



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Spécialité :** Biochimie

**Intitulé :**

**Etude de la toxicité subaiguë de l'extrait de l'*Ephedra alata alenda* chez les souris femelles BALB/c**

**Présenté par :** - HEDHOUD Zouina

- MADOU Ibtissem

**Soutenu le 07 / 07 / 2022, Devant le Jury :**

Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
<b>Président :</b> M <sup>me</sup> BENOUDAH Zohra	MCB	Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA
<b>Encadrant :</b> M <sup>me</sup> BOUMAIZA SOUAD	MAA	Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA
<b>Examineur :</b> M <sup>me</sup> SLIMANI Ouardia	MAA	Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA

**Année universitaire : 2021/2022**



# Dédicace

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail :*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon chère père : **MORADE**.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **RACHIDA**.*

*A mes chères sœurs : **ASMA, IMENE, FOUZIA, HOUDA**, qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A toutes les familles **MADOUI** et **ACHACHA***

*A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.*

*A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès*

*A mon binôme «**Zouina**» qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*A tous mes collègues de la promotion 2022 de Biochimie.*

*À mes plus beaux amis : Fatima, Amira, Narimen , Donia , Imane. À tous mes amies*

*A tous ceux que j'aime*



**IBTISSEM**



# *Dédicace*

*A l'aide d'ALLAH tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie  
Je dédie ce travail A mes chers parents, mon père **Rabah** et ma mère  
**Houria**.*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement  
tout au long de ma vie.*

*A mes frères **Salah Eddine**, **Abdelbasset**, **Mohamed** et **Islam***

*À toute ma famille **Hedhoud** de près ou de loin.*

*A mon encadrante **BOUMAIZA Souad** qui m'a fait l'honneur de  
réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa  
disponibilité et ses conseils judicieux.*

*A mon binôme **Ibtissem** qui a partagée avec moi les moments difficiles  
de ce travail et son famille.*

*A La promotion de master 2 biochimie.*

*A mes très chères amies **Mounira** et **Katr El Nada**.*

*À tous ceux qui me connais-Je dédie ce modeste travail*

*Zouina*





# Remerciements

*Louange à Dieu*

*Nous remercions en premier lieu **ALLAH** le tous puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.*

*Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement à Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu.*

*À notre encadreur **BOUMAIZA SOUAD** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience,... tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.*

*Merci aux membres du jury : Docteur **SLIMANI OUARDIA** et Docteur **BENOUADAH ZOËRA**, d'avoir accepté d'évaluer notre travail.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à pour l'honneur Docteur **BENOUADAH ZOËRA** qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance Docteur **SLIMANI OUARDIA** à d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à lui exprimer notre grand respect.*

*Un grand merci aux **Pr. Moulay BELKHODJA** (Université d'Oran) et **Pr. Hachemí BENHASSAINI** (Université de Sidi Bel Abbès) qui sont identifiés l'espèce de la plante.*

*Je voudrais également adresser mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'Anatomie Pathologique dans l'HOPITAL BOUZIDI LAKHDER et spécialement **DR. GHRAIB, DR. CHATAR** et **DR. BOUGUEFFA** de m'avoir aidé pour la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.*

*On adresse aussi nos remerciements à tout l'ensemble des membres du laboratoire de département de science de la nature et de la vie, Université Mohamed el Bachir el Ibrahim bordj BouArreridj, sans oublier **M. MAKHUOKH***

*Nous remercions tout particulièrement **M. SOUISSE** pour ces efforts et ces encouragements.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué à ce travail, directement ou indirectement*



## TABLE DES MATIERES

Dédicaces	
Remerciements	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumés	
Introduction.....	1
<b>RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>I. Présentation de la plante : <i>Ephedra alata alanda</i>.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Famille des <i>Ephedraceae</i>.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. L'espèce <i>Ephedra alata alanda</i>.....</b>	<b>2</b>
1.2.1. Position systématique.....	2
1.2.2. Noms vernaculaires.....	2
1.2.3. Origine et répartition géographique.....	3
1.2.4. Description botanique.....	3
<b>1.3. Usages d'<i>Ephédra</i>.....</b>	<b>4</b>
1.3.1. Médecine traditionnelle.....	4
1.3.2. Pharmacologie.....	5
<b>1.4. Toxicité d'<i>Ephédra</i>.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5. Phytochimie de la plante.....</b>	<b>7</b>
1.5.1. Mécanisme d'action des alcaloïdes d'éphédrine.....	8
<b>1.6. Activités biologiques de l'<i>Ephédra</i>.....</b>	<b>8</b>
1.6.1. Antimicrobienne.....	8
1.6.2. Antioxydant.....	9
1.6.3. Anti-inflammatoire.....	9

<b>1.6.4. Anticancéreuse.....</b>	<b>9</b>
<b>1.6.5. Effet sur la masse corporelle.....</b>	<b>10</b>
<b>1.6.6. Effet hypoglycémiant.....</b>	<b>10</b>
<b>1.6.7. Action sur la pression artérielle.....</b>	<b>10</b>
<b>1.6.8. Effets neurocomportementaux.....</b>	<b>10</b>

## **PARTIE PRATIQUE**

### **Matériel et méthodes**

<b>I. Matériel....</b>	<b>11</b>
<b>1. Produits utilisés .....</b>	<b>11</b>
<b>2. Matériel biologique .....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Matériel végétal .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Matériel animal .....</b>	<b>12</b>
<b>II. Méthodes.....</b>	<b>13</b>
<b>1. Extraction.....</b>	<b>13</b>
<b>2. Calcule du rendement d'extraction.....</b>	<b>13</b>
<b>3. Protocol experimental.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 Etude de la toxicité aiguë.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2. Etude de la toxicité subaiguë.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2.1. Entretien des animaux.....</b>	<b>14</b>
<b>4. Evaluation de la toxicité.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1. Mesure des poids.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2. Tests neurocomportementaux.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.1. Test de nage forcé (Forced Swimming Test).....</b>	<b>16</b>
<b>4.2.2. Test des champs ouverts (Open field test).....</b>	<b>17</b>
<b>4.2.3. Test du labyrinthe en croix (plus maze test).....</b>	<b>18</b>
<b>4.3. Sacrifice et prélèvement du sang et des organes.....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.1. Sacrifice.....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.2. Prélèvement des organes.....</b>	<b>20</b>
<b>4.3.3. Mesure des poids relatifs.....</b>	<b>20</b>

<b>4.4. Analyses sanguines.....</b>	<b>20</b>
<b>4.5. Etude histologique des organes.....</b>	<b>20</b>
<b>4.6. Activité cicatrisante des plaies.....</b>	<b>21</b>
4.6.1. Préparation des extraits.....	21
4.6.2. Animaux.....	21
4.6.3. Protocole expérimental.....	21
4.6.4. Test d'irritation cutanée.....	21
4.6.5. Activité de cicatrisation.....	21
<b>4.7. Analyses statistique.....</b>	<b>22</b>

## **Résultats et Discussion**

<b>1. Résultats.....</b>	<b>23</b>
<b>1.1. Etude toxicologique <i>in vivo</i>.....</b>	<b>23</b>
1.1.1. Toxicité aiguë.....	23
1.1.2. Toxicité subaiguë.....	23
<b>1.2. Effet cicatrisant d'<i>Ephedra alata alenda</i>.....</b>	<b>33</b>
<b>2. Discussion.....</b>	<b>35</b>
<b>2.1. Etude toxicologique <i>in vivo</i>.....</b>	<b>35</b>
2.1.1. Toxicité aiguë.....	35
2.1.2. Toxicité subaiguë.....	35
<b>2.2. Effet cicatrisant d'<i>Ephedra alata alenda</i>.....</b>	<b>38</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>

## **Références Bibliographiques**

## **Annexes**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> La position systématique d'Ephédra alata .....	2
<b>Tableau II :</b> La nomenclature de l'ephedra .....	3
<b>Tableau III :</b> Les produits chimiques utilisés .....	11
<b>Tableau IV :</b> Poids corporel après un traitement de 14 jours par l'extrait aqueux d' <i>E.alata alenda</i> .....	23
<b>Tableau V :</b> Poids relatifs des organes après un traitement de 21 jours par l'extrait aqueux d' <i>E.alata alenda</i> .....	24
<b>Tableau VI :</b> Le temps pris dans le centre, les bras ouverts et les bras fermés de test de labyrinthe en croix .....	25
<b>Tableau VII :</b> Le nombre d'entrée dans le centre, les bras ouverts et les bras fermés et le nombre total des entrées dans les deux bras de test de labyrinthe en croix .....	26
<b>Tableau VIII :</b> Le temps de mobilité et d'immobilité de test de natation forcée .....	28
<b>Tableau IX :</b> Le temps pris et le nombre d'entrée dans le centre et dans le périphérique de test des champs ouverts .....	28

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	Répartition mondiale du genre <i>Ephedra</i> .....	3
<b>Figure 02 :</b>	Photos originales de l'espèce végétale <i>Ephedra alata</i> sur le lieu de récolte : vue générale « A » ; rameaux « B » ; fleurs « C » et racines « D » .....	4
<b>Figure 03 :</b>	structure d'éphédrine .....	8
<b>Figure 04 :</b>	structure de pseudoéphédrine .....	8
<b>Figure 05 :</b>	A : Arbuste d' <i>Ephedra alata alenda</i> , B : les parties aériennes de la plante .....	11
<b>Figure 06 :</b>	Situation géographique du site de récolte .....	12
<b>Figure 07 :</b>	Souris BALB/c femelles pendant les essayes .....	12
<b>Figure 08 :</b>	Protocole de préparation de l'extrait hydro-méthanolique par décoction .....	13
<b>Figure 09 :</b>	Administration orale par gavage .....	14
<b>Figure 10 :</b>	Schéma récapitulatif du protocole expérimental .....	15
<b>Figure 11 :</b>	Mesure du poids d'une souris .....	16
<b>Figure 12 :</b>	le test de nage forcé .....	17
<b>Figure 13 :</b>	Test des champs ouverts .....	18
<b>Figure 14 :</b>	Test du labyrinthe en croix .....	19
<b>Figure 15 :</b>	la dissection des souris .....	19
<b>Figure 16 :</b>	Les étapes de Prélèvement des organes (A : B : pèse, C : stockage) .....	20
<b>Figure 17 :</b>	L'évolution du poids corporel des souris traités par l'extrait aqueux d' <i>E.alata alenda</i> en comparaison avec le groupe témoin, Pendant une durée de 14 jours.....	24
<b>Figure 18 :</b>	L'évolution du poids relatif des organes des souris après un traitement de 21 jours par l'extrait aqueux d' <i>E.alata alenda</i> en comparaison avec le groupe témoin .....	25
<b>Figure 19 :</b>	L'évolution du temps pris dans le centre, les bras ouverts et les bras fermés de test de labyrinthe en croix en comparaison avec le groupe témoin .....	26
<b>Figure 20 :</b>	Nombre d'entrées (A : au centre, les bras ouverts et les bras fermés, B : le nombre total des entrées dans les deux bras) en comparaison avec le groupe témoin .....	27
<b>Figure 21 :</b>	L'évolution du temps de mobilité et d'immobilité de test de natation forcée en comparaison avec le groupe témoin .....	28
<b>Figure 22 :</b>	L'évolution du test des champs ouverts (A : temps pris, B : nombre d'entrée) en comparaison avec le groupe témoin .....	29
<b>Figure 23 :</b>	Coupes Histologiques des tissus hépatique et rénal des souris témoins ayant reçu de l'eau physiologique par voie orale .....	

.....	30
<b>Figure 24 :</b> Coupes Histologiques des tissus hépatique et rénal des souris traitées par 100 mg/kg de l'extrait pendant 14 jours .....	31
<b>Figure 25 :</b> Coupes Histologiques de la toxicité subaigüe après un traitement de 14 jours des souris du groupe ayant reçu de l'extrait à la dose 150 mg/kg .....	31
<b>Figure 26 :</b> Coupes Histologiques des tissus hépatique, rénal et pulmonaire des souris témoins .....	32
<b>Figure 27 :</b> Coupes Histologiques des tissus hépatique, rénal et pulmonaire des souris traitées par 100 mg/kg de l'extrait pendant 21 jours .....	32
<b>Figure 28 :</b> Coupes Histologiques des tissus hépatique, rénal et pulmonaire des souris traitées par 150 mg/kg de l'extrait pendant 21 jours .....	33
<b>Figure 29 :</b> Chronologie de la cicatrisation des plaies dans différents groupes traités .....	34

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>AP</b>	Alvéole pulmonaire
<b>AQ</b>	Aqueux
<b>CIC</b>	Cicatryl-Bio
<b>CV</b>	Congestion vasculaire
<b>DV</b>	Dilatation vasculaire
<b>EAEA</b>	Extrait aqueux de l'éphedra alata
<b>EP</b>	Espace porte
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FST</b>	Forced Swimming Test (Test de natation forcée)
<b>GL</b>	Glomérule
<b>HL</b>	Hémorragie légère
<b>HM</b>	Hémorragie modérée
<b>IGN</b>	Inflammation glomurélonéphrite
<b>II</b>	Infiltrat inflammatoire
<b>IM</b>	Inflammation modérée
<b>NL</b>	Nécrose lobulaire
<b>ns</b>	non significatif
<b>OFT</b>	Open Field Test (Test des champs ouverts)
<b>PMT</b>	Plus Maze Test (Test de Labyrinthe en croix)
<b>VCL</b>	Veine Centro Lobulaire

## Résumé

La plante d'*Ephédra alata alenda*, connue localement sous le nom d'Alenda, est une plante de la famille d'*Ephedracea*. Cette plante contient de nombreux métabolites secondaires, dont des alcaloïdes, et parmi les principaux alcaloïdes qui composent la plante, "l'éphédrine" est responsable d'une part de la toxicité et d'autre part possède de nombreuses propriétés thérapeutiques.

Le but de cette recherche est d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë et les propriétés cicatrisantes de l'extrait d'*Ephédraalataalenda*, en plus d'évaluer le comportement nerveux et le degré d'anxiété chez les souris traités avec cet extrait.

Pour la toxicité aiguë, l'administration orale de 250 mg d'extrait/kg a causé la mort de 3 souris sur 8 après 2 h, 5 h et 6 h. Quant à la toxicité subaiguë, une dose de 100 mg/kg et une dose de 150 mg/kg ont entraîné une diminution significative du poids des animaux, et une légère atteinte de la structure tissulaire du foie et des reins a été observée après une période de traitement qui a duré 14 jours. Mais après un traitement de 21 jours, une diminution très hautement significative du poids a été observée et des lésions plus développées au niveau du foie, des reins et même des poumons. Quant au comportement nerveux, il a été évalué en réalisant trois tests, le test du labyrinthe en croix, qui a montré que l'extrait a des propriétés anti-stress et anti-anxiété en évitant d'entrer dans les bras fermés et en se déplaçant vers les bras ouverts et en y consommant plus de temps par rapport aux souris témoins. En ce qui concerne le test de nage forcée et le test de champs ouvert, nous n'avons enregistré aucune différence significative. L'évaluation histopathologique des organes (foie, reins et poumons) n'a montré aucun changement histologique du groupe témoin. Néanmoins, l'étude histologique de souris traitées par l'extrait hydro méthanolique de *l'ephedra alata alenda*, après 14 et 21 jour de traitement (la dose 100 et 150 mg/kg) montre une dégradation et la mort des cellules hépatiques, une inflammation glomérulonéphrite, un parenchyme pulmonaire congestif et siège de suffusion hémorragique. Quant à la cicatrisation, l'examen macroscopique des souris blessées a montré que l'extrait d'éphédra était efficace pour accélérer le processus de cicatrisation, que ce soit à faible concentration (5%) ou à forte concentration (10%).

**Mots clés:** *Éphédra alata alenda*, toxicité, aiguë, subaiguë, neurocomportement, cicatrisation.

## الملخص

تتنمي نبتة العلندة إلى عائلة العلنديات و تحتوي على العديد من المستقلبات الثانوية من بينها القلويدات ومن بين القلويدات الأساسية المكونة للنبتة "الايبيدين" المسؤول من جهة عن سمية النبتة و امتلاكه العديد من الخصائص العلاجية من جهة اخرى.

الهدف من هذا البحث هو تقييم السمية الحادة و الشبه حادة و تقييم خاصية التئام الجروح لمستخلص العلندة. إضافة الى ذلك تقييم السلوك العصبي ودرجة القلق عند الفئران المعالجة بهذا المستخلص.

بالنسبة للسمية الحادة، تسبب تجريع 250 ملغ/كغ في موت 3 فئران من أصل 8 بعد ساعتين، 5 ساعات و 6 ساعات على التوالي. أما بالنسبة للسمية الشبه الحادة، تسببت جرعة 100 ملغ/كغ و جرعة 150 ملغ/كغ بحدوث انخفاض واضح في وزن الحيوانات كما لوحظ تلف طفيف في البنية النسيجية للكبد و الكلى وذلك بعد مدة علاج دامت 14 يوماً. أما بعد علاج مدته 21 يوماً فلوحظ انخفاض جد واضح في الوزن و تلف أكثر تطوراً في الكبد و الكلى وحتى الرئتين. أما بالنسبة للسلوك العصبي فقد تم تقييمه عن طريق اجراء ثلاث اختبارات، اختبار المتاهة الذي بيّن ان للمستخلص خاصية مضادة للتوتر و القلق وذلك بتفادي الدخول للأذرع المغلقة و الاتجاه نحو الأذرع المفتوحة واستغراق وقت أكبر فيها مقارنة بالفئران الغير معالجة. أما اختبار السباحة القسرية و اختبار المجال المفتوح فلم نسجل أي اختلاف بين الفئران. لم يظهر تقييم الأنسجة المرضية للأعضاء (الكبد ، الكلى ، الرئتين) أي تغيرات نسيجية من المجموعة الغير معالجة . بينما أظهرت الدراسة النسيجية للفئران التي عولجت بمستخلص النبتة بعد 14 و 21 يوماً من العلاج (جرعة 100 و 150 مجم / كجم) تدهوراً للخلايا الكبدية وموتها ، والتهاب كبيبات الكلى ، احتقان و نزيف رئوي. أما بالنسبة لالتئام الجروح فان الفحص العيني للفئران المجروحة أظهر أن لمستخلص العلندة فعالية كبيرة في تسريع عملية التئام الجرح سواء بتراكيز منخفضة (5%) او تراكيز عالية (10%).

