

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université « Dr. Tahar Moulay » de Saida
Faculte Des Sciences



Mémoire Elaboré en vue de l'obtention du diplôme de Master
Spécialité : Microbiologie

Sur le thème intitulé

**Etude comparative de L'effet de Lactobacillus
plantarum probiotique et de Mélissa officinalis
sur le stress oxydatif chez les rats wistar**

Présenté par

Melle. Ameer Bouchra
Melle. Marakchi Saida

Soutenu le:15/09 /2019

Devant la commission du jury, composée par :

Président :Mme Dahani
Examineur :Mr Ammam
Encadreur :Mme Amara.S

Université de Saida.
Université de Saida.
Université de Saida.

Année universitaire:2019-2020

Remerciment

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

On remercie énormément madame dahani d'avoir accepter de présider le jury

Notre gratitude la plus profonde et nos remerciements les plus sincères a Mme Dahani Mofida pour son suivie, ses orientations, sa disponibilité au laboratoire, ses précieux conseils et ses remarques judicieuses.

On remercie Mr Ammam d'avoir accepté d'examiner et d'apporter son jugement sur ce travail

On veut également remercier, on exprime notre reconnaissance de nous avoir l'honneur d'être l'examinatrice. On tient à remercier sincèrement mademoiselle Amara Sabrina, notre encadreur, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir guidés dans notre travail. Ses conseils pour le bon déroulement de ce travail et pour sa gentillesse.

Finalement, on est profondément reconnaissantes à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*A mon cher Papa : pour ses précieux conseils et encouragements.
Aucune dédicace ne saura exprimée l'amour, l'estime et le respect que
j'ai pour toi.*

*A ma très chère Maman, qui a oeuvré pour ma réussite, tous les
sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et
sa présence dans ma vie.*

*A mes chères soeurs, Rekia et Ibtissam, pour leurs encouragements et
pour leurs aides.*

*A mes chères sœurs malika et khaira et leurs enfants, Sara, Karim,
Rida, Narimen, Lotfi et Amine*

A mon adorable frère Moustafa et A yahia et Mouhamed

A mes chères amies (es)

A mon cher binôme bouchra pour le travail que nous avons fourni

Et à tous mes camarades de Microbiologie.

Saida Marakchi

Dédicaces

*Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux,
Louange à dieu qui m'a aidé durant des années, à éclairer et ouvrir les portes du
savoir.*

C'est avec une profonde émotion que je dédie ce mémoire :

*Un immense merci a mes très chers **parents**, tous les
mots du monde ne sauraient exprimer l'immense
amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que
je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices
que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon
instruction et mon bien-être.*

*Que Dieu Tout Puissant vous garde et vous
procure santé, bonheur et longue vie.*

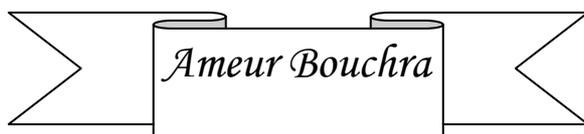
*Un très grand merci ma chère sœur **Souad** et leur enfants **Adam** et **Sirine** et mes
chères frères **Mouhamed** et **Bouelam**, qui m'ont beaucoup aidé et soutenu dans
les moments difficiles.. Merci du plus profond de mon cœur. Vous êtes la
meilleure sœur et les meilleurs frères qu'une personne puisse avoir.*

*Mon fiancé et mon cher **Amir**, qui m'a encouragé et soutenue pendant ce
travail.*

*Je tiens à remercier ma très chère amie **laouinati fatma**
imene*

*Je tiens à remercier ma chère copine **marakchi saida**
qui a été toujours là pour me soutenir dans mes galères, me remonter le moral et
m'encourager durant notre expérimentation.*

Ce travail n'aurait pas été le même sans vous .



Sommaire

- ❖ Résumé
- ❖ Liste des abréviations
- ❖ Liste des tableaux
- ❖ Liste des figures

Intoduction	1
Chapitre I : Revue bibliographique	
I-<i>Lactobacillus plantarum</i> et probiotiques	2
I-1- Généralités :.....	2
I-2-Le genre <i>Lactobacillus</i>	2
I-2-1- Identification.....	3
I-2 -2- Intérêt technologique des lactobacilles	3
I-2-3- <i>Lactobacillus plantarum</i>	4
I-3- Probiotiques.....	4
I-3-1- Historique et definitions de probiotiques.....	4
I-3-2-Mécanisme d'action et role des probiotiques	5
I-3-3-Probiotiques Et Produits Toxiques.....	6
I-3-4- Probiotiques et stress oxydant.....	6
II -Melissa officinalis	
II-1-Description botanique.....	7
II-2-Taxonomie de la mélisse.....	8
II-3-Caractéristique chimique.....	9
II-4- activité biologique.....	9
II-4-1-activité sur système digestif.....	9
II-4-2-activité antiviral.....	10
II-4-3-activité anti hormonal.....	10
II-4-4-Action antibactérienne et antifongique	10
II-4-5-activité antioxidant.....	11
II-4-6-activité sur biosynthèse protéique et sur la division cellulaire.....	11
II-5-Toxicité	11

III -plomb et stress oxydatif	
III-stress oxydatif	12
III-1-Définition	12
III-2- Les symptômes du stress oxydatif	12
III -3- Les radicaux libres	13
III -3-1- Définition d'un radical libre	13
III -3- 2-Les sources de radicaux libres	13
III -3- 2-1- Source endogènes	15
III -3- 2-2- Source exogènes	15
III -3-3- Formation des radicaux libres	15
III -4- Les espèces oxygénées activées	15
III-5- Dommages oxydatifs des macromolécules	16
III -5-1- Sur protéines	16
III -5-2- Sur ADN	16
III -5-3- Les lipides membranaires	17
III-6- Les systèmes de défense antioxydants	17
III -6-1- Les antioxydants enzymatiques	17
6-1-1- Les superoxydes dismutases	17
6-1-2- La Catalase	17
6-1-3- Le système de glutathion	18
III -6-2- Les antioxydants non enzymatiques	18
6-2-1- vitamine E	18
6-2-2-La vitamine C (l'acide ascorbique)	18
6-2-3- Le Glutathion (GSH)	18
6-2-4- Les oligo-éléments	19
IV -Le plomb	19
IV -1- L'utilisation du plomb	19
IV -2- Propriétés physico-chimiques du plomb	20
IV -3- Les sources d'exposition	21
3. 1. Sources d'exposition liées aux activités industrielles	21

3.2. Sources d'exposition liées aux activités domestiques et mode d'alimentation.....	21
--	-----------

IV -4.- Toxicocénitque de plomb.....	22
---	-----------

4.1.Absorption.....	22
----------------------------	-----------

4.2.Distribution.....	22
------------------------------	-----------

4.3. Élimination.....	22
------------------------------	-----------

IV -5- Principaux effets toxiques du plomb sur la santé humaine.....	23
---	-----------

5-1- Toxicologie chronique.....	23
--	-----------

5-1-1- Effets sur le système nerveux central	23
---	-----------

5-1-2- Effets rénaux.....	24
----------------------------------	-----------

5-1-3-Effets sur le foie.....	24
--------------------------------------	-----------

CHAPITRE II :Matériels et Méthods

1-Matériel Biologique.....	26
-----------------------------------	-----------

1.1Matériel animal.....	26
--------------------------------	-----------

1.2Souche utilisées pour le crible probiotique	26
---	-----------

1.2.1. Milieux de culture	27
--	-----------

1.2.2. Purification et conservation des souches	27
--	-----------

1.2.3 Conservation des souches.....	27
--	-----------

1.2.4 Préparation dulait fermenté par la souche probiotique.....	28
---	-----------

1.3Matériel végétal	28
----------------------------------	-----------

1.3.1Extraction.....	29
-----------------------------	-----------

1.3.2 Détermination du rendement.....	30
--	-----------

1.3.4 Préparationde la solution injectable de plante à dose 25mg/kg .	31
--	-----------

1.4 Répartition des groupes	31
--	-----------

2-Paramètres de croissances	31
--	-----------

3-Prélèvements	32
3-1 Prélèvement du sang et des organes	34
4- Dosages.....	34
4-1 Dosage Biochimique	34
4-2 Dosage des paramètres du stress oxydant.....	34
4.2.1 Préparation de l'homogénat.....	34
4-2-2 Dosage de malondialdéhyde (MDA).....	35

Chapitre 3 : Resultats Et Discussion

1.Vérification de la pureté des souches lactiques.....	37
2.Déterminations de Rendement de l'extrait	38
3.Effet du plomb et de <i>Melissa officinalis</i>,et de probiotique sur l'évolution pondérale	38
4. Dosage des paramètres biochimiques (glycémie, cholestérol, triglycéride).....	40
5. Le paramètre du stress oxydant.....	42
Conclusion.....	46

Résumé

Résumé :

Le plomb est un métal omniprésent dans l'environnement et dont la toxicité est bien établie, il est considéré comme un élément non essentiel pour les fonctions vital de l'organisme. L'exposition à ce métal, même à des doses très faibles, entraîne des dysfonctionnements importants au niveau des différents organes (foie, rein...) et particulièrement sur le système nerveux central. A cet effet, notre travail porte sur l'impact de l'intoxication au plomb sur le stress oxydatif et l'étude de l'extrait aqueux de la plante *Mélissa officinalis* comparé à la souche *Lactobacillus plantarum NSC5C* pour contrer les séquelles générées par le plomb. L'exposition à 2g/l de l'acétate de plomb par voie orale, aux rats Wistars pendant 7 semaines a permis d'observer une baisse significative de la prise hydrique, et une augmentation du poids des animaux.

Les résultats de notre étude ont montré que l'intoxication au plomb entraîne une augmentation non significative dans la glycémie, cholestérol et triglycéride des rats intoxiqué, Par contre le probiotique permis de baissé le taux de ces trois paramètre, Par ailleurs l'administration de la plante au rats intoxiqués a permis d'augmenté la glycémie de manière non significatif, et d'enregistré une diminution de ces deux paramètre.

Concernant le taux de MDA les résultats obtenus ont montré que l'intoxication au plomb entraîne une augmentation significative du taux du MDA hépatique et cérébrale chez les rats exposés au plomb comparé au lot témoin, tandis que les rats traités par la combinaison (Pb-mo) et par la combinaison (pb-prob) montrent une diminution significative du taux du MDA du cerveau et une diminution non significative du taux du MDA du foie en comparaison aux rats intoxiqué.

A partir de cette étude, on peut conclure que les feuilles de *Mélissa officinalis* et La souche *NSC5C Lactobacillus plantarum* ont modifié les effets toxiques du plomb et montré que cette plante et cette bactérie ont une efficacité relativement similaire contre le stress oxydant induit par le plomb.

Les mots clés : plomb, stress oxydatif, *Mélissa officinalis*, *Lactobacillus plantarum*, probiotiques.

Résumé

Abstract

Lead is a metal that is ubiquitous in the environment and has a well-established toxicity. It is considered a non-essential element for the vital functions of the body. Exposure to this metal, even at very low doses, causes significant dysfunctions in the various organs (liver, kidney ...) and particularly in the central nervous system. To this end, our work focuses on the impact of lead intoxication on oxidative stress and the study of the aqueous extract of the plant *Melissa officinalis* compared to the strain *Lactobacillus plantarum* NSC5C to counter the sequelae generated by lead. Exposure to 2g / l of oral lead acetate, to Wistar rats for 7 weeks, showed a significant decrease in water intake, and an increase in the weight of the animals.

The results of our study showed that lead poisoning leads to a non-significant increase in the glycaemia, cholesterol and triglyceride of the poisoned rats. On the other hand, the probiotic allowed lowering the rate of these three parameters. Plant poisoned rats allowed to increase blood sugar in a non-significant way, and recorded a decrease in both of these parameter.

