سابقة في تحديد المركبات الكيميائية الموجودة في المستخلص ، وكشفت هذه الدراسة عن وجود مركبات الفينول مع محتوى كبير من البوليفينول ، الفلافونويد ، العفص ، السابونين ، ثلاثي التربين مع عدم وجود . اوثراكينون السداسي ، الكينونات سجلت دراستنا حالة وفاة أثناء التجربة. تغير تقييم , او وزن الفئران (انخفض في الأسبوع الاول ثم زاد ثم انخفض في نهاية التجربة). تكشف النتائج عن تغيير في وظيفة الدم بفقر الدم وجلطة الصفائح واعراض الالتهاب ، وبعد ذلك يكون هناك تأثير سام للغاية للدم في الدفعة المعالجة بجرعة 2000 مغ / كغ مقارنة بالدفعات الأخرى المتبقية، الارتفاع لمدة أسبوع ثم ينخفض في نهاية التجربة). تكشف النتائج عن تغيير في الوظيفة الدموية بشكل رئيسي للتركيزات العالية (500 مغ / كغ ، 2000 مغ / كغ) مع وجود فقر دم طفيف ، كثرة الصفائح وعلامات التهابية

**الكلمات المفتاحية : ثفل الزيتون , السمية الدموية , السمية شبه المزمنة , البوليفينول**

## Références bibliographiques

---

### A

- **Alain Dit Philippe BIDIE1 , Franck Mansour ADEOTI , Francis Adou YAPO , Justine Wawa TIEKPA, Jean David N'GUESSAN et Joseph Allico DJAMAN , 2016** : EFFET DE L'EXTRAIT TOTAL AQUEUX DE CHRYSOPHYLLUM PERPULCHRUM SUR LES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET LA CROISSANCE PONDÉRALE DES RATS WISTAR SAINS.
- **Analytical Toxicology , (2018, March 24)**. Toxicité Aiguë .
- **Amy King et Gloria Young., 1999**, « *Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals* ».
- **Alain Viala, Alain Botta.2007** ; toxicologie 2 eme édition p 490-491
- **Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter.** Molecular Biology of the Cell(5e éd.), New york, Garland Science, 2007, 1392 p.
- **A.Ben Saad ,S.Jaballi, A.Elkamel** .Impact de l'anémie sur l'évolution et le pronostic de la BPCO. À propose de la 1242 Patients ,Ruvue des Maladies Respiratoires **2017** ,Vol . 34 :A57
- **A. C. GUYTON & J. E. HALL**, 11th Ed. Elsevier Saunders, USA, (2006) 1152 p
- **Adeneye AA, Adeyemi OO, Agbaje EO, Banjo AA.** Evaluation of the toxicity and reversibility profile of the aqueous seed extract of *Hunteria umbellata* (K. Schum.) Hallier f. in rodents. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2010;7(4):350-369. doi:10.4314/ajtcam.v7i4.56704

### B

- **Borel P.** Biodisponibilité des phytomicronutriments : mécanismes impliqués et stratégies d'amélioration. Carrefours de l'Innovation Agronomique Inra (CIAg), 2014, Avignon
- **Bruneton, J.,** *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>e</sup> éd., revue et augmentée*, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 2009, 1288 p. (ISBN 978-2-7430-1188-8).

## Références bibliographiques

---

- **Bismuth C., Baud F., Conso F., Dally S., Fréjaville J.-P., Garnier R., Jaeger A.** Flammarion Médecine-Sciences, 5ème édition, Paris 2000

### C

- **C.W. Bamforth**, « *Beer haze* », Journal of the American Society of Brewing Chemists, vol. 57, 1999, p. 81–90 .
- **Cullenmr, Radot, Waldronja, Sparerj, Welchls.** Bone marrow injury in lithographers exposed to glycol ethers and organic solvents use dinmulticoloroffsetandultravioletcuringprintingprocesses. Arch Environ Health 1983
- **Comite de Coordination de Toxicovigilances** . *Définition des critères de gravité d'une intoxication médicamenteuse.*- Paris : Comité De Coordination De Toxicovigilance. 2008 P13.
- **Cory H, Passarelli S, Szeto J, Tamez M, Mattei J.** The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Front Nutr.* 2018;5:87. Published 2018 Sep 21. doi:10.3389/fnut.2018.00087

### D

- **Daniel Williams** ,Septembre 9, 2010 Vues: 347,879 ,Huile de grignons d'olive: pas ce que vous pourriez penser.
- **D. Chen et al.**, « *Green tea and tea polyphenols in cancer prevention* », Front Biosci, vol. 9, n° 2618, 2004 .
- **Dean, L.** et National Center for Biotechnology Information (NCBI). Blood Groups and Red Cell Antigens, Bethesda (MD), NCBI, 2005.[En ligne