**الكلمات المفتاحية:** الايبيديرا، السمية ، الحادة، الشبه حادة، السلوك العصبي، التئام الجروح.

## **Abstract**

The plant of *Ephedra alata alenda*, known locally as Alenda, is a plant of the family *Ephedracea*. This plant contains many secondary metabolites, including alkaloids, and among the main alkaloids that make up the plant, "ephedrine" is responsible on the one hand for toxicity and on the other hand has many therapeutic properties.

The aim of this research is to evaluate the acute and sub-acute toxicity and the healing properties of the *Ephedraalataalenda* extract, in addition to evaluating the nervous behavior and the degree of anxiety in rats treated with this extract.

For acute toxicity, a dose of 250 mg/kg caused the death of 3 out of 8 mice after 2 h, 5 h and 6 h of administration. As for sub-acute toxicity, a dose of 100 mg/kg and a dose of 150 mg/kg caused a significant decrease in the weight of the animals, and slight damage to the tissue structure of the liver and kidneys was observed after a treatment period lasting 14 days. But after a 21-day treatment, a very highly significant decrease in weight was observed and more developed lesions in the liver, kidneys and even lungs. As for the nervous behavior, it was evaluated by performing three tests, the cross maze test, which showed that the extract has anti-stress and anti-anxiety properties by avoiding entering the closed arms and moving to the open arms and consuming more time there compared to control mice. Regarding the forced swimming test and the open field test, we did not register any difference between the mice.

Histopathological evaluation of organs (liver, kidney, lung) showed no microscopic and histological changes in the control group. The histological study of the mice treated with the hydro methanolic extract of ephedra alata alenda, after 14 and 21 days of treatment (the dose 100 and 150 mg/kg) shows a degradation and death of the hepatic cells, a glomerulonephritis inflammation, a congestive pulmonary parenchyma and seat of hemorrhagic suffusion. As for wound healing, macroscopic examination of the injured mice showed that ephedra extract was very effective in accelerating the wound healing process, both at low concentrations (5%) and at high concentrations (10%).

**Keywords:** *Ephedraalataalenda*, toxicity, acute<sup>s</sup> sub-acute, nervous behavior, wound healing

# INTRODUCTION

## Introduction

La médecine traditionnelle constitue certainement une part intégrale de la culture de la population algérienne. Il est noté depuis longtemps un recours à la médecine traditionnelle grâce à la richesse et la diversité de sa flore, qui constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques **(Bouزيد et al., 2016)**.

Parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, l'ethnobotanique qui permet de traduire le savoir-faire populaire en savoir scientifique **(Lahsissene et al., 2009)**. Par ailleurs, les herbes vendues par les herboristes et les plantes de cueillette peuvent représenter un réel danger pour la santé. En effet, plusieurs études réalisées sur les traitements traditionnels à base de plantes ont fait état de problèmes de toxicité ou d'interaction pouvant causer des échecs thérapeutiques ou des accidents. D'autre part, les principes actifs toxiques des plantes sont peu connus, essentiellement du fait de leur complexité naturelle, d'où l'importance de leur exploration, en guise de mettre en évidence leurs domaines d'utilisation ainsi que leurs effets thérapeutiques **(Boumediou et Adoun, 2017)**.

Les espèces de la famille des Ephedraceae, représentés par un seul genre «*Ephedra*», sont connus pour leurs nombreux usages en médecine traditionnelle dans le monde. Il est de notoriété publique que *Ephedra alata alanda* est une plante médicinale qui possède des propriétés thérapeutiques, dont anti-oxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires. Elle est connue aussi pour ses effets efficaces dans le traitement de nombreuses maladies telles que le diabète, le rhume, la congestion nasale, la fièvre, les allergies et l'asthme **(Kebeli, 2016)**.

L'objectif de notre étude était d'expérimenter les effets de l'extrait de l'*ephedra alata alanda* sur les souris femelles dans les conditions de la toxicité subaiguë. Les paramètres de toxicités étudiés étaient :

- Le poids corporel et les poids relatifs des organes ;
- Etude anatomopathologique ;
- Effets neuro-comportementaux

Ainsi, l'activité cicatrisante de plante a été étudiée.

**RAPPEL**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## Présentation de la plante : *Ephedra alata alanda*

### 1.1. Famille des Ephedraceae

La famille des *Ephedraceae* représentée par le seul genre *Ephedra* inclue environ 40 espèces dans le monde (Evans, 2009). Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes (Limberger et al., 2013).

### 1.2. L'espèce *Ephedra alata alanda*

#### 1.2.1. Position systématique

La systématique d'*Ephedra alata alanda*, est donnée dans le tableau I.

**Tableau I:** La position systématique d'*Ephedra alata* (Ozenda, 1991).

<b>Règne</b>	Végétale
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous Embranchement</b>	Gymnospermes
<b>Classe</b>	Genetopsida
<b>Ordre</b>	Ephedrales
<b>Famille</b>	Ephedraceae
<b>Genre</b>	<i>Ephedra</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ephedra alata</i>
<b>Sous espèce</b>	<i>Ephedra alata alanda</i>

#### 1.2.2. Noms vernaculaires

Le tableau n=°2 représente les noms vernaculaires de l'*Ephédra* dans certains pays. Selon les herboristes et les personnes pratiquants la médecine traditionnelle cette plante est appelée dans l'Algerie Alenda.

**Tableau II:** La nomenclature de l'*Ephédra* (Dennis et al., 2002).

Nom	Pays
Ephedra	Europe
Ma huang	Chine
Ma kon ou Mao	Japon
العنددة	Algérie

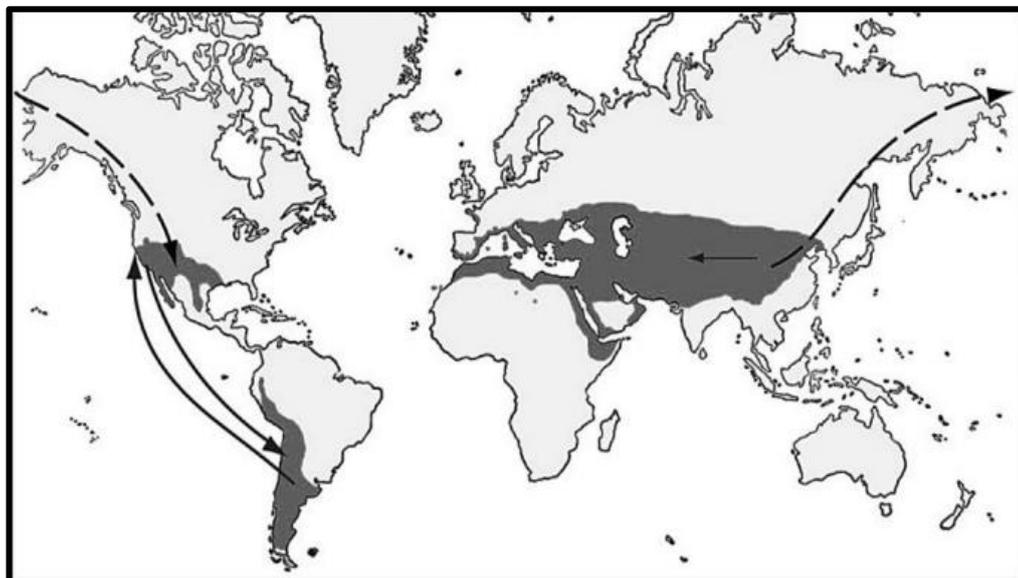
### 1.2.3. Origine et répartition géographique

*E.alata* est une plante originaire des régions tempérées et latitudes subtropicales de:

- L'Afrique: Algérie; Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad et Mali ;
- L'Asie : Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie et Syrie. Elle pousse surtout dans le nord et l'ouest de la Chine, le nord de l'Inde ;
- l'Amérique : aux États-Unis. L'éphédra pousse le long des montagnes Rocheuses (**Bell et Bachman, 2011 ; Al-Snafi, 2017**)

En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (**Ozenda, 1991**).

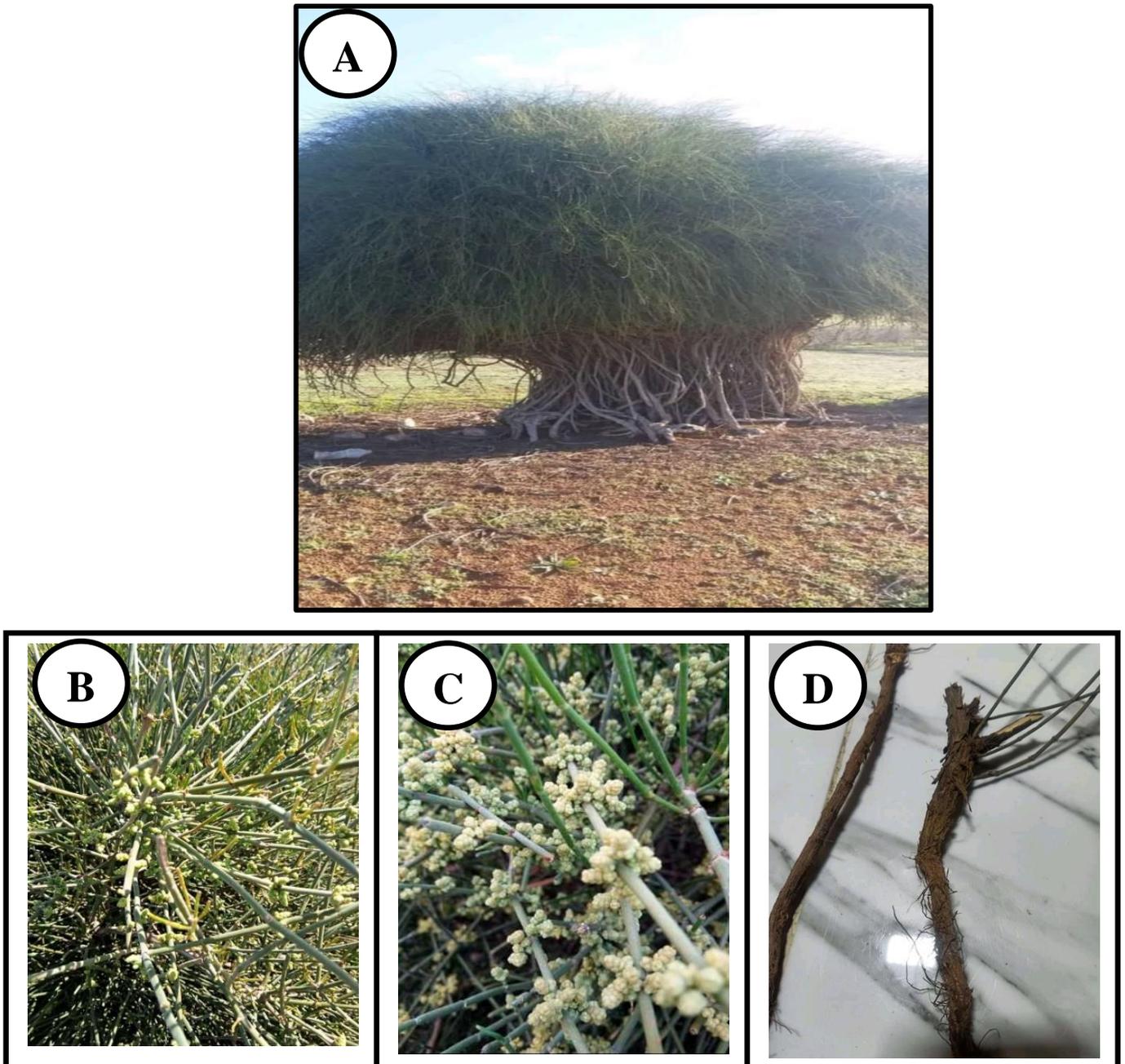
Cette plante est une excellente espèce fixatrice de sable éolien. Toutefois, la qualité de son charbon de bois, apprécié par les populations sahariennes, l'expose au phénomène du déboisement (Figure 1).



**Figure 1 :** Répartition mondiale du genre *Ephedra* (ombrage foncé) (Croze, 2017).

1.2.4. Description botanique

Il s'agit d'un arbuste de 1 à 3 mètres de hauteur (Figure 2-A), caractérisé par des rameaux articulés (B) qui portent au niveau des nœuds des feuilles réduites en écailles et opposées. Les fleurs unisexuées sont groupées en petits cônes (C). Les fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds différents. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (D) (Hadjadj et al, 2020).



**Figure 2** : Photos originales de l'espèce végétale *Ephédra alata* sur le lieu de récolte :  
vue générale « A » ; rameaux « B » ; fleurs « C » et racines « D ».

### 1.3. Usages d'Ephédra

#### 1.3.1. Médecine traditionnelle

Les espèces d'*Ephédra* ont une longue histoire dans la médecine traditionnelle chinoise (environ 5 000 ans), parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité avec des utilisations dans le traitement des allergies, de la congestion nasale, de l'asthme bronchique, de la toux et de la grippe (**Abourashed et al., 2003 ; Hegazi et El-Lamey, 2011**).

✚ Au Japon, *Ephedra* est utilisée comme antitussif, expectorant, analgésique, antipyrétique et agent bronchodilatateur (**Amakura et al., 2013**).

✚ Les Amérindiens et les Espagnols du sud-ouest des États-Unis utilisaient l'*Ephedra* à diverses fins médicinales, en particulier dans le traitement des maladies vénériennes (**Al-Snafi, 2017**).

✚ La plante était également traditionnellement utilisée en Russie pour les troubles respiratoires et les rhumatismes pendant de nombreux siècles.

✚ *E. alata* a été couramment utilisée dans la médecine traditionnelle en Egypte et la plupart des pays arabes. En Egypte, *E.alata* est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent (**Nawwar et al., 1984**). En Arabie Saoudite, Ephédra est l'une des plantes de parcours les plus répandues. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable (**AL-Qarawi et al., 2012**). En Palestine, elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe et les maux de tête (**Al-Rimawi et al., 2017**).

✚ Enfin, en Algérie, *Ephedra alata* est utilisée contre la grippe, les troubles respiratoires et la faiblesse générale en tisane et par inhalation, ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes (**Ould El Hadj et al., 2003**). Une enquête ethnobotanique, auprès de herboristes et des malades atteints du cancer, qui a été menée dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj a montré que cette plante est largement utilisée aussi pour le traitement de l'hypotension, toux, diabète et surtout le cancer (**Bengdouad et Taleb, 2021**).

Les parties utilisées dans la médecine traditionnelle sont les feuilles et les rameaux (**Ould El hadj et al., 2003**) et aussi les tiges verts séchés, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud (**Abourashed et al., 2003**).

### 1.3.2. Pharmacologie

La tige de *E. alata* contient des alcaloïdes (éphédrine, pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthyle pseudoéphédrine) qui sont utilisés pour le traitement de certaines maladies graves comme le cancer, les maladies inflammatoires, l'asthme et les maladies virales. Elle contient aussi des flavonoïdes qui constituent la catégorie la plus importante de polyphénols. Ces molécules sont très réputées pour leurs vertus antioxydants (**Al-snafi, 2017 ; Yahaoui et Silat, 2017**).

L'éphédrine est un sympathomimétique indirecte. Structuralement très proche de l'adrénaline.

- Elle provoque la libération des catécholamines endogènes des fibres sympathiques postganglionnaires.
- Elle stimule l'automatisme cardiaque et exerce une activité inotrope positive (l'éphédrine accélère les mouvements respiratoires bulbaires).
- Elle affaiblit les capacités contractiles de la vessie.
- Difficilement dégradé, elle est utilisable par voie orale et son action est plus durable que celle de l'adrénaline bien résorbée, fortement lipophile, l'éphédrine franchit la barrière hémato-encéphalique et libérant les médiateurs au niveau centrale.
- Induit une action psychostimulante de type amphétaminique (stimulation de l'attention et de la capacité de concentration, diminution de la sensation de fatigue et du besoin de sommeil, etc.).
- L'éphédrine induit un phénomène de tachyphylaxie (une disparition rapide des effets lors d'administrations répétées) (**Bruneton, 2009**).

La pseudoéphédrine a montré une forte activité diurétique dans des expériences sur des chiens et des lapins (**Blumenthal et King, 1995**).

## 1.4. Toxicité d'éphedra

Toutefois, la phytothérapie n'a pas que des effets bénéfiques. Comme tout produit actif, elle peut avoir des effets indésirables, toxiques et allergiques. Des études sur les propriétés phytochimiques ou biologiques de plusieurs produits végétaux ont démontré l'action et le potentiel toxique de ces produits sur les systèmes cellulaires des mammifères (**Aline, 2010**). Cette toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose, de la durée d'exposition et de différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal) (**Tron, 2002**).

À fortes doses, l'éphédrine provoque de la nervosité, des maux de tête, de l'insomnie, des vertiges, des palpitations, des rougeurs de peau, des picotements et des vomissements. Selon le manuel des médicaments en vente libre qui a noté : "Les principaux effets indésirables de l'éphédrine sont la stimulation du système nerveux central, les nausées, les tremblements, la tachycardie [battement de cœur rapide] et la rétention urinaire."

Un groupe consultatif de la FDA sur les médicaments antitussifs, contre la toux, le rhume, l'allergie, recommandait d'éviter l'éphédrine aux personnes souffrant de cardiopathie, d'hypertension, de maladie de la thyroïde, de diabète ou de miction difficile en raison d'une hypertrophie de la prostate (**Blumenthal et King, 1995**).

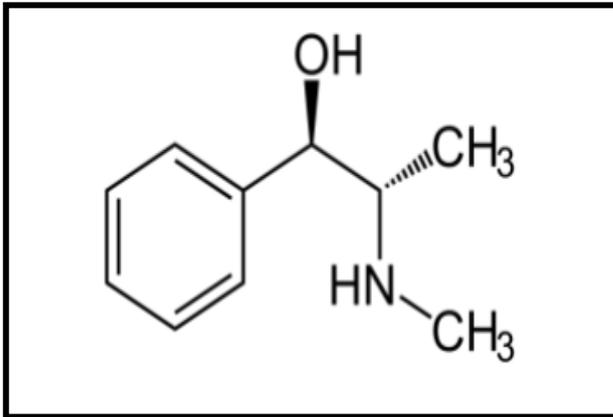
Les espèces de *Ephedra alata* ont des effets néfastes (**Ma et al., 2007**). Cliniquement, il peut en résulter une tachycardie, une hypertension, une hypersudation, une broncho dilatation, une agitation et une mydriase. L'utilisation de l'Ephédra est également connue pour être associée avec des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques (**Peters et al., 2005**). Ces effets peuvent être les raisons pour lesquelles l'utilisation de l'Ephédra est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme (**Chen et al., 2010**).

### 1.5. Phytochimie de la plante

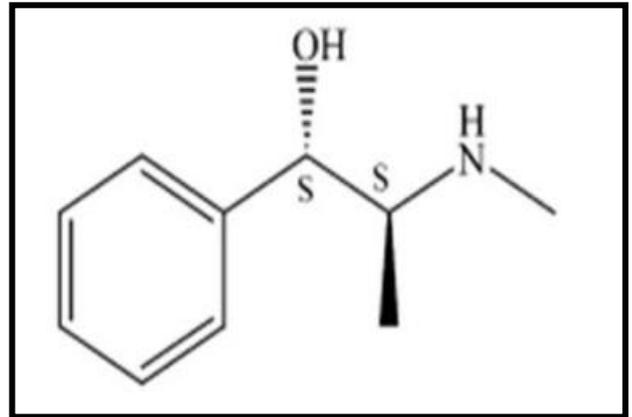
Les espèces de *Ephedra* sont des sources naturelles de nombreux phytoconstituants incluant des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des proanthocyanidines, des acides phénoliques, des flavonoïdes et des huiles essentielles (**Hegazi et El-Lamey, 2011**).

Il est bien connu dans la littérature que les propriétés biologiques traditionnelles de *Ephedra* sont attribuables en grande partie aux alcaloïdes de type éphédrine, proto-alcaloïdes dérivés de la phénylalanine (**Caveney et al., 2001**). Notons que l'éphédrine et la pseudoéphédrine sont généralement les plus abondantes, ils représentent environ 80% de la teneur en alcaloïdes dans la plante séchée (**Caveney et al., 2001 ; Soni et al., 2004 ; Phinney et al., 2005**).

En outre, les effets toxicologiques de *Ephedra alata* semblent être attribué à ses alcaloïdes de type éphédrine, principalement et pseudo éphédrine (**Chen et al., 2010 ; Limberger et al., 2013**) (Figure 3 et 4).



**Figure 3 :** Structure d'éphédrine  
(Al-Snafi, 2017)



**Figure 4 :** structure de pseudoéphédrine  
(Ganzera et al., 2005)

### 1.5.1. Mécanisme d'action des alcaloïdes d'éphédrine

En général l'éphédrine limite l'action de l'adrénaline à la fois par l'activité agoniste directe ainsi que par la libération directe de noréphédrine via un mécanisme d'échange médié par le transporteur entraînant la libération de catécholamines endogènes des fibres sympathique post-ganglionnaires (Krizevski et al., 2010).

## 1.6. Activités biologiques de l'Ephédra

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Ephedra alata* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

### 1.6.1 Activité antimicrobienne

*Ephedra alata* s'est révélée avoir une activité antivirale élevée contre le HSV (Herpes simplex virus) (Soltan et Zaki, 2009).

L'extrait aqueux de *E. alata* égyptienne présente un potentiel d'inhibition significatif *in vitro* et *in vivo* contre la croissance et la production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* (Al-Qarawi et al., 2011).

Ghanem et El-Magly (2008) ont montré que l'extrait acétonitrile de l'*E. alata* de l'Egypte présente simultanément, une forte activité contre des bactéries à GRAM+ et à GRAM- ainsi que des champignons et champignons de type levure.

L'extrait d'acétonitrile d'*E.alata* montre une activité antifongique surtout sur *Aspergillus fumigatus* (Ganems et El-Magly, 2008) et l'extrait éthanoliques de la partie aérienne de l'*E.alata* agit comme un agent bactéricide contre *Candida* spp (Danciu et al., 2019).

### 1.6.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'*Ephedra alata* était évalué par le 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazylhydrate essai. L'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* a montré une forte activité antioxydante et puissant radical libre d'oxygène capacités de récupération, la valeur IC 50 de la centrale était presque équivalent à l'antioxydant standard Trolox. Les résultats ont montré que l'*Ephédra alata* cultivé en Palestine est riche en antioxydants, phénoliques et flavonoïdes (**Al-Rimawi et al., 2017**). Leur activité antioxydante est comparable ou supérieure à celle d'*Ephedra* d'autres pays. Il existe une corrélation entre les activités antioxydantes et le contenu phénolique total, mais pas avec le contenu total en flavonoïdes. Les quatre tests d'activité antioxydante étaient fortement et significativement corrélés les uns aux autres (**Al-Rimawi et al., 2017**).

### 1.6.3. Activité anti-inflammatoire

*Ephedra alata* a été utiliser en phytothérapie traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires (**Kmail et al., 2017**).

L'extrait aqueux de l'*E.sinica* présente une propriété inhibitrice de complément à la fois dans le sérum animal et humain. Ceci pourrait expliquer l'utilisation de la plante dans la médecine chinoise traditionnelle dans le cas de néphrite aigue (**Ling et al., 1995**). Par ailleurs, **Hikino et ses collaborateurs (1980)** ont suggérés que la pseudoéphédrine est le principe actif responsable de l'activité anti-inflammatoire montrée par *E.intermedia*. **Konno et ses collègues (1979)** ont rapporté que la partie aérienne des espèces d'*Ephedra* contient de l'Ephedroxane qui s'est révélée également posséder une activité anti-inflammatoire.

### 1.6.4. Activité anticancéreuse

Certaines espèces d'*éphédra* se sont vu attribuer un potentiel anticancéreux contre diverses lignées cellulaires. Par exemple, des extraits obtenus avec différents solvants d'*Ephedra aphylla* ont montré une activité anti-proliférative contre les lignées cellulaires de cancer du sein T47D et MCF-7(**Al-Awaida et al., 2018**).

L'extrait hydroalcoolique d'*Ephedra alata Decne* a un potentiel d'effet anti-prolifératif, proapoptotique et cytotoxique contre la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7.

Dans une étude ethnopharmacologique en Palestine, *Ephedra alata* était la phytothérapie la plus utilisée pour le traitement du cancer (**Danciu et al., 2019**).

### 1.6.5. Effet sur la masse corporelle

Une étude réalisée par (**Boozer et al., 2001**) a montré qu'un mélange d'*Ephedra* et de guarana favorise efficacement et à court terme (8 semaines) la perte de poids chez des sujets en surpoids. Un tel effet a été principalement attribué à une augmentation de la tonicité

sympathomimétique entraînant une augmentation de la lipolyse et la glycogénolyse, avec la stimulation sympathique du centre de la satiété central conduisant à la suppression de l'appétit.

*1.6.6. Effet hypoglycémiant*

L'extrait alcoolique de l'*E.alata* a présenté un abaissement persistant du taux de glucose sanguin une heure après son administration à des rats à jeun (**Shabana et al., 1990**).

*1.6.7. Action sur la pression artérielle*

Les croyances chinoises prétendent que la partie aérienne et souterraine de l'*Ephedra* ont des effets opposés. Cela a été confirmé, pour l'action sur la pression artérielle, par des tests sur des animaux. Un polyphénol nommé l'Ephedrannine A isolé à partir des racines de la plante (**Hikino et al., 1982**) ainsi qu'un type mineure d'alcaloïdes dans la plante isolé de ses racines, nommé l'Ephedradine, présentaient un effet hypotensif (**Tamada et al., 1979**). Par contre, L'éphédrine augmente la pression artérielle à la fois par vasoconstriction périphérique et par stimulation cardiaque (**Abula et al, 2004 ; Ebadi, 2007**).

*1.6.8. Effets neurocomportementaux*

L'extrait méthanolique d'éphédra possède un effet inhibiteur central chez la souris, mais il a une activité antidépressive puissante, une activité antipsychotique légère et dépourvue d'activité anxiolytique (**Aburawi S et al, 2021**).

**MATERIEL**

**&**

**METHODES**

## Matériel et méthodes

### I. Matériel

#### 1. Produits utilisés

**Tableau III** : Produits chimiques utilisés

Produit	Pureté	Firme
Méthanol	99,80%	RANKEM
Ether diéthylique	99,80%	BIOCHEM
Formol	10 %	-
Xylène	90%	HONEYWELL
Eosine	-	-

#### 2. Matériel biologique

##### 2.1. Matériel végétal

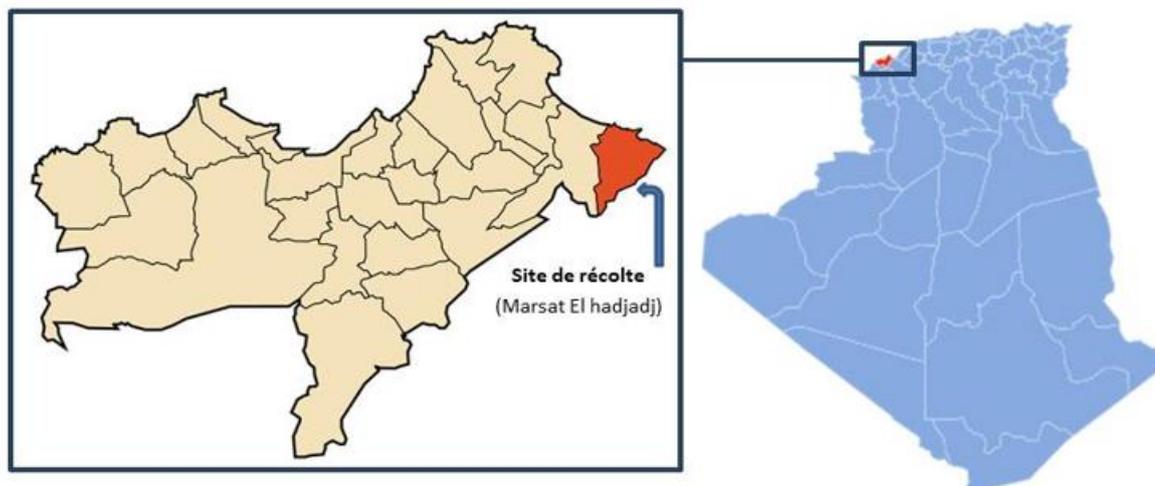
Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne (les tiges et les feuilles) de l'espèce *Ephedra alata alenda*. La récolte s'est effectuée le 27 Mars 2022, dans la commune de Marsat El hadjadj, daira de Bathioua, wilaya d'Oran (Figure 6).

L'identification botanique de la plante a été faite par Pr. Moulay BELKHODJA (Université d'Oran) et Pr.Hachemi BENHASSAINI (Université de Sidi Bel Abbès).

Après récolte, le matériel végétal (Figure 5) était séché à l'ombre et à l'air libre et à température ambiante. Environ une vingtaine de jours. Puis les parties aériennes (tiges et feuilles) étaient broyées finement et conservées dans des boîtes fermées hermétiquement.



**Figure 5** : A : Arbuste d'*Ephedra alata alenda*, B : les parties aériennes de la plante



**Figure 6 :** Situation géographique du site de récolte.

## 2.2. Matériel animal

Souris BALB/c femelles en bonne santé pesant environ 30 g, au nombre de 36, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Élevées dans la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et l'univers, de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj. Les animaux ont été placés dans un environnement de laboratoire (température ambiante 25°C et cycle naturel de lumière/obscurité) et ont reçu une quantité adéquate de granulés alimentaires standards et de l'eau *ad libitum*. Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'expérimentation pendant une quinzaine de jour (Figure 7).

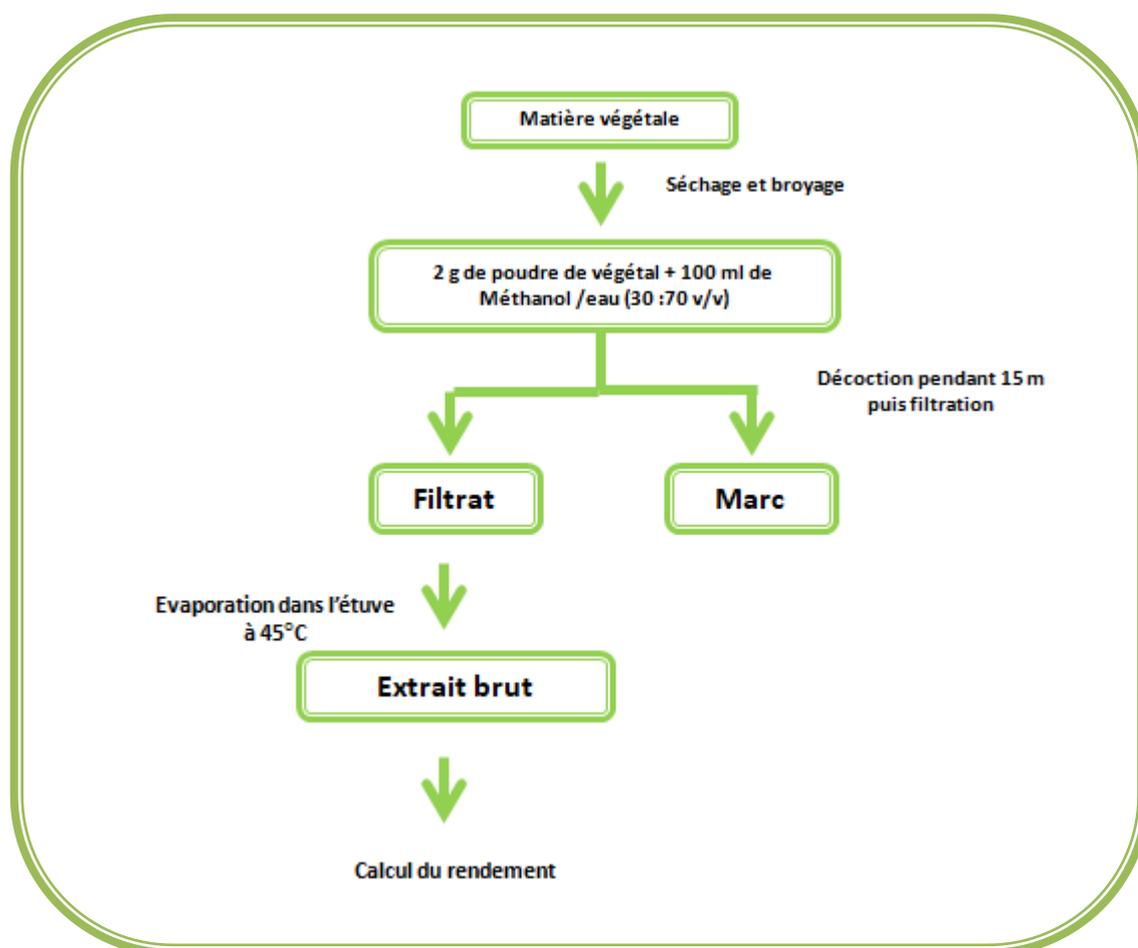


**Figure 7 :** Souris femelles BALB/c marquées pendant les essais.

## II. Méthodes

### 1. Extraction

L'extraction solide / liquide de cette plante a été réalisée par décoction. La décoction a été faite dans un mélange méthanol /eau (30 :70 v/v) pour 2 g de poudre de végétal au bain-marie pendant 15 minutes. Après refroidissement les échantillons ont été filtrés ; les filtrats ont été évaporés à sec dans l'étuve à 45°C (Figure 8).



**Figure 8** : Protocole de préparation de l'extrait hydro-méthanolique par décoction

### 2. Calcule du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été quantifié selon la formule :

$$R \% = P_{EB}/P_{MV} \times 100$$

**R** : Rendement (%).

**P<sub>EB</sub>** : Poids de l'Extrait Brut (g).

**P<sub>MV</sub>**: Poids de Matière Végétale (g).

### 3. Protocol experimental

#### 3.1 Etude de la toxicité aiguë

8 souris pesant entre 25 et 30 g ont subi une administration orale de 250 mg/kg de l'extrait hydro-méthanolique (Figure 10). Les signes d'intoxication y compris la mortalité ont été observés pendant les premières 4 heures, puis le jour suivant l'administration.

#### 3.2. Etude de la toxicité subaiguë

##### 3.2.1. Entretien des animaux

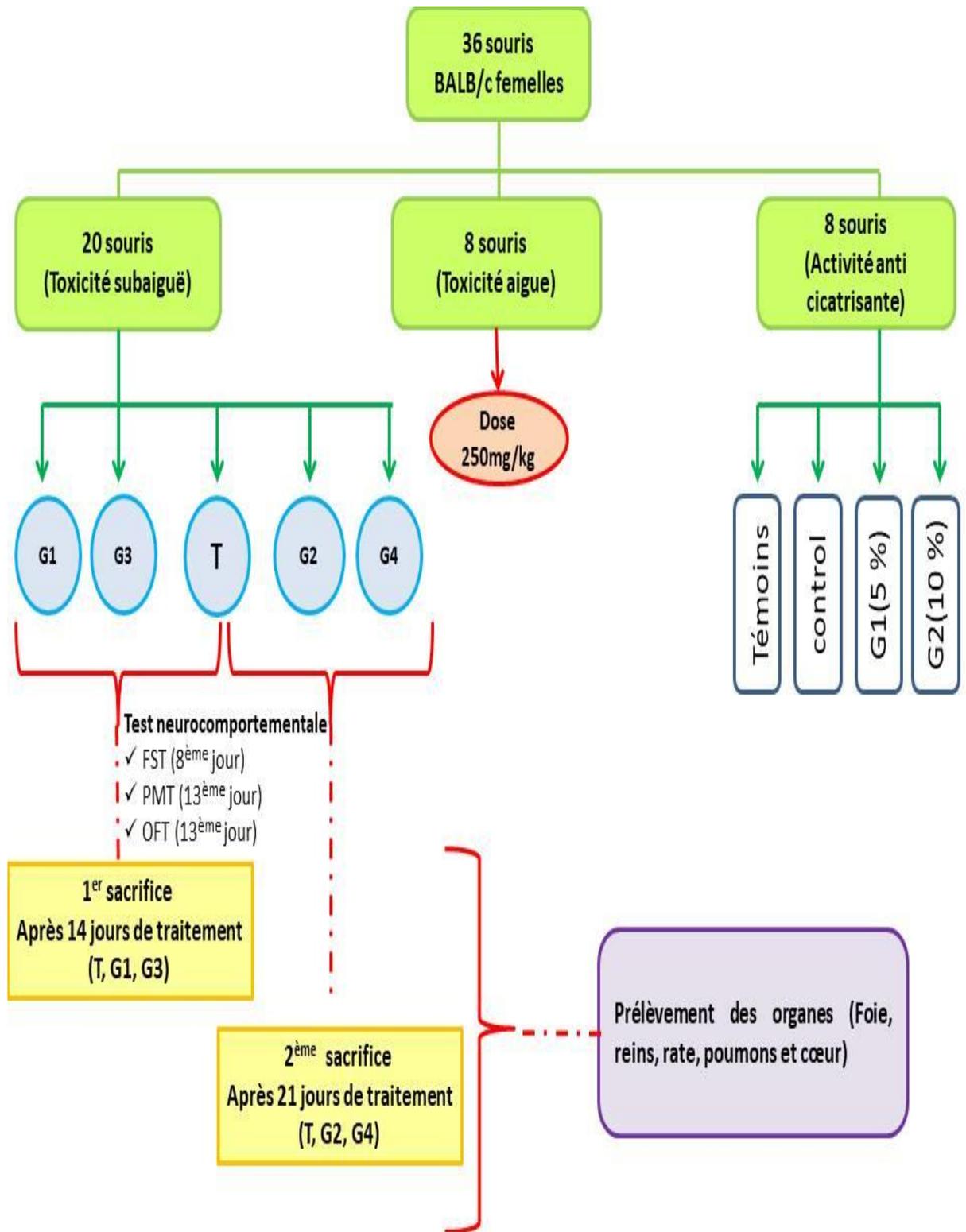
Dans le but d'évaluer la toxicité subaiguë de l'extrait hydro-méthanolique d'*Ephédra alata alenda*, nous avons utilisé 20 souris femelles de la souche BALB \c provenant de l'institut pasteur (Alger), avec un poids moyen de 25-35 g. Les souris sont mises dans des cages pour une période d'acclimatation (2 semaines), pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau, ils sont maintenus dans une animalerie à une température ambiante, à un éclairage naturel de lumière/obscurité.

Les animaux ont été répartis en 5 groupes (Figure 10), chacun contient 4 souris, Les extraits ont été solubilisés dans l'eau distillée et administré par voie orale (Figure 9) de la manière suivante :

- **Groupe témoin** : reçoit de l'eau physiologique par gavage (5j/semaine) pendant 15 jours.
- **Le 1<sup>er</sup> groupe des souris** : reçoit 100 mg/kg de l'extrait pendant 14 jours.
- **Le 2<sup>ème</sup> groupe des souris** : reçoit 100 mg/kg de l'extrait pendant 21 jours.
- **Le 3<sup>ème</sup> groupe des souris** : reçoit 150 mg/kg de l'extrait pendant 14 jours.
- **Le 4<sup>ème</sup> groupe des souris** : reçoit 150 mg/kg de l'extrait pendant 21 jours.



**Figure 9** : Administration orale par gavage.



**Figure 10:** Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

#### 4. Evaluation de la toxicité

Après les durées de traitement par l'extrait hydro-méthanolique de l'éphédra, nous avons évalués l'effet toxique de cette plante en comparant :

- ✓ Les poids corporels;
- ✓ Les résultats des tests de neurocomportementaux (FST, PMT et OFT) ;
- ✓ Les poids relatifs des organes ;
- ✓ Coupes histologiques de quelques organes.

##### 4.1. Mesure des poids

Nous avons pesé les souris pour l'évaluation des changements de poids pendant la période de traitement et nous l'avons comparé avec les souris témoins. La mesure de poids des souris est effectuée chaque jour à l'aide d'une balance numérique (figure 11).



**Figure 11** : Mesure du poids d'une souris.

##### 4.2. Tests neurocomportementaux

L'objectif des différents tests neurocomportementaux est de mettre en évidence les troubles émotionnels et cognitifs rencontrés chez les souris face aux différentes situations aversives auxquelles ils sont exposés dans les tests (Wong *et al.*, 2005). Pour atteindre cet objectif, 3 tests neurocomportementaux ont été réalisés.

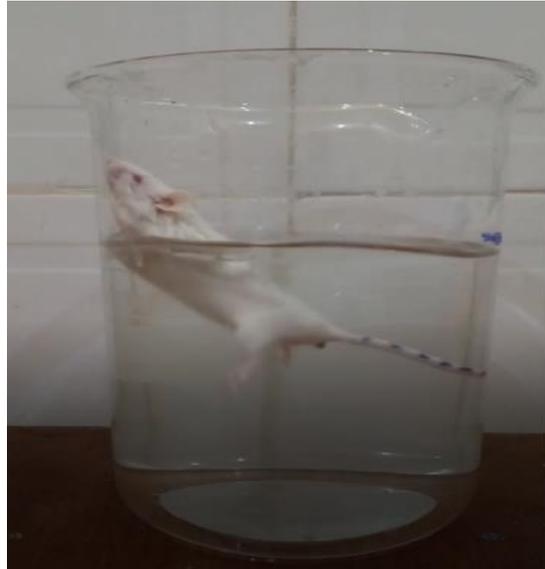
###### 4.2.1. Test de nage forcé (Forced Swimming Test)

Le test de nage forcé (FST) est parmi les tests de neurocomportement qui visent à évaluer un effet antidépresseur, il s'agit du test le plus largement utilisé chez les rongeurs.

Un cylindre est rempli d'eau dont la température est 25°C, de telle manière qu'une souris plongée à l'intérieur ne puisse pas toucher le fond du dispositif.

Le dispositif consiste en un cylindre en verre transparent de 18 cm de hauteur et 14 cm de diamètre (Figure 12).

Durant ce test l'animal est placé dans le cylindre. Après un certain temps de nage, il abandonne et se laisse flotter (signifie le désespoir de l'animal et maintenir la tête hors de l'eau); ses réactions sont enregistrées durant 5 minutes. Après chaque session de nage, la souris a été séchée et placée dans sa cage (**Farh et al., 2017**)



**Figure 12 :** Le test de nage forcé.

#### **4.2.2. Test des champs ouverts (Open field test)**

Le test open Field (OPT) est utilisé par les chercheurs pendant l'expérimentation scientifique pour mesurer l'activité générale et l'anxiété d'un animale de laboratoire (généralement souris ou rat).

Le dispositif est constitué d'un cube de contreplaqué avec une couleur noire et un fond blanc (Figure 13), carrée et ouverte (50×50×50cm) divisé en 16 cases (Figure 13).

L'animal est déposé au centre du cube et laissé libre de l'explorer pendant 5 minutes et nous avons enregistré une vidéo pour chaque souri, L'observation des animaux commence quelques secondes après l'introduction des animaux dans la cage d'observation.

Après le passage de chaque animal, le dispositif est nettoyé avec une solution hydro alcoolique à 10% et séché.

On mesure le nombre des cases traversées, le nombre de passages et le temps passé en case centrale (**Trey, 2015 ; Daniel, 2016**).



**Figure 13** : Test des champs ouverts

#### **4.2.3. Test du labyrinthe en croix (plus maze test) :**

Le labyrinthe en croix (PMT) permet de mesurer le degré d'anxiété d'un animal selon son aversion spontanée pour le vide. L'expérience exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement.

Les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire (Figure 14). Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres aux espaces ouverts et éclairés. Partant de ce principe, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe.

Le dispositif est constitué de quatre bras en bois peints en noir (30 x 5 cm) qui communiquent par l'intermédiaire d'une zone centrale (5x5 cm). Deux bras opposés comportent des parois latérales de 15 cm de hauteur (bras fermés) alors que les deux autres en sont dépourvus (bras ouverts). L'ensemble du dispositif est placé à 50 cm du sol.

L'animal est placé en zone centrale, face à un bras fermé. Le nombre d'entrées ainsi que le temps passé dans chaque compartiment sont mesurés durant une période de 5 min.



**Figure 14** : Test du labyrinthe en croix.

### **4.3. Sacrifice et prélèvement des organes**

#### **4.3.1. Sacrifice**

A la fin de l'expérience, les animaux ont été anesthésiés par l'éther diéthylique pour éviter tout état de stress. Les animaux sont sacrifiés par décapitation (Figure 15).

Le sacrifice des animaux de différents groupes étudiés a été réalisé à la même heure pour éviter les variations dues au rythme circadien.



**Figure 15** : la dissection des souris

### 4.3.2. Prélèvement des organes

Après la dissection des animaux, les organes prélevés (foie, reins, cœur, poumons et rate) ont été bien dégraissés et rincés avec de l'eau physiologique puis séchés par un papier absorbant, après ils ont été pesés et fixés immédiatement dans la solution de formol 10 % pour une analyse histopathologique ultérieure (Figure 16).

### 4.3.3. Mesure des poids relatifs :

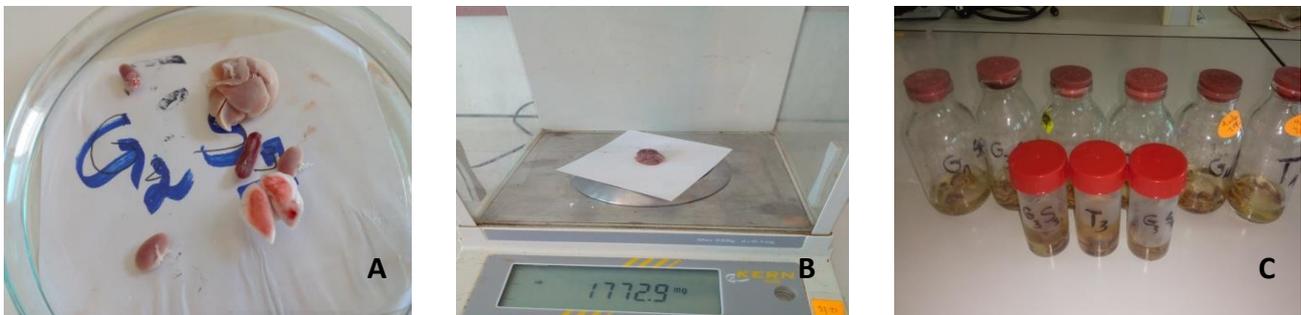
On mesure le poids d'organe par une balance de précision pour calculer le poids relatif selon la formule :

$$PCR = \frac{PO}{PC} * 100$$

**PCR** : poids corporelle relatif

**PO** : poids d'organe

**PC** : poids corporel



**Figure 16** : Les étapes du prélèvement des organes (**A** : rinçage, **B** : pèse, **C** : stockage)

### 4.4. Etude histologique des organes

La réalisation des coupes histologiques a été effectuée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital BOUZIDI Lakhdar, BBA.

Les organes prélevés (foie, reins, cœur, poumons, rate) sont soumis préalablement aux différentes étapes qui sont résumées dans l'annexe.

## 4.5. Activité cicatrisante des plaies

### 4.5.1. Préparation des extraits

L'extrait aqueux de l'*Ephédra alata* (EAEA) a été préparé en deux concentrations de 5% et 10%. Le Cicatryl-Bio (CIC) (Pierre Fabre, France) a été utilisé comme médicament de référence (Benkhaled et al., 2020).

### 4.5.2. Animaux

Les souris BALB/c femelles de poids variant entre 27 et 36 g ont été utilisées pour réaliser cette expérience.

### 4.5.3. Protocole expérimental

Les souris ont été pesées, marquées et divisées en 4 groupes de 2 souris chacun (Figure 10):

- Groupe non traité (groupe témoin),
- Groupe traité par le cicatryl (groupe CIC),
- Groupe traité par l'extrait aqueux de l'*Ephédra alata* à 5% (groupe EAEA 5%),
- Groupe traité par l'extrait aqueux de l'*Ephédra alata* à 10% (groupe EAEA10%).

Une zone sur le dos de chaque souris anesthésiée à l'éther a été rasée. Les animaux ont été laissés dans leur cage pendant 24 heures pour vérifier l'absence d'irritation de la zone rasée.

### 4.5.4. Test d'irritation cutanée

Les EAEA 5% et 10% ont été appliqués séparément sur le dos des souris. Après 4 h, la peau des animaux a été évaluée pour détecter la présence de signes d'inflammation.

### 4.5.5. Activité de cicatrisation

Les animaux ont été anesthésiés par l'éther. Un cercle a été tracé sur la peau de la région lombaire, puis excisé. Les animaux ont été placés dans des cages individuelles avec des litières propres.

Des préparations (CIC, EAEA 5 %, EAEA 10 %) ont été appliquées localement des différents groupes, une fois par jour pendant 10 jours jusqu'à ré-épithélialisation complète (Kittana et al., 2017).

#### **4.6. Analyses statistique**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes  $\pm$  l'écart-types. L'évaluation statistique est effectuée par le test One Way ANOVA suivi de Tukey test. La valeur trouvée par ce test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p :

- ✓  $p > 0.05$ : la différence n'est pas significative (ns).
- ✓  $P < 0.05$ : la différence est significative (\*).
- ✓  $P < 0.01$ : la différence est hautement significative (\*\*).
- ✓  $P < 0.001$ : la différence est très hautement significative (\*\*\*)

**RESULTATS**

**&**

**DISCUSSION**

## Résultats et discussion

### 1. Résultats

#### 1.1. Étude toxicologique *in vivo*

Jusqu'à ce jour, aucun rapport n'a été publié sur l'évaluation de la toxicité de *Ephedra alata alenda*, c'est pour cela des études toxicologiques sont nécessaires pour déterminer l'innocuité et évaluer le profil toxicologique, dont le but de choisir une dose sûre de cette plante.

##### 1.1.1. La toxicité aiguë

L'administration unique de 250 mg/kg de l'extrait d'éphédra a causé une diarrhée intense et une augmentation du rythme cardiaque/respiratoire. Ainsi, plusieurs mortalités ont été enregistrées chez les animaux traités (3 souris) pendant les 24h qui suivent l'administration.

##### 1.1.2. La toxicité subaiguë

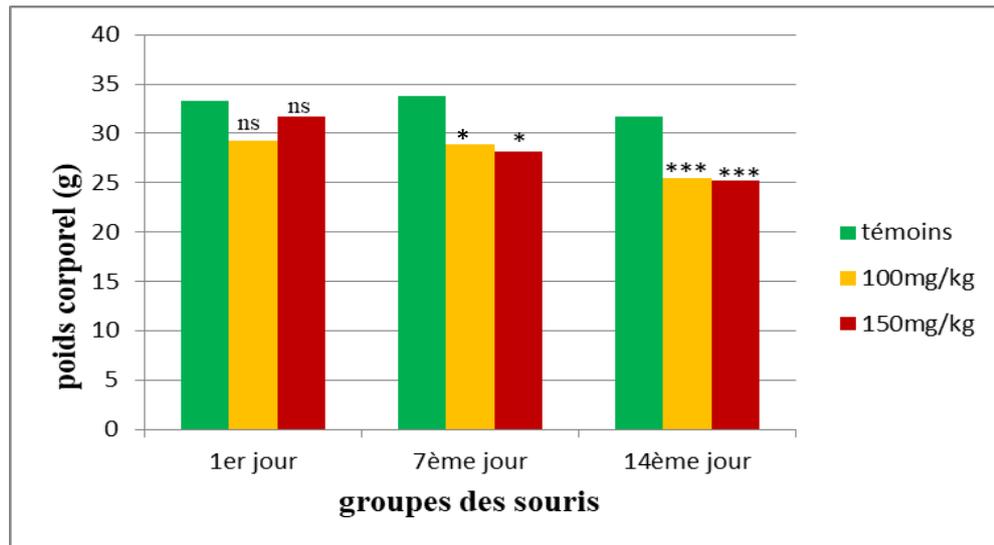
###### A. Signes de toxicité

Aucune mortalité n'a été observée chez les animaux traités par la dose 100 mg/kg tout au long de l'expérience. Au contraire, nous avons enregistré cinq décès chez les souris traitées avec la dose de 150 mg/kg (pendant le 1<sup>er</sup>, 6<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 18<sup>ème</sup> jours qui suivent l'administration). Aucun changement de comportement n'a été constaté dans les groupes traités.

###### B. Evolution pondérale

**Tableau IV** : Poids corporel (g) après un traitement de 14 jours par l'extrait aqueux d'*E.alata alenda*.

	témoins	100mg/kg	150mg/kg
<b>1er jour</b>	33.25 ± 1.31	29.28 ± 1.75 ns	31.66 ± 0.95 ns
<b>7<sup>ème</sup> jour</b>	33,75 ± 1,70	28,87 ± 3,18*	28,16 ± 2,78*
<b>14<sup>ème</sup> jour</b>	31,75 ± 1,70	25,42 ± 2,69***	25,16 ± 2,562***



**Figure 17 :** L'évolution du poids corporel des souris traitées par l'extrait aqueux d'*E.alata alenda* en comparaison avec le groupe témoin, Pendant une durée de 14 jours.

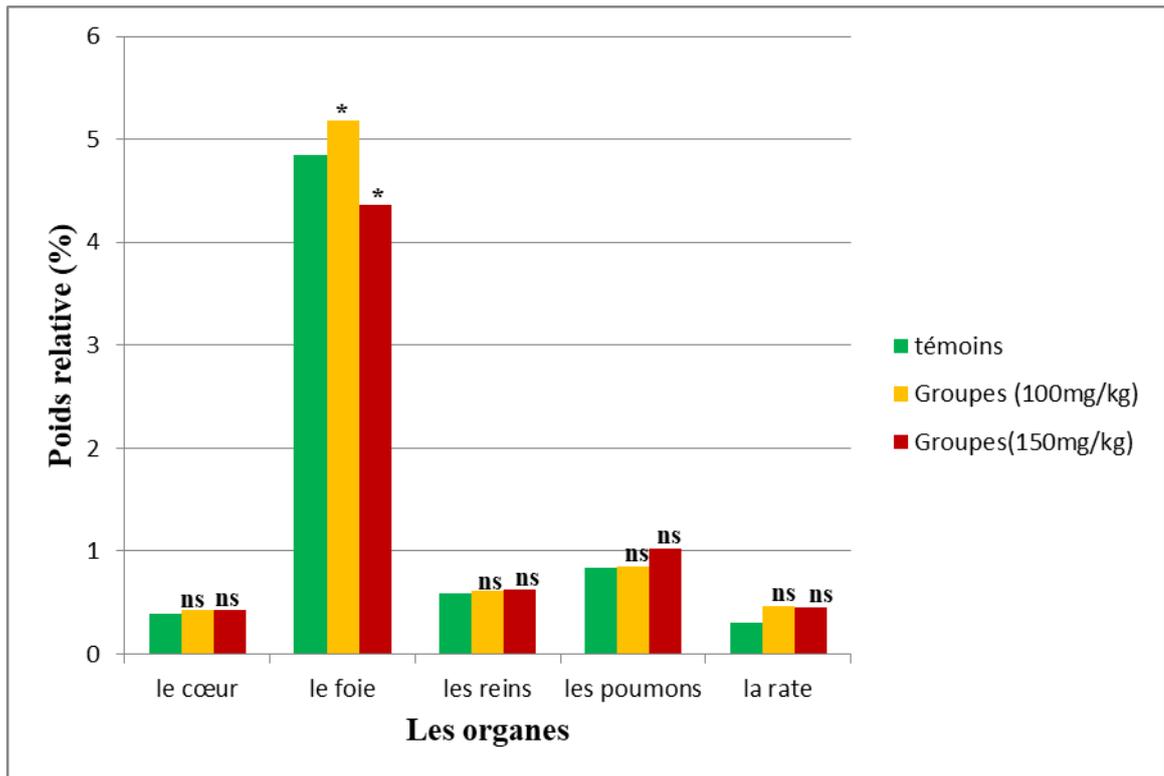
(ns: non significatif, \*P<0.05, \*\*\*P<0,001)

Les résultats de l'évaluation de poids corporel après 7 jours du traitement montrent une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) (\*) chez les souris traitées par les deux doses (100 mg/kg et 150 mg/kg) par rapport aux souris témoins. En outre, après 14 jours une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) (\*\*\*) du poids corporel a été enregistré chez les groupes traités par les deux doses (100 mg/kg et 150 mg/kg) par rapport au groupe témoin.

### C. Poids relatif des organes

**Tableau V :** Poids relatifs des organes après un traitement de 21 jours par l'extrait aqueux d'*E.alata alenda*.

	témoins	Groupes (100mg/kg)	Groupes (150mg/kg)
le cœur	0,38 ± 0,01	0,42 ± 0,03 ns	0,43 ± 0,06 ns
le foie	4,84 ± 0,47	5,17 ± 0,40 *	4,36 ± 0,30*
les reins	0,59 ± 0,06	0,61 ± 0,07 ns	0,62 ± 0,06 ns
les poumons	0,84 ± 0,10	0,85 ± 0,27 ns	1,02 ± 0,19 ns
la rate	0,30 ± 0,06	0,46 ± 0,27 ns	0,45 ± 0,16 ns



**Figure 18:** L'évolution du poids relatif des organes des souris après un traitement de 14 jours par l'extrait aqueux d'*E.alata alenda* en comparaison avec le groupe témoin. (ns: non significatif, \*P<0.05)

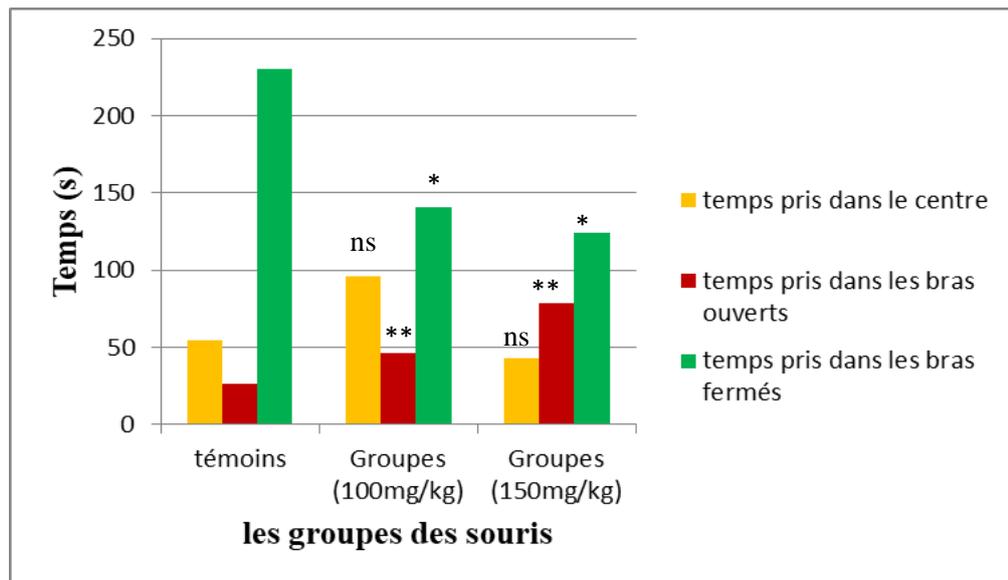
Les résultats de l'évaluation du poids relatif des organes : cœur, reins, poumons et rate ne présentaient aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) par rapport au groupe témoin. Cependant, le changement dans le poids relatif de foie présente une différence significative ( $P < 0,05$ ) (\*) par rapport au groupe témoin.

#### D. L'effet neurocomportemental d'*Ephedra alata alenda*

*Labyrinthe en croix (Plus maze test)*

**Tableau VI :** Le temps pris dans le centre, les bras ouverts et les bras fermés de test de labyrinthe en croix

	Témoins	Groupes (100mg/kg)	Groupes (150mg/kg)
temps pris dans le centre (s)	54,25±15,81	95,66±37,28 ns	43±20,51ns
temps pris dans les bras ouverts (s)	26±11,74	46,33±14,46 **	78,33±20,13 **
temps pris dans les bras fermés (s)	230,5±13,47	141±20,66 *	124±58,28 *

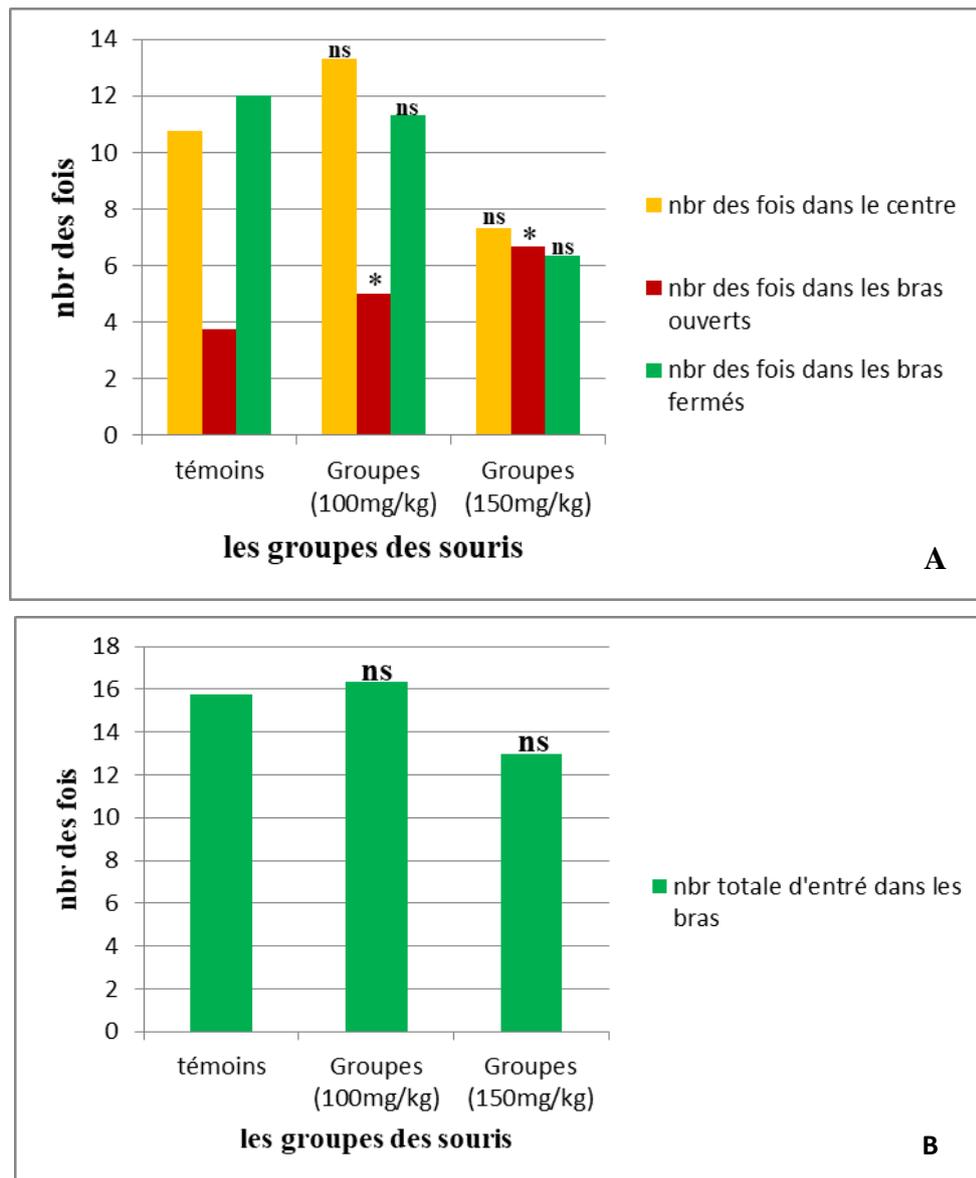


**Figure 19 :** L'évolution du temps pris dans le centre, les bras ouverts et les bras fermés de test de labyrinthe en croix en comparaison avec le groupe témoin. (ns: non significatif, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0,01$ ).

Les résultats de l'évaluation de test de labyrinthe en croix présentent une différence non significative ( $P>0.05$ ) (ns) du temps pris dans la zone centrale. Par contre on montre une diminution significative ( $P<0.05$ ) (\*) du temps pris dans les bras fermés. Tandis que on enregistre une augmentation très significative ( $P<0.01$ ) (\*\*) du temps pris dans les bras ouverts chez les souris traitées par rapport aux souris témoins.

**Tableau VII :** Le nombre d'entrées dans le centre, les bras ouverts et les bras fermés et le nombre total des entrées dans les deux bras de test de labyrinthe en croix.

	Témoins	Groupes (100mg/kg)	Groupes (150mg/kg)
Nombre d'entrées dans le centre	10,75±4,42	13,33±3,51 ns	7,33±0,57 ns
Nombre d'entrées dans les bras ouverts	3,75±1,5	5±1 *	6,66±0,57 *
Nombre d'entrées dans les bras fermés	12±4,54	11,33±2,51 ns	6,33±2,08 ns
Nombre totale d'entrées dans les bras	15,75±3,40	16,33±3,05 ns	13±2 ns



**Figure 20 :** Nombre d'entrées au centre, dans les bras ouverts et les bras fermés (A) ; Nombre total des entrées dans les deux bras (B) (ns: non significatif, \* $P < 0.05$ ).

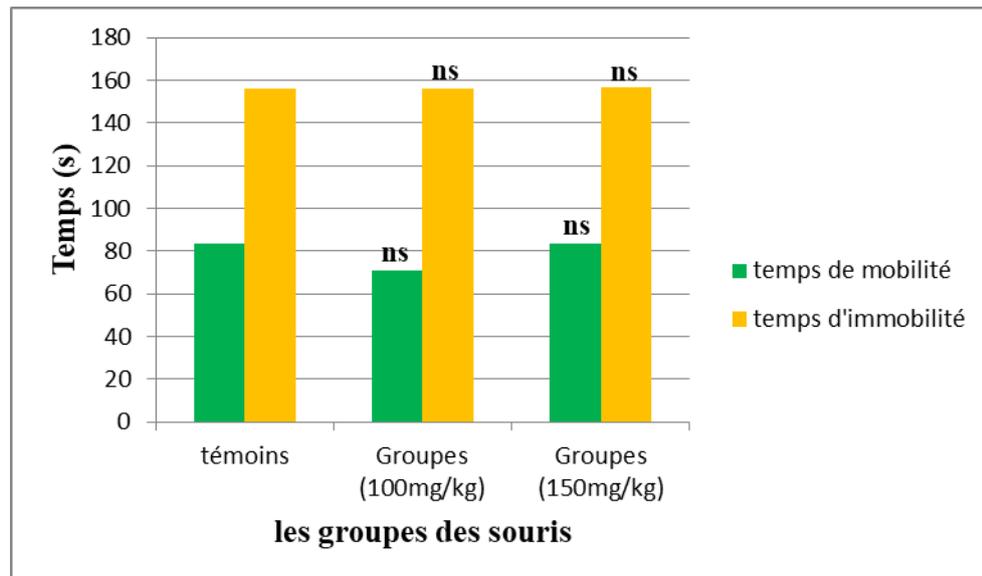
Les résultats de l'évaluation de test de labyrinthe en croix montrent une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) (\*) du nombre des fois d'entrée dans les bras ouverts. Tandis que, ne présentait aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) (ns) du nombre des fois d'entrée dans le centre et dans les bras fermés par rapport au groupe témoin.

En plus, l'évaluation de nombre total d'entrée dans les bras présentent une différence non significative ( $P > 0,05$ ) (ns) par rapport au groupe témoin.

*Nage forcée (forced swimming test)*

**Tableau VIII :** Le temps de mobilité et d'immobilité de test de natation forcée.

	témoins	Groupes (100mg/kg)	Groupes (150mg/kg)
<b>Temps de mobilité (s)</b>	83,75±19,12	71,12±17,60 ns	83,5±28,01 ns
<b>Temps d'immobilité (s)</b>	156,25±19,12	156,37±34,003 ns	156,5±28,01 ns



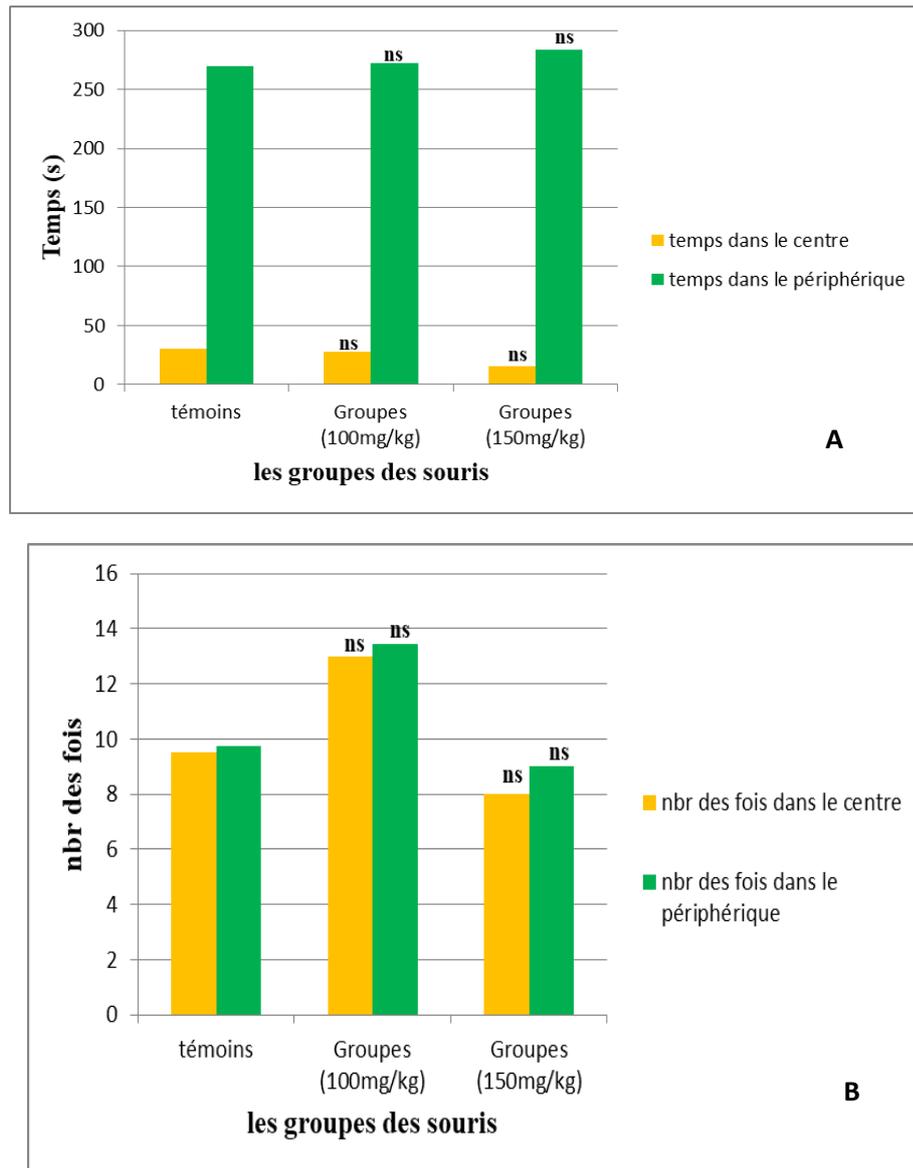
**Figure 21 :** L'évolution du temps de mobilité et d'immobilité de test de natation forcée en comparaison avec le groupe témoin (ns: non significatif).

Les résultats de l'évaluation de test de natation forcée montrent une différence non significative ( $P > 0,05$ ) (ns) du temps de mobilité et d'immobilité par rapport au groupe témoin.

*Test des champs ouverts (Open field test).*

**Tableau IX :** Le temps pris et le nombre d'entré dans le centre et dans le périphérique de test des champs ouverts.

	témoins	Groupes (100mg/kg)	Groupes (150mg/kg)
<b>Temps dans le centre (s)</b>	30,25±15,84	27,57±9,43 ns	16± 8,5ns
<b>Temps dans le périphérique (s)</b>	269,75±15,84	272,42±9,43ns	284± 12,14ns
<b>Nombre d'entrés dans le centre</b>	9,5±5,19	13±4,61 ns	8± 3,88ns
<b>Nombre d'entrés dans le périphérique</b>	9,75±4,85	13,42±4,64 ns	9± 5,14ns



**Figure 22 :** L'évolution du test des champs ouverts (**A** : temps pris, **B** : nombre d'entrés) en comparaison avec le groupe témoin (**ns**: non significatif).

Les résultats obtenus de ce test montrent une différence non significative ( $P > 0,05$ ) (ns) du temps passé dans la zone centrale et la zone périphérique par rapport aux groupes témoins.

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du nombre d'entrées au centre et le nombre d'entre dans la zone périphérique montrent une différence non significative ( $P > 0,05$ ) (ns) par rapport aux groupes témoins.

En outre, aucune différence significative n'a été enregistrée chez les groupes traités par l'éphédra par rapport aux groupes témoins.

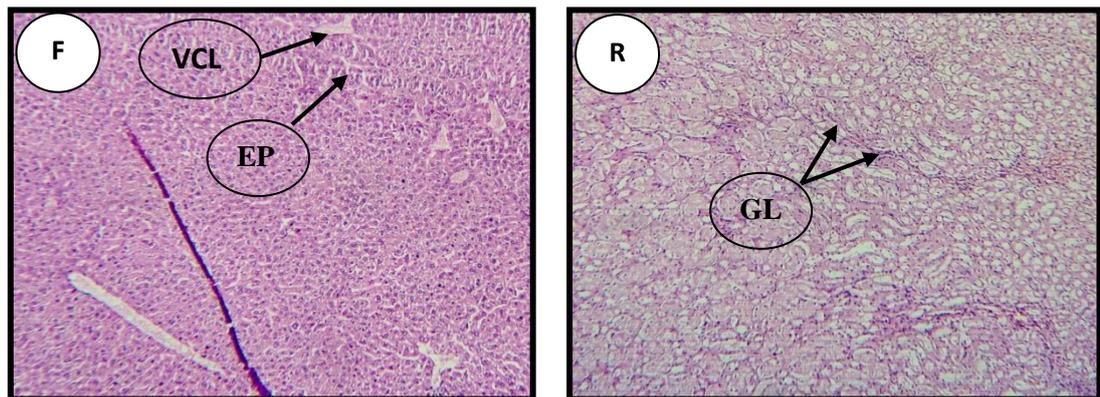
## E. Etude anatomopathologique

### *1<sup>er</sup> sacrifice (après 14 jours)*

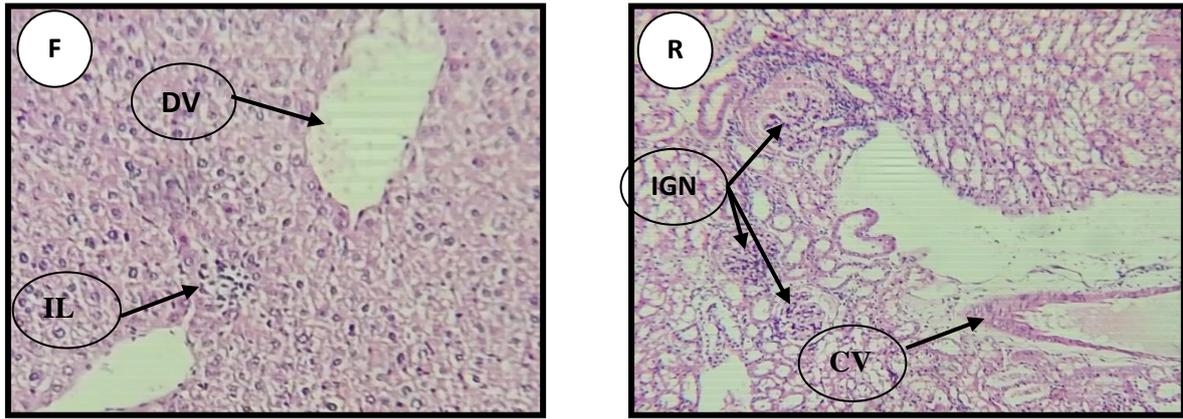
L'évaluation histopathologique des organes vitaux des souris témoins, le foie et les reins, n'a montré aucun changement microscopique et histologique pertinent (Figure 23).

La coupe histologique du foie de souris traitées avec l'extrait de plante (100 mg/kg) a montré une dilatation vasculaires (DV) légère, inflammation légère (IL) et discrète inflammatoire portale (DIP). Une nécrose lobulaire (NL), dilatation vasculaire (DV), infiltra inflammatoire, inflammation modérée (Figure 24). Ces changements étaient également observés chez le groupe des souris femelles traitées avec 150 mg/kg de l'extrait.

De plus, l'observation microscopique des reins a révélé la présence d'une inflammation glomérulonéphrite, congestion vasculaire, hémorragie et des lésions interstitielles chez les souris traitées par 100mg/kg. L'administration d'une dose plus élevée (150mg/kg) a causé une hémorragie interstitielle (HI) et une nécrose lobulaire (NL) (Figure 25).

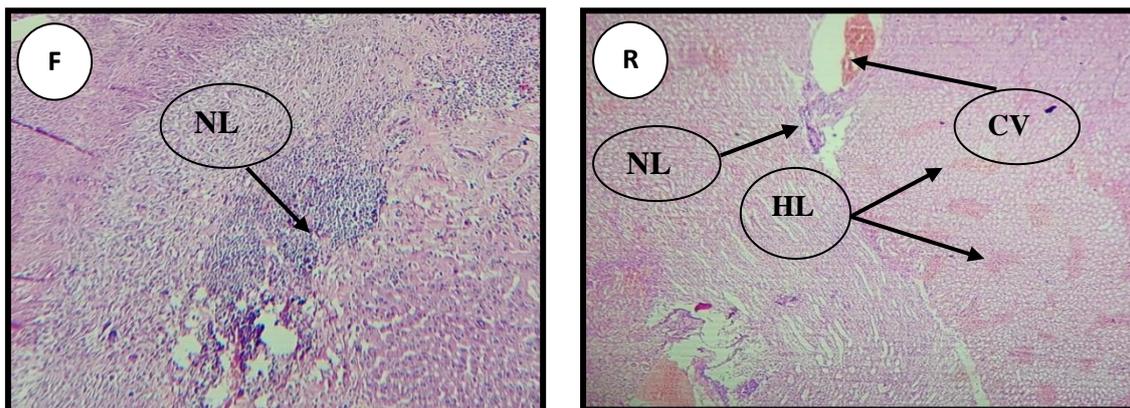


**Figure 23:** Coupes Histologiques des tissus hépatique et rénal des souris témoins ayant reçu de l'eau physiologique par voie orale (**F**: foie, **R**: rein, **EP** : espace porte, **VCL** : veine Centro-lobulaire, **GL**: glomérule. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE) Grossissement 10X.



**Figure 24:** Coupes Histologiques des tissus hépatique et rénal des souris traitées par 100 mg/kg de l'extrait pendant 14 jours (**F:** foie, **R:** rein, **CV:** congestion vasculaire, **II:** infiltrat inflammatoire, **DL :** dilatation vasculaire, **IGN :** inflammation glomérulonéphrite.

Grossissement 100. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE).



**Figure 25:** Coupes Histologiques de la toxicité subaiguë après un traitement de 14 jours des souris du groupe ayant reçu de l'extrait à la dose 150 mg/kg (**F:** foie, **R:** rein , **CV:** congestion vasculaire, **NL :** nécros lobulaire, **HL :** hémorragie légère. Grossissement 100. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE).

*2<sup>ème</sup> sacrifice (après 21 jours)*

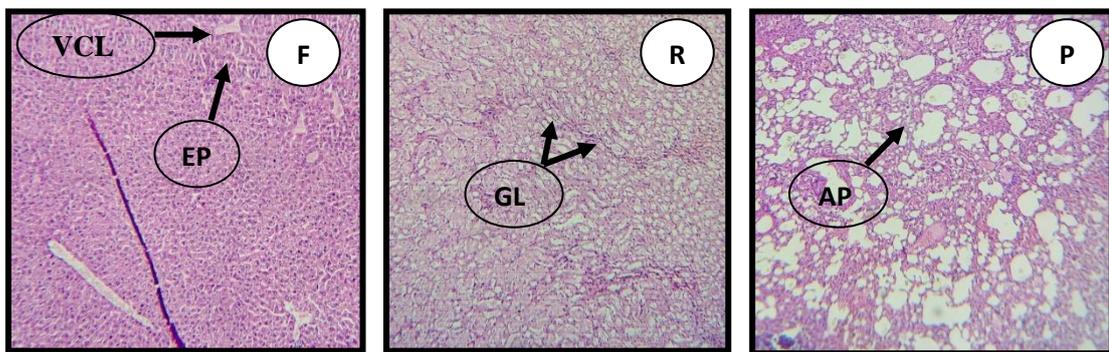
Des coupes histologiques du foie, reins et poumons des souris du groupe témoin et les groupes traités avec les doses (100 et 150 mg/kg) ont été analysées. Comme la montre les Figures 26, 27 et 28.

Le parenchyme hépatique des groupes traités a montré un discret infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire et la veine centrolobulaire congestif (la dose 100mg/kg) (**Figure 27-**

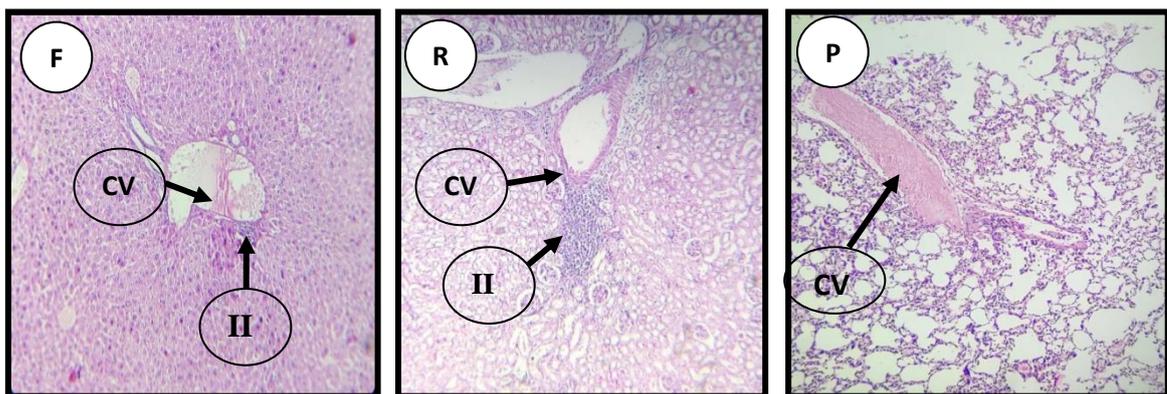
**F).** À la dose la plus forte (150mg/kg) (**Figure 28-F**) on a observé une congestion vasculaire(CV) et une inflammation légère chez les souris femelles.

L'observation microscopique des reins a révélé un parenchyme rénal congestif par infiltrat lymphoplasmocytaire (100 mg/kg) (**Figure 27-R** ). A la dose la plus élevée (150mg/kg) on a remarqué un infiltrat inflammatoire et une congestion vasculaire (**Figure 28- R**).

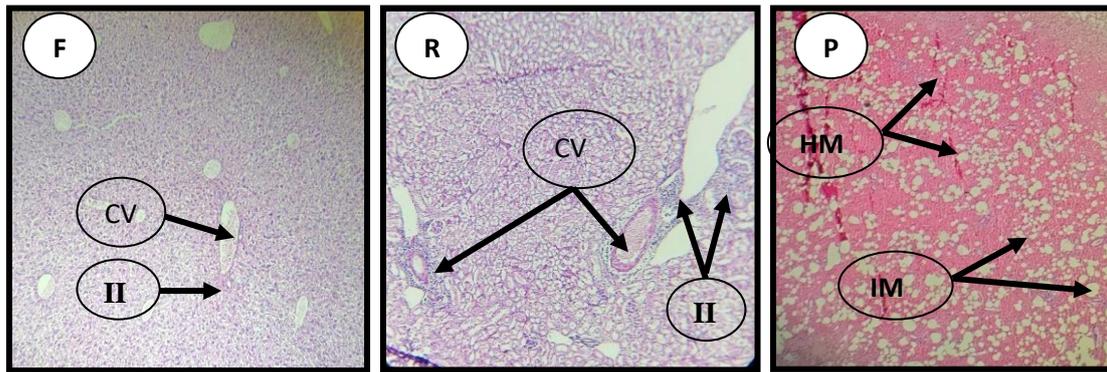
Tandis que les poumons présentent un parenchyme pulmonaire congestif (100 mg/kg) (**Figure 27- P**). A la dose la plus élevée (150mg/kg) on a observé un parenchyme pulmonaire ciége de suffusion hémorragique (**Figure 28- P**).



**Figure 26:** Coupes Histologiques des tissus hépatique, rénal et pulmonaire des souris témoins (**F:** foie, **R:** rein, **P :** poumon, **EP :** espace porte, **VCL :** veine Centro-lobulaire , **GL:** glomérule, **AP :** alvéole pulmonaire) .Grossissement 100. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE).



**Figure 27:** Coupes Histologiques des tissus hépatique, rénal et pulmonaire des souris traitées par 100 mg/kg de l'extrait pendant 21 jours (**F:** foie, **R:** rein, **P:** poumon, **II :** infiltrat inflammatoire, **CV :** congestion vasculaire). Grossissement 100. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE).



**Figure 28:** Coupes Histologiques des tissus hépatique, rénal et pulmonaire des souris traitées par 150 mg/kg de l'extrait pendant 21 jours (**F:** foie, **R:** rein, **P:** poumon, **II :** infiltrat inflammatoire, **CV :** congestion vasculaire, **IM :** inflammation modérée, **HM :** hémorragie modérée. Grossissement 100. Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (HE).

### 1.2. Effet cicatrisant d'*Ephedra alata alenda*

Comme le montrent les images macroscopiques du site des plaies, il a été observé que les plaies traitées par 5 % ou 10 % de l'extrait d'*Ephedra alata alenda* guérissaient plus rapidement que ceux du témoin négatif. Par ailleurs, les souris traitées par le Cicatryl-Bio (CIC) (témoin positif) guérissaient plus rapides que celles traitées par l'extrait d'*Ephedra alata alenda*.

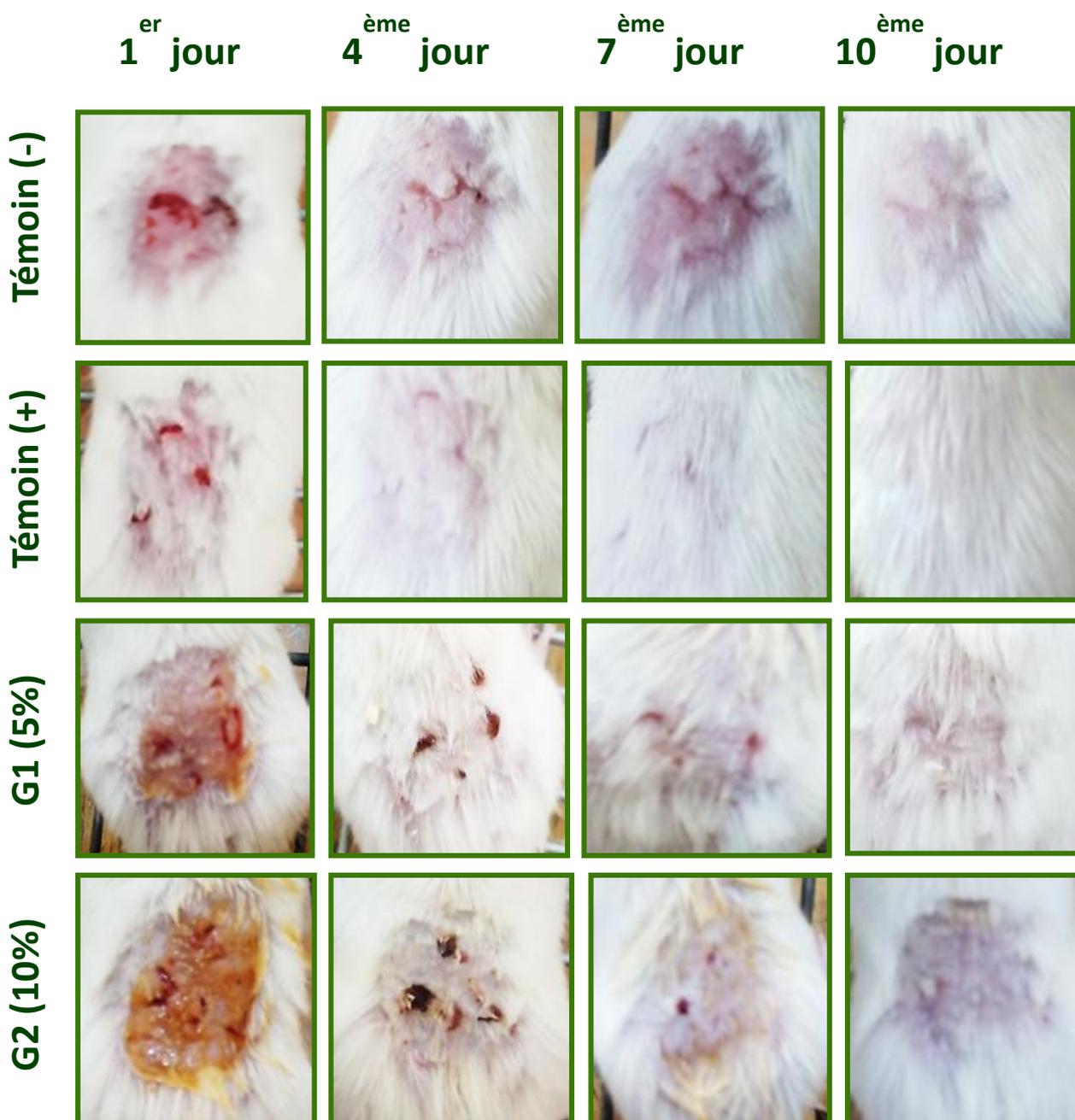


Figure 29: Chronologie de la cicatrisation des plaies.

## 2. Discussion

### 2.1. Étude toxicologique in vivo

#### 2.1.1. La toxicité aigüe

L'administration d'une forte dose d'extrait (250 mg/kg) a causé un taux de mortalité élevé (37.5%), ce qui signifie que *l'Ephedra alata alanda* peut avoir un effet toxique. Néanmoins, l'administration d'autres doses est primordiale pour déterminer la valeur de DL 50 de cette plante.

#### 2.1.2. La toxicité subaigüe

L'administration de 100 mg/kg et de 150 mg/kg a permis de prouver que cette plante est toxique à cause du changement de plusieurs paramètres y compris :

##### A. Poids corporel

L'administration orale des extraits d'*E. alata alenda* chez les souris femelles, à différentes doses, provoque une diminution de poids corporel des animaux traités par rapport au groupe non traité (témoin). La suppression de la prise de poids dans cette étude pourrait très bien être le résultat d'une diminution de l'appétit (diminution de la prise alimentaire et la consommation d'eau) et donc d'un apport calorique plus faible chez les animaux, comme cela a été démontré pour certaines plantes et leurs constituants, tels que l'éphédrine et d'autres composés actifs dans le genre des plantes *Ephedra* (Avula et al., 2006).

Ceci est en accord avec l'étude de Boozer et al. (2001) qui affirme que *l'Ephedra alata* favorise la perte de poids.

##### B. Poids relatif des organes

Parmi les paramètres étudiés le poids relatif des organes -qui est généralement un indicateur potentiel des effets de l'alimentation de l'organisme et le foie est l'organe de détoxification le plus important du corps (Pooja et al, 2016). L'augmentation remarquable du foie peut être attribuée à l'augmentation de la circulation en raison des demandes accrues pour la détoxification des composés toxiques (Zama et al., 2005). En outre, il désigne l'augmentation de la masse cellulaire ou de la densité cellulaire (Abston et al, 1976).

Le foie joue un rôle important dans le métabolisme pour maintenir le niveau d'énergie et la stabilité structurelle du corps. C'est également un site de biotransformation par lequel un composé toxique a été transformé sous une forme moins nuisible en une toxicité réduite. Toute diminution du poids du foie est considérée comme un paramètre de risque sensible, conduisant à une réduction de la toxicité (Hodgson, 2004; Guyton & Hall, 2006 ; Gathwan

**et al., 2006**), c'est ce qui clarifier la diminution de poids relative de foie pour les lots traités par 100mg/kg et 150mg/kg d'extrait hydroalcolique d'*Ephedra alata*. Ceci est en accord avec l'étude de **Gouasmia & Zoubiri (2017)**.

Ainsi, l'étude de **Boudebia & Bouteraa (2017)** n'indique aucune variation significative de poids relatif des poumons et de la rate.

### **C. Effets de l'éphédra sur le neuro-comportement des animaux**

Les troubles anxieux sont parmi les formes les plus courantes et les plus répandues de la psychopathologie. Bien que l'anxiété soit une réaction émotionnelle normale à une situation de stress (**Wong et al., 2005**). Les tests comportementaux sont étudiés pour tenter de décrire les conséquences neurobiologiques néfastes du stress sur le plan émotionnel et comportemental (**Porsolt et al., 1977**). Dans ce travail, nous avons vérifié le degré d'anxiété des animaux en les exposants a un test de nage forcé, test de labyrinthe en croix et le test de du champs ouvert.

#### *Le test de labyrinthe en croix*

Dans un test de labyrinthe en croix, la substance a un effet anxiolytique qui augmente généralement le temps et la proportion d'entrée dans les bras ouverts par les animaux traités.

Le test est basé sur l'aversion naturelle des rongeurs pour les espaces ouverts. Un effet de type anxiolytique apparaît comme une diminution de l'évitement des bras ouverts car une anxiété réduite supprime l'interférence de la peur avec les tendances exploratoires et conduit donc à une plus grande exploration des bras ouverts (**Aburawi et al, 2021**).

Le présent résultat a montré que le traitement avec l'extrait d'éphédra à la dose de 100 mg/kg et 150 mg/kg diminuait significativement le temps passé dans les bras fermés et le pourcentage d'entrées dans les bras fermés par rapport au groupe témoin. Cette diminution généralement interprété comme un effet de type sédatif

Le nombre total d'entrée a fortement diminué à dose élevée (150 mg/kg) indiquant une diminution de l'activité motrice spontanée, également due à l'effet sédatif.

L'éphédra contient des constituants actifs signalés comme ayant des effets de type anxiolytique lorsqu'ils ont été étudiés à l'aide d'extraits de différentes plantes, ce qui suggère que l'effet sédatif peut avoir masqué toute action anxiolytique (**Aburawi et al, 2021**).

#### *Le test de nage forcé*

Le test de nage forcée est un modèle comportemental largement répandue pour évaluer l'activité pharmacologique des antidépresseurs. Le comportement caractéristique noté dans ce

test est appelé immobilité, reflétant le désespoir comportemental comme on le voit dans la dépression humaine (Aburawi et al, 2021).

Les effets antidépresseurs de l'extrait méthanolique d'Ephedra a été étudié en observant les variations de la durée d'immobilité et de mobilité dans le test de nage forcée.

Cependant on a observé une déférence non significative de temps de résistance et d'immobilité des souris traité par l'éphédra ce qui signifie que la plante n'a pas d'effet antidépresseur.

Une étude menée pour tester les effets comportementaux d'*Ephedra nebrodensis*, qui contient des alcaloïdes d'éphédrine ; les souris ont reçu une injection intrapéritonéale avec 200 mg/kg d'extrait, l'extrait a produit une action de type amphétamine, se manifestant par une augmentation de l'activité locomotrice, de l'élevage et du comportement stéréotypé. L'augmentation de la locomotion pourrait être due à l'augmentation de la libération de dopamine (Aburawi et al, 2021).

#### ***Le test du champ ouvert***

Le test d'Open field (OFT) est l'un des tests neurocomportementaux les plus utilisés pour évaluer l'activité locomotrice et comportements anxieux des animaux.

Dans le test du champ ouvert , nous avons observé une diminution non significative du temps passé dans la zone centrale et une augmentation non significative par rapport aux groupes témoins, ces résultats signifie que les souris traité par l'*Ephédra* a un effet positif contre l'anxiété ,par ce que les plantes médicinales qui contient une quantité importante de flavonoïdes ont des propriété contre l'anxiété et elle est utilisé en médecine traditionnelle contre l'anxiété et dépression (Tissot,2019) .Cependant , nous avons observé une différence non significative dans le nombre d'entrée dans le centre et le nombre d'entrée dans la zone périphérique .Ces résultats révèlent l'effet négatif de l'*Ephedra* sur l'activité locomotrice. Le test OF est également un test utilisé pour démontrer comportement anxieux.

#### **D. Etude anatomopathologique**

Le foie présentait une architecture normale et aucun signe de lésion. Le rein présentait des glomérules adéquats et des tubules normaux, ces observations sont en corrélation avec celles rapportées par Aouachriaa et al (2017) et Rezzagui et al (2020).

L'étude histologique menée sur les organes (foie, rein,) chez les souris femelles traitées avec L'extrait aqueux de l'ephedra a deux doses 100 et 150 mg/kg montré la présence de Congestions vasculaires et une inflammation sur les sections du foie par rapport au foie du témoin. Ces ruptures Peuvent être le résultat de l'action de la vasodilatation de l'extrait (AQ)

sur les parois des Vaisseaux sanguins (**Ashley, 2004**). Le leucocyte infiltration présentée dans le foie à la dose de 100 et 150mg/kg pourraient être le résultat de l'inflammation du foie.

A la dose la plus élevée (150mg/kg) on a remarquez une hémorragie interstitiel(HI), nécrose lobulaire(NL).Ces résultats sont en corrélation avec l'augmentation de la créatinine et l'urée, qui sont des marqueurs spécifiques pour le fonctionnement rénale.

L'Ephédrine est le principe actif majeur de l'espèce Ephedra alata il est important de savoir qu'elle a beaucoup d'effets indésirables (surtout a des concentrations élevés), parmi les quelle, provoquer une hépato toxicité avec nécrose massive sur les tissu hépatique (**Zang et Navaro, 2016**).

Une autre découverte importante de cette étude est celle de l'histologie évaluations du foie et des reins de souris recevant 100 et 150 mg/kg dose de l' extrait aqueux pendant 21 jours. La présence de congestions vasculaires des deux côtés les coupes hépatiques et rénales pourraient être dues à l'action vasoconstrictrice de l' extrait aqueux sur les parois des vaisseaux sanguins (**Ashley, 2004**). Par conséquent, cela découverte suggère que l'administration de l'extrait à 100 et 150 mg/kg de doses pendant trois semaines provoque des dommages au foie et reins des animaux traités.

## 2.2. Activité cicatrisante

Le traitement des ulcères de plaies avec l'extrait d'Ephedra alata alenda a accéléré le processus de guérison, amélioré le dépôt de collagène et amélioré le processus de fibrose, indiquant un meilleur processus de réparation. Nous supposons que les effets thérapeutiques observés de l'extrait d'Ephedra alata alenda sont le résultat d'une production accrue de facteurs pro-fibrotiques tels que le TGF-b et le VEGF (Vascular endothelial growth factor) au site d'application du médicament (**Kittana et al., 2017**).

La prise en charge de différents types d'ulcères cutanés, tels que ceux associées à des plaies profondes, un pied diabétique, des escarres et des brûlures est un véritable défi clinique. Normalement, de tels ulcères nécessitent une un temps de cicatrisation prolongé rendant les ulcères sujets à des infections difficiles et à des cicatrices défigurantes. Par conséquent, il existe une demande pour développer de nouveaux traitements qui peuvent accélérer le processus de cicatrisation avec une qualité de peau régénérée appropriée. Outre la prolifération et la migration des kératinocytes, un autre événement important au cours du processus de cicatrisation est la différenciation des myofibroblastes et le dépôt de fibres de collagène, qui sont souvent entraînés par des facteurs tels que le facteur de croissance

transformant- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) qui sont régulés à la hausse lors d'une lésion tissulaire. Un autre événement important est la reformation d'un nouveau réseau capillaire sanguin au site de la réparation tissulaire, qui est induite par le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF). Plusieurs groupes de recherche ont montré que des alcaloïdes tels que la taspine et des flavonoïdes tels que la baicaline et la quercétine pourraient améliorer le processus de cicatrisation des plaies via la régulation à la hausse du TGF- $\beta$  et du VEGF (**Kittana et al., 2017**).

# CONCLUSION

## Conclusion et perspectives

La phytothérapie est l'usage de plantes médicinales qui permettent de remédier à des problèmes du quotidien d'une manière naturelle, elle est de plus en plus utilisée, et son efficacité est reconnue.

L'espèce végétale *Ephedra alata alenda*, est très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les troubles respiratoires, d'hypotension, cancer ....etc. Alor, l'étude de la toxicité de cette plante est très important pour évaluer son innocuité.

L'objectif de notre travail consiste a l'évaluation de la toxicité aigue et subaigüe de l'extrait hydro-méthanolique de cette plante sur quelques organes et de mettre en évidence les troubles émotionnels causés par sa consommation d'un part. Et d'évaluer son effet cicatrisant d'autre part.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que l' *Ephedra alata alenda* pourrait favoriser la perte de poids.

De plus, l'administration orale de l'extrait hydro-méthanolique de l' *Ephedra alata alenda* à différentes doses (100 et 150mg/kg) chez les souris femelles provoque une diminution significative de poids relatif du foie par rapport au groupe témoin.

Les résultats des tests neurocomportementaux (Plus Maze, Open Field et Nage Forcé) ont montré que cette plante diminue l'anxiété des animaux traités.

En outre, la présente étude fournit une preuve scientifique de l'utilisation traditionnelle des parties aériennes de l'éphédra alata alenda dans le traitement des plaies.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette recherche peuvent être complétés par d'autres études visant à déterminer la composition chimique de l'éphédra dans les différentes zones de l'Algérie. Ainsi, la détermination des doses appropriées pour un usage curatif sans effets secondaires et/ou toxiques semble très importante. Enfin, l'étude des effets de cette plante sur l'appareil respiratoire, génital, digestif ...et surtout nerveux est primordiale.

---

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

**-A -**

**Abourashed E.A., El- Alfy A.T., Khan I.A. et Walker L. (2003)** Ephedra in perspective–acurrent review. *Phytother. Res.*, Vol. 17, PP. 703-712

**Abston, P.A.,& Yarbrough, J.D. (1976).** The in vivo effects of Mirex on soluble hepatic sqa enzymes in the rat. *Pesti. Biochem. Physiol.*, 6: 192-199.

**ABULA, T., S. RAO, A. MENGISTU, S. WORKU, et al. (2004).** Dawit. Pharmacology-Lecture notes for Health Science Students. Ethiopia Public Health Training Initiative, The Carter Center.

**Al-AwaidaW., Al-Houran BJ., Akash M., Talib W.H., Zein S., Falah R.R, (2018).** In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxid antpotentials of Ephedra aphylla..J. Cancer Res. Ther.14 (6):1350-1354p

**Al-Qarawi A A. (2011).** Vegetation analysis in the Rawdhat Om Al-Khefas, Central Saudi Arabia. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(12), p3264-3269.

**Al-Qarawi A.A., Abd Allah E.F. et Hashem A. (2012)** Effect of Ephedra alata on nucleicacids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus* . *Pak. J. Bot.*, Vol. 44, N°1,pp. 425-428

**Al-Rimawi F. Abu-Lafi S. Abbadi J.Alamarnah A A. Sawahreh R A. and Odeh I. (2017)** Analysis of phenolic and flavonoids of wild Ephedra alata plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxidant activity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 14(2), p130-141

**Al-Snafi, A. E. (2017).** Therapeutic importance of Ephedra alata and Ephedra foliata-A review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2): 399-406.

**AMAKURA, Y., M. YOSHIMURA, S. YAMAKAMI, T. YOSHIDA, et al. (2013).** Characterization of phenolic constituents from Ephedra herb extract. *Molecules*, 18(5), 5326-5334.

**Aouachriaa S., Boumerfeg S., Benslama A., Benbacha F., Guemmeza T., Khennouf S., Arrar L., Baghiani A. (2017).** Acute, subacute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of Reichardia picroide crude extract. *Journal of Ethnopharmacol*, 208:105–116.

**Ashley C. (2004).** Renal failure: how drugs can damage the kidney. *Hospital Pharmacist*. 11:48–53. Asmat U., Abad K et Ismail K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress - A concise review. *Saudi Pharm J*. 24(5): 547-553.

**Avula B., Wang Y.H., Pawar R.S., Shukla Y.J., Schaneberg B et Khan I.A. (2006).** Determination of the appetite suppressant P57 in *Hoodia gordonii* plant extracts and dietary supplements by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (LC-MSD-TOF) and LC-UV methods. *Journal of AOAC International*, 89(3): 606–611.

**-B-**

**Benkhaled, A., Boudjelal, A., Napoli, E., Baali, F., & Ruberto, G. (2020).** Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of *Artemisia absinthium* essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(11), 496.

**Blumenthal J A .Mahanna E P. Madden D J. White W D. Croughwell N D and Newman M F. (1995).** Methodological issues in the assessment of neuropsychologic function after cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery*.59(5), p1345-1350.

**Boozer CN., Nasser JA., Heymsfield SB., Wang V., Chen G., Solomon JL. (2001).** An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. *Int J Obes Relat Metab Disord*.25(3):316-24p..

**Boudebia, O., & Boutera, S. (2017).** Evaluation in silico, in vitro et in vivo de l'activité biologique de dérivé N-ferrocényl-méthyltrishydroxylméthylaminométhane.

**BOUMEDIOU A .ADDOUN. (2017).** Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen.

**BOUZID., R CHADLI, K BOUZID. (2016).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale, *Phytothérapie*.

**Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, (4), 279-281.

**-C-**

**Caveney, S., Charlet, D. A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., & Starratt, A. N. (2001).** New observations on the secondary chemistry of world *Ephedra* (Ephedraceae). *American journal of botany*, 88(7), 1199-1208.

**Chen, W.L, Tsai T.H., Yang C.C.H., & Kuo T.B.J (2010).** Effects of ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*, Vol. 130, pp. 563–568.

**Croze, T. (2017).** La grande éphédra (*Ephedra major* Host subsp. *major*): une relique d'affinité steppique en position vestigiale dans les encoorbellements calcaires du défilé du Chaudan (Utelle, Alpes-Maritimes). *Bull. Soc. linn. Provence*, 68, 111.

**-D-**

**Danciu C., MunteanD. , Alexa E., Farcas C., Oprean C., Zupko I. , Bor A., Minda D. , Proks M., Buda V., Hancianu M., Cioanca O., Soica C., Popescu S. ,Dehelean C- A. (2019)** Phytochemical Characterization and Evaluation of the Antimicrobial, Antiproliferative and Pro-Apoptotic Potential of *Ephedra alata* Decne. Hydroalcoholic Extract against the MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Molecules*, 24(13): 1-15p

**Daniel P, Andrea S, Griffin B, Ignasi B, Daniel S (2017).** Revisiting the open-field test: what does it really tell us about animal personality? (CREAF). Spain :69-79p

**Dennis J, Mckenna, Phd Kenneth Jones Kerry Hughe, MSc (2002)** botanical medicinal, major herbal supplements, second edition, the Haworth herbal Press An Imprint of the Haworth Press, Inc, New York\*London\*oxford, P 271-273

**Derbel S., Touzard B., Triki MA. et Chaieb M. (2010)** Seed germination responses of the Saharan plant species Ephedra Alata ssp. Alenda to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. Flora, Vol. 205, pp. 471–474

### **-E-**

**Evans W.C. (2009).** Trease and Evans Pharmacognosy. Saunders : 16<sup>ème</sup> édition.

### **-F-**

**Farh H, Kadil Y, Tahri H, Abounasr M, Riad F, El Khasmi A (2017)** Évaluation des effets anxiolytiques, antidépresseurs et mnésiques de l'huile des graines de la nigelle chez le rat:1-9p

### **-G-**

**Ganzera M, C. Lanser, Stuppner H (2005)** Simultaneous determination of Ephedra sinica and Citrus aurantium var. amara alkaloids by ion-pair chromatography, Talanta 66; 889–894, Available online at www.sciencedirect.com, page 890.

**Gathwan, K. H. (2006).** SEM Study on Cytotoxic effect of Monocrotophos (MCP) on Blood of Mice. *Iraqi Postgraduate Medical Journal*, 5(1).

**Ghanem S and El-Magly U I. (2008).** Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal Ephedra alata male plant. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 3(1), 7-15.

**Gouasmia, S. & Zoubiri, F., (2017).** Étude de l'effet antioxydant de l'espèce Ephédra alata alenda de la région d'El Oued chez les rats Wistar albinos exposés à la Deltaméthrine. Mémoire de fin d'étude En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biochimie Appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED . P93.

**Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2006).** Textbook of Medical Physiology, 9th Ed., Prism Book (Pvt) Ltd., Bangalore, India. XLIII, 1148.

**-H-**

**Hamoudi, M. (2021).** *Etude biologique, phytochimique et toxicologique des extraits de la plante Ephedra nebrodensis de la région des Aurès* (Doctoral dissertation).

**Hegazi G.A.E. et El-Lamey T.M. (2011).** In vitro Production of Some Phenolic Compounds from Ephedra alata Decne. *J. Appl. Environ. Biol. Sc*, 1(8): 158-163.

**Hikino H., Konno C., Takata H., Tamada M, (1980)** Antiinflammatory principle of Ephedra Herbs . *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 28(10):2900-2904p

**Hikino H. (1982).** Structures of mahuannin A and B, hypotensive principles of Ephedra roots.

**-K-**

**KEBILI ZOHRA. (2016).** contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de Ephedra alata de la région de Ouargla. Mémoire de magister : biochimie et analyse des bioproduits. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 102p.

**Kittana, N., Abu-Rass, H., Sabra, R., Manasra, L., Hanany, H., Jaradat, N., ... & Zaid, A. N. (2017).** Topical aqueous extract of Ephedra alata can improve wound healing in an animal model. *Chinese Journal of Traumatology*, 20(02), 108-113.

**Kmail A., youssi B., Zaid H., Imtara H., Saad B, (2017)** In vitro evaluation of anti-inflammatory and antioxidant effects of Asparagus aphyllus L., Crataegus azarolus L., and Ephedra alata Decne. in monocultures and co-cultures of HepG2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacogn. Commn*, 7(1):24-33p.

**Krizevski R, Bar E, Shalit O, Sitrit Y, Ben-Shabat S, Lewinsohn E (2010)** Composition and stereochemistry of ephedrine alkaloids accumulation in Ephedra sinica Stapf, *Phytochemistry* 71 :895–903.

**-L-**

**LAHSISSENE H., KAHOUADJI A., HSEINI S. (2009).** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental), *Lejeunai, Revue de Botanique*

**Limberger R.P., Jacques ALB Schmitt GC., Arbo MD. (2013).** Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*: 1218- 1237

**Ling, M., Piddlesden, S. J., & Morgan, B. P. (1995).** A component of the medicinal herb Ephedra blocks activation in the classical and alternative pathways of complement. *Clinical & Experimental Immunology*, 102(3), 582-588.

**-M-**

**Malešev, D., & Kuntić V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society*.vol.72 (10) : 921-939.

**Mohamed Soltan M. et Kamal Zaki A. (2009)** Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 126, pp. 102–107

**-N-**

**NAWWAR, M. A., H. I. EL-SISSI AND H. H. BARAKAT. (1984)** Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, 1984, 23(12), 2937-2939.

**-O-**

**Ould El Hadj M., Didi Hadj-Mahammed M., Zabeirou H, (2003)** Place Des Plantes Spontanees Dans La Medicine Traditionnelle De La Region De Ouargla (Sahara Septentrional Est) Algérie,03 :47-51p.

**Ozenda, P. (1991).** Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3ème Ed.). 662p

**-P-**

**Peters, C.M., O'neill J.O., & Young J.B. (2005).** Is there an association between ephedra and heart failure? a case series. *Journal of Cardiac Failure*, Vol. 11, N°1, pp.9-11.

**Pooja, H.S.S & Kaur S., (2016)** .Studies on the liver histology and biochemistry due to pesticide exposure in rats inhabiting vegetable crop fields . *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture (IJAPSA)* . e-ISSN: 2394-5532, p-ISSN: 2394-823X

**Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. L. (1977).** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732.

**-R-**

**Rezzagui A., Merghem M., Derafa I et Dahamna S. (2020).** Acute and Sub-acute Toxic Effects of Algerian *Peganum harmala* L. Crud Extract. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*,10(2): 115-121.

**-S-**

**Shabana MM., Mirhom YW., Genenah AA., Aboutabl EA., Amer HA., (1990).** Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanised rats.*Arch Exp Veterinarmed*, 44(3):389-394p

**Suhera M. Aburawi, Jamal S.Mezogi, Khawla F. Abuelkhair(2021)** Effect of *Ephedra altissima* stems extract on behaviour in the mouse.*Mediterr J Pharm Sci*.1(1) :23-31

**-T-**

**Tamada K. (1979).** Two-dimensional stagnation-point flow impinging obliquely on a plane wall. Journal of the Physical Society of Japan, 46(1), 310-311.

**Tissot O (2019)** Prise en charge de l'anxiété par la phytothérapie. N°590.université de Bourgogne France :27-28p

**Trey T, Laura G, Lisa M (2015)** Prototypical anxiolytics do not reduce anxiety-like behavior in the open field in C57BL/6J mice. N°133.USA :7-17p

**-Y-**

**Yahaioui, A.,& Silat ,L.(2017).**Contribution à l'étude des extraits de l'espèce Ephédra alata Alanda de la région de Sigus. Mém de Master, Université Larbi Ben Mhidi Oum El bouaghi , 6p.

**-Z-**

**Zama, D., Meraihi, Z ., Boubaekri, N., Amrani ,A., Tebibel ,S.& Balli ,N., (2005).** Assessment of the changes in some diagnostics enzymes and other parameters in wistar albino rats treated with pesticides during gestation. Sciences & Technologie C – N°23, pp. 51-56

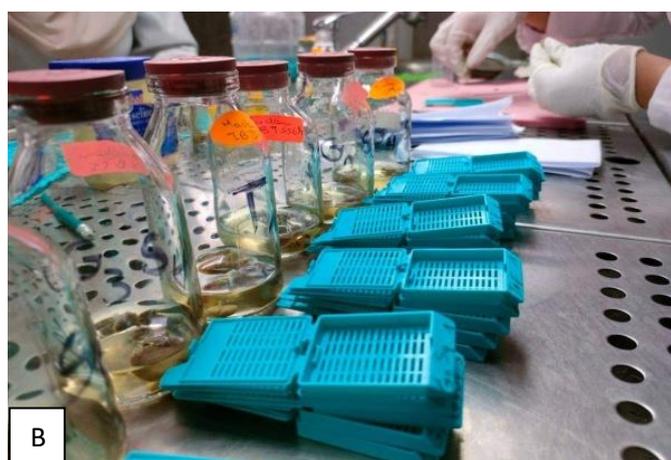
**Zheng, E. & Navarro, V. (2016).** Liver injury due to herbal and dietary supplements: A review of individual ingredients. Clinical liver disease. Vol. 7, P. 81.

# ANNEXE

## Etude histologique des organes

### 1. Réalisation des coupes histologiques

Après la fixation du foie, des reins, de rate, du cœur, et des poumons, dans le dans le formol (10%), on les a coupés en petits morceaux. Mettre les coupes dans des cassettes d'inclusion référencié.



**Figure 1** : Réalisation des coupes histologiques (A : faire des coupes, B : Mettre les coupes dans des cassettes)

## 2. Inclusion

Mettre les cassettes dans :

- 1- Six (6) bains d'alcool pendant 1 h 30 min chacun.
- 2 -Trois (3) bains de xylène de 1 h pour les deux premiers bains et de 2 h pour les troisièmes bains.
- 3 - Un bain vide pendant 15 min.
- 4 - On passe aux deux bacs de paraffine pendant 4 h.
- 5 - On met aussi dans 2 bacs de paraffines dans l'étuve à 65°C.

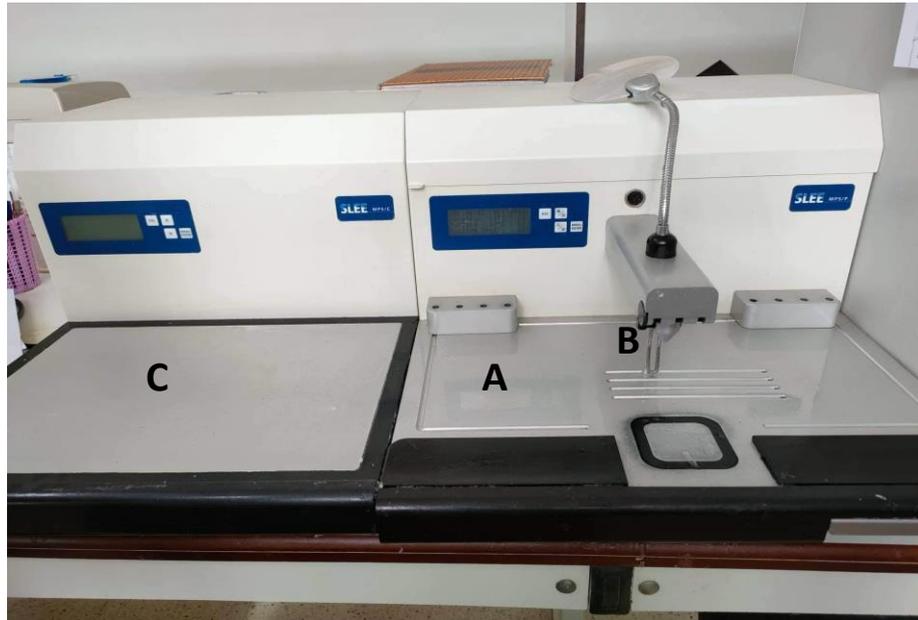


**Figure 2 :** Automate a inclusion (model LEICA TP 1020)

## 3. Enrobage

L'enrobage se fait grâce à un appareil comportant, trois compartiment (A, B, C), deux chauds et un compartiment froids.

A l'aide des moules métalliques, les cassettes seront remplies par la paraffine chaude, puis refroidie au niveau du compartiment froid (figure....).



**Figure 3** :l'appareil d'enrobage, comportant deux compartiments chauds (A et B) et un compartiment froid (C)

#### **4. Préparation et déparaffinage des coupes**

Les coupes de paraffine sont réalisées à l'aide d'un microtome (LEICA RM2125RT) à une épaisseur de 20  $\mu\text{m}$  et les coupes congelées.

Après la congélation, nous utilisons le microtome pour faire des coups fins.

Les rubans de paraffines obtenus sont plissés et doivent être étalés sur

Un milieu liquide légèrement chauffé afin que les plis disparaissent et que la coupe acquière une planéité parfait, puis on met le ruban sur une lame on écrit la référence écrite sur le bloc et on prend une bonne coupe comportant une image complètement du fragment puis on met la lame sur la plaque chauffante pour déparaffiner c'est-à-dire pour éliminer la couche fine de la paraffine.

Les coupes égouttées et mises dans des portoirs sont ensuite séchées dans une étuve jusqu'au moment de la coloration (pendant 40 min).



**Figure 4 :** Technique de coupe par un microtome (LEICA RM2125RT)

### 5. Coloration l'hématoxyline-éosine

La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine est une coloration bichromatique qui se compose d'un colorant nucléaire, l'hématoxyline, et d'un colorant cytoplasmique, l'éosine.

L'hématoxyline est un colorant cationique, dit également basique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement (= anioniques ou acides) dits basophiles. Il colore notamment les noyaux en bleu/violet, en se fixant sur les acides nucléiques.

Au contraire, l'éosine est un colorant anionique, dit également acide, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement (= cationiques ou basiques) dits éosinophiles. Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose/rouge plus ou moins vifs selon leur acidophilie.

**Tableau I:** Batterie de coloration Hématoxyline-Eosine (Ait Hamadouche, 2010)

Réaction	Produits	Duré
<b>Déparaffinage</b>	Xylène	4 min
	Xylène	4 min
<b>Réhydratation</b>	Alcool	2 min
	Alcool	2 min

	Alcool	2 min
	Alcool	2 min
<b>Rinçage</b>	Eau courante	30 sec
<b>Coloration</b>	L'hématoxyline	3 min
<b>Rinçage</b>	Eau courante	30 sec
<b>Coloration</b>	Eosine	2 min
<b>Déshydratation</b>	Alcool	2 min
	Alcool	2 min
	Alcool	2 min
<b>Eclaircissement</b>	Xylène	8 min



**Figure 5** : Automate pour coloration Hématoxyline-Eosine (LEICA ST 4040)

## 6. Montage des lames

Pour le montage on met une petite quantité de kit sur lamelle, faire rentrer la lamelle dans du xylène puis coller la lamelle sur la lame, on appuie légèrement à l'aide d'une pince.

Lors de la manipulation, aucune bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et la lamelle.

Mettre les lames sur L'aspirateur pour les sécher.



**Figure 6 :** Appareil d'aspiration (MEDITE)

## **7. Examen microscopique**

L'analyse microscopique est généralement l'activité principale du pathologiste. Il a pour cela recours aux outils de la microscopie, principalement microscope optique ou photonique, mais également électronique.

Cette étape permet d'apprécier les éventuelles lésions ou anomalies au sein des tissus analysés. Ainsi qu'à pouvoir identifier l'agent causal (Laquet, 2007).

Les préparations sont observées au microscope optique (OPTIKA)



**Figure 7 :** Microscope optique (OPTIKA)