Regarding the MDA level, the results obtained showed that lead poisoning caused a significant increase in the level of hepatic and cerebral MDA in the rats exposed to lead compared to the control group, while the combination (Pb-mo) and combination (pb-prob) treated rats showed a significant decrease in brain MDA and a non-significant decrease in liver MDA compared with intoxicated rats.

From this study, it can be concluded that the leaves of *Melissa officinalis* and the strain NSC5C *Lactobacillus plantarum* have modified the toxic effects of lead and show that this plant and this bacterium have a relatively similar efficacy against lead-induced oxidative stress.

Keywords: lead, oxidative stress, *Melissa officinalis*, *lactobacillus plantarum*, probiotic.

Résumé

الملخص

الرصاص هو معدن موجود في كل مكان في البيئة وله سمية راسخة، ويعتبر عنصراً غير ضروري للوظائف الحيوية للجسم. يؤدي التعرض لهذا المعدن، حتى عند تناول جرعات منخفضة جداً، إلى حدوث اختلالات كبيرة في الأعضاء المختلفة (الكبد والكلية....) وخاصة في الجهاز العصبي المركزي. تحقيقاً لهذه الغاية، يركز عملنا على تأثير التسمم بالرصاص على الإجهاد التأكسدي وتأثير المستخلص المائي لميليسا أوفيسيناليس مقارنةً مع لاکتوباسيليس بلانتاروم لتحسين التأثيرات الضارة الناتجة عن الرصاص. أظهر التعرض ل 2 غرام/ليتر من الرصاص عن طريق الفم، لفئران ويستار لمدة 7 أسابيع، انخفاضاً كبيراً في استهلاك المياه، وزيادة في أوزان الحيوانات. بالإضافة إلى ذلك، إدارة المستخلصات النباتية بجرعة 25 ملغ / كغ وإدارة بروبيوتيك لمدة 7 أسابيع ينظم بشكل كبير ويعيد سلوك الحيوانات المعرضة للرصاص

أظهرت نتائج دراستنا أنه تم تسجيل تغييرات كبيرة للمعطيات البيوكيميائية (الجلوكوز في الدم والكوليسترول والدهون . الثلاثية) للفئران المسممة. وبعد العلاجات بالمستخلص المائي من ميليسا أوفيسيناليس والبروبيوتيك . لوحظ انخفاض في نسبة الكوليسترول و الدهون. أما بالنسبة للجلوكوز فقد ارتفع بعد العلاج بالمستخلص وانخفضه بعد العلاج بالبروبيوتيك

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن التسمم بالرصاص يؤدي إلى زيادة كبيرة في MDA الكبدية والدماغي في الفئران التي تعرضت للتسمم وبعد العلاج بأوراق ميليسا أوفيسيناليس ولاکتوبسيليس لوحظ انخفاضه

الكلمات المفتاحية الرصاص . الاجهاد التأكسدي . ميليسا أوفيسيناليس . لاکتوبسيليس بلانتاروم. بروبيوتيك

Abréviations

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- **%**: Pourcentage.
- **1 ml** : 1 milliliter
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **ADNr**: acide ribonucléique ribosomique
- **ADP** : Adénosine diphosphate.
- **AGPI** : Acides gras polyinsaturés
- **AMPc** : Adénosine Mono Phosphate cyclique
- **Apaf-1** : Apoptotic peptidase activating factor 1.
- **APG** : *Angiosperm Phylogeny Group* = groupe phylogénétique des Angiospermes
- **ARNr 16 S**: Acide ribonucléique ribosomiale de la petite sous-unité 16S
- **ATP** : Adénosine triphosphate.
- **Bax** : Bcl2 Associated X.
- **Bcl2** : B-cell Lymphoma 2.
- **C°**: Degré Celsius.
- **Cat**: Catalase
- **CE50** et **DE50** : Concentration et Dose efficace 50*
- **CoQ10**: Coenzyme Q10.
- **Cys**: Cystéine.
- **Cyt c** : Cytochrome c.
- **DAO**: dérivés actifs oxygénés
- **DO**: Degré D'oxydation
- **e⁻** : électron.
- **EOA** :Espèce oxygéné actif
- **FAO** : Organisation des Nation Unies pour l'amélioration et l'agriculture
- **Fe⁺²** : Fer réduit.
- **G/C** : Guanine - Cytosine
- **GR**: Glutathion réductase.
- **GSH**: Glutathion réduit.
- **GSSG**: Glutathion oxydé.
- **H⁺**: Proton.
- **H2O2** : Eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène).
- **HO.** : radical hydroxyle

Abréviations

- **I** : intoxiqué
- **IP**: injection intra péritonéale.
- **Lb** : *Lactobacillus*
- **Lb. plantarum**: *Lactobacillus plantarum*
- **LPO**: Peroxydation lipidique.
- **MDA**: Malondialdéhyde.
- **mg**: milligramme.
- **MICI** : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
- **MMO** : Système microsomal cytochrome P450-dépendant monooxygénase.
- **MO** : *Melissa officinalis*
- **MRS**: de Man Rogosa et Sharpe
- **NaCl**: Chlorure de sodium
- **NADH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
- **NADPH** : Nicotine Amide Adénine Dineucléotide Phosphate
- **NO[·]** : Monoxyde d'azote.
- **O₂**: Oxygène moléculaire.
- **O₂⁻** : Anion superoxyde.
- **OH⁻**: Anion hydroxyle.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **pH**: potentiel d'Hydrogène
- **RL**: Radicaux libres.
- **RNS**: Espèces réactives d'azote.
- **ROO[·]**: Radical peroxyde.
- **ROOH** : hydroperoxyde lipidique
- **ROS**: Espèces réactives oxygénées.
- **SOD**: Superoxyde dismutase.
- **T** : témoin
- **T3**: triiodothyronine
- **T4**: thyroxine
- **TBA** : L'acide Thiobarbiturique
- **TCA** : L'acide Trichloroacétique
- **TD** : Tractus Digestif
- **TSH** : Thyroid Stimulating Hormon
- **VIH** : Le virus de l'immunodéficience humaine

les Figures

Liste des Figures

Figure 1 : Mélisse officinale (<i>Melissa officinalis</i>).....	8
Figure 2 : Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ROS	14
Figure 3 : Un Groupe Des Rats Dans Une cage.....	26
Figure 4 : <i>Melissa officinalis</i> Après séchage.....	29
Figure 5 : Méthode De L'extraction De <i>Melissa Officinalis</i>	30
Figure 6 : le surnagent obtenue après Centrifugation (3000 tours/min pendant 15 min.....	32
Figure 7 : Aspect De Foie.....	32
Figure 8 : Aspect De Cerveau.....	32
Figure 9 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	33
Figure 10 : Pesée D'organe.....	34
Figure 11 : Broyage De Tissu (Foie Ou Cerveau).....	34
Figure 12 : Homogénéisation Des Tissus Par Vortex.....	35
Figure 13 : Coubre standard pour le calcul de MDA.....	36
Figure 14 : Aspect Macroscopique De La Souche NSC5C Sur MRS-Gélosé.....	37
Figure 15 : Aspect Microscopique De De La Souche NSC5C (Grossissement ×100).....	37
Figure 16 : Le Rendement De La Plante <i>Mélissa Officinalis</i>	38
Figure 17 : Effet De <i>Mélissa Officinalis</i> Et De Probiotique Sur L'évolution Pondérale Chez Les Rats Exposés Au Plomb Pondant 7 Semaines Comparés Aux Témoins.....	39
Figure 18 : Effet De <i>Mélissa Officinalis</i> Et De Probiotique Sur Le Gain Corporel Moyen Chez Les Rats Exposés Au Plomb.....	39
Figure 19 : Teneur En Glycémie,.....	41
Figure 20 : Teneur En Triglycérides.....	41
Figure 21 : Teneur En Cholestérol Sérique.....	42
Figure 22 : Variations De Taux De MDA Tissulaire Dans Le Foie Des Rats	43
Figure 23 : Variations De Taux De MDA Tissulaire Dans Le cerveau Des Rats.....	43

Les Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Autres usages du plomb.....20

Tableau 02 : Propriétés physico-chimique de l'élément de plomb21

Introduction

Introduction :

Depuis ces dernières décennies, les effets de l'industrialisation ont rompu l'équilibre existant entre la nature et l'humain. L'utilisation brutale et massive de métaux lourds y compris l'aluminium et le Plomb ont peu à peu conduit à l'apparition de risques nouveaux, encore mal évalués. Bien que les risques d'intoxication par de faibles niveaux de métaux lourds ne soit toujours pas pris très au sérieux par la majorité des médecins conventionnels, le danger existe bel et bien. De nouvelles recherches ont montré que ces métaux s'accumulent dans l'organisme et peuvent avoir des effets très néfastes sur la santé.

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydant : les enzymes antioxydants directement synthétisées par l'organisme (superoxyde dismutases, glutathion peroxydases, catalase...) et les composés antioxydants d'origine exogène alimentaire (les vitamines A, C et E ; les caroténoïdes comme le lycopène et la lutéine ; la taurine ; les polyphénols ; certains minéraux et oligoéléments comme le magnésium, le zinc, le sélénium et le manganèse).

L'apparition de stress oxydant important peut ainsi déséquilibrer les systèmes antioxydant naturel, ce qui induit un désordre général pouvant toucher les barrières d'enzymes antioxydantes et même d'autres systèmes tel que le système nerveux central notamment leurs rôle dans la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique (maladie de Lou Gehrig).

Des solutions thérapeutiques ont été mises en œuvre, mais ces dernières n'ont pas montré une résolution satisfaisante à cause du faible rendement d'efficacité en plus des effets indésirables pouvant ainsi donner naissance à de nouvelles anomalies.

L'objectif de ce travail consiste à la recherche des activités biologiques de l'extrait de la plante de *Mélissa officinalis* et de la souche bactérienne *NSC5C Lactobacillus plantarum* sur le stress oxydatif engendré par une intoxication chronique au plomb.

Ce travail a été divisé en deux parties, la première étant une brève revue bibliographique sur le Plomb et le stress oxydatif, présentant la problématique du mémoire, suivie d'un deuxième chapitre sur les deux traitements suggérés pour cette étude afin de palier à l'intoxication au plomb qui sont une source probiotique (*Lactobacillus plantarum*) et une plante (*Mélissa officinalis*)

La deuxième partie est l'expérimentation sur des rats Wistar.

I -*Lactobacillus plantarum* et probiotiques :

I -1- Généralités :

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, organotrophes, formant un groupe hétérogène constitué de cocci et de bacilles (**Badis et al., 2005**). Ce sont des bactéries à Gram positif, asporulantes, aéro-anaérobie facultatives ou micro-aérophiles, généralement immobiles, acido- tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C (**Zhang et Cai, 2014**).

Elles rassemblent un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres.

En général ces bactéries ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase (à l'exception de quelques souches sous certaines conditions elle sont protéolytique ne liquéfient pas la gélatine et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (**Dellaglio et al., 1994; Salminen et al., 2004 ; Zhanget Cai, 2014**).

Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentes cibles ; C'est la raison qui explique leur abondance dans le lait (**Dellaglio et al., 1994; Hogg, 2005; Novel, 1993**).

I -2-Le genre *Lactobacillus* :

Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles forment un ensemble très disparate.

Ils appartiennent au groupe des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli*, à l'ordre des *Lactobacillales* et à la famille des *Lactobacillaceae* (**De Vos et al., 2009**).

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Créé, pour la première fois, par Beijerinck en 1901, il comprend

Revue Bibliographique

actuellement, au moins 145 espèces reconnues qui présentent une diversité phylogénétique, phénotypique et écologique extrême (**Corrieu et Luquet, 2008 ; Barinov *et al.*, 2011**). Cette diversité est due à la variation en contenu guanine/cytosine (G/C) qui varie entre 30 et 55 % selon les espèces (**De Vos *et al.*, 2009**).