### E

- **Estelle Menu, Maud Mehring.** Toxicologie 1re édition 2015 p :1.
- **Emanuel. A, Thierry.W, Laure. F , Mustapha.M.** Neutropénie de l'adulte et sujet agé .Diagnostique , étiologique et prise en charge thérapeutique mt , vol. n° 5, 2008.
- **Emmanuel AM, Roger KK, Toussaint DG, Koffi K.** Acute and subacute toxicity of the aqueous extract of *Amaranthus viridis* (Amaranthaceae) leaves in rats. *J Phytopharmacol* 2018; 7(4):366-372.

## Références bibliographiques

---

### F

- **Frankel et al.**, « *Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine* », *Lancet*, vol. 341, n<sup>os</sup> 454-457, 1993
- **F. Couplan E. Styner**, *Plantes sauvages comestibles et toxiques*, Delachaux et Niestlé, 2018, 416 p. (ISBN 978-2-603-02547-5).

### G

- **G.Fillet**. Hématotoxicité médicamenteuse *Revue Medicale de Liege* 1987
- **GANDHARE, S. KAVIMANI and B. RAJKAPOOR**, *J. Sci. Res*, 5 (2) (2013) 315 – 324
- **Guy Roulier**, praticien de la santé durable : ostéopathe D.O., posturologue, ancien kinésithérapeute, DU Phyto-aromathérapie, DN(GB)., H.P. (RFA). DAT (F)

### I

- **Imane Krache , Naouel Boussoualim, Soraya Ouhida , Nacer Amraoui , Abderrahmane Baghiani1 and Lekhmici Arrar**, Acute and Chronic Effects of Methanolic Extract of *Teucrium polium* on Blood Parameters and Histopathology of Liver and Kidney in Female Rats.

### J

- **Jean-Marc Frémy; Patrick Lassus** (2001). *Toxines d'algues dans l'alimentation*. Editions Quae. pp. 321 —. ISBN 978-2-84433-052-9.
- **J.M. Orgogozo et al.**, « *Wine consumption and dementia in the elderly: A prospective community study in the Bordeaux area* », *Rev. Neurol. (Paris)*, vol. 153, 1997, p. 185-192 .
- **J. Bruneton**, *Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux*, Tec & Doc Lavoisier, 2 septembre 2005, 618 p. (ISBN 2743008067).
- **J** « 3rd international Conference on Polyphenols Applications », 2006, The International Society for Antioxidants in Nutrition and Health (ISANH).

## Références bibliographiques

---

### L

- L'Express, «*Le thé, le café et leurs phénoménaux polyphénols*» [[archive](#)], sur [www.lexpress.fr](http://www.lexpress.fr), 11 mai 2010 (consulté le 27 décembre 2015)

### M

- **Marie-Aleth Lacaille-Dubois & Hildebert Wagner** (1996) Importance pharmacologique des dérivés polyphénoliques, *Acta Botanica Gallica*,
- **M. Laughton et al.**, « *Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability* », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 42, 1991, p. 1673-1681 (PMID [1656994](#)).
- **Marieb, E.N.** *Essentials of Human Anatomy and Physiology* (9e éd.), San Francisco(CA), Pearson/Benjamin Cummings, 2009, 632 p
- **M.C .Husson.** *Réévaluation thérapeutique; médicament utilisés en cancérologie* ( 4ème édition) , 2001,pp40
- **Michael McClain R, Wolz E, Davidovich A, Pfannkuch F, Edwards JA, Bausch J.** Acute, subchronic and chronic safety studies with genistein in rats. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(1):56-80. doi:10.1016/j.fct.2005.05.021
- **marry terreto, MD,** David Geffen School of Medicine at UCLA Dernière révision totale juil. 2018, neutropénie
- **M Wink,** « *Mode of action and toxicology of plant toxins and poisonous plants* », *Mitt. Julius Kühn-Inst.*, vol. 421, 2009, p. 93–112 ([lire en ligne](#) [[archive](#)], consulté le 7 janvier 2017).
- **Michel Bleu GOME , Koffi KOUAKOU , Alassane TOURE et Flavien TRAORE** , Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) chez les rats et les souris
- **Michal Nowicki ,Marek Murias,Teresa Adamsk,2010:** Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate, in rats
- Mémoire de master Etude de la toxicité aiguë et la détermination de la DL50 de l'extrait brut des grignons d'olives, **siagh hannaneet bekkouche wasila,2019.**

## Références bibliographiques

---

- Mémoire de master de l'étude de la toxicité aiguë et la détermination de la DL50 des polyphénols de l'extrait brut des pétales du safran. **Boukenkoul meryem et betaouaf valid 2019.**
- Mémoire de master sur étude phytochimiques et recherche de l'effet hémolytique des extraits préparés de la partie aérienne de l'ortie, **hamad bouchra 2019.**

### N

- Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive »(PDF) Conseil oléicole international, novembre 2009.

