

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

L'évaluation de l'activité cicatrisante et antibactérienne de l'extrait acétonique de *Blackstonia perfoliata*

Présenté par : Sahnoun sabrina

Rahmani feriel

Soutenu le : 05 juin 2016

Devant le jury composé de:

Président :	Dr. ZAOUANI. M (MAA)	ENSV Alger
Promotrice :	Pr. BEN-MAHDI M.H. (Pr)	ENSV-EPSNV Alger
Examinatrice 1 :	Dr. YAHIAOUI. F (MAA)	ENSV Alger
Examineur 2 :	BENMOHAND. C (MAA)	ENSV Alger

Remerciements

Notre reconnaissance et nos sincères remerciements sont adressés à madame *BENMEHDI Meriem Hind, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger*, pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant d'encadrer ce travail, pour ses conseils avisés, sa patience et sa bonté.

A docteur Yahiaoui.F , pour son aide et sa disponibilité tout au long de ce parcours,

A Monsieur le docteur Zaouani de l'école Nationale Supérieure Vétérinaire pour avoir bien voulu accepter la présidence du jury,

Nos vifs remerciements aux membres du jury.

Dédicaces

A mes chers parents,

Sources de mes joies, secret de ma force, vous serez toujours le modèle,

Papa, dans ta détermination, ta force et ton honnêteté, je t'aime papa merci pour tout

Maman, dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous tes enfants, t la plus douce et patiente mère que j'ai vue

Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants grandissent et prospèrent, merci d'être tout simplement mes parents, c'est à vous que je dois cette réussite et je suis fière de vous l'offrir.

A mes frères et sœurs,

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous remercie de m'avoir toujours soutenu et encouragé

SALIM tu es mon frère, mon ami et je suis très chanceuse de t'avoir dans ma vie

MEHDI mon petit frère adoré, que dieu te protège et tu réussiras comme ton frère et tes sœurs,

LAMIA ma chérie, ma douce, je t'aime très fort, **NADIA et NAWEL**, je ne peux pas vivre sans vous.

A ma défunte grande mère RYM toi qui as toujours était d'un grand réconfort je te dédie ce travail

A toi oncle **SAMIR**, tata **AMEL** ainsi que **SOUAD**

Mes amis d'enfance que je ne peux oublier **SARAH, LAMIA et KHADIDJA**.

A mes deux amoureuses **YOUSRA et WARDA** vous êtes mes copines pour la vie,

A mes amis proches, vous êtes à présent ma deuxième famille, **HASNA** tu représentes pour moi beaucoup de chose, a toi **MASSI** je me demande ce que j'étais sans toi c'est l'occasion pour te dire merci, **FERIEL** ma binôme chérie, on a partagé tellement de bon moments tu vas me manquer, **SARAH** je ne t'ai pas oublié, je t'adore, je ne t'oublierai jamais, **ISLAM** je te souhaite tout le bonheur du monde je t'adore, a **MANAR** ravie de faire ta connaissance.

A tout ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, je vous remercie : **ANTARA, ONCLE MENOUEUR, FATEN, ABDOU, NARIMENE, MOUNA, HIND, IMENE , AHCENE... ;**

A toute la famille SAHNOUN et ANNAD.

_ Sabrina _

Dédicaces

A mes chers parents,

A toi maman, qui a œuvré pour ma réussite, de par ton amour, ton soutien, tes précieux conseils, pour toute ton assistance et ta présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A toi papa, tu m'as toujours soutenu, encouragé et rassuré dans les moments difficiles. Tu as toujours été mon modèle de volonté, de courage et de réussite. Aucun mot ne saurait t'exprimer ma vive gratitude et ma reconnaissance infinie. *Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur, longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

A mon défunt oncle Sofiane,

Tu nous as quitté beaucoup trop tôt, j'aurais tant aimé que tu sois présent à mes côtés...j'avais encore tellement besoin de toi...Ce travail t'est dédié.

A ma grand-mère,

Tes prières et tes bénédictions m'ont été d'un grand réconfort pour mener à bien mes études. *Que Dieu te prête une longue vie.*

A mes chers frères et sœurs,

Hocine, Samy et Camélia, votre affection et gentillesse m'ont accompagné tout le long de ce parcours, que Dieu éclaire votre route et vous aide à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A Kader, tu m'as assisté dans les moments difficiles et stressants, tu m'as pris doucement la main pour traverser ensemble ces épreuves, merci pour ton soutien et ta patience.

A ma tendre Mélissa, ma petite sœur, mon rayon de soleil, tu illuminais mes journées les plus pénibles, tu me redonnais le sourire. Je te souhaite beaucoup de réussite dans tes études.

A ma chère tante Naima ainsi qu'à mes oncles Mahrez, Momo et Fouad pour votre soutien permanent.

A mes amis de l'ENSV , tout particulièrement a Sabrina , ma binôme adorée, a Massi, notre source d'inspiration, à ma tendre Hasna, qui m'ont toujours épaulé et encouragé, merci.

Au Professeur Bacha D, ainsi qu'au maitre-assistant docteur Kacimi, pathologiste au service d'anatomie pathologique de l'hôpital militaire de Ain Naadja , merci pour votre aide et disponibilité qui ont été des éléments clés de la réalisation de ce travail.

Feriel

	INTRODUCTION.....	1
I	Chapitre I Plantes médicinales.....	3
I.1	Historique.....	3
I.2	Domaine d'application des plantes médicinales.....	4
I.2.1	En médecine.....	4
I.2.2	En agriculture.....	4
I.2.3	Dans l'agroalimentaire.....	4
I.2.4	En cosmétique.....	4
I.3	Aspect phytochimique.....	5
I.3.1	Les phénols.....	5
I.3.2	Les tanins.....	5
I.3.3	Les anthocyanes.....	5
I.3.4	Les coumarines.....	6
I.3.5	Les anthraquinones.....	6
I.3.6	Les glucosides cardiaques.....	6
I.3.7	Les glucosides cyanogéniques.....	6
I.3.8	Les polysaccharides.....	7
I.3.9	Les glucosinolates.....	7
I.3.10	Substances amères.....	7
I.3.11	Les alcaloïdes.....	7
I.3.12	Les vitamines.....	7
I.3.13	Les minéraux.....	8
I.3.14	Les terpenes.....	8
I.3.15	Les saponosises.....	8
I.4	Les différentes formes d'utilisation des plantes médicinales.....	8
I.5	Les méthodes d'extraction des plantes	10
I.5.1	Distillation	10
I.5.1.1	Hydrodistillation.....	10
I.5.1.2	Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	11

I.5.1.3	Hydrodiffusion.....	11
I.5.2	Extraction à froid.....	11
I.5.3	Extraction assistée par micro-ondes.....	12
I.5.4	Extraction par les solvants et les graisses.....	12
I.5.5	Extraction par fluides supercritique.....	12
I.6	Etude de l'activité microbologique des substances d'origine végétale.....	13
I.6.1	Techniques d'étude de l'activité antimicrobienne.....	13
I.6.1.1	Aromatogramme.....	13
I.6.1.2	Micro atmosphère.....	13
I.6.1.3	Méthodes du puit ou cylindre	14
I.6.1.4	Méthode de dilution.....	14
I.6.15	Technique par contact direct.....	15
	CHAPITRE II <i>Blackstonia perfoliata</i>	16
II.1	Introduction.....	16
II.2	Taxonomie.....	17
II.3	Habitat et répartition géographique.....	17
II.4	Aspect botanique.....	18
II.4.1	Description.....	18
II.4.2	Organes reproducteurs.....	18
II.4.3	Graine.....	19
II.4.4	Parties utilisées.....	19
II.5	Composition chimique.....	19
II.6	Usages et particularités.....	20
II.6.1	Usage médicinale.....	20
II.6.2	Utilisation en lutte biologique.....	20
II.6.3	Autres usages.....	20
II.7	Nuisance et toxicité.....	20
	CHAPITRE III La cicatrisation.....	21
III.1	Histologie de la peau.....	21
III.1.1	L'épiderme.....	21
III.1.2	Le derme.....	22
III.1.2.1	La couche papillaire : le derme superficiel.....	22

III.1.2.2	La couche réticulaire : le derme profond.....	22
III.1.3	L'hypoderme.....	22
III.1.4	Les annexes cutanées.....	22
III.1.5	La vascularisation cutanée.....	22
III.2	Différentes phases de la cicatrisation.....	23
III.2.1	Stade de l'inflammation.....	23
III.2.2	Le débridement.....	23
III.2.3	La réparation tissulaire.....	24
III.2.4	Les phénomènes annexes.....	25
III.2.4.1	La réparation épithéliale.....	25
III.2.4.2	Restauration de l'innervation.....	26
III.2.4.3	La maturation de la cicatrice	26
III.3	Modes de cicatrisation des plaies.....	26
III.3.1	La cicatrisation par première intention.....	27
III.3.2	La cicatrisation par seconde intention.....	27
III.3.3	La cicatrisation par troisième intention.....	27
III.3.4	La cicatrisation par régénération.....	27
III.4	Facteurs influençant la cicatrisation.....	28
III.4.1	Facteurs endogènes influençant la cicatrisation.....	28
III.4.2	Facteurs exogènes influençant la cicatrisation.....	28
	PARTIE EXPERIMENTALE.....	31
I	Objectif.....	31
II	Matériels et méthodes.....	31
II.1	Etude phytochimique.....	31
II.1.1	Matériel végétal.....	31
II.1.2	Extraction et préparation des extraits.....	31
II.1.2.1	Protocole d'extraction.....	31
II.1.2.2	Matériels.....	33
II.2	Evaluation de l'activité cicatrisante.....	34
II.2.1	Matériels et méthodes.....	34
II.2.1.1	Animaux.....	34
II.2.1.2	Matériels.....	34

II.2.1.3	Préparation des crèmes à tester.....	35
II.2.1.4	Protocole expérimental.....	35
II.2.1.5	Lecture des résultats.....	35
II.3	Evaluation de l'activité anti-microbienne de <i>Blackstonia perfoliata</i>	36
II.3.1	Matériels et méthodes	37
II.3.1.1	Souches bactériennes utilisés.....	37
II.3.1.2	Matériels.....	37
II.3.2	Évaluation de l'activité antibactérienne sur milieu liquide.....	37
II.3.2.1	Protocole expérimentale.....	
III	Résultats.....	40
III.1	Résultats de l'extraction.....	40
III.1.1	Le rendement.....	40
III.2	Résultats de l'activité cicatrisante.....	40
III.2.1	Résultats obtenue par l'utilisation du logiciel AutoCAD.....	40
III.2.2	Résultats de l'étude anatomopathologique.....	43
III.3	Résultats de l'activité antimicrobienne.....	45
	Discussion.....	47
IV		
IV.1	Introduction.....	47
IV.2	Discussion des résultats du rendement obtenue.....	47
IV.3	Discussion des résultats de l'activité antimicrobienne.....	48
IV.4	Discussion des résultats de l'activité cicatrisante.....	49
	CONCLUSION.....	50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Matériel et réactifs utilisés lors de l'extraction	3
Tableau 2: Matériel et réactifs utilisés lors du test de l'activité cicatrisante de <i>Blackstonia perfoliata</i> .	3
Tableau 3 : références des souches traité in vitro	3
Tableau 4: Matériel et réactifs utilisés lors du test de l'activité antimicrobienne	3
Tableau 5 Tableau 5 : Compositions des tubes témoins positif, négatif et de <i>Blackstonia perfoliata</i>	3
Tableau 6 : Résultats de la moyenne et du diamètre de rétraction des surfaces des plaies des trois lots	4
Tableau 7: Évolution Macroscopique des surfaces des plaies	4
Tableau 8: Résultats d'anatomopathologie des lames <i>Blackstonia perfoliata</i>	4