I -2-1- Identification :

L'identification d'espèces de lactobacilles peut être difficile à réaliser par les méthodes biochimiques en raison du très grand nombre d'espèces existantes. Elle repose essentiellement sur des tests de fermentation des sucres. La galerie API 50 CH avec l'utilisation du milieu pour lactobacilles, est la méthode biochimique la plus utilisée et probablement la plus fiable (**Roissart et Luquet, 1994 ; Ozgan et Vural, 2011**).

L'utilisation des outils de taxonomie moléculaire comme l'hybridation quantitative ADN/ADN et le séquençage des gènes d'ADNr 16S ont permis de lever des ambiguïtés et de nommer précisément les espèces de lactobacilles d'intérêt en santé et en alimentation humaine parmi plus d'une centaine d'espèces de lactobacilles actuellement décrites (**Dellaglio et Felis, 2005**).

I -2 -2- Intérêt technologique des lactobacilles :

L'intérêt pratique des lactobacilles est considérable pour plusieurs raisons :

- ❖ La production d'acide lactique est une des principales fonctions des lactobacilles, car la quantité produite par ces derniers est supérieure à celles formées par les autres genres utilisés industriellement (**Luquet et Roissant, 1994**).
- ❖ L'activité protéolytique des lactobacilles participe à l'accélération de l'affinage des fromages avec un moindre risque de développement d'amertume, et d'être à l'origine d'une saveur plus intense (**Bartels *et al.*, 1987**).
- ❖ Certaines espèces du genre *Lactobacillus* comme *Lb. delbrückii ssp. Bulgaricus* possèdent une aptitude à produire un polysaccharide, qui confère l'épaississement du milieu dans le cas de yaourt (**Schmidt J.L. *et al.*, 1994**).

Revue Bibliographique

I -2-3- *Lactobacillus plantarum* :

L'espèce *Lactobacillus plantarum* est une bactérie : Gram positif, non pathogène, naturellement existante dans la salive humaine et au niveau du TD. Elle est en forme de bâtonnet (rod-shaped), Hétérofermentaire facultative (fermente les pentoses et/ou le gluconate), Mésophile, à croissance positive à 15°C mais pas à 45°C.

C'est une bactérie ubiquitaire qui peut être rencontrée dans différentes niches écologiques (aliments fermentés et tractus gastro-intestinal) (**sirulin, 2010**).

Aérotolérante, elle peut convertir l'oxygène en peroxyde d'hydrogène (voie de manganèse dépendante), ce qui lui confère une grande tolérance à l'H₂O₂.

En l'absence d'oxygène, elle est capable de fermenter les sucres en acide lactique et alcool (hétérofermentaire). L'acide lactique produit est une combinaison de D-et L-isomères.

De plus, elle est capable de liquéfier la gélatine. (**Anonyme, 2009**)

I -3- Probiotiques :

I -3-1-Historique et définition des probiotiques :

Le terme probiotique dérive de deux mots grec « pros » et « bios » qui signifient littéralement « pour la vie » (**Gbassi, 2010**). Les probiotiques ont bénéficiés de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant, dans le tube digestif, la population de bactéries purifiantes ou produisant des toxines. Une des premières définitions les décrivaient comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes » a été proposé. Ensuite, la définition a été élargie à des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore ». Cette dernière définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques. Plus tard, une autre définition très proche du sens actuel a été proposée : «Supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en

Revue Bibliographique

améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » (**Makhloufi, 2012**). La FAO et l'OMS ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments et formulent la définition suivante : « micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère ». (**FAO/OMS, 2002**).

De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, Il en existe 4 grands groupes:

- ❖ Les ferments lactiques : Ils sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose. Ils sont regroupés en 2 catégories, en fonction de leur morphologie : les lactobacilles (*Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*) et les coques (*Enterococcus* et *Streptococcus*)
- ❖ Les Bifidobactéries : D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. Avec l'âge, la population de Bifidobacteries diminue et leurs espèces varient.
- ❖ Les différentes levures de type Saccharomyces : Elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire.
- ❖ Les autres bactéries sporulées : Dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* (**Dias et al., 1995**).

I -3-2-Mécanisme d'action et rôle des probiotiques :

Le mécanisme d'action exact des probiotiques est encore inconnu. Toutefois, trois principales hypothèses ont été avancées

L'influence favorable de ces agents serait reliée à:

- L'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes et de leurs liaisons avec l'épithélium gastro-intestinal
- L'amélioration de la fonction barrière de l'intestin
- La modulation du système immunitaire (**Marteau et al., 1998**).

I -3-3-Probiotiques et produits toxiques :

Les probiotiques interviennent très certainement dans la neutralisation de produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intra-digestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniacs, amines et indoles) et diminueraient les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques. Les bactéries probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser in situ certaines toxines bactériennes (**Marteau *et al.*, 1994**)

I- 3-4- Probiotiques et stress oxydant :

De nombreuses études menées sur l'implication du stress oxydant dans diverses pathologies (dont des pathologies intestinales) ont montré l'intérêt d'étudier les effets des souches bactériennes probiotiques et anti-oxydantes afin de traiter ce déséquilibre physiologique.

➤ Modèles d'étude chez l'animal

Dans les maladies inflammatoires de l'intestin, l'activation soutenue du système immunitaire entraîne un stress oxydant au niveau du TD ainsi qu'une perte de l'homéostasie intestinale. Dans le cas des MICI, un excès de DAO a été observé au niveau du TD. Cette observation a encouragé l'étude des bactéries probiotiques anti-oxydantes pour le traitement de ces dysfonctionnements intestinaux. En effet, ces bactéries pourraient résister au stress oxydant et survivre au transit pour exercer leurs effets bénéfiques, et limiter les dommages causés par l'inflammation en éliminant les DAO produits dans le TD. (**Rochat *et al.***)

➤ Modèles d'étude chez l'homme

Il est difficile d'observer les effets des probiotiques sur la santé des personnes saines, mais il existe quelques études réalisées sur des volontaires sains. Si un probiotique est capable d'induire une fonctionnalité positive sur les indices relatifs au stress oxydant, il aidera à stabiliser et promouvoir le potentiel des systèmes de défense anti-oxydants, même en absence de symptômes cliniques.

Revue Bibliographique

Par exemple, l'efficacité de la souche *L. fermentum* Me-3 a été testée chez des volontaires sains. Cette souche a été identifiée comme souche anti-oxydante suite à des essais *in vitro* et *in vivo* chez la souris (**Kullisaar, Zilmer et al., 2002; Mikelsaar and Zilmer 2009**).

Les effets de la souche ont été évalués sur des marqueurs de stress oxydant humains.

II -*Melissa officinalis* :

II -1-Description botanique :

La mélisse est une plante herbacée vivace à la tige carrée, dressée et ramifiée, poussant en touffe, mesurant le plus souvent entre 30 et 80 centimètres de haut (**Perrot & Paris, 1971 ; Thoby, 2009**).

Les feuilles, pétiolées, sont réparties de façon opposée et décussée sur la tige (**Wichtl & Anton, 2003**). Leurs bords sont fortement crénelés. Elles sont de forme ovale et cordiforme, aux nervures réticulées très saillantes sur la face inférieure, donnant cet aspect gaufré à la face supérieure. La surface est recouverte de fins poils courts.

Les fleurs sont regroupées par douzaine ou demi-douzaine, en verticille, à la base des feuilles. De couleur blanche à rosée, elles sont formées d'une corolle tubulaire constituée de deux lèvres inégales (**Perrot & Paris, 1971**).



Figure 1 : Mélisse officinale (*Melissa officinalis*)

II -2-Taxonomie de La mélisse (*Melissa officinalis* L) :

La place de la mélisse dans la classification phylogénétique APG III (2009) est la suivante

(Perrot & Paris, 1971 ; Meyer *et al.*, 2008 ; Thoby, 2009) :

Règne : Végétal

Ordre : Lamiales

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Sous-classe : Astéridées,

Famille : Lamiacées

Genre : *Melissa*

Espèce : *officinalis*.

II -3- Caractéristiques chimiques :

La quantité de l'huile essentielle présente dans la mélisse n'est pas très importante (0,02 à 0,32% du poids sec de la mélisse) (**Ribeiro et al. 2001 ; Toth et al., 2003 ; Carnat et al., 1998**). Les principaux composés de l'huile essentielle sont le citral (représenté par les deux stéréo-isomères néral et geranial), le caryophyllène et le citronellal (**Toth et al., 2003 ; Carnat et al., 1998 ; Fialová et al., 2008 ; Rozzi et al., 2002**). D'autres composés y sont présents en petites quantités tels que germacène D, ocimène, citronellol (**Carnat et al., 1998**), oxyde de caryophyllène, néral acétate (**Rozzi et al., 2002**), linalol, geraniol (**Ribeiro et al., 2001**).

La mélisse est composée de flavonoïdes, lutéoline, quercétol, acides phénols, caféine, chlorogénique, labiatic, mucilage, dérivés terpéniques (**Hmamouchi, 1999**).

II -4- Activité biologique :

II -4-1- Activité sur le système digestif :

Propriétés antispasmodiques :

Des études réalisées sur organes isolés (iléum, jéjunum, trachée) ont confirmé l'effet antispasmodique de l'huile essentielle et de certains de ses composants, le citral et le citronellal. Ainsi, sur une préparation de trachée isolée de cobaye, la CE50 de l'huile essentielle est de 22mg/l et de 7,8mg/l après stimulation électrique de préparations musculaires lisses isolées du plexus mésentérique. Cette activité spasmolytique a également été confirmée pour des solutions aqueuses saturées en huile essentielle. Des recherches complémentaires s'avèrent nécessaires pour déterminer si ces effets se produisent chez l'Homme, à doses thérapeutiques et par voie orale. (**Teuscher et al., 2005**)

Une équipe de chercheurs a démontré, à l'aide de mesures sur le cerveau d'animaux de laboratoire, que les huiles essentielles de la mélisse agissaient sur une partie du cerveau responsable des fonctions autonomes, celles qui gèrent notamment les spasmes gastro-intestinaux, le rythme cardiaque et la contraction ou la dilatation des vaisseaux sanguins.

II -4-2-Activité antivirale :

L'activité antivirale de la mélisse étudiée sur plusieurs virus pourrait être liée aux acides phénols et/ou à leurs dérivés qui interagiraient avec les protéines virales. **(Bruneton, 1999)**

Des tests sur cultures cellulaires et des essais cliniques en application locale ont permis de conclure que l'extrait aqueux de mélisse avait des propriétés contre les virus de l'herpès, de la grippe, de la vaccine et contre le virus HIV-1. **(Hayon, 2007)**

II -4-3-Activité hormonale :

Activité sur les hormones thyroïdiennes :

Des études allemandes réalisées in vitro ont montré que des extraits de plantes, dont la mélisse, sont capables d'inhiber la liaison de la TSH à ses récepteurs thyroïdiens. Certains composés de la mélisse vont en effet former avec la TSH, des complexes moléculaires poids élevé qui l'empêchent de se lier avec ses récepteurs. **(Auf'molk et al., 1984)**

II -4-4-Action antibactérienne et antifongique :

Les huiles essentielles des Lamiacées sont connues pour leurs propriétés antifongiques et antibactériennes. Une première étude a évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle vis-à-vis de trois espèces responsables de mycoses : *Mycrosporium gypseum*, *Trychophyton equinum*, *Trichophyton rubrum*. L'huile essentielle présente une activité inhibitrice de 100% pour les trois espèces de type fongicide. **(Dikshit et al., 1984)**

Une étude a permis de mettre en évidence une activité bactériostatique de l'huile essentielle de mélisse vis-à-vis de plusieurs bactéries : *Pseudomonas aeruginosa*, *P.putida*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas sp.*, **(Larrondo et al., 1995)**

II -4-5-Activité antioxydant :

Une étude a été menée sur des extraits de plantes médicinales qui ont des propriétés antioxydants. Les plantes étudiées, *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* et *Cymbopogon, citratus* sont utilisées au Brésil dans certaines pathologies neurologiques. Les effets antioxydants des composés phénoliques ont été examinés et comparés. Les résultats montrent que la mélisse présente les meilleurs effets antioxydants. Cette étude a permis de démontrer que les extraits de plantes pouvaient limiter les réactions d'oxydation induites par les agents pro-oxydants et ainsi empêcher les réactions de peroxydation de lipides (**Peireira et al., 2008**).