### O

- **odynis-Liebert J, Nowicki M, Murias M, et al.** Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate, in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2010;57(2-3):266- 273. doi:10.1016/j.yrtph.2010.03.006

### P

- Polyphenols [Substance Name]; use the precise structure header, most commonly in the Flavonoids group; this term only refers vaguely to phenolic (aromatic) hydroxyls. Date introduced: August 18, 1980, dans [MeSH database \[archive\]](#).
- **P. Sarni-Manchado, V. Cheynier,** *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p.(ISBN 2-7430-0805-9) Biophenolic components of olives [archive]
- **P. M. Dewick,** « *The Biosynthesis of Shikimate Metabolites* », Natural Product Reports, vol. 12, 1995, p. 579-607 ([lire en ligne \[archive\]](#)).
- **Paul MONDOLY Jean-Louis PONCELET,** novembre 2005, intoxication végétale
- **Paul Victor Fournier,** *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. 1500 espèces, par le texte et par l'image d'après l'ensemble de nos connaissances actuelles*, Paul Lechevalier 3 vol., 1948, 636 p

### R

## Références bibliographiques

---

- **Reboul E.** Absorption of vitamin A and carotenoids by the enterocyte: focus on transport proteins. *Nutrients* 2013, 5(9):3563-81.
- **Reboul E.** Absorption intestinales des vitamines liposolubles. *OCL* 2011, 18(2): 53-58
- **Rose Marie Hamladji.** Précis de sémiologie 2005, p 331-332
- **Rhone –Alpes.** Fiche pratique infirmiere ; Les effets hematologique lie a la chimiothérapie ; p 3.BPA-FPI1501. Hemato. Version validée le 24/ 01/2015.
- **Rokia Sanogo,** Département Médecine Traditionnelle (DMT) B.P ETUDE DE LA TOXICITE SUB -CHRONIQUE DU DECOCTE D'ARGEMONE MEXICANA L.. 1746 Bamako, Mali
- **Rhiouani H, El-Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B.** Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *J Ethnopharmacol.* 2008;118(3):378-386.

## S

- **Stanley et al.,** « *Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease* », Alternative Medicine and Rehabilitation, 2003
- **Smith, 1996).** Smith mt. The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia. *Environ Health Perspect* 1996, 104: 1219-1225

## T

- Thèse de doctorat Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques Sabiha Achat , Sabiha Achat. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Autre. Université d'Avignon, 2013. Français. ffNNT : 2013AVIG0248ff.

## Références bibliographiques

---

fftel-00978529f , <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00978529> Submitted on 14 Apr 2014

- **Tugba Ozdal, David A. Sela, Jianbo Xiao, Dilek Boyacioglu, Fang Chen et Esra Capanoglu**, The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility , NCBI, février 2016
- TY - JOUR; Jodynis-Liebert, Jadwiga, Nowicki, Michal - Murias, Mare - Adamska, Teresa - Ewertowska, Małgorzata - Kujawska, Małgorzata - Piotrowska, Hanna - Konwerska, Aneta - Ostalska-Nowicka, Danuta - Pernak, Juliusz- Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate, in rats.

### U

- United Nations (2009). Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH). United Nations Publications. pp. 119 —. ISBN 978-92-1-216509-7.

### V

- **Véronique Habauzit et Christine Morand**, Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians [archive], NCBI, mars 2012

### W

- **WILLIAMSON G**, *Nutr Bull* 2017; polyohénols ; quell effet sur la santé42:226-235. doi: 10.1111/nbu.12278.