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Représentation du dispositif d'hydrodistillation.	10
Figure 2: Représentation du principe de la technique de l'entraînement à vapeur.	11
Figure3 : Illustration de la méthode d'aromatogramme.	13
Figure 4: Illustration de la méthode de micro atmosphère.	14
Figure 5: Schéma représentant la technique de contact direct	15
Figure 6: fleurs <i>Blackstonia perfoliata</i> .	16
Figure 7 : Répartition géographique de l'habitat de <i>Blackstonia perfoliata</i>	17
Figure 8: Description des centaurées jaunes.	18
Figure 9 : Etapes de la floraison des chlorettes.	19
Figure 10 : Représentation schématique d'une coupe de la peau...	21
Figure11 : les étapes suivies lors de l'extraction et la préparation des extraits	32
Figure 12 : Préparation des animaux	35
Figure 13 : Fin de l'incision des rats	36
Figure 14: Photo représentant les différents tubesensemencés par les souches bactériennes	39
Figure 15: Évolution de la moyenne des diamètres de rétractions des plaies d'essaies et de leurs témoins en fonctions des jours	41
Figure 16: Figure 16 : Évolution des surfaces moyennes des plaies essaies et leurs témoins en fonction des jours.	42
Figure 17 : Résultats de l'activité antimicrobienne sur milieu liquide	45
Figure 18: Résultats de l'ensemencement de 3 souches bactériennes sur milieu solide obtenus à partir du milieu liquide qui contenait de l'extrait de <i>Blackstonia perfoliata</i>	46

LISTE DES ABREVIATION

% : pour cent

(+) : positif

(-) : Négatif

μl : Micro litre

A.Gle : anesthésie générale

ATCC : American Type Cultur Collection

°C : Celsius

Cm : centimètre

Cm² : centimètre carré

ENSV : Ecole National Supérieure Vétérinaire

h : heure

HE : hématoxyline et éosine

j : jour

M : mètre

MF : Mac Farland

mg/ml : milligramme sur millilitre

ml : millilitre

mm : millimètre

mm² : millimètre carré

MS : Matière Sèche

N.D : nom déposé

OH : groupement hydroxyle

SPA : santé et productions animales

UFC : Unité Formant Colonie

INTRODUCTION

Différentes espèces végétales sont connues depuis longtemps pour leurs nombreuses vertus thérapeutiques, en effet très tôt au cours de l'évolution, les hommes utilisèrent les ressources présentes dans leur environnement naturel pour se soigner et soigner leurs animaux (*Gbenou & al, 2011*).

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques.

Ces propriétés, dues à la présence de métabolites secondaires, peuvent être mises à profit pour traiter les affections cutanées, en effet cet usage en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables (*Agoumi et al, 2007*).

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. Leurs propriétés, dues notamment à leurs extraits naturels, peuvent être mis à profit pour traiter les infections bactériologiques ainsi que les affections cutanées. A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille des Gentianaceae qui a été peu étudiée à ce jour.

La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce *Blackstonia perfoliata* provenant de la région de BEJAIA en moi de mai.

L'objectif de ce travail a été par conséquent de mettre en évidence l'activité cicatrisante et antimicrobienne de l'extrait acétonique de *Blackstonia perfoliata*.

Notre étude comprendra une partie bibliographique organisée en trois chapitres, le premier est consacré à l'aspect phytochimique ainsi que l'activité antimicrobienne des substances d'origine végétale, le second chapitre concerne la présentation botanique la plante, ses compositions ainsi que ses utilisations, et enfin le dernier chapitre traitera du processus de cicatrisation.

La seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui étudiera le rendement de l'extraction de *Blackstonia perfoliata* ainsi que son activité antibactérienne et cicatrisante. Les matériels utilisés et les méthodes adoptées lors de cette étude expérimentale y seront détaillés et les résultats obtenus présentés et discutés.

A.PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

PLANTES MEDICINALES & PHYTOTHERAPIE

I.1. Historique

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remède pour les maux des hommes et des animaux. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme thérapeutique alternative et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a permis l'essor de l'étude des activités antimicrobiennes des plantes médicinales et de leurs nombreuses autres propriétés biologiques (*Nostro et al., 2000*).

Depuis toujours, les plantes ont constitué la source majeure de médicaments de part leur richesse en métabolites secondaires. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans av. J.C). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations récoltées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement guérit le malade (*Fouché et al, 2000*).

Dans les civilisations chinoises, indiennes (Médecine ayurvédique) ou aztèques, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes; le premier livre de matière médicale, le Shen Nung Ben Cao jing « Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung», fut rédigé vers 2900 – 4000 av J.C, les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner : 600 tablettes d'argiles mentionnant 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens (*Fouché et al., 2000*).

Les grands médecins Grecs dont Hippocrate (5 siècle av. J-C), utilisaient déjà couramment des narcotiques, des laxatifs ou des émétiques d'origine végétale (*Fouché et al. 2000*).

Ibn Sina ou Avicenne (980-1037), écrivit le « le canon de la médecine ». Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et de Montpellier jusqu'aux environs de 1650. Ibn al Baytar (1197-1248) a rédigé « le très complet sommes des simples »; ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales, dont un millier était déjà connu des Grecs.

I.2. Domaines d'application des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mises à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Dans leur composition, sont retrouvés dans une grande proportion, les métabolites secondaires doués fréquemment de propriétés thérapeutiques. La pharmacie moderne utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et des molécules actives nouvelles ou des matières premières sont sans cesse découvertes (*Bahorun, 1997*).

I.2.1. Médecine

Grace à leurs vertus antispasmodique, immunostimulante et anti inflammatoire, on retrouve les plantes médicinales dans divers champs d'application notamment dans les spécialités cardiovasculaires, dermatologiques, urologiques, digestives, neurologiques, endocriniennes et respiratoires. Les produits naturels des plantes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques, exemple : La quinine obtenue à partir du quinquina «Cinchona » qui a été employée avec succès pour traiter le Malaria.

I.2.2. Agriculture

Certaines huiles sont utilisées pour contrôler divers insectes et nématodes telle que celle de l'arbre *Azadinachta indica*, utilisée au Bengladesh.

I.2.3. Agroalimentaire

Certaines plantes sont utilisées dans les assaisonnements des boissons, comme colorants et composées aromatiques. Les épices et les herbes aromatiques utilisés dans l'alimentation, sont pour une bonne part, responsables des plaisirs de la table et sont considérés comme condiments et aromates (*Delaveau, 1987*).

I.2.4. Cosmétique

De nombreux produits de beauté, parfums, articles de toilettes et produits d'hygiène sont fabriqués à base de plantes.

I.3. Aspect phyto-chimiques

Selon Bruneton (1999), la plante est dite «médicinale», lorsqu'au moins une partie d'entre elle possède des propriétés médicamenteuses. Les substances actives, des plantes sont de deux types :

- Les produits du métabolisme primaire qui sont des substances indispensables à la vie de la plante et qui se forment grâce à la photosynthèse.
- Les produits du métabolisme secondaire, générés par les processus résultant essentiellement de l'assimilation de l'azote tels que les flavonoïdes, les saponines.....etc.

I.3.1. Phénols

Les composés phénoliques comprennent des composés simples comme l'acide salicylique et des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages; les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. La gaulthérie (*Gaultheria procumbens*) et le saule blanc (*Salix alba*) contiennent des acides glucosides phénoliques qui donnent, par distillation, des dérivés de salicylique et de salicylate de méthyle.

I.3.2. Tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé; ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour «tanner» les peaux. Les tanins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections; les plantes riches en tannins sont utilisées pour rendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour traiter les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (*Bruneton, 1999*).

I.3.3. Anthocyanes

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leur teinte bleue, rouge ou pourpre.

Partie bibliographique

Ces puissants antioxydants épurent l'organisme des radicaux libres et maintiennent une bonne circulation.

I.3.4 Coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses ; les coumarines du mélilot (*Melilotus officinalis*) et du marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le céleri (*Apium graveolens*), soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella (*Ammi visnaga*) est un puissant vasodilatateur coronarien.

I.3.5 Anthraquinones

Ce sont les principaux constituants de plantes comme le séné (*Cassia senna*) et la rhubarbe de Chine (*Rheum palmatum*), qui, toutes deux, agissent sur la constipation. Elles ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin, provoquent des contractions des parois intestinales et stimulent les évacuations environ dix heures après la prise. Elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (*Bruneton, 1999*).

I.3.6 Glucosides cardiaques

Présents dans de nombreuses plantes médicinales, telles que les digitales laineuses et pourprés (*Digitalis lanata* et *D. purpurea*, cultivées en Europe) et le muguet (*Convallaria majalis*), les glucosides cardiaques comme la digitoxine, la digoxine et la convallotoxine ont une action directe et puissante sur le cœur. Ces glucosides sont également diurétiques.

I.3.7 Glucosides cyanogéniques

Prises à petites doses, les glucosides cyanogéniques, exercent un effet sédatif et relaxant sur le cœur et les muscles. L'écorce du cerisier sauvage (*Prunus serotina*) et les feuilles du sureau noir (*Sambucus nigra*), qui en contiennent toutes deux, permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes. De nombreux noyaux de fruits contiennent de fortes quantités de glucosides cyanogéniques, comme par exemple ceux de l'abricotier (*Prunus armeniaca*).

I.3.8 Polysaccharides

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble retrouvées dans toutes les plantes. D'un point phytothérapeutique, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages

Partie bibliographique

«visqueux» et les graines. Le mucilage et la gomme absorbent de grandes quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés. Certains polysaccharides, comme les glucomananes et les pectines, sont utilisés en cosmétologie.

I.3.9 Glucosinolates

Présents uniquement dans les espèces de la famille des crucifères, les glucosinolates provoquent un effet irritant sur la peau, causant des inflammations et des ampoules. Appliqués comme cataplasme sur les articulations douloureuses, ils augmentent le flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines.

I.3.10 Substances amères

Les substances amères forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût ; cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion.

I.3.11 Alcaloïdes

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'azote (-N-) qui les rend pharmacologiquement très actifs. Certains ont donné naissance à des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées. C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (*Vinca rosea syn. Catharanthus roseus*) employée pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone (*Atropa belladonna*), ont une action directe sur le corps : activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (*Bruneton, 1999*).

I.3.12 Vitamines

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines ; le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte (*Daucus carota*) est riche en β -carotène (provitamine A). Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*), par exemple, contient des doses élevées de vitamine B1, B2, C, E et de β -carotène tandis que l'argousier (*Hippophae rhamnoides*) peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral.

Partie bibliographique

I.3.13 Minéraux

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux ; les plantes, notamment celles issues de l'agriculture biologique, tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme. Dans de nombreux cas, les minéraux contenus dans une plante, que celle-ci soit utilisée sous forme de salade, comme le chou vert (*Brassica oleracea*), ou sous forme de compléments nutritionnels, comme le fucus (*Fucus vesiculosus*), participent activement à son activité thérapeutique dans l'organisme. Le puissant effet diurétique du pissenlit (*Taraxacum officinale*) est dû à sa concentration en potassium alors que la forte teneur en silice du prêlé (*Equisetum arvense*), est efficace contre l'arthrite, contribuant à réparer le tissu conjonctif.

I.3.14. Terpènes

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbure, produit par de nombreuses plantes (en particulier les conifères). Les terpènes ont des propriétés odoriférantes chez les végétaux (géranium par exemple).

I.3.15. Saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquent chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives : ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes.

I.4.3 Différents modes de préparation

- **Les tisanes**

Les tisanes ont de nombreuses propriétés thérapeutiques et apportent bien être et santé. Elles sont obtenues par macération, décoction ou infusion de matériel végétal (fleurs fraîches ou séchées, feuilles, tiges, racine), dans de l'eau chaude ou froide.

- **Les pommades**

La pommade est une préparation semi-solide destinée à être appliquée le plus souvent sur la peau (voie cutanée et transcutanée), les muqueuses, les phanères, les yeux (voie ophtalmique), le nez

Partie bibliographique

(voie nasale), les oreilles (voie auriculaire) et l'anus (voie rectale). Leur but est la libération locale ou transdermique de principes actifs, ou action émolliente ou protectrice.

- **Décoction**

La décoction consiste à faire bouillir les plantes dans l'eau de 5 à 20 min (*Paul Schauenburg, 1977*).

- **Infusion**

L'infusion s'obtient en versant de l'eau bouillantes sur les plantes séchées ou fraîches, dans un récipient dont le couvercle est bien fermé afin d'éviter toute perte d'essence volatile ; Le mélange est infusé 5 à 10 min, puis filtré (*Schauenburg, 1977*).

- **Macération, extrait et teinture**

La macération se réalise par immersion des plantes dans un solvant froid (eau, huile,...) pendant environ 10 heures. Les extraits obtenus sont des macérations aqueuses ou alcooliques concentrées par évaporation pour obtenir des extraits fluides, épais ou solide (*Belwed, 2005*).

La teinture quant à elle s'obtient par immersion prolongée d'une plante fraîche ou séchée dans l'alcool dilué, le mélange est laissé à macérer dans un vase bien fermé, pendant 2 à 6 jours selon le cas puis pressé et le liquide résultant filtré (*Schauenburg, 1977*).

- **Cataplasme**

Les cataplasmes sont des préparations de plantes appliquées sur la peau ; la plante est chauffée pendant 2 min puis pressée pour en extraire les liquides. Elle est ensuite appliquée chaude sur la zone atteinte puis recouverte par un bandage (*Iserin et al, 1996*).

- **poudre**

Les plantes séchées à l'ombre sont finement coupées puis pulvérisées dans un mortier la poudre est soit administrée directement sur la peau ou la langue soit mélangée à l'aliment. (*Schauenburg, 1977*)

I.5. Méthodes d'extraction des plantes

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés, le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées.

I.5.1. Distillation

Selon Piochon (2008), il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

I.5.1.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolysât par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolysât (*figure: 1*). Cependant, l'hydrodistillation possède ses limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (*Lucchisi, 2005*).

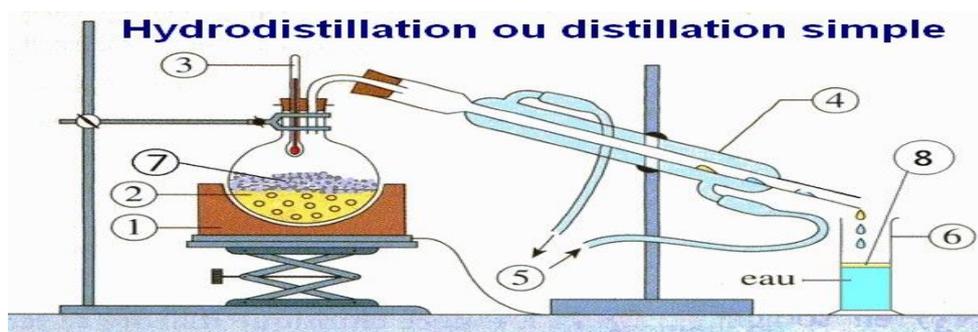


Figure 1: Représentation du dispositif d'hydrodistillation (Lucchisi, 2005)

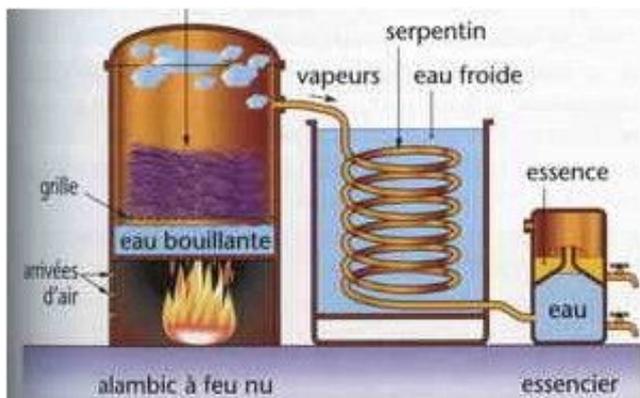
1. Chauffe ballon ; 2. Ballon ; 3. Thermomètre ; 4. Réfrigérant ; 5. Entrée et sortie d'eau ; 6. Erlenmeyer ; 7. Matière à extraire l'essence ; 8. Couche d'huile essentielle

I.5.1.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé

Partie bibliographique

sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau (*figure 2*). La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques.



(Lucchesi, 2005)

Figure 2: Représentation du principe de la technique de l'entraînement à vapeur

I.5.1.3. Hydrodiffusion

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide, donc moins dommageable pour les composés volatils.

I.5.2 Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (*Roux, 2008*).

I.5.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation,

Partie bibliographique

refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (*Hemwimon et al, 2007*).

I.5.4. Extraction par les solvants et les graisses

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole etc.), mais aussi de graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par les corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu », et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose des problèmes de toxicité et de présence de solvants résiduels (*Hernandez-Ochoa, 2005*).

I.5.5. Extraction par fluides supercritiques

L'extraction par fluides supercritiques a connu ces dernières années, un grand essor concernant l'extraction des extraits végétaux. Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction. En outre, tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou l'isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est réduit. Toutefois, cette technique d'extraction présente un inconvénient : la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui est le solvant d'extraction le plus employé.

I.6. Etude de l'activité microbiologique des substances d'origine végétale

Les infections microbiennes restent des affections graves et leur fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison principalement du nombre accru de patients immunodéprimés et d'interventions médicochirurgicales invasives. D'un autre côté, l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans les élevages animaux conduit à la sélection de souches microbiennes résistantes. Ainsi, les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme une source potentielle de molécules

Partie bibliographique

naturelles bioactives. Différentes espèces végétales sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens, en effet les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur.

I.6.1. Techniques d'étude de l'activité antimicrobienne

Les méthodes d'évaluation les plus courantes de l'activité antimicrobienne, sont présentées ci-dessous :

I.6.1.1 Aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode qui se réalise *in vitro*, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée des extraits de plante (Belaiche, 1979).

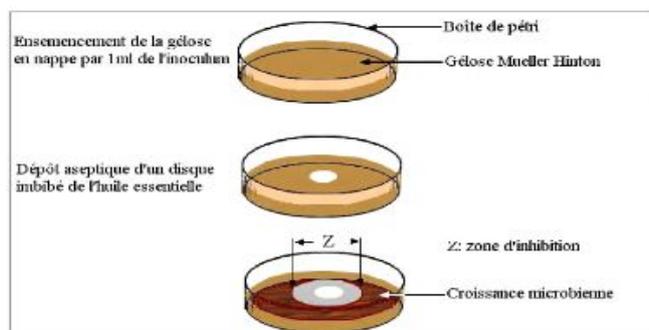


Figure3 : Illustration de la méthode d'aromatogramme (Zaiki, 1988).

I.6.1.2 Micro-atmosphère

Cette méthode dérive de la précédente, la différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, les disques imprégnés sont déposés au centre du couvercle de la boîte de pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Il se produit une évaporation des substances volatiles dans la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées. La lecture du test porte donc sur la croissance ou non de l'inoculum (Hulin et al 1998).

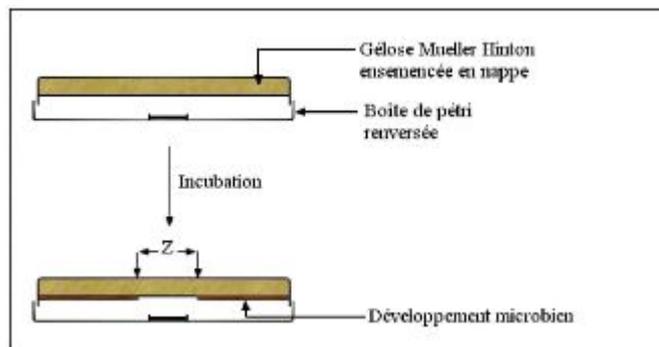


Figure 4: Illustration de la méthode de micro-atmosphère (Bousbia, 2004).

6.1.3. Méthode du puits ou cylindre

Proposé par Cooper et Woodman en 1946, reprise par Shroder et Messing (1949), elle mesure une diffusion radiale de l'huile essentielle à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'huile essentielle de concentration connue. L'huile essentielle diffusant radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne ou fongique (Bousbia, 2004).

1.6.1.4 Méthode de dilution

Les extraits à tester peuvent également être directement mélangés en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide sans oublier que les techniques de dilutions exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation on note la présence ou l'absence de croissance bactérienne; la lecture peut être visuelle ou spectro-photométrique (Ferhat, 2004).

1.6.1.5 Technique par contact direct

La technique par contact direct consiste à mettre en présence l'huile essentielle, et les microorganismes, puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé ou liquide (Bousbia, 2004).

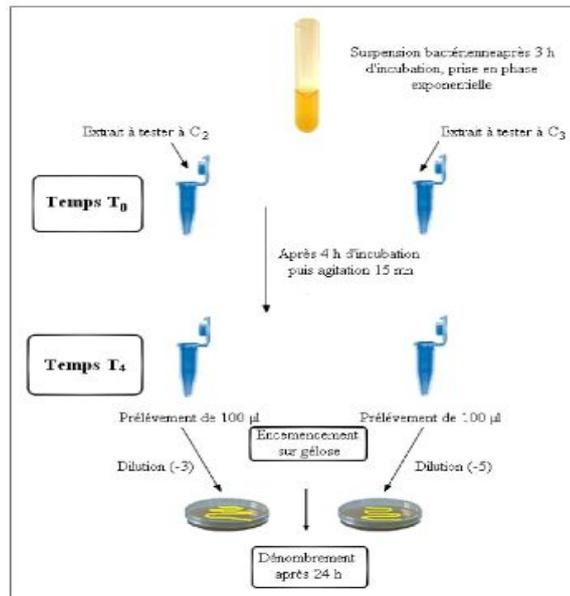


Figure 5: Schéma représentant la technique de contact direct (Mezaour, 2006).

CHAPITRE II

Blackstonia perfoliata

II.1 Introduction

Blackstonie perfoliée ou centaurée jaune est une plante commune, qui passe cependant inaperçue, peut-être à cause de sa date de floraison, en pleine chaleur dans des lieux chauds de basse altitude (moins de 500 mètres le plus souvent). Le nom français officiel de chlorette est discutable car elle est plus connue sous le nom de centaurée jaune ou petite gentiane jaune.



Figure 6: fleurs *Blackstonia perfoliata* (Pignatti et al, 1982)

Le nom *Blachstonia Perfoliata* viendrait de Blackstonia: en l'honneur de John Blackstone, botaniste anglais du XVIII^e siècle. Perfoliata fait littéralement référence à « feuille perforée ». Les feuilles opposées étant totalement soudées par leur base, la tige florale donne l'impression de les perforer (prieur-saint-remy.fr).

Autre(s) nom(s) : Blackstonie perfoliée, Centaurée jaune, Chlore perfoliée, Chlorette.

Partie bibliographique

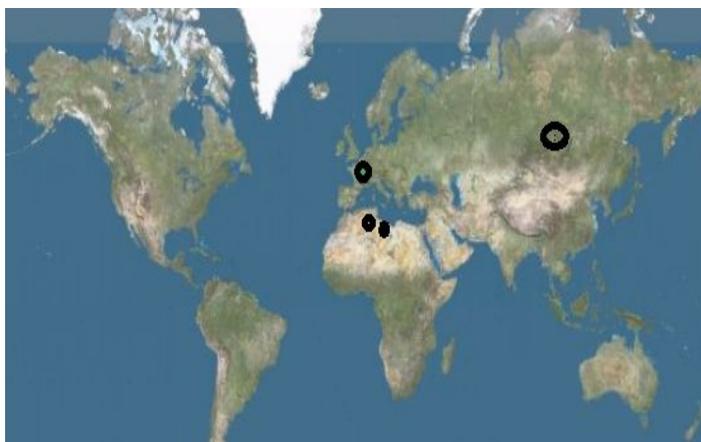
II.2 Taxonomie

<i>Embranchement</i>	<i>Spermatophyta</i>	
<i>Classe</i>	<i>Dicotylédones</i>	
<i>Ordre</i>	<i>Gentianales</i>	
<i>Famille</i>	<i>Gentianaceae</i>	
<i>Genre</i>	<i>Blackstonia</i>	
<i>Espèce</i>	<i>Blackstonia perfoliata</i>	(Julve. 1998).

II.3 Habitat et Répartition géographique

Est retrouvée en Europe occidentale et méridionale ; en Asie occidentale ; en Algérie et en Tunisie.

Habitat type : tondreuses hygrophiles de niveau topographique moyen, marnicoles basophiles. C'est une espèce qui aime bien la lumière. On peut la retrouver dans les dépressions dunaires. L'espèce apprécie les pelouses ou coteaux marneux ou marno-calcaires



(www.fleurdusud.fr).

Figure 7 : Répartition géographique de l'habitat de *Blackstonia perfoliata* .

Partie bibliographique

II.4 Aspect Botanique

II.4.1 Description

La hauteur de cette plante annuelle varie de 20 à 60 cm. La tige est droite et devient rameuse au sommet. Les feuilles de la base sont disposées en rosette. Elles sont de forme obovale. Les feuilles supérieures sont opposées et de forme ovale à triangulaire. Elles comportent un mucron. L'inflorescence est en corymbe. Les fleurs sont de couleur jaune vif. Le pédoncule est plutôt long (3 à 4 cm). Le calice comporte de fines lanières avec une nervure centrée ne dépassant pas la corolle constituée d'au moins 8 lobes oblongs. Le fruit se compose d'une capsule ovoïde (www.floraphile45.fr).

Les feuilles caulinaires soudées à la base sur toute leur largeur la différencient des autres espèces sauf de sa sous-espèce grandiflora, La corolle de 15 mm et 8 pétales la différencient de sa sous-espèce grandiflora (30 mm et 10 pétales) (www.fleurdusud.fr).

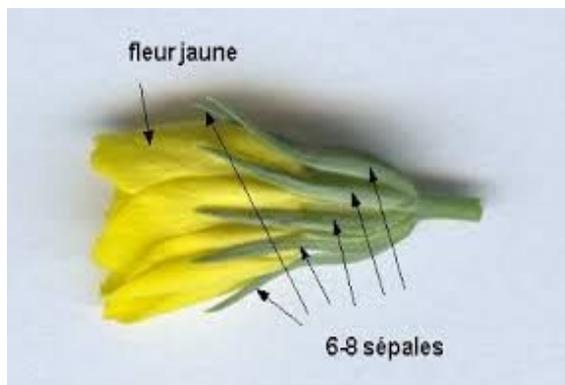


Figure 8: Description des centaurées jaunes (Pignatti et al,1982)

II.4.2 Organes reproducteurs

- Type d'inflorescence : [cyme bipare](#)
- Répartition des sexes : [hermaphrodite](#)
- Type de pollinisation : [autogame](#)
- Période de floraison : mai à septembre

II.4.3 Graine

- Type de fruit : [capsule](#)
- Mode de dissémination : [barochore](#)



Feuilles connées



Début de floraison



Fin de floraison

Figure 9 : Etapes de la floraison des chlorettes (*Julve. 1998*).

II.4.4 Parties utilisées

Les parties aériennes de la plante, feuilles et tiges séchées sont utilisées réduites en poudre.

II.5 Composition chimique

Blackstonia perfoliata est une plante très peu connue qui n'a pas encore fait l'objet d'études, par conséquent sa composition chimique est encore incomplètement déterminée.

Partie bibliographique

Blakstonia perfoliata peut contenir jusqu'à 3% de gentiopicroside amer, qui est un principe actif présent dans *Centaurea herba* et aussi dans *Radix Gentianae (remedia amara)*. Par conséquent, il est un remède amer précieux plus facilement accessible que les racines du genre *Gentiana*, qui ne sont utilisables à des usages thérapeutiques que seulement après plusieurs années de végétation.

Un glucoside secoiridoïdes biologiquement actif : gentiopicroside (gentiopicrin), a été isolé à partir de plantes entières de *B. perfoliata*. Le produit de la décomposition de gentiopicroside et swertiamarin, appelé gentiogenal ou gentiopicral, a également été retrouvé.

Dans les Blackstonies perfoliées (*B. perfoliata*), on trouve aussi les flavonoïdes. De la même façon, des nouvelles structures parmi les xanthones sont trouvées dans la famille des Gentianacées avec des activités biologique notamment anti-amibienne, hypoglycémique, inhibitrice de monoamine(s) oxydase(s) et anti-inflammatoire.

II.6 Usages et Particularités

II.6.1 Usages médicinales

La centaurée jaune est à la fois : amer, fébrifuge, vulnéraire, présente un effet bénéfique sur la fonction hépatique et la goutte. En usage externe, elle permet la déterision et la cicatrisation des ulcères provoqués par la vermine, la teigne et la gale.

II.6.2. Utilisation en lutte biologique

Selon Villemet (2011), elle aurait un effet contre la vermine la teigne et la gale.

II.6.3 Autres usages

Elle est utilisée également comme plante ornementale. Employée pour teindre la laine en jaune ou en brun. On en extrait aussi une eau distillé, une conserve, un sel fixe (Villemet, 2011).

II.7 Nuisance et Toxicité

Pas de toxicité connue (www.yourprojectinfo.fr).

Chapitre III

La cicatrisation

III.1 Histologie de la peau

Pour comprendre les différentes phases de la cicatrisation il est nécessaire de connaître les structures histologiques du tissu cutané. Nous traiterons successivement l'épiderme le derme et l'hypoderme (Figure 10) (*Buoras et al, 1987*).

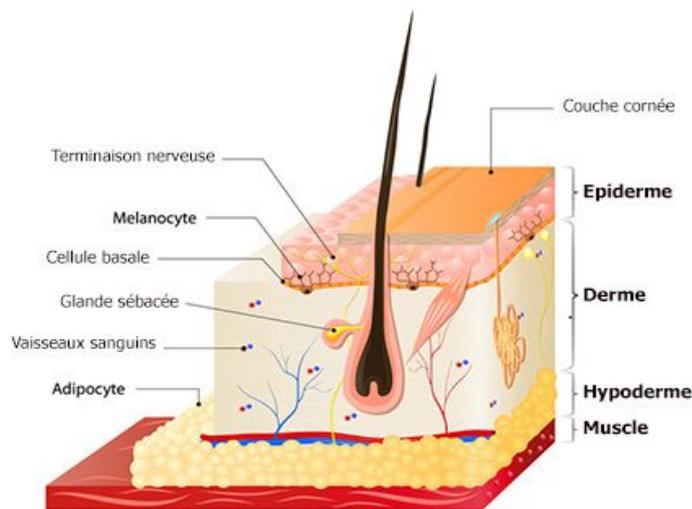


Figure 10 : Représentation schématique d'une coupe de la peau

III.1.1 L'épiderme

D'une épaisseur de 25 à 40 μm , il se compose de plusieurs couches cellulaires (*Buoras et al 1987*) :

- Le stratum germinatum
- Le stratum spinosum
- Le stratum granulosum
- Le stratum cornéum

Partie bibliographique

III.1.2 Le derme

Le derme est un tissu conjonctif qui supporte et nourrit l'épiderme. Son stroma fibrillaire associe des fibres de collagène et un réseau de fibres élastiques qui lui confèrent une grande résistance mécanique et une élasticité. Celles-ci sont à la source des propriétés protectrices de la peau.

III.1.2.1 La couche papillaire : le derme superficiel

Dans cette zone, les papilles dermiques alternent avec des crêtes épithéliales, les éléments cellulaires prédominent (fibroblaste, histiocyte, mastocyte) associés à des fibres de collagène, de réticuline et d'élastine. Bien développées chez l'homme ces structures sont peu apparentes chez les carnivores (excepté dans la truffe et les coussinets plantaires).

III.1.2.2 La couche réticulaire : le derme profond

Le derme profond est formé d'un tissu conjonctif fibreux et dense ou prédominant d'épais faisceaux de collagène orientés dans différentes directions, parallèlement à la surface.

III.1.3. L'hypoderme

C'est un tissu conjonctif adipeux qui sépare les muscles et les os de la peau. Il sert au stockage de la graisse et agit comme un isolateur thermique (*Mac et al, 1987*).

III.1.4. Annexes cutanées

Celles-ci sont représentées par les glandes sébacées (apocrine et exocrine). Les glandes sudoripares, la matrice des ongles et les follicules pileux.

III.1.5. La vascularisation cutanée

Elle ne concerne que le derme et l'hypoderme puisqu'elle est absente de l'épiderme (*Evans et al, 1953*).

Toutes ces structures confèrent à la peau ses particularités et ses rôles :

- Barrière : c'est peut-être le rôle le plus important de la peau ;
- Protection contre les agents chimiques, physiques et microbiologiques ;
- Régulation de la température ;
- Perception sensorielle ;
- Sécrétion ;
- Production des annexes ;

Partie bibliographique

- Stockage : électrolytes, eau, vitamines, gras, carbohydate, protéine ;
- Pigmentation (protection contre les radiations solaires) ;
- Excrétion ;
- Production de vitamine D ;
- Indicateur des maladies internes ;

Au regard de toutes ces particularités, il est compréhensible que toute lésion de la peau entraîne un phénomène de reconstruction en vue d'une réparation des fonctions naturelles : c'est la cicatrisation.

III.2. Différentes phases de la cicatrisation

III.2.1. Stade de l'inflammation

Celui-ci peut être subdivisé, mais non séparé en deux étapes comprenant une réaction vasculaire et une réponse cellulaire. Cette inflammation permet la défense contre d'éventuels corps étrangers ou micro-organismes et la limitation de pertes sanguines.

Immédiatement après la blessure, il se produit une vasoconstriction, voir une occlusion de petits vaisseaux adjacents à la blessure, puis cinq à dix minutes plus tard, apparaît une vaso-dilatation (*Milne et al, 1978*).

Conjointement avec cette phase vasculaire initiale, les leucocytes des vaisseaux adjacents se collent à la paroi des veinules. En surface, la fibrine et les autres protéines du sang se déshydratent et constituent la croûte (*Carlier et al, 1977*). Cette croûte maintient l'hémostase, limite les contaminations et permettra ultérieurement les mouvements et migrations cellulaires (*Milne et all 1978*). Bien que celle-ci ait une importance réelle, elle n'est pas indispensable à la guérison des plaies. En réalité, il a été démontré que les plaies cicatrisaient plus vite lorsqu'elles étaient conservées humides sous un pansement (*Paelcocke, et al 1976*).

La période de vasodilatation qui suit la vasoconstriction, entraîne la libération d'enzymes lysosomales vasoactives qui augmentent la perméabilité capillaire et apportent anticorps, enzymes et complément. Le stade inflammatoire dure à peu près six heures.

III.2.2. Le débridement

Durant cette phase, les leucocytes et les monocytes sont attirés par chimiotactisme et migrent dans la plaie. Simultanément, les polynucléaires neutrophiles qui prédominent dans la population leucocytaire, phagocytent les bactéries et meurent en libérant leurs enzymes lysosomiales. Certaines

Partie bibliographique

bactéries, dites pyogènes, qui résistent à l'action lytique des granulocytes, provoquent une diapédèse et une nécrose granulocytaire intense. La brèche tissulaire se remplira progressivement de pus, liquide pathologique provenant de la lyse des granulocytes du caillot et des structures tissulaires voisines.

Pendant les douze premières heures, les monocytes commencent leur migration et leur transformation en macrophages. Ceux-ci phagocytent la plupart des débris et contribuent à la formation d'un exsudat.

La durée de débridement est dépendante de la qualité des débris et de la contamination présente.

L'importance de l'étendue de la blessure, de l'ampleur des réactions cellulaires et de l'accumulation des polynucléaires conditionnent par conséquent la vitesse de cicatrisation des plaies.

III.2.3. La réparation tissulaire

C'est cette réparation tissulaire que nous allons maintenant décrire, en séparant l'édification et l'évolution du tissu de granulation et l'ensemble des phénomènes annexes tenant à la reconstruction des structures non mésenchymateuses. Nous verrons enfin la maturation de la cicatrisation.

Edification et évolution du tissu de granulation

L'édification du tissu de granulation résulte de trois phénomènes concomitants :

- L'accumulation de cellules mononuclées
- L'accumulation de fibroblastes et l'élaboration d'un tissu conjonctif
- L'angiogenèse

La traduction morphologique de ces phénomènes peut être observée lors de l'examen histologique d'un bourgeon charnu. En surface persiste un exsudat purulent recouvrant une zone d'exsudat fibrino-leucocytaire. Sous cet exsudat se trouve le tissu de granulation proprement dit, dont la morphologie varie en profondeur.

- En région superficielle, on observe un tissu à croissance rapide, riche en cellules et traversé de vaisseaux capillaires néoformés, de structure embryonnaire. Entre les néo-capillaires, on observe des cellules inflammatoires principalement des macrophages, mais aussi quelques lymphocytes, plasmocytes et granulocytes. On observe également de volumineux fibroblastes au cytoplasme abondant et très colorable, au noyau volumineux et nucléolé.

Partie bibliographique

- En région profonde se constitue un tissu conjonctif jeune riche en fibroblastes au contact desquels apparaissent des fibres de collagène. La plupart d'entre elles se disposent parallèlement aux bords de la plaie et perpendiculairement aux néo-capillaires. Quelques fibres sont cependant disposés perpendiculairement aux précédents et suivant le trajet des nèo-capillaires. Simultanément se produit la synthèse des mucopolysaccharides et des glycoprotéines de la substance fondamentale.

Le nom de tissu de granulation donné à cet ensemble résulte de sa grande richesse en noyaux qui le fait apparaître ponctué de granulations basophiles à faible grossissement. Il présente tout d'abord une croissance rapide, qui s'arrête ensuite, lorsqu'il arrive au niveau de la surface épidermique et il constituera une surface conjonctive sur laquelle l'épiderme va pouvoir se reconstruire. La régularité de cette croissance semble être dominée par une substance hydrosoluble et thermolabile appelée « chalone » (*Dudely et al 1990*).

Simultanément au comblement des pertes de substances par le tissu conjonctif, se produit une rétraction de la plaie qui tend à diminuer la taille de la lésion et ramener sa surface à parfois 20% de la surface initiale. Cette rétraction de la plaie débute 4 à 5 jours après le commencement de la phase de réparation et cesse lorsque la fermeture de la plaie est totale.

La cicatrisation apparaît ainsi comme étant principalement le comblement de la plaie par un tissu conjonctif et vasculaire néoformé qui s'enrichit progressivement en fibres conjonctives. Cette prolifération conjonctive est toutefois accompagnée de phénomènes annexes.

III.2.4. Phénomènes annexes

Ces phénomènes annexes concernent essentiellement la réparation de l'épithélium de revêtement et une restauration partielle de l'innervation

III.2.4.1. La réparation épithéliale

Celle-ci correspond au phénomène d'épidémisation, il débute à la périphérie de la plaie et ne peut pas s'accomplir que lorsque le support cicatriciel constitué par le tissu de granulation est parvenu au niveau de l'épiderme. L'épidémisation est centripète. Elle s'effectue par multiplication et migration progressives depuis les marges de la lésion, des cellules basales de l'épiderme qui reconstituent l'épithélium. L'épidémisation cesse que lorsque toute la surface cicatricielle est couverte, ce qui est facilité par sa rétraction.

Partie bibliographique

Lorsque la profondeur et l'étendue des lésions cutanée sont modérées, la réparation peut également intéresser les annexes épidermiques, les follicules pileux et les glandes sébacées peuvent se reconstituer. Néanmoins, les glandes sudoripares ne sont pas régénérées (*Swain, 1980*). L'épiderme peut éventuellement se dépigmenter par migration centripète des mélanocytes et la pigmentation du poil peut ne pas réapparaître.

III.2.4.2. Restauration de l'innervation

A côté de ces phénomènes de réparation épithéliale, on peut assister à des phénomènes de régénération nerveuse. Ils sont cependant rarement normaux car les axones doivent retrouver une gaine nerveuse pour régénérer normalement. La croissance des fibres nerveuses est donc généralement désordonnée. Lorsqu'elle se produit, la restauration de l'innervation est plus tardive et plus lente que celle des épithéliums.

Ainsi une fois sa période de croissance terminée, le tissu de granulation se présente comme un tissu conjonctif jeune, bien vascularisé et riche en cellules, dont la trame collagène est grêle et où les fibres sont orientées dans deux plans perpendiculaire : c'est le tissu cicatriciel jeune. Le tissu cicatriciel va ensuite subir une maturation de plusieurs semaines.

III.2.4.3. Maturation de la cicatrice

Elle se traduit par l'induration progressive du tissu jusqu'à sa sclérose complète et par l'accentuation de la rétraction cicatricielle. La cicatrice est de couleur blanche nacré et grise. On constate une régression du réseau capillaire et de nombreuses cellules inflammatoires et une diminution plus progressive du nombre de fibroblastes et enfin, une densification de la trame conjonctive fibreuse.

Bien que le taux de collagène demeure stationnaire, c'est l'orientation et l'enchevêtrement des fibres de collagène qui confèrent, par la suite, une augmentation de la solidité de la plaie. Cette augmentation de la solidité se poursuit pendant deux années sans pour atteindre la valeur d'une peau saine. C'est le manque de fibres élastiques qui est responsable du déficit mécanique (*Barnes et al, 1980*).

III.3. MODE DE CICATRISATION DES PLAIES

Partie bibliographique

On distingue quatre modes de cicatrisation, dépendant des plaies et de leurs traitements

- Cicatrisation par première intention
- Cicatrisation par seconde intention
- Cicatrisation par troisième intention
- Cicatrisation par régénération (*Milne et all, 1976*).

III.3.1. La cicatrisation par première intention

La cicatrisation par première intention concerne les incisions chirurgicales aseptiques où la perte de substance est minime. Dans ce cas, il s'agit de plaie saine. Quelques heures après l'incision, l'épithélium périphérique réagit en s'épaississant. La migration débute sous la croûte, puis l'épithélium néoformé unit les deux lèvres de la plaie en 48 heures.

Le collagène définitif est visible pour la première fois le cinquième jour après l'incision et est disposé perpendiculairement à la surface. Le sixième jour seulement, les fibroblastes, les fibrilles et les capillaires changent d'orientation et deviennent parallèles à la surface d'incision.

III.3.2. La cicatrisation par deuxième intention

Celle-ci se produit sur des plaies avec perte de substance importante et dont l'asepsie n'est pas parfaite. La suppuration induite est un facteur de destruction tissulaire qui se produit à l'encontre de la cicatrisation.

Dans les blessures très largement ouvertes, tous les stades de la cicatrisation sont représentés, avec passage par la formation d'un tissu de granulation dont le rôle est important dans la résistance aux infections, pour le support à la migration de l'épithélium et pour la contraction de la plaie (*Tournois. 1974*).

La cicatrisation par deuxième intention se réalise selon un processus lent.

III.3.3. La cicatrisation par troisième intention

On réalise une suture sur une plaie de plusieurs jours. Pendant ce temps la plaie débridée et l'extension du dommage tissulaire est évaluée (*Linsday.1987*).

III.3.4. La cicatrisation par régénération

Il s'agit d'un processus mis en œuvre sur des plaies où les blessures superficielles n'affectent que les couches supérieures du derme, sans perturber la vascularisation locale.

Partie bibliographique

La régénération est précoce, totale et sans contraction.

III.4. Facteurs influençant la cicatrisation

III.4.1 Facteurs endogène influençant la cicatrisation

Les jeunes animaux ayant un poids normal et une nourriture équilibrée cicatrisent plus rapidement. Les animaux âgés guérissent moins vite en raison d'une capacité inférieure à former un tissu de granulation. De plus, ils sont plus sensibles aux infections (*Peakcocke et al 1980*).

Les animaux ayant des carences nutritionnelles, des déséquilibres endocriniens ou des insuffisances hépatique, rénale ou cardiaque ont un temps de cicatrisation plus long (*Swain. 1980*). Dans le cas où une intervention est envisagée, il est nécessaire de tenter de corriger chaque insuffisance.

III.4.2 Facteurs exogènes influençant la cicatrisation

■ L'infection et les microorganismes

L'infection des plaies est observée lorsque le nombre de microorganisme atteint la concentration de 100 000 germes/g de tissu (*Fowler. 1989*).

La capacité de défense locale est ainsi dépassée. L'infection retarde la cicatrisation par augmentation de la réponse cellulaire qui se traduit par un prolongement de la phase de nettoyage. D'autre part, les bactéries sécrètent des enzymes nécrosantes ayant une action spécifique sur le retard de la cicatrisation

L'importance de l'infection sera modulée par divers facteurs dont l'espèce bactérienne et l'état du terrain (*Berthe. 1983*).

Les germes de la flore cutanée sont des anaérobies ou anaérobies facultatifs, le plus souvent pyogènes (staphylocoque, streptocoques, corynébactéries, pseudomonas.), qui peuvent être de simples contaminants ou devenir pathogènes, suivant les réactions de l'hôte, surtout lorsque le nombre de germe augmente et devient supérieur à 100 000 germes/g de tissu.

Une prolifération excessive des micro-organismes entraîne :

- Une absorption de l'oxygène ;
- Un abaissement du pH de la plaie ;
- La production de toxines ;
- La consommation de complément.

Partie bibliographique

■ Importance du traumatisme

Un traumatisme trop important augmente le nombre des débris cellulaires et entraîne une nécrose des tissus, produisant de ce fait un allongement du premier stade de la cicatrisation des plaies, une diminution de la résistance à la tension et une augmentation du risque d'infection.

Les tissus nécrosés fournissent des nutriments aux microorganismes et favorisent leur multiplication. Un hématome important crée un milieu de culture mais aussi sépare mécaniquement les bords de la plaie ou même gêne par pression l'apport de sang (*Swain. 1980*).

■ Influence des traitements

Les glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes retardent la cicatrisation par leurs actions anti-inflammatoire et inhibitrice de la prolifération fibroblastique (*Howe 1950, Stott 1997*).

NB : action observée surtout à fortes doses et si administrés tôt dans la cicatrisation (phase inflammatoire initiale ou même avant le début de l'inflammation) (Teifer1989).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Chez les animaux, *in vitro*, les anti-inflammatoires non stéroïdiens provoquent une vasoconstriction, une suppression de la réponse inflammatoire et de la synthèse de collagène et une interférence avec les leucocytes

NB :Ce sont des doses importantes d'anti-inflammatoire qui sont à l'origine de ces retards de cicatrisation. Aux doses thérapeutiques il n'y a pas d'altération.

Chimiothérapie

- retarde la cicatrisation surtout si elle est administré lors de la phase inflammatoire.

Les Radiations

De petites doses de rayons X favorisent la cicatrisation n diminuant l'inflammation. Par contre de fortes doses entraînent des sévères dommages, empêchant la migration des cellules épithéliale set l'élaboration du tissu de granulation

Utilisation de bandage

Partie bibliographique

*L'utilisation de bandage d'une plaie avec des compresses non adhésives n'a pas d'effet sur le rythme des mitoses des cellules épithéliales et augmentent la rapidité de l'épithélialisation.

*Sans pansement ni compresse non adhésive retard d'épithélialisation résultant de la dessiccation des cellules épaisses, ce qui nécessite la pénétration des cellules épithéliales migrantes sous la croûte (*Gourion et al 1987*).

D'autre part, toutes les compresses adhésives retardent la cicatrisation du fait de l'accumulation de liquide et de cellules dans les interstices du pansement. En outre, le renouvellement trop fréquent du pansement « en traumatisant le trauma » empêche au tissu de granulation de se former.

A.PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Objectif

Le présent travail expérimental avait pour objectif, l'étude des activités cicatrisante, antibactérienne, et antifongique d'un extrait acétonique de *Blackstonia perfoliata* utilisée anciennement pour ses capacités vulnérables chez l'homme et l'animal.

Cette étude a été réalisée sur des modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo* et a été exécutée au sein de l'Equipe de Recherche « Evaluation de l'efficacité des molécules pharmacologiques & développement de stratégies thérapeutiques alternatives », au sein du Laboratoire de Recherche « Santé & Productions Animales », à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

II. Matériel & Méthodes

II.1. Étude phytochimique

II.1.1. Matériel végétal

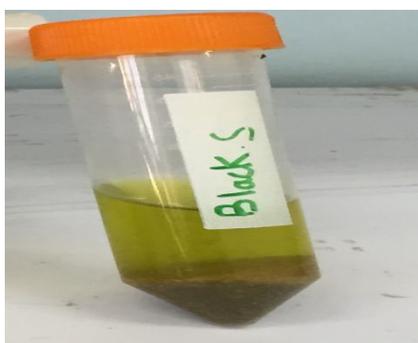
Blackstonia perfoliata a été récoltée au mois de Mai 2014 dans la wilaya de Bejaia, séchée à l'ombre à température ambiante, dans un endroit sec et aéré pendant 7 jours.

L'identification a été réalisée par le département de botanique de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie d'El-Harrach.

II.1.2. Extraction et préparation des extraits

II.1.2.1. Protocole d'extraction

Blackstonia perfoliata a fait l'objet d'une extraction par solvant. Les parties aériennes de la matière végétale ont été broyées en une poudre fine à l'aide d'un broyeur avant de subir trois extractions quantitatives successives. Les trois extraits récupérés sont évaporés à température ambiante. Après détermination du poids de l'extrait, ce dernier est stocké à une température de 4 ° C dans l'obscurité.

**A : Broyage de la matière sèche****B : Pesée de la matière sèche****C : Adjonction d'acétone à la matière sèche****D : Filtration du contenu des tubes**

Le surnageant est recueilli et filtré. Enfin, l'extrait est évaporé dans une étuve et l'extrait brute de *blackstonia perfoliata* ainsi obtenu est entreposé à +4°C/

**E : Evaporation de l'extrait dans une hotte Chimique (photos personnelles)****Figure11 : Etapes de l'extraction et la préparation des extraits**

II.1.2.2 Matériels

Tableau 1 : Matériel et réactifs utilisés lors de l'extraction

Matériels	réactifs
- Matière sèche.	Solvant (acétone).
- Robot broyeur.	
- Passoire.	
- Balance.	
- Tube a essai.	
- Pipette / pipette pasteur graduée.	
- Agitateur.	
- Centrifugeuse.	
- Bécher.	
- Papier filtre	
- Etuve_ hotte chimique.	

II.2. Évaluation de l'activité cicatrisante

L'évaluation de l'efficacité cicatrisante de la crème préparée à partir des extraits acétoniques de *Blackstonia perfoliata* a été réalisée sur des plaies expérimentales provoquées aseptiquement chez des rats. L'application de cette crème a été quotidienne jusqu'à l'épithélialisation complète de la plaie.

Le principe du test d'évaluation de l'activité cicatrisante repose sur une étude planimétrique qui permet une évaluation quantitative directe par le calcul de la surface de la plaie et de son évolution dans le temps.

II.2.1. Matériels et méthodes

II.2.1.1. Animaux

L'étude a porté sur 18 rats albinos de souche WISTAR de sexe mâle d'un poids moyen de 160 g, obtenus de l'Institut Pasteur d'Algérie et acclimatés au niveau du laboratoire de recherche « Santé et Productions Animales » ; dans des cages en propylène recouvertes d'une grille en acier. Les rats ont reçu une alimentation à base de granulés et de l'eau du robinet *ad libitum*. Ils ont été hébergés dans des conditions de température de 20° à 24°C, et un taux d'humidité de 50%.

Ils ont ensuite été répartis en trois lots (le premier comporte 6 sujets pour le témoin négatif le second 6 autres sujets témoin positif et enfin 6 rats pour le lot *Blackstonia perfoliata*).

II.2.1.2. Matériels

Tableau 2: Matériel et réactifs utilisés lors du test de l'activité cicatrisante de *Blackstonia perfoliata*

Matériel	Réactifs
Balance analytique	Eau physiologique à 0,9%
Balance pour animaux	Alcool chirurgicale
Bistouris	Zooletil N.D
Cloche à éther	
Compresse	
Pince à dissection	
Ciseaux ,Seringues, Tondeuse	

II.2.1.3. Préparation des crèmes à tester

Trois crèmes ont été préparées correspondant pour :

- Lot témoin positif, au MADECASSOL®
- Le lot témoin négatif, à la Vaseline.
- Le lot *Blackstonia perfoliata*, à une crème à base de paraffine, vaseline et glycérine additionnée d'extrait brut- de *Blackstonia perfoliata*

II.2.1.4. Protocole expérimental

a. Préparation des animaux

La veille de l'expérimentation, les rats de chaque lot ont été marqués au niveau de la queue et mis à jeun. Le lendemain, les rats ont été tranquilisés à l'éther et dument anesthésiés. Une fois les rats anesthésiés, la région inter-scapulaire a été tondu.



L'anesthésie



La Tonte

Figure 12 : Préparation des animaux (photos personnelles)

b. Mode opératoire

Après asepsie alcoolique, une zone d'un rayon de 1 cm est délimitée à l'aide d'un emporte-pièce marqué, au niveau de la région inter-scapulaire.

La partie de la peau ainsi délimitée est reséquée tout en respectant les principes de chirurgie cutanée à savoir les conditions d'asepsie et d'hémostase continue.

Par la suite, les empreintes de surfaces obtenues ont été prélevées sur du papier transparent à l'aide d'un feutre indélébile, cette phase correspond au jour J_0 .



Figure 13 : Fin de l'incision des rats (photos personnelles)

Les crèmes sont appliquées délicatement sur les plaies de chacun des rats composant correspondant. L'application du produit à tester, du véhicule et du produit de référence a été faite quotidiennement pendant 13 jours.

Les empreintes ont été prélevées selon le planning suivant: J_0 , J_3 , J_6 , J_9 , J_{13} , des fragments de peau ont été prélevés et conservés dans du formol à 10 % pour faire l'objet d'une étude anatomopathologique.

II.2.1.5. Lecture des résultats

La lecture des résultats a été faite par mesure des surfaces des plaies à l'aide du logiciel AutoCAD sur la base des calques réalisés.

II.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de plante étudiée a été réalisé sur un milieu liquide au niveau du laboratoire de recherche SPA. Trois souches bactériennes référencés on été utilisé dans ce travail : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus*.

II.3.1. Matériels et méthodes

II.3.1.1. Souches bactériennes utilisés

Tableau 3 : références des souches traité in vitro

Souche	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i> (gram-)	ATCC = 25923
<i>Escherichia coli</i> (gram +)	ATCC = 25922
<i>Pseudomonas</i> (gram -)	ATCC = 27853

II.3.1.2. Matériels

Tableau 4 : Matériel et réactifs utilisés lors du test de l'activité antimicrobienne.

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Boîtes de petri. ▪ Tubes à essais. ▪ Anse de platine. ▪ Disques d'antibiotique vierge et d'autres imprégnée d'antibiotique. ▪ Bec bunsen. ▪ Étuve. ▪ Pipette pasteur, Vortex. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gélose nutritive. ▪ Gélose Muller Hinton. ▪ Standard de Mcfarland. ▪ Antibiotique (Cephotaxamine) ▪ Acétone. ▪ Sérum physiologique isotonique 0,9%. ▪ Extrait de plante <i>Blackstonia perfoliata</i>

II.3.2. Évaluation de l'activité antibactérienne sur milieu liquide

II.3.2.1 Protocole expérimentale

À partir d'une culture pure de 18 à 24 h, quelques (2-3) colonies bien isolées sont prélevées à l'aide d'une anse de platine ensuite dissoutes dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, la suspension ainsi obtenue est d'une densité équivalente à 0,5 MF (10^8 UFC/ml).

Trois séries de tubes sont préparées selon le schéma résumé dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Compositions des tubes témoins positif, négatif et de *Blackstonia perfoliata*

Témoins positif	Témoins négatif	Test <i>Blackstonia perfoliata</i>
9.95ml de bouillon Muller Hinton	9.95ml de bouillon Muller Hinton	9.95ml de bouillon Muller Hinton
100 µl d'ATB (Cephotaxamine)	100 µl d'acétone	100 µl d'extrait dilué de blackstonia perfoliata
50 µl de suspension bactérienne	50 µl de suspension bactérienne	50 µl de suspension bactérienne

Les trois souches bactériennes sont ensemencées et mis à incuber à l'étuve pendant 18-24 h à 37°C. La lecture du résultat se fera par appréciation du degré de turbidité du milieu.

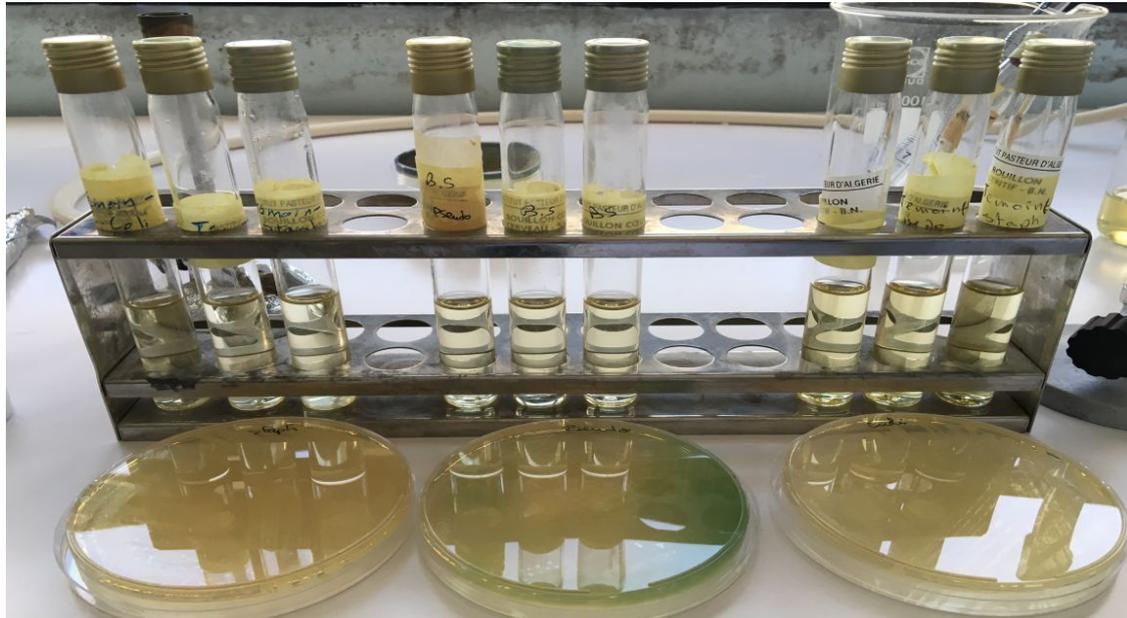


Figure 14 : Photo représentant les différents tubes ensemencés par les souches bactériennes (photo personnelle).

Dans une seconde étape, la nature de l'activité antibactérienne (bactériostatique /bactéricide) a été déterminée en ensemencant sur milieu gélosé solide un échantillon des tubes présentant une pousse bactérienne après incubation. Les résultats sont lus après incubation pendant 18-24 h à 37°C.

III. Résultats

III.1. Extraction

III.1.1. Le rendement

L'utilisation de 30 g de broyat des parties aériennes de *Blackstonia perfoliata* nous a permis d'obtenir 2,16 g d'extrait par extraction acétonique.

Le rendement de cette extraction était par conséquent de 7.19 %.

III.2. Activité cicatrisante

III.2.1. Evaluation de la rétraction des plaies

Les résultats repris dans les tableaux ci-dessous représentent les moyennes des surfaces de plaies (en mm²) ainsi que la moyenne des diamètres de rétraction de ces dernières pour les 3 lots de rats (véhicules, rats traités avec Madécassol et les rats traités avec l'extrait de plante *Blackstonia perfoliata*) respectivement à J0, J3, J6, J9 et J13 :

Tableau 6: Résultats de la moyenne et du diamètre de rétraction des surfaces des plaies des trois lots

Les lots	J0	J3	J6	J9	J13
Moyenne BS	1,351	1,068	1,013	0,44	0,068
Moyenne T+	2,112	1,751	1,153	0,400	0,034
Moyenne T-	1,387	1,160	0,600	0,179	0,118
Moyenne des diamètres de rétraction BS		0,209	0,250	0,674	0,949
Moyenne des diamètres de rétraction T+		0,170	0,454	0,810	0,983
Moyenne des diamètres de rétraction T-		0,163	0,567	0,870	0,914

BS : plaies traités avec l'extrait de *Blackstonia perfoliata*

T+ : plaies traités avec le Madécassol.

T- : plaies des véhicules.

À J0 les surfaces de plaies des différents lots constitués n'étaient pas homogènes. Cette hétérogénéité est par contre non significative.

À J3, la surface des plaies traitées à base de l'extrait de *Blackstonia perfoliata* a nettement rétréci comparé aux plaies véhicules et celles traitées au Madécassole.

A J13 et dernier jour avant le sacrifice, une rétraction légèrement supérieure est observée pour les plaies traitées au Madécassol, suivie par celles traitées à l'extrait de *Blackstonia perfoliata*, puis en dernier viennent les celles des véhicules.

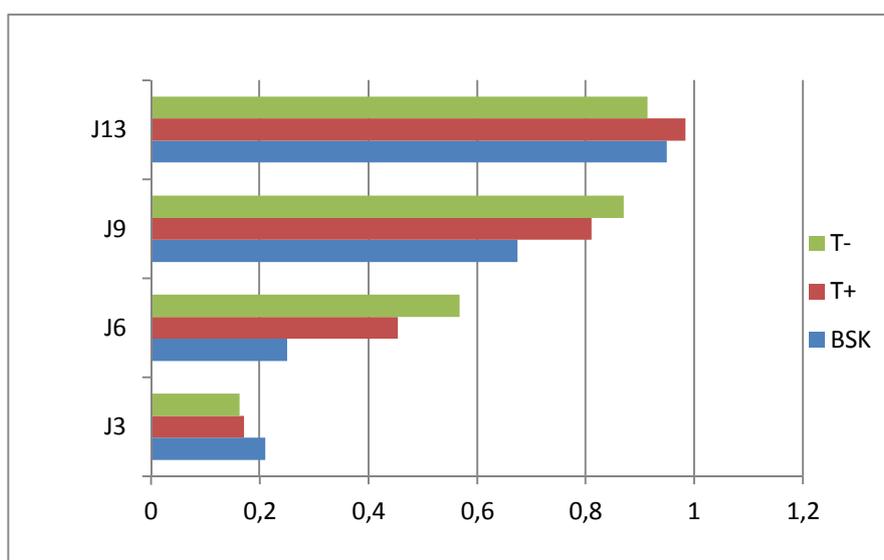


Figure 15: Évolution de la moyenne des diamètres de rétractions des plaies (Véhicule, Madécassol et *Blackstonia perfoliata*) par le temps.

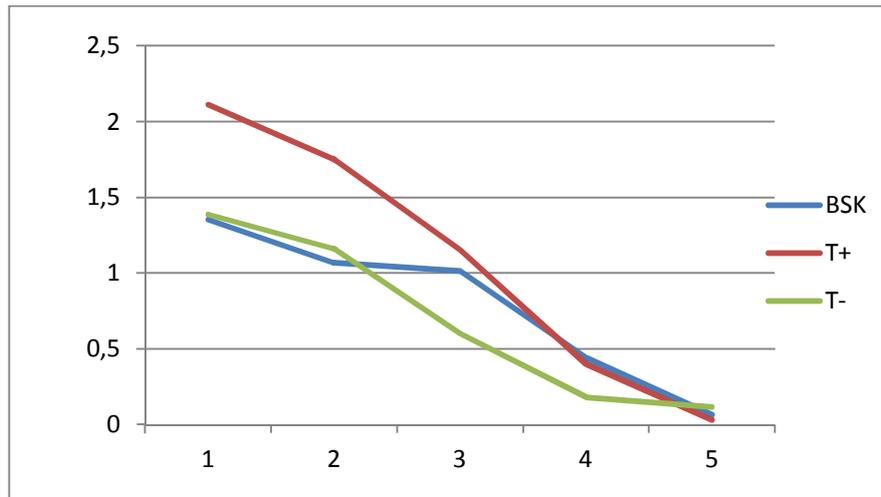
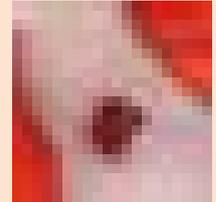
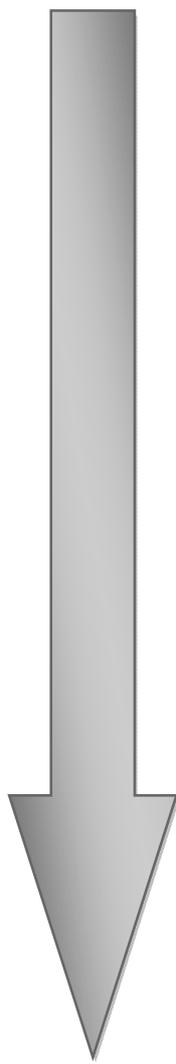


Figure 16 : Évolution des surfaces moyennes des plaies (Véhicule, Madécassol et *Blackstonia perfoliata*) par le temps.

III.2.2. Etude histopathologique

Tableau 7: Évolution macroscopique des surfaces des plaies

Témoins	Témoins -	Témoin+ Madécassol	Blackstonia Perfoliata	
Les Jours				
	J0			
	J3			
	J9			
J13				



Au 13^e jour, les plaies des trois lots parviennent à se refermer en absence d'infection bactérienne, ou de processus de suppuration quelconque, néanmoins le tissu cicatriciel de meilleur qualité obtenu, était celui des lots traités avec l'extrait de *Blackstonia perfoliata* et avec le Madécassol (tableau 8)

Tableau 8: Résultats de l'étude histopathologique des biospies cutanées des lots traités (Véhicule, Madécassol et *Blackstonia perfoliata*)

	Ulcère	Re-épithélialisation	Prolifération fibrosante	Néo vascularisation	Monocytes/Macrophages	PNN	Phase Inflammatoire	Phase de Prolifération
Rat 1	Absent	Présente	Modérée	Modérée	xxx (beaucoup)	x	Sub aigue	Débutante
Rat 2	Présence : perte de substance comblée par un induit fibro-leucocytaire	Absente	Absente	xxx	xxx	x	Aigue	Sub aigue
Rat 3	Présence	Absente	Absent	xxx	xxx	x	Aigue	Sub aigue
Rat 4	Absence	Présente	Modérée	Modérée	xxx	x	Sub aigue	Débutante
Rat 5	Absence	Parfait	Débutante	x	Xx	x	Fin Sub aigue-début Chronique	Débutante
Rat 6	Absence	Parfaite	xxx	Absence	Absence	Absence	Chronique. Présence de stigmates	Avancée
Rat 7	Absence	Débutante	xxx	x	x		Chronique	Avancée-chronique
Témoins 1+	Absence	Parfaite	xxx	Absence	Absence	Absence	Chronique	Tres avancée
Témoins 2+	Persistance	présente	Débutante	x	xx	x	Persistance de la phase Sub-aigue	Débutante
Témoins -	Absence	Absence	xxx	Très peu	Très peu	Très peu	Chronique	Absence

III.3. Résultats de l'activité antimicrobienne

Les résultats obtenus lors de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne sur milieu liquide révèlent que :

- Les échantillons des Témoins (-) présentent un milieu assez trouble, ceci signifie qu'il y'a eu croissance bactérienne pour les 3 germes étudiés : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.
- Les échantillons des Témoins (+) présentent un milieu transparent et claire pour les 3 bactéries étudiées.
- Les échantillons traités avec l'extrait de la plante étudiée présentent un milieu légèrement trouble pour l'espèce *Staphylococcus aureus*, avec un degré de turbidité de plus pour les deux espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* dans la mesure où l'extrait acétonique avait déjà modifié la transparence du milieu de culture au moment de son addition.

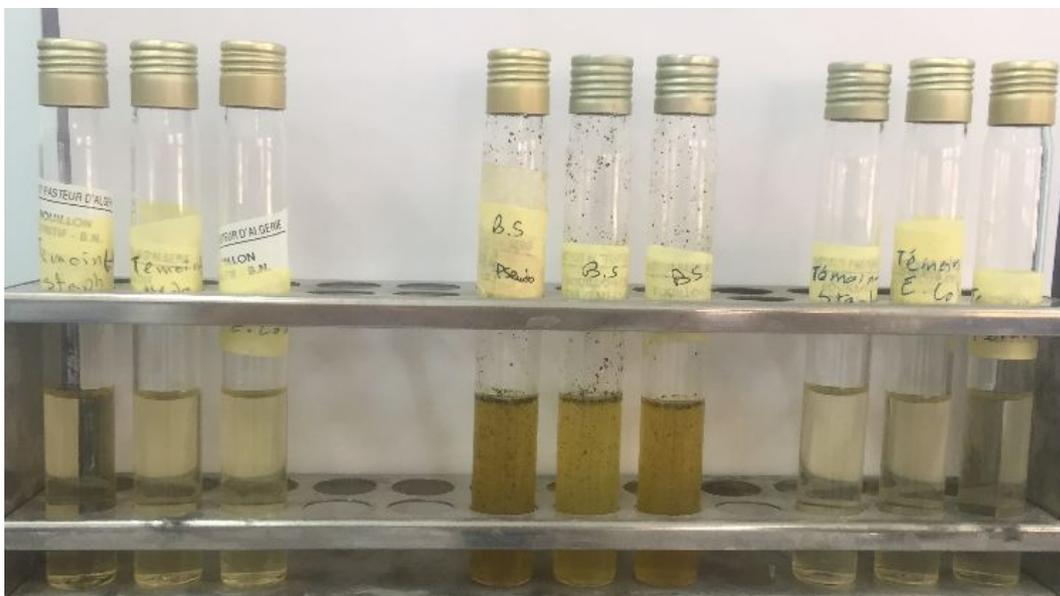


Figure 17 : Résultats de l'activité antimicrobienne sur milieu liquide

Il a été procédé par la suite à l'ensemencement des souches bactérienne du milieu liquide sur gélose nutritive, les résultats obtenus après incubation sont représentés par les figures ci-dessous :



Figure 18: Résultats de l'ensemencement de 3 souches bactériennes sur milieu solide obtenus à partir du milieu liquide qui contenait de l'extrait de *Blackstonia perfoliata*.

- Quelques colonies bactériennes ont poussé pour les espèces *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, et une légère poussée de *Pseudomonas aeruginosa* a été observée après incubation de 24-72 h, ce qui serait en faveur d'un d'effet bactériostatique.

IV. Discussion

Le regain d'intérêt aux plantes médicinales et leurs extraits tels les extraits naturels, vient essentiellement d'une prise de conscience des malades ainsi que des propriétaires d'animaux et de leur désir profond de revenir aux moyens naturels et efficaces. Car les plantes offrent un espoir de guérison dans le domaine des maladies contemporaines, et le besoin d'information sur les nouveaux produits phytothérapeutiques s'accroît. On tend de plus en plus à fuir les substances chimiques et à éviter les dangers qu'elles peuvent induire. Les indications données par la phytothérapie ou l'aromathérapie, n'ont pas pour but de faire oublier ou sous-estimer l'importance de toute la profession médicale et de la médecine, à condition que celle-ci soit avant tout humaine et respecte fidèlement le serment d'Hippocrate: "*primum non nocere*": "*d'abord, ne pas nuire*".

Blackstonia perfoliata ou centaurée jaune est réputée à la fois amer, fébrifuge, vulnéraire. Elle exerce un effet bénéfique sur la fonction hépatique et la goutte. En usage externe, elle permet la détersion et la cicatrisation des ulcères provoqués par la vermine, la teigne et la gale.

IV.2. Rendement

La plante étudiée est une plante très peu étudiée nous contraignant à comparer les résultats obtenus à ceux de plantes de la même famille que *Blackstonia perfoliata* (*Gentiana lutea*). Le rendement d'extrait (en %) est obtenu à partir de l'échantillon de centaurée jaune, récolté au mois de Mai 2014 au niveau de la wilaya de Bejaia de l'ordre de 7.19% est supérieur à ceux d'autres échantillons de la même espèce (*Gentiana lutea* 4.51%).

Différents facteurs comme l'âge de la plante, le lieu de récolte, la période ainsi que le mode d'extraction utilisé, conditionnent le rendement obtenu (Tableau).

Tableau 9 : Comparatif des rendements d'extractions

Technique d'extraction Utilisée	Poids et rendement obtenue		Rendement obtenu pour 30g de MS	Région	Période
(1)Blackstonia Par solvant	30g	7.19%	7.19%	Bejaia	Mai 2014

(Acétone)					
(2)Gentiana lutea Par solvant (d-limonène)	100g	4.5%	1.35 %	Europe (Journal of the Science of Food and Agriculture)	2005

(2) selon Carnat *et al*, 2005

IV.3. Activité antimicrobienne

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques sont capables d'avoir une activité antimicrobienne (*Dorantes et al*, 2000; *Djenane et al.*, 2002 et 2006 ; *Kuda et al.*, 2004, *Bousbia*, 2004). Les constituants des extraits naturels sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons.

Une évaluation qualitative a été effectuée pour juger l'efficacité de *Blackstonia perfoliata* qui nous a permis de constater une diminution de la poussée des *Pseudomonas aerogenosa*, une efficacité considérable sur la souche *Staphylococcus* ainsi qu'une légère diminution des colonie *Escherichia coli*.

IV.4. Activité cicatrisante

Au cours du processus de cicatrisation, les phases de réparation tissulaire à savoir la détersion, la formation de tissu de granulation, la régénération de l'épithélium et la contraction de la plaie sont nettes et facilement observables (*Aiken et Baller*, 1989 ; *Fayolle*, 1992).

La contraction constitue un critère d'appréciation macroscopique de l'évolution de la plaie et est la conséquence des phénomènes microscopiques qui la sous-tendent. Elle est due aux myofibroblastes du tissu de granulation qui possèdent des caractères de muscles lisses (*Bensegueni et al*, 2007).

Afin de tester l'efficacité de la crème réalisée a base de *Blackstonia perfoliata*, nous avons procédé à une comparaison entre les témoins positifs à savoir une crème protectrice et cicatrisante (Madecassol®), négatifs (véhicule) et enfin avec la crème préparée à base d'extrait de *Blackstonia*.

Nous avons réalisé dans le présent travail, une évaluation quantitative directe par le calcul de la surface de la plaie ainsi que son évolution dans le temps et par déduction une appréciation de la qualité du tissu de granulation.

Le compte rendu histologique a révélé une cicatrisation remarquable chez la plupart des sujets traités avec crème de *Blackstonia perfoliata*, en effet l'évaluation anatomo-pathologique a montré une phase de prolifération très avancée, sans ulcère ainsi qu'une belle re-épithélialisation en surface. Le derme sous-jacent a été occupé par les fibres de collagène orientées correctement et horizontalement, avec un discret infiltrat inflammatoire et une vascularisations modéré, quant aux témoins positifs, on a constaté une réparation intégrale de la plaie comparable a une peau normale.

Par contre, pour les témoins négatifs on a constaté une absence de re-épithélialisation et de phase de prolifération. La fibrose cicatricielle était intense, un épiderme plus ou moins reconstitués avec une vascularisation importante et une cicatrisation bloquée en phase inflammatoire à proliférative. , en effet la réparation tissulaire était médiocre.

Comparant le " lot Madécassol " au lot *Blackstonia perfoliata*, les résultats macroscopiques étaient identiques, avec une fermeture totale des diamètres des plaie à J13, la différence réside dans la rapidité d'action. Le lot *Blackstonia perfoliata* agit très rapidement les premier jours (de J0 à J3) ensuite le lot Madécassol prend le relais très rapidement les derniers jours (de J9 à J13) .

Les principaux constituants mis en évidence par le screening phytochimique des parties aériennes de *Blackstonia perfoliata* et qui sont impliquées dans le phénomène de la cicatrisation son principalement représentés par les gentiopicrosides (jusqu'à 3%), les glucosides secoiridoïdes biologiquement actif: gentiopicroside (gentiopicrin), qui a été isolé à partir de plantes entières de *B. perfoliata* et dont Le produit de la décomposition de gentiopicroside et swertiamarin est appelé gentiogenal ou gentiopicral. De plus dans les blackstonies perfoliées (*Blackstonia perfoliata*), on trouve aussi les flavonoïdes ainsi que des xanthones avec des activités biologiques notamment anti-amibiennes, hypoglycémiques, inhibitrices de monoamine(s) oxydase(s) et anti-inflammatoires (Villemet, 2011).

Conclusion

La phytothérapie est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'études cliniques systématiques qui répond à la demande d'une solution thérapeutique naturelle, efficace et avec peu d'effets secondaires ; en effet l'usage excessif d'agents antimicrobiens chimiques dans la médecine aboutit à l'émergence de souches multi résistantes mettant en échec toutes les thérapeutiques.

Le présent travail nous a permis l'obtention d'un rendement satisfaisant de *Blackstonia perfoliata* comparé à d'autres plantes . Cette étude réalisée sur des modèles expérimentaux, *in vitro*, a révélé de bon résultat sur les souches bactériennes de référence *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* et *in vivo*, la crème préparée à partir d'extrait acétonique de notre plante a également montré une bonne efficacité cicatrisante.

Néanmoins, ce travail reste une étape préliminaire d'une longue investigation ; l'étude des plantes médicinales en Algérie, en l'occurrence les plantes étudiées ici devant se poursuivre pour identifier et caractériser de nouveaux médicaments à base de d'extraits de plantes et de principes actifs naturels.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAHORUN T., 1997:** Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source d'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius.
- BARNES M J., MOTON C F., BAYLEY A J., BENET R C., 1975: DOLZINSK B., 1980:** Studies on collagen synthesis in the mature dermal scar in the genea pig. Biochim. Soc. Trans. 1975, 3 (6), 917-920
- BELAICHE P., 1979 :** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- BELWED A., 2005 :** Les plantes médicinales d'Algérie, 284 p.
- BERTHE T L., 1983 :** Contribution a l'étude du traitement des plaies à l'aide d'un hydrogel d'amidon. Th. Vet. Toulouse, n°49.
- BUORAS K D., FRICKE W., 1987 :** Atlas der anatomie des hundes schlutersche verlag, 352p.
- BUSSIERAS J., CHERMETTE R., BOURDEAU P., 1984 :** Dermatologie des carnivores domestiques. Rec. Med. Vét. Alfort, 160 (5), 405-411.
- CARLIER A., 1980 :** Contribution à l'étude de la cicatrisation des plaies : action d'un extrait placentaire. Th. Vet. Lyon, n° 69.
- DELAVEAU P., 1987:** Les Epices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Albin Michel Editeur. 372 p.
- EVANS H E., CHRISTENSEN G., 1953:** Millers anatomy of the dog 2ne éd? WB sander company philadephia , 280p.
- FOUCHE G., MARQUET A., HAMBUCKERS A., 2000 :** Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.
- FOWLER J D., 1989:** Wound healing. An overview in Seminary in Veterinay Medicine and Surgery. Small Anim, 4 (4), 256-262.
- GOURION A., 1987 :** Contribution a la cicatrisation des plaies chez les animaux domestiques par les lasers athermiques th. Méd. Vet., Alfort.

HEMWIMON S., PAVASANT P., SHOTIPRUX A., 2007 : Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, 44-50.

HERNANDEZ-OCHOA L R., 2005: Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse. France.

HULIN V., MATHOT A G., MAFART P., DUFOSSÉ L., 1998 : Les propriétés antimicrobienne des huiles essentielles et composés d'arômes. *Science des aliments*, Vol. 18, P. 563-582

ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J., 1996 : Larousse Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 336 p. ISBN 2-03-507125-6

JULVE P H., 1998: ff. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la Flore de France. Version [date de la version utilisée].

LINDSAY., 1987: Wound healing in horses: What to know about second intention healing. *Vet. Med*, 4, 396-401.

LUCCHESI M E., 2005 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies.

MAC IL WRAITH C W., TURNER A S., 1987: *Advanced technique in equine surgery*, 371p.

MILNE D W., 1978: Wound healing and management. proceeding of 24 th animal convention of the Am. Assoc of Equine pract, St louis, Missouri 19(9), 349-352.

MILNE D W., 1978: Wound healing and management. Proceedings of 24 th animal convention of the Am.Assoc. of Equine pract, st louis, missouri, 19 (9), 349-352

NOSTRO A., GERMANÔ M P., D'ANGELO V., MARINO A., CANNATELLI M A., 2000: Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettres en microbiologie appliquée*. 30 (5), p379.

PEAKCOCKE E., VAN WINCKLE W., 1976: *Wound repair edition*. WB Saunders Co, Philadelphia.

PIOCHON M., 2008 : Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada

RICHARD H., MULTON J L., 1992: Les arômes alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 438 p.

ROUX D., 2008: Conseil en aromatherapie. 2ème edition, Pro-Officina., 187.

SHAUENBURG P., 1977, guide des plantes médicinales, 500 p. PARIS.

SWAIN S F., 1980: surgery of traumatized skin WB sander company philadephia , 585p.

SWAIN SF., 1980: Trauma to the skin and subcutaneous tissue of dogs and cats. Vet. Clinics of north America. Small Anim. Pract, 10 (3), 599-618.

TOURNOIS A., 1974 : Contribution à l'étude de la cicatrisation des plaies. Etude toxicologique et pharmacologique d'une association catalase-sulfate de néomycine Th. Med. Vêt. Lyon.

WILLEMETIA N° 67 - Février 2011

www.yourprojectinfo.fr

www.fleurdusud.fr

RESUME :

Dans ce travail on a fait l'étude des activités antibactérienne et cicatrisante de *blackstonia perfoliata*. L'extraction par solvant des éléments aérodynamiques de la plante ont conduit à obtenir le rendement d'environ 7.19%.

L'étude de l'activité antimicrobienne déterminée sur milieu liquide, a permis de mettre en évidence une activité sur les souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus lors d'un essai *in vivo* de l'étude l'activité cicatrisante sur des rats wistar, ont montré que la crème préparé à base d'extrait de *Blackstonia perfoliata*, permettait d'obtenir une cicatrisation relativement rapide et de bonne qualité.

Mots-clés: *Blackstonia perfoliata*, activité cicatrisante, l'activité antimicrobienne.

Abstract:

Nowadays, a large number of medicinal and aromatic plants were the objects of studies of scientific researchers had their uses in many fields of medicine, pharmacy, biological properties, cosmetics and agriculture. In this work was the study of antibacterial and healing activities *Blackstonia perfoliata*.

Solvent extraction (acetone) of the aerodynamic elements of the plant have resulted in obtaining the gain which is relatively estimated at approximately 7.19%.

In vivo results after the application of the ointment made from the extract *Blackstonia perfoliata* on witnesses showed good healing power.

in vitro in a liquid medium antimicrobial activity reveal inhibition of *Staphylococcus aureus*, and a slight Rating Decrease pushed *Pseudomonas aeruginosa* these results indicate that the extract of the plant has a good activity against the latter .

Keywords: *Blackstonia perfoliata*, healing activity, antimicrobial activity.

ملخص:

إلى يومنا هذا، كان عدد كبير من النباتات الطبية و العطرية موضوع بحوث و دراسات للعديد من العلماء، نظرا لاستعمالاتها العديدة في مختلف المجالات مثل الطب الصيدلة علم الأحياء و التغذية و التجميل.

في هذا العمل تطرقنا إلى الخصائص ضد بكتيرية و العلاجية لنبتة البلاستونيا برفوليات .

حيث أنتج الاستخلاص عن طريق المذيب (الأستون) للعناصر الديناميكية- الهوائية للنبتة فوائد قدرت بـ: 7,19 % .

في وسط سائل و في ظروف مخبريه ، قام النشاط ضد بكتيري للنبتة بكبح نمو المكورات العنقودية الذهبية و التقليل من نمو بكتيريا الزائفة الزنجارية، هذه النتائج برهنت أن مستخلص هذه النبتة له تأثير كبير على هاتين الأخيرتين .

وعند وضع مرهم مصنوع من عنصر البلاستونيا برفولياتا على جسم عدة شهود لاحظنا قدرة جيدة لالتأم و شفاء الجروح.

الكلمات الرئيسية: بلاستونيا برفولياتا، نشاط لالتأم ، نشاط ضد بكتيري