II -4-6-Activité sur la biosynthèse protéique et sur la division cellulaire :

Une étude a montré qu'une fraction glycosidique isolée de l'extrait aqueux de mélisse inhibe la synthèse protéique. En effet il s'agit de l'acide caféique et d'un glycoside non identifié. Ils en ont déduit que des dérivés d'acide caféique se formaient et participaient à l'inhibition de la synthèse protéique. Cette fraction glycosidique agirait par interaction directe sur le facteur d'élongation EF-2 qui a pour effet d'empêcher sa liaison aux ribosomes et donc de stopper l'élongation peptidique. (**Chlabicz et Galasinski, 1986**)

II -5-Toxicité :

Aucune toxicité aigue ou chronique n'est signalée lorsque la mélisse est utilisée comme condiment ou en infusion aux doses usuelles. Aucun cas de réaction allergique n'est signalé. (**Teuscher et al., 2005**)

III -stress oxydatif :

III -1-Définition :

"Le stress" est un terme général qui a été d'abord employé dans un contexte biologique par l'endocrinologue Hans Selye en 1936, pour décrire la réponse physiologique inadéquate d'un organisme. **(Schiavone et al., 2013)**. Le stress occupe une place importante dans la recherche biologique actuelle. L'intérêt considérable porté à ce domaine est justifié par les multiples implications des ROS dans diverses pathologies, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. C'est pourquoi la recherche fondamentale du stress oxydant s'efforce à déchiffrer les bases moléculaires des agressions oxydatives provoquées par les ROS, ainsi que les systèmes physiologiques de protection et de réparation des lésions d'origine oxydatives **(Enoiu, 2001)**. Dans l'ensemble des tissus sains, la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre, cet équilibre est important pour l'homéostasie de la cellule. Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des RL. Ce déséquilibre peut être dû à un déficit nutritionnel en antioxydants, à une surproduction endogènes ou à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants **(Collard, 2014)**. Ce déséquilibre endommage des macromolécules, des cellules, des tissus, des organes et l'organisme dans l'ensemble. Une fois qu'il y a des dégâts à ces macromolécules, leurs fonctions essentielles dans le métabolisme cellulaire sont changées aboutissant à la manifestation de beaucoup de maladies. **(Kumar et al., 2017)**

III -2- Les symptômes du stress oxydatif :

Il n'y a pas de symptômes officiellement reconnus du stress oxydatif. Cependant, selon des études récentes, les symptômes peuvent inclure la fatigue, des maux de tête, la sensibilité au bruit, perte de mémoire, douleurs musculaires et articulaires, les rides et les cheveux gris, trouble de la vision et une diminution de l'immunité. **(Szalay, 2016)**

III -3- Les radicaux libres :

III -3-1- Définition d'un radical libre :

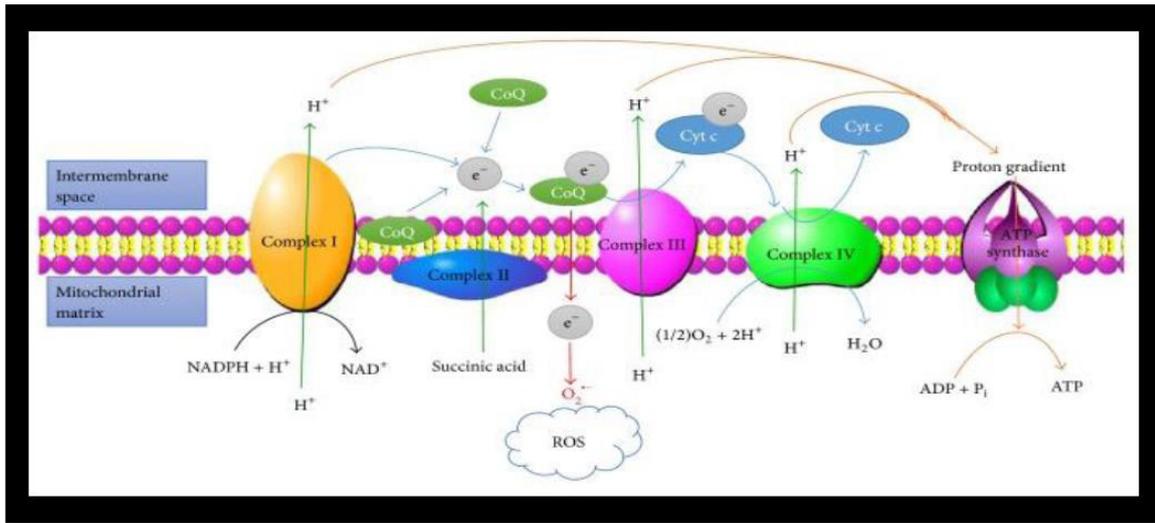
Un radical libre peut être défini comme toute espèce moléculaire instable et très réactive, qui contient un ou plusieurs électrons non appariés dans l'orbitale externe (**Lobo et al., 2010**). Les ROS et les RNS sont considérés comme des produits réactifs, qui ont la capacité pour faire le don d'électrons (e-) aux macromolécules. (**Kang et al., 2017**) tels que l'ADN, les protéines et les lipides, entraînant une réduction de molécules et des enzymes protectrices, la mort cellulaire. (**Gonzalez-Vicente et al., 2017 ; Tanguy et al., 2009**).

III -3- 2-Les sources de radicaux libres :

Les ROS et les RNS sont générés à partir de sources endogènes ou exogènes. Les radicaux libres endogènes sont produits de la chaîne respiratoire mitochondriale, l'inflammation, l'exercice excessif, l'ischémie, l'infection, le cancer et le vieillissement. Et les ROS exogènes sont le résultat de la pollution de l'air et de l'eau, la fumée de cigarette, l'alcool, des métaux de transition, de certains médicaments, et les radiations. (**Hrycay et al., 2015**)

III -3- 2-1- sources endogènes :

La mitochondrie est considérée comme une source majeure des ROS. Il est évalué que 2-3 % d'O₂ consommé par la mitochondrie sont incomplètement réduits (**Mohammed et al., 2015**)



La figure N°2 : Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ROS. Complexe I : NADH déshydrogénase, Complexe II : succinate déshydrogénase, Complexe III : Coenzyme Q-cytochrome c réductase, Complexe IV : Cytochrome c oxydase, CoQ10 : Coenzyme Q10. **(Li et al., 2017)**

Les complexes I-IV sont localisés dans la membrane interne mitochondriale. Pendant la chaîne respiratoire, si le complexe III ne peut pas recevoir des électrons de CoQ10, les électrons seraient acceptés par O₂, qui pourrait produire les ROS et aboutir au stress oxydatif. **(Li et al., 2017)**

Les cellules phagocytaires sont une autre source importante d'oxydants, elles libèrent des produits toxiques, qui incluent le monoxyde d'azote (NO⁻), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'anion super oxyde (O₂⁻). **(Baskaran et al., 2017)**

L'apoptose est un processus de la mort cellulaire programmée. Elle active le Bcl⁻² un groupe de protéines qui stimule le Bax, qui cause la fuite de cytochrome c. Ce cyt c se lie à Apaf-1 et forme l'apoptosome. Ceci active la caspase 9 et finalement, cause la dénaturation de protéines et la phagocytose de la cellule, d'où la génération des ROS. **(Noori, 2012)**

Revue Bibliographique

Le système microsomal monooxygénase cytochrome P450-dépendant (MMO) est l'un des principales sources des ROS dans le réticulum endoplasmique, notamment le H₂O₂. (**Di Meo et al., 2016 ; Zeeshan, 2016**)

III -3- 2-2- Sources exogènes :

Les espèces réactives d'oxygène peuvent être produites par des processus exogènes. Les sources environnementales comprennent les rayonnements ionisants, et les polluants comme les produits chimiques qui favorisent la formation des superoxydes tels que les quinones, les nitroaromatiques et les herbicides (par exemple le parquat). La fumée de cigarette contient des composés organiques et de nombreux radicaux, comme le superoxyde et l'oxyde nitrique.

Les ions de métaux lourds, tels que le fer, le cuivre, le cadmium, Mercure, peuvent induire la génération de radicaux réactifs et provoquent des lésions cellulaires (**Birben et al., 2012**)

III -3-3- Formation des radicaux libres :

Normalement, les obligations ne se divisent pas pour laisser une molécule avec un électron impair non apparié. Mais quand des liens faibles se divisent, des radicaux libres sont formés. Les RL sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres molécules, essayant de capturer l'électron nécessaire pour gagner leur stabilité. Lorsque la molécule "attaquée" perd son électron, elle-même devient un radical libre, en initiant une réaction en chaîne. Tout cela arrive en nanosecondes. Une fois le processus démarré, il continue en cascade, résultant finalement en la rupture d'une cellule vivante. (**Sarma et al., 2010**).

III -4- Les espèces oxygénées activées :

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adenosine DiPhosphate) en ATP (Adenosine TriPhosphate). Les conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la

Revue Bibliographique

réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des EOA. Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde O_2^- ou le radical hydroxyle (OH^\cdot), soit des molécules comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (1O_2). Dans cette chimie particulière, les métaux de transition, comme le Fe^{2+} et le Cu^{2+} , agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle

III -5- Dommages oxydatifs des macromolécules :

III -5- 1- Les dommages oxydatifs aux protéines :

La protéine subit différents types de modifications, qui peuvent être soit direct ou indirects. Lors des modifications directes, l'activité de la protéine est modifiée en raison de diverses modifications chimiques, telles que la nitrosation, la carboxylation, la formation de liaisons disulfures. La modification indirecte des protéines peut survenir à la suite d'une interaction avec les produits de la LPO. **(Das et al., 2014)**. L'oxydation des protéines provoque la fragmentation au niveau des résidus d'acides aminés, la formation des réticulations protéine-protéine, et l'oxydation des structures protéiques qui conduit finalement à une perte de fonction. **(Zegarac et al., 2017)**.

III -5- 2- L'ADN :

Les ROS peuvent causer des dégâts oxydatifs à l'ADN nucléaire. L'attaque sur l'ADN aboutit à l'oxydation de désoxyribose. **(Sharma et al., 2012)**.

Le OH^\cdot et 1O_2 sont les principaux ROS affectant directement l'ADN. **(Avery, 2011)**. Les dégâts d'oxydation d'ADN comptent plus que celui d'autres macromolécules, parce qu'ils peuvent mener aux mutations génétiques associées aux cancers. La modification oxydative de l'ADN arrive en conséquence des dégâts des bases de pyrimidines et de purines

Revue Bibliographique

III -5- 3- Les lipides membranaires :

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (ROO[•]), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (3).

Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues.

III -6- Les systèmes de défense antioxydants :

Les antioxydants sont des substances qui peuvent protéger les cellules des dégâts causés par des radicaux libres. Les antioxydants interagissent et stabilisent des radicaux libres et peuvent empêcher certains des radicaux libres de dégâts pourrait autrement causer. (Shinde et al., 2012).

Les antioxydants existent dans les cellules vivantes, l'un ou l'autre enzymatique (le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase et la catalase) ou non-enzymatique (comme le glutathion et l'acide urique) comme des boueurs de ROS, pour empêcher les dégâts oxydatifs des membranes biologiques. À côté de ces antioxydants trouvés dans les cellules, les antioxydants naturels existent dans les légumes et la majeure partie d'entre eux incluant la vitamine A, la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes. (Pieme et al., 2017).

III -6-1- Les antioxydants enzymatiques :

6-1-1- Les superoxydes dismutases :

Les superoxydes dismutases (SOD) constituent la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène. (Vergely et al., 2003). Ils sont présents dans presque toutes les cellules aérobies et dans les liquides extracellulaires. (Kabel et al., 2014).

6-1-2- La Catalase :

La catalase est une enzyme présente dans les cellules des organismes vivants. (Flora., 2009). Elle est considérée comme une enzyme peroxisomale se trouve aussi dans les autres

Revue Bibliographique

compartiments cellulaires. (Castaldo et al., 2016). La catalase catalyse la dismutation d'eau oxygénée en eau et oxygène

6-1-3- Le système de glutathion :

Le système glutathion inclut le glutathion, le glutathion réductase, le glutathion peroxydase. (Mandal, 2012). Le glutathion réductase (GR) est une oxydoréductase NADPH-dépendant, coopérant avec la glutathion peroxydase. Il catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) à glutathion réduit (GSH). (Csiszár et al., 2016).

La stabilité des membranes cellulaires et subcellulaires dépend principalement du glutathion peroxydase, et l'effet d'antioxydant protecteur de la glutathion peroxydase dépend de la présence du sélénium. Donc il appartient à un groupe d'antioxydants sélénoenzymes qui protègent les cellules des dégâts oxydatifs. (Shazia et al., 2012).

III -6-2- Les antioxydants non enzymatiques :

6-2-1- vitamine E :

La vitamine E est un groupe d'antioxydants, solubles dans les lipides, trouvés dans toutes les membranes cellulaires. (Grimm et al., 2016). Elle est capable d'empêcher la peroxydation lipidique. (Duncan et al., 2017). La vitamine E existe sous multiples formes naturelles, qui comprennent : l' α -tocophérol, le β -tocophérol, le γ -tocophérol, et de δ -tocophérol ainsi que les formes de tocotriénols de chacun d'entre eux. (Cook-Mills et al., 2010),

6-2-2 -La vitamine C (l'acide ascorbique) :

C'est un antioxydant que l'on trouve chez les animaux et les plantes, mais ne peut pas être synthétisé chez l'homme, et doit être obtenu à partir de l'alimentation (Kabel et al., 2014). Il est généralement considéré comme l'antioxydant hydrosoluble le plus efficace dans le plasma humain. (Vergely et al., 2003).

6-2-3- Le Glutathion (GSH) :

Glutathion est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de la glycine : (γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). Il peut réagir chimiquement avec O_2^- , OH, H_2O_2 et, donc peut fonctionner directement comme un boueur de radical libre. Le GSH est recyclé par le glutathion réductase (GR). (Sharma et al., 2012).

Revue Bibliographique

6-2-4- Les oligo-éléments :

Les oligo-éléments sont des cofacteurs enzymatiques impliqués dans toutes les grandes voies métaboliques, notamment dans la protection contre les espèces radicalaires. Parmi ces oligo-éléments on a le sélénium, le zinc et le cuivre.

IV -Le plomb :

IV -1- L'utilisation du plomb :

Le plomb est l'un des premiers métaux connus et qui fut utilisé par l'homme. Des découvertes archéologiques ont mis en évidence la présence de plomb dans des objets et des pigments dès le début de l'Âge de Bronze (*Lessler., 1988*).

Aujourd'hui la principale utilisation du plomb est la fabrication d'accumulateurs (environ 50% de la consommation totale), le plomb y est utilisé sous forme métallique les grilles et les bornes sont en plomb allié et sous forme de matière active mélange d'oxyde de plomb et d'additifs divers.

Parmi les autres utilisations du plomb sous forme métallique, on trouve les bandes et les tables de plomb laminés pour les couvertures et l'insonorisation dans le bâtiment, les plombs de chasse, les métaux d'apport pour les soudures, essentiellement en alliage plomb étain. Les feuilles et plaques de plomb servent dans la lutte contre la corrosion (dans l'industrie chimique) et la protection contre les rayonnements (installation utilisant des rayons X ou γ , énergie nucléaire) (*Ademe., 2003.*). Le plomb est utilisé dans de nombreuses autres applications (tableau1)

Revue Bibliographique

Tableau 1 : Autres usages du plomb (*Ponthieu et al., 2002*)

Applications	Forme chimique
Impression du coton	Pb (CH ₃ COO) ₂
Conservation du bois	Tributylacétate de plomb
Cosmétique (teinture pour les cheveux), Disinfectant	Pb (CHOO) ₂
Glaçure	PbS
Semi conducteur	PbS, PbSe, PbTe
Catalyseur lors de la polymérisation de polyuréthane Céramique	PhPb (OAc) ₃
Maquillage	PbO/PbO ₂ /Pb ₃ O ₄
Teinture de textiles	PbS
Feux d'artifices (oxydant)	PbO ₂

IV -2- Propriétés physico-chimiques du plomb :

Du latin plumbum, le plomb est un élément présent naturellement dans l'environnement, il est présent dans de nombreux minéraux et ne se rencontre que rarement à l'état natif. Le plomb appartient au groupe IVB de la classification périodique. Sa configuration électronique est [Xe] 4f¹⁴5d¹⁰ 6s²6p² avec deux électrons non appariés sur la dernière couche. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0). Dans les milieux naturels, les espèces inorganiques du plomb incorporent cet élément sous le degré d'oxydation (+2). Le degré d'oxydation (+4) n'est représenté que dans des conditions très oxydantes non rencontré dans les sols : il se retrouve majoritairement dans les composés organiques dont la source est principalement anthropique (*Newland et Daum, 1986*). La forme 0 (plomb natif) n'est quant à elle que rarement représentée car elle nécessite des conditions peu courantes dans un sol (conditions très réductrices). Les propriétés physico-chimiques du plomb (tableau2) sont très importantes pour la compréhension des mécanismes de biodisponibilité et d'action de ce métal. L'oxydation du sulfure en sulfate dans les particules des émissions industrielles

Revue Bibliographique

augmente l'hydrosolubilité et donc la biodisponibilité du plomb. Les variations de pH au niveau des sols comme au niveau des liquides biologiques peuvent expliquer les différences de biodisponibilité ainsi, il y a solubilisation dans l'acide chlorhydrique de l'estomac et précipitation au de l'estomac (*Hinsinger et al., 2005*).

Tableau 2 : Propriétés physico-chimique de l'élément de plomb (*Sposito et al., 1982*)

Numéro atomique	82
Masse atomique (g.mol ⁻¹)	207,2
Point de fusion	327 °C
Point d'ébullition	1740 °C
Densité	11,35
Valences	0, +2, +4
Electronégativité de Pauling	1,8
Masse volumique	11,34 g.cm ⁻³ à 20 °C
Rayon atomique (Van der Waals)	0,154 nm
Rayon ionique	0,132nm (+2), 0,084nm (+4)

IV -3- Les sources d'exposition :

3. 1. Sources d'exposition liées aux activités industrielles :

Les sources de plomb sont surtout constituées par les industries d'extraction minière, de métallurgie de métaux non ferreux, de fabrication d'accumulateurs, de récupération des métaux (*Cecchi., 2008*).

3.2. Sources d'exposition liées aux activités domestiques et mode d'alimentation :

La présence de plomb dans les eaux de distribution public provient très rarement de la ressource en eau. Cependant, en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques, ces eaux peuvent se charger en plomb par dissolution des tuyauteries (en plomb) ou des soudures.

En fonction de l'origine des aliments consommés, l'alimentation contribue pour une part parfois non négligeable à l'apport en plomb. Mais même en absence d'une consommation de ce type, il existe une exposition de fond, de la population des pays industrialisés, par accumulation du plomb dans la chaîne alimentaire et également par des techniques inappropriées de conditionnement ou de cuisson des denrées destinées à la consommation humaine ou animale. (*Schroder et al., 2004*)

Revue Bibliographique

IV -4.- Toxicocénitique de plomb :

4.1. Absorption

Même si l'absorption du plomb peut être respiratoire, dans la plupart des situations, elle est digestive. Chez l'adulte, l'absorption digestive du plomb est faible (5 à 10 %) alors que chez le jeune enfant, elle atteint 40 à 55 %. Elle est augmentée par la carence martiale (en fer), la vitamine D, les régimes pauvres en calcium, en magnésium, ou en zinc et par le jeûne. **(Garnier R et al., 2000)**

4.2. Distribution

A l'état d'équilibre, le plomb présent dans l'organisme est stocké dans :

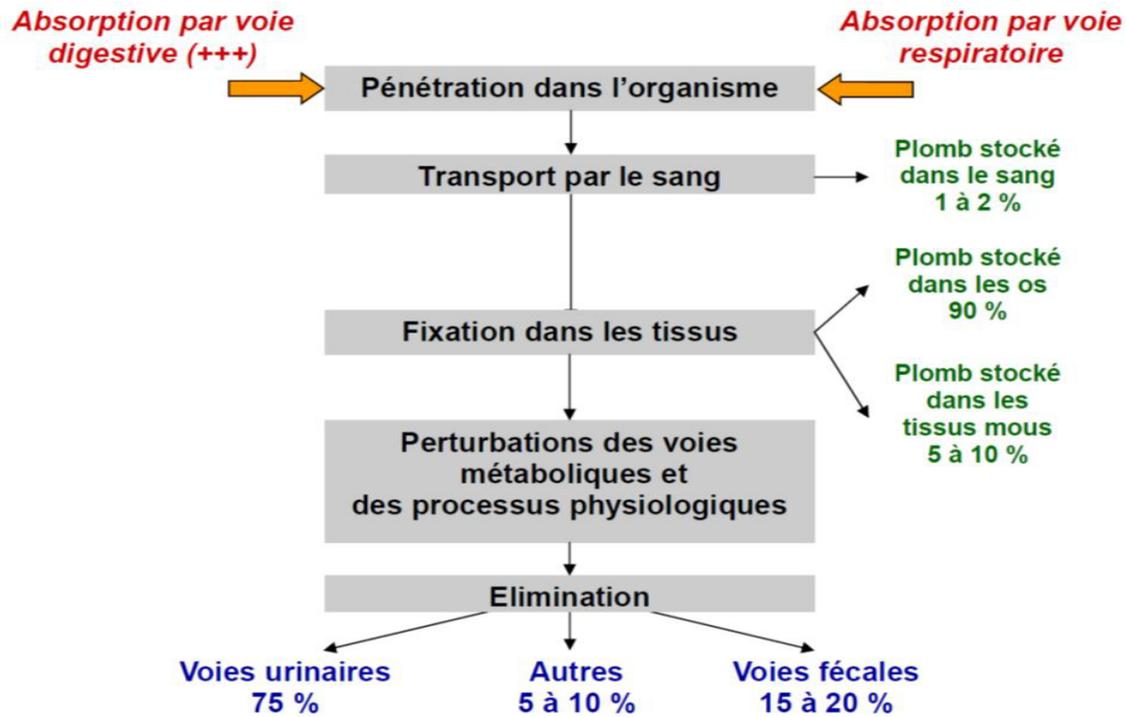
- **Le sang** (1 à 2 %) où près de 98 % du plomb est intra-érythrocytaire.
- **Les tissus mous** (5 à 10 %) qui contiennent la plus grande partie du plomb biologiquement actif.
- **Les os** (plus de 90 % chez l'adulte et 75 % chez l'enfant).

De même, le pool de plomb biologiquement actif augmente pendant la grossesse et l'allaitement. Le plomb franchit aisément la barrière placentaire. A la naissance, les plombémies de la mère et de l'enfant sont peu différentes. **(Garnier R et al., 2000)**

4.3. Élimination

L'excrétion du plomb est principalement urinaire (75 %) et fécale (15-20 %). Le reste est éliminé dans les phanères, la sueur et les sécrétions bronchiques. La demi-vie d'élimination est d'abord de 30 à 40 jours ; après quelques mois, elle est supérieure à 10 ans **(Garnier R et al., 2000)**.

Revue Bibliographique



IV -5- Principaux effets toxiques du plomb sur la santé humaine :

5-1- Toxicologie chronique :

Si l'exposition par ingestion prédomine dans la population générale, et l'inhalation en milieu professionnel, ces deux voies sont le plus souvent indiscernables l'une de l'autre. Pour pallier la difficulté qui consiste à identifier ces différentes voies et sources d'exposition, les effets du plomb sur l'homme sont identifiés à partir de la dose interne de plomb mesurée dans le sang (plombémie).

5-1-1- Effets sur le système nerveux central :

Chez l'adulte, les intoxications chroniques sévères (plombémies $> 1\,500\ \mu\text{g/l}$) se traduisent par une encéphalopathie saturnique grave, heureusement devenue très rare en milieu professionnel (Gilioli et Grazia-Cassitto, 1978 ; Lauwerys, 1998).

Pour des intoxications moins importantes (plombémies $< 1\,000\ \mu\text{g/l}$) des troubles d'ordre neurologique ont été observés chez l'adulte comme chez l'enfant : irritabilité, troubles du sommeil, anxiété, perte de mémoire, confusion, sensation de fatigue (Awad et al., 1981 ; Pasternak et al., 1989 ; Haenninen et al., 1979).

Revue Bibliographique

Les sujets les plus exposés ont de plus montré de fortes perturbations neurocomportementales et psychomotrices, avec notamment une réduction des capacités de raisonnement et des performances visuo-motrices.

Chez l'enfant, on observe un effet sur le développement cérébral et les fonctions cognitives. A la différence des intoxications aiguës, la symptomatologie d'une intoxication à long terme est subtile et peu spécifique chez l'enfant. Ce sont les études épidémiologiques qui ont mis en évidence les conséquences à long terme de l'intoxication chronique par le plomb (plombémie inférieure à 400 µg/l) sur le développement psychomoteur ou intellectuel et sur le comportement scolaire des enfants.

5-1-2- Effets rénaux :

Plusieurs enquêtes épidémiologiques en milieu professionnel, où prédomine l'exposition par inhalation, ont mis en évidence un excès de mortalité par insuffisance rénale chez les sujets qui avaient subi des expositions chroniques intenses au plomb (*Selevan et al., 1985*). Les lésions qui se développent se caractérisent notamment par la présence de tissu interstitiel fibrotique, une atrophie glomérulaire et tubulaire qui conduisent à une altération irréversible de la fonction rénale (*Albahary et al., 1965*).

Dans l'étude de Verschoor, un coefficient de corrélation significatif a été obtenu entre plombémies et activité de la NAG (N-acétyl β-Dglucosaminidase) urinaire dans une cohorte dont les plombémies étaient comprises entre 207 et 1030 µg/l (*Verschoor et al., 1987*). Pour la population générale, certaines études suggèrent que le plomb, même à des faibles niveaux de plombémie, pourrait exercer un effet négatif sur la fonction rénale.

Chez les enfants vivant à proximité de fonderies de plomb, plusieurs marqueurs de toxicité rénale (protéine de liaison à la vitamine A, β2-microglobuline, NAG) ont pu être associés avec des taux de plombémie compris entre 300 et 3 500 µg/l (*Verberk et al., 1996*).

5-1-3-Effets sur le foie :

Plusieurs études ont rapporté que le plomb induit une forte hépatotoxicité et provoque des changements dans le métabolisme du cholestérol, une prolifération des cellules du foie, et de synthèse d'ADN indiquant une hyperplasie hépatique (*Dini et al., 1999*).

L'accumulation des quantités significativement élevée du plomb au niveau du foie est impliquée dans l'induction d'un effort oxydant important, et ce par une peroxydation de lipide

Revue Bibliographique

avec l'inhibition concomitante de plusieurs enzymes antioxydantes telles que la superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydase, le glutathion réductase (GSSG) et d'une réduction du rapport GSH/GSSG (**Sandhir et Gill, 1995 ; Burns et al., 2003**).

Les mécanismes de l'effort oxydant induit par le plomb au niveau de hépatocytes contribuent dans la production de lipoperoxyde (LPO) et l'expression des médiateurs de cytokine, y compris α -TNF. Ces médiateurs sont également associés au déclin significatif dans la concentration intracellulaires en triphosphate différents d'adénosine observée dans les cultures d'hépatocytes de rat (**Sieg et Billings, 1997**) et dans les dommages oxydants de l'ADN et puis finalement suivie d'une apoptose d'hépatocytes (**Milosevic et Maier, 2000**). Par ailleurs, d'autres études ont rapporté que le plomb a un rôle dans la mort cellulaire des hépatocytes par protéolyse (**Pagliara et al., 2003**).

Matériels et méthodes

1-Matériel Biologique

1.1 Matériel animal

Dans notre étude, nous avons utilisé 20 rats mâles et femelles de la souche *Wistar Albinos*; largement utilisés dans divers domaines de recherche. Pesant entre 70-140 g (au début de l'expérimentation), issus d'un élevage au niveau de l'animalerie de l'Université de Molay Tahar Ain El Hdjar saida. Tous les animaux ont été gardés dans des cages dans les mêmes conditions de température ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) et ont un accès libre à la nourriture et l'eau stérile du servie dans des biberons *ad libitum*.



Figure 3 : Un groupe des rats dans une cage.

1.2 Souche utilisées pour le crible probiotique :

Nom	Code	Origine
<i>Lactobacillus plantarum</i>	NSC5C	Lait de chamelle de Naama

Matériels et méthodes

1.2.1. Milieux de culture :

- Milieu MRS (gélosé +bouillon)

Le milieu utilisé pour les lactobacilles est le milieu MRS décrit par **Man, Rogosa et Sharpe (1960)**, sa composition figure dans l'**Annexe 1**.

1.2.2. Purification et conservation des souches :

✓ Purification :

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS pour les lactobacilles et sur milieu MRS avec une incubation à 30°C pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, forme et couleur témoignant sur la pureté des souches.

✓ Pré-identification des bactéries lactiques isolées :

Les colonies subissent deux tests comme une pré-identification le premier test est la coloration de Gram et le deuxième est la recherche de l'enzyme catalase.

✓ Recherche de la catalase :

Le test consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (10 volumes) dans laquelle sera dissoute une petite colonie. La souche examinée est dite catalase positive si un dégagement gazeux est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme catalase (**Marchal et al., 1991**).

✓ Examen microscopique :

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram, celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif (**Annexe 3**), les bâtonnets, les coques et de nous renseigner sur le mode d'association (**Larpen et Larpen, 1990**).

Seuls les isolats catalase négatifs et Gram positifs sont retenus comme étant des lactobacilles.

1.2.3 Conservation des souches :

Deux types de conservation sont à noter. Une à courte et l'autre à longue durée.

➤ Conservation courte durée :

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu solide MRS incliné.

Matériels et méthodes

Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines (**Badis et al., 2005**).

➤ Conservation longue durée :

A partir des cultures de 18h (milieu liquide), les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 tours par minute pendant 10 min. Une fois le surnageant est éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation sur le culot.

Le milieu de conservation contient 70% de lait écrémé et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes eppendorfs à -20 °C. En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans du lait écrémé enrichi avec l'extrait de levure, deux fois avant l'utilisation (**Badis et al., 2005**).

1.2.4 Préparation du lait fermenté par la souche probiotique :

Des tubes contenant chacun 6ml de lait demi écrémé stérile sontensemencés avec un lactobacille (*Lb. plantarum*) et incubés à 30°C jusqu'à coagulation. Ce lait coagulé sert d'inoculum pour ensemencer 250ml de lait demi écrémé stérile. Les cultures sont incubées et le coagulât obtenu est ensuite conservé à 4°C jusqu'à ce qu'il soit présenté aux animaux.

1.3 Matériel végétal :

La plante de *Melissa officinalis L.* est récoltée dans la région de Guelma (Algérie) en mois de mai 2018. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal est broyé grossièrement dans un moulin électrique.

Matériels et méthodes



Figure 4 : *Melissa officinalis* Après séchage

1.3.1 Extraction :

1l de l'eau distillée chauffée à 100C° plus 100g de la plant poudre



Agiter pondant 10 min



Laisser refroidir, puis filtre dans un bécher à l'aide d'un tissu



Le filtrate 1 est filtré dans un erlenmayer munie d'un entonnoir + papier filter



Le filtrat 2 est séché à l'étuve à 40C°

Matériels et méthodes



Figure 5: Méthode de l'extraction de *Melissa officinalis*

1.3.2 Détermination du rendement :

Le rendement des extraits aqueux est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits secs obtenue et la masse du matériel végétal à traiter (Haje Ammar *et al.*, 2009). Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = M \times 100/M_0$$

Matériels et méthodes

- R (%) : Rendement en extraits sec de matière sèche.
- M : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.
- M₀ : quantité de la matière sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

1.3.4 Préparation de la solution injectable de plante à dose 25mg/kg :

L'extrait aqueux de la mélisse est obtenu par dilution de l'extrait sec dans l'eau distillée à une dose de 25 mg/Kg. La solution injectable est de 10 ml/ Kg (Zarei A et al., 2014).

1.4 Répartition des groupes :

Les rats ont été repartit en 4 lots homogènes de 5 individus par lot (3 males et 2 femelles) durant une période de 7 semaines :

- **Lot témoin** : composé de 5 rats, ils reçoivent de l'eau du robinet sans acétate de plomb.
- **Lot Pb (intoxiqué)** : composé de 5 rats qui reçoivent par voie orale une eau contenant 0,2 % d'acétate de plomb.
- **Lot Pb-Prob (intoxiqué et traité)** : composé de 5 rats qui reçoivent par voie orale une eau contenant 0,2 % d'acétate de plomb combiné avec probiotique.
- **Lot Pb-MO (intoxiqué et traité)** : composé de 5 rats qui reçoivent simultanément une eau contenant 0,2% d'acétate de plomb par voie orale et l'extrait aqueux de la Mélisse a une dose de 25 mg/kg par voie intrapéritoniale (ip).

❖ Pesée des animaux

Les animaux sont pesés une fois par semaine, **à partir du premier jour** de l'expérimentation, jusqu'à la fin des 7 semaines, en respectant le jour et l'heure de la pesée.

2-Paramètres de croissances :

Gain de poids moyen par semaine :

Le gain de poids hebdomadaire moyen est déterminé en soustrayant le poids des animaux de la semaine «S_{n-1} » à celui de la semaine « S_n», divisé par le nombre d'individus du lot en question selon la formule :

$$\text{Gain de poids moyen (g)} = \frac{\text{Poids des individus à } S_n - \text{Poids des individus à } S_{n-1}}{\text{Nombre d'individus du lot}}$$

Matériels et méthodes

3- Prélèvements :

3-1 Prélèvement du sang et des organes :

Après 7 semaines de traitement les 4 groupes sont sacrifiés (par décapitation) le matin après une nuit de jeûne, Le sang est récupéré dans des tubes secs et centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 minutes, le plasma obtenu est stocké à 4°C pour l'analyse des paramètres biochimiques. Le foie et le cerveau sont prélevés rapidement, rincés avec une solution de NaCl à 0.9% puis pesés et stockés à - 20°C pour l'analyse d'un paramètre du stress oxydative.



Figure 6 : le surnageant obtenue après Centrifugation (3000 tours/min pendant 15 min)



Figure 7 : Aspect de foie



Figure 8: Aspect de cerveau

Matériels et méthodes

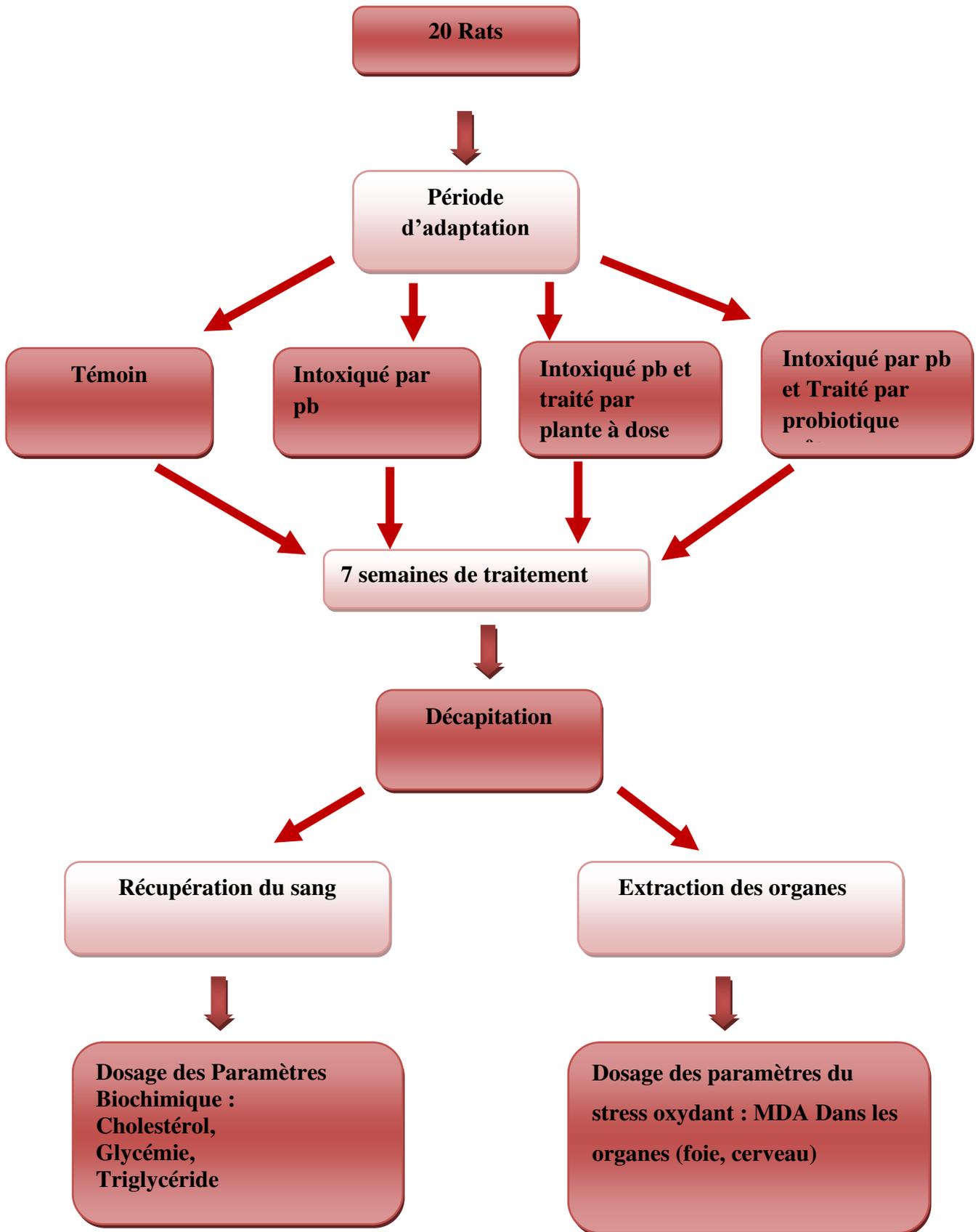


Figure 9 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

Matériels et méthodes

4- Dosages :

4-1 Dosage Biochimique : (Annexe 4)

➤ Glycémie

Le glucose est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (Roder et Mallein, 1973)

➤ Cholestérolémie

Nous avons utilisé la méthode de Thomas (1992)

➤ Triglycéridémie

Nous avons utilisé la méthode Fossati (1982)

4-2 Dosage des paramètres du stress oxydant

4.2.1 Préparation de l'homogénat

On a utilisé 1g/8ml pour le foie et 1g/4ml pour le cerveau des rats des différents groupes étudiés. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCL150mM, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes éppendorfs puis conservés à -20°C jusqu'au dosage



Figure 10 : pesée d'organe



Figure 11 : broyage de tissu (foie)

Matériels et méthodes

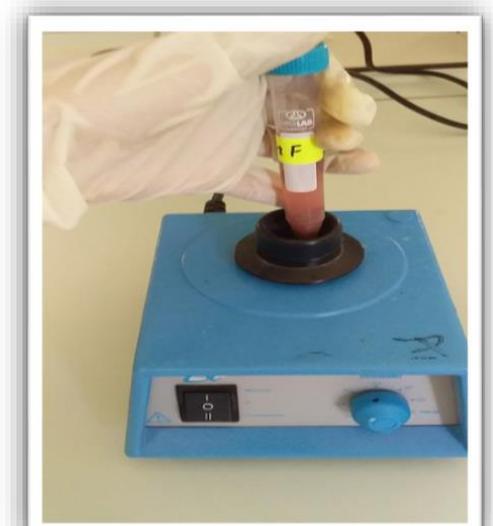


Figure 12 : homogénéisation des tissus par vortex

4-2-2 Dosage de malondialdéhyde (MDA)

- **Principe**

L'MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres. Dans notre étude, les taux du MDA hépatique ont été évalués selon la méthode **d'Ohkawa et al., (1979)**. Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

- **Mode opératoire**

Prélever 0,5 ml de l'homogénat.

Ajouter 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.

Ajouter 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.

Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes.

Refroidir et additionner de 4 ml de n-butanol.

Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.

Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.

Matériels et méthodes

Calcul de la concentration du MDA :

La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/gramme de tissu (cerveau, foie). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3, 3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions.

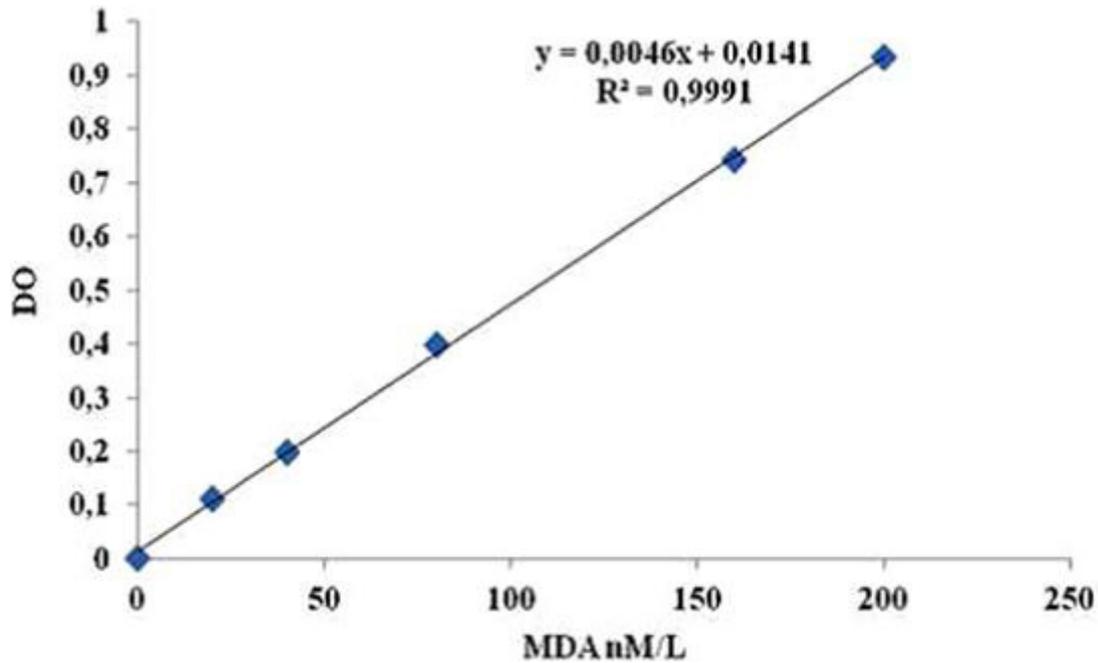


Figure 13 : Courbe standard pour le calcul de MDA

Résultats et discussion

Résultats et discussion :

1. Vérification de la pureté des souches lactiques :

Après plusieurs repiquages successifs sur gélose MRS, L'observation macroscopique a révélé que les colonies formées présentent toutes un aspect lisse, de couleur blanchâtre, forme ronde avec un contour régulier et d'un diamètre qui varie entre 0,5 et 1 mm



Figure 14 : Aspect macroscopique de la souche NSC5C sur MRS gélosé

La coloration de Gram nous a permis de confirmer que les bactéries sont à Gram positif et se présentent sous forme de bâtonnets, souvent associés en chaînette **figure 14**.

Le test de catalase est négatif

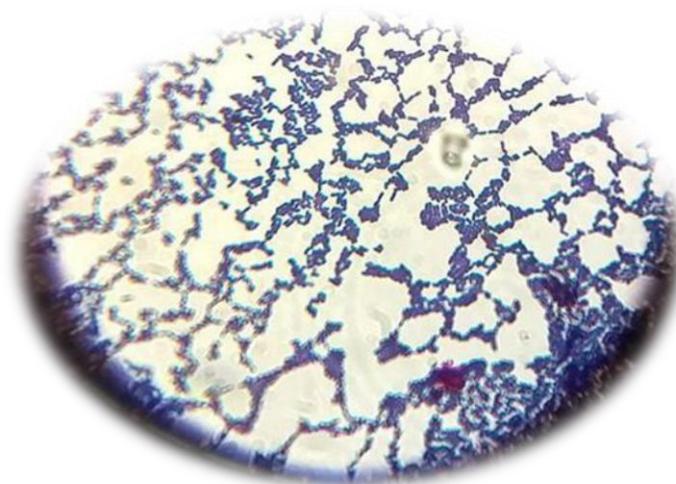


Figure 15 : Aspect microscopique de de la souche NSC5C (grossissement $\times 100$)

Résultats et discussion

2. Déterminations de Rendement de l'extrait :

L'extrait aqueux de *Mélissa officinalis* a été extrait par la méthode d'infusion à partir de la matière sèche et broyée. Et le rendement est de l'ordre de 7%

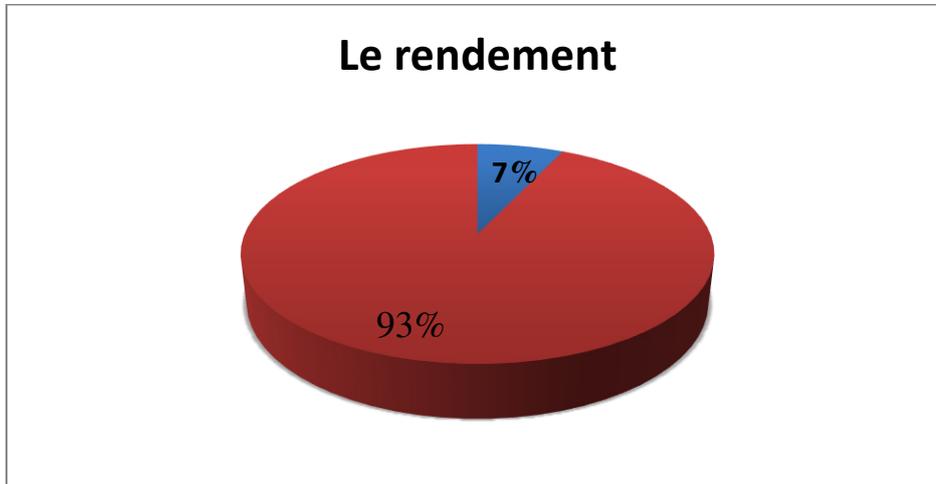


Figure 16 : Le rendement de la plante *Mélissa officinalis*.

3. Effet du plomb et de *Melissa officinalis*, et de probiotique sur l'évolution pondérale :

Les résultats montrent que l'exposition subchronique à L'acétate du plomb à raison de 2 g/l pendant une durée de 7 semaines induit une augmentation non significative des poids corporels. La figure 16 montre que le poids des rats témoins et les rats intoxiqué augmente considérablement à partir de la première semaine et continue jusqu'à la fin du traitement. Au début du traitement les animaux intoxiqués et témoins ont presque le même poids corporels.

L'expérience relative à la croissance pondérale, permet d'évaluer l'effet des probiotiques et de l'extrait de *Melissa officinalis* sur l'évolution du poids corporel suite à une intoxication subchronique par plomb, les résultats montrent une diminution non significative des poids corporel de ces deux lots comparés au lot témoin.

Nos résultats sont en accords avec les travaux d'Ademuyiwa et al., (2008) qui ont montré que l'exposition à des faibles doses de Pb peut augmenter le poids corporel et provoquer ainsi un risque d'obésité dû à l'accumulation des lipides dans le foie. De plus, une autre étude a démontré que ce gain de poids est dû principalement à la toxicité cellulaire de plomb qui perturbe plusieurs voies métaboliques en inhibant les enzymes à activité Zinc-Dépendante (Ibrahim et al., 2011). Par contre d'autre travaux ont montré que l'intoxication au plomb

Résultats et discussion

provoque une diminution du poids corporel des rats suite a une réduction dans la consommation de la nourriture (Smith et al., 2008).

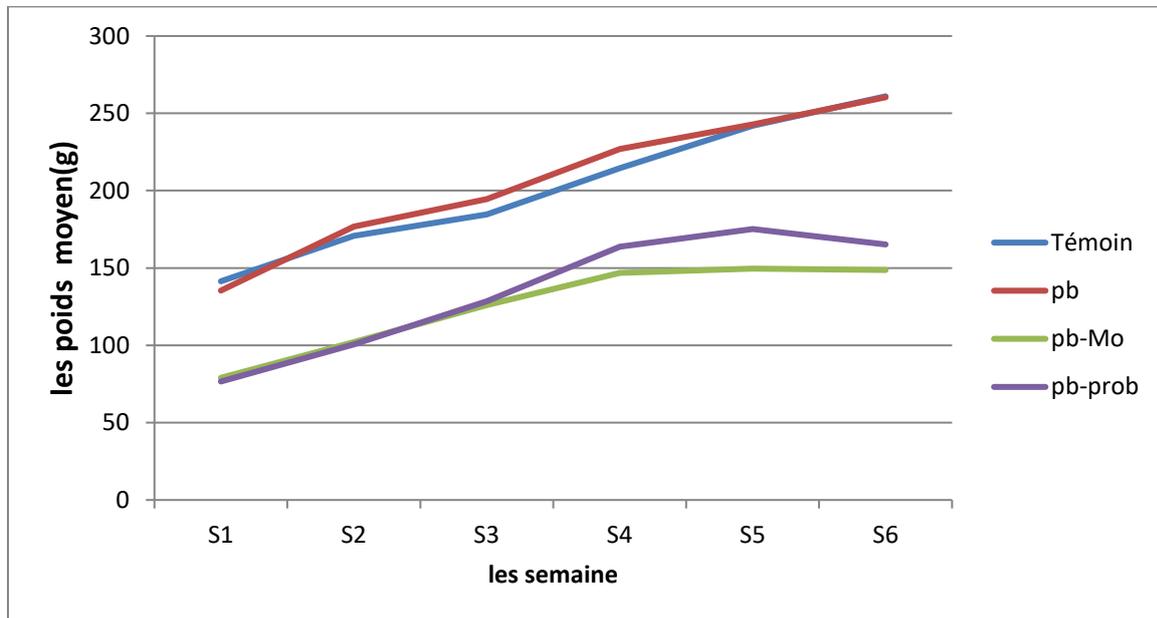


Figure 17 : Effet de *Mélissa officinalis* et de probiotique sur l'évolution pondérale chez les rats exposés au plomb pendant 7 semaines comparés aux témoins. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM

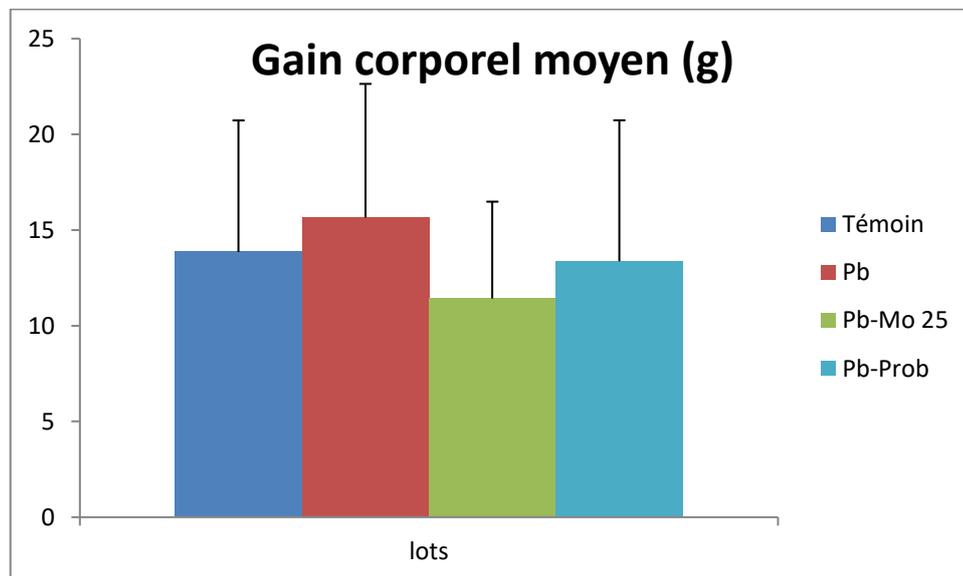


Figure 18 : Effet de *Mélissa officinalis* et de probiotique sur le gain corporel moyen chez les rats exposés au plomb. Les valeurs sont exprimées en gramme

Résultats et discussion

4. Dosage des paramètres biochimiques (glycémie, cholestérol triglycéride)

Glycémie

L'exposition au plomb a permis d'observer une augmentation non significative dans la glycémie des rats par rapport au rat témoin et les rats intoxiqués traités par le probiotique.

On observe également que l'administration de la plante aux rats intoxiqués a permis d'augmenter la glycémie de manière non significative par rapport aux rats intoxiqués non traités, par contre le traitement par le probiotique a permis de baisser le taux de glucose par rapport aux rats intoxiqués.

Des travaux sur l'intoxication au plomb ont permis d'enregistrer une augmentation significative de la glycémie des rats ; ceci serait directement lié aux effets néfastes du plomb sur le pancréas et plus exactement sur l'excrétion d'insuline par les îlots de Langerhans (**Saka et al., 2011 ; Behadada A., 2017**).

Cholestérol et triglycéride

Une augmentation non significative des taux de triglycéride et de cholestérol a été observée chez les rats intoxiqués par rapport au témoin. Par ailleurs, le traitement par la plante et le probiotique a permis d'enregistrer une diminution de ces deux paramètres par comparaison aux rats intoxiqués non traités.

Nos résultats sont en accord avec (**Behadada A., 2017**) qui a trouvé une augmentation de cholestérol et triglycéride chez les rats exposés à l'acétate de plomb suite à une éventuelle altération du métabolisme lipidique.

Nos résultats ne s'accordent pas avec l'expérience de (**Zerrouki kh., 2017**) qui montre que l'intoxication des souris par le (CCl₃COOH) et traitée par l'extrait de *Salvia officinalis* a entraîné une diminution de la glycémie comparativement au groupe témoin et intoxiqué et une diminution de triglycéride des souris traitées par l'extrait de la plante par rapport au groupe témoin et intoxiqué. Pour la teneur de cholestérol, il y a une augmentation de la valeur par rapport au groupe témoin mais il y a une amélioration de la teneur par rapport au groupe intoxiqué. D'autres résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia officinalis* possède un effet hypoglycémiant, qui a été confirmé par des études *in vivo* d'**Eidi et al., 2005** [348], cet effet se présume selon **Ninomiya et al., 2004** [349] par inhibition de la lipase pancréatique, et une diminution de la concentration du triglycéride dans le sérum.

Résultats et discussion

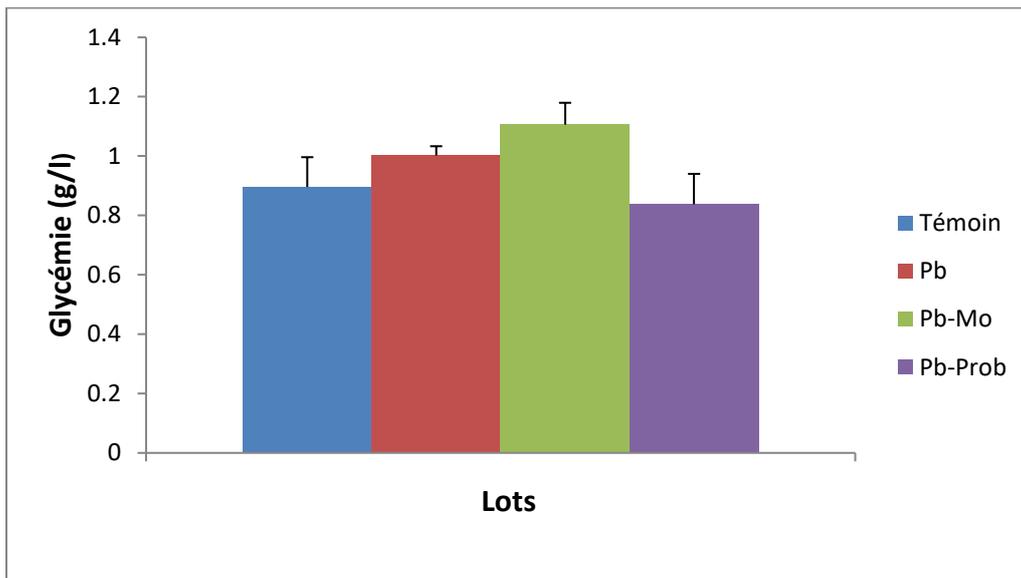


Figure 19 : Teneur en glycémie.

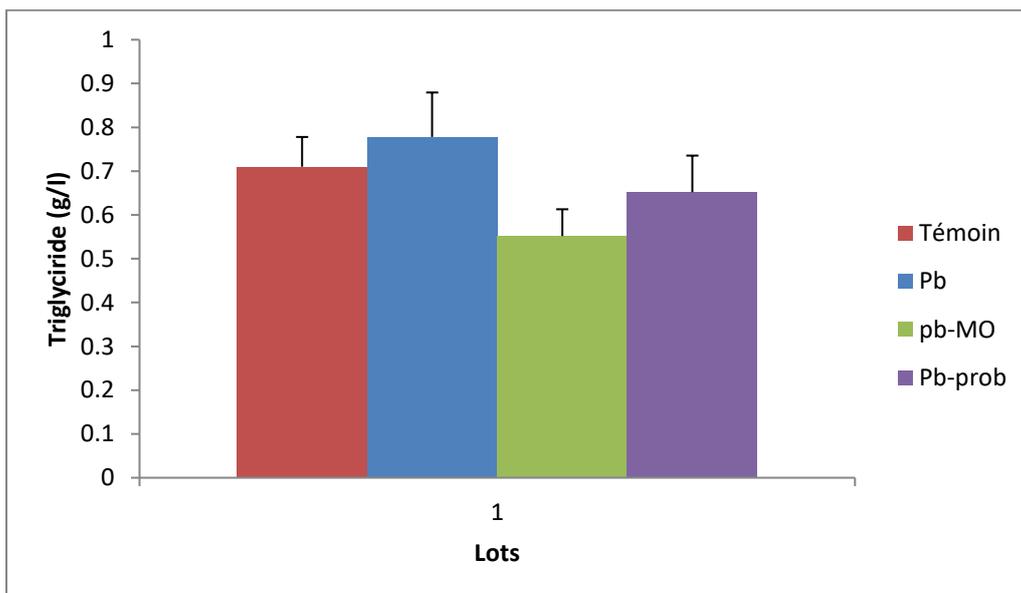


Figure 20 : Teneur en triglycérides.

Résultats et discussion