# Références bibliographiques

---

## Les sites webs :

- <https://www.doctissimo.fr/html/dossiers/phytotherapie/articles/16260-plante-medicinale.htm>
- [https://scholar.google.com/scholar?q=les+plantes+m%C3%A9dicinales&hl=fr&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholart](https://scholar.google.com/scholar?q=les+plantes+m%C3%A9dicinales&hl=fr&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholart)
- Page web : <https://www.analyticaltoxicology.com/toxicite-aigue>
- <https://www.analyticaltoxicology.com/objectifs-de-levaluation-de-la-toxicite-chronique/>
- <https://echa.europa.eu/fr/support/registration/how-to-avoid-unnecessary-testing-on-animals/in-vitro-methods>
- <https://maghrebemergent.info/oleiculture-lalgerie-pourra-exporter-20-milliards-de-dollars-de-lhuile-dolive-said-bakhtaoui/>
- <https://oliocie.com/connaissances/fabrication/>
- [https://fr.wikipedia.org/wiki/Extraction\\_de\\_l%27huile\\_d%27olive](https://fr.wikipedia.org/wiki/Extraction_de_l%27huile_d%27olive)
- <http://www.helleas.com/article/11-les-procedes-extraction-huile-d-olive>
- <https://www.google.com/search?sa=X&nfpr=1&q=sch%C3%A9ma+de+proc%C3%A9d%C3%A9+d%27extraction+d%27huile+olive&tbm=isch&source=univ&ved=2ahUKEWjmmObsvvTnAhUJ4YUKHRpEAXUQsAR6BAgJEA&biw=1024&bih=489#imgrc=T2yY9nFbdEvTiM&imgdii=jF267TsonEiQ0M>
- <https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fwww.olivie.ma%2Ffr%2Foil-health-info.html&psig=AOvVaw3tOUJs2wERe9BuAJq9RdOj&ust=1582988225718000&source=images&cd=vfe&ved=0CAMQjB1qFwoTCODZrfDA9OocCFQAAAAAdAAAABAD>
- [https://www.google.com/search?q=proc%C3%A9d%C3%A9+d%27extraction+d%27huile+olive+discontinué&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjw7f\\_w\\_TnA](https://www.google.com/search?q=proc%C3%A9d%C3%A9+d%27extraction+d%27huile+olive+discontinué&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjw7f_w_TnA)

## Références bibliographiques

---

[hWM4IUkHaXZCO4Q\\_AUoAXoECA0QAaw&biw=1024&bih=489#imgrc=E8izqy2ji24HrM](#)

- <http://www.fao.org/3/X6545F/X6545F02.htm>
- <https://www.google.com/search?q=composition+physique+de+grignon&oq=composition&aqs=chrome.69i59l3j69i57j69i59j69i60l2j69i65.4238j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
- [file:///C:/Users/T\\_Info/Desktop/TH3254.pdf](file:///C:/Users/T_Info/Desktop/TH3254.pdf)
- <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH3254.pdf>
- <https://dl.ummtto.dz/bitstream/handle/ummtto/2419/Saghi%2C%20%20Yacine.pdf?sequence=1>
- [https://www.memoireonline.com/07/08/1340/m\\_dosage-biochimique-composes-phenoliques-datte-miel-sud-algerie15.html](https://www.memoireonline.com/07/08/1340/m_dosage-biochimique-composes-phenoliques-datte-miel-sud-algerie15.html)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12224598>
- [https://www.hevs.ch/media/document/0/1\\_polyphenols\\_andlauerwilfried\\_v1.pdf](https://www.hevs.ch/media/document/0/1_polyphenols_andlauerwilfried_v1.pdf)
- <https://www.jardinsdefrance.org/biodisponibilite-des-phytomicronutriments-carotenoides-polyphenols-et-composes-soufres/>
- <https://doi.org/10.1080/12538078.1996.10515353>
- <https://www.who.int/ar/news-room/fact-sheets/detail/natural-toxins-in-food>
- [https://www.oliveoiltimes.com/fr/grades/olive-pomace-oil/6210\\_Huile\\_de\\_grignons\\_d'olive:\\_pas\\_ce\\_que\\_vous\\_pourriez\\_penser](https://www.oliveoiltimes.com/fr/grades/olive-pomace-oil/6210_Huile_de_grignons_d'olive:_pas_ce_que_vous_pourriez_penser)

## Références bibliographiques

---

- [https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt\\_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/toxic-toxique/toxic-toxique-fra.pdf](https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/toxic-toxique/toxic-toxique-fra.pdf) **CONSIDÉRATIONS RELATIVES À LA SANTÉ HUMAINE**
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?call=bv.View..ShowTOC&rid=rbcantigen.TOC&dept h=2>
- <http://naturemania.com/naturo/conseilsante/polyphenol.htm>
- <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2506214-nfs-leucocytes-globules-blancs-haut-bas-norme/>
- <https://www.britannica.com/science/blood-disease>
- <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/h%C3%A9matologie-et-oncologie/leucop%C3%A9nie/lymphop%C3%A9nie>
- [https://fr.iliveok.com/health/les-causes-de-laugmentation-et-la-diminution-des-monocytes\\_84639i15969.html](https://fr.iliveok.com/health/les-causes-de-laugmentation-et-la-diminution-des-monocytes_84639i15969.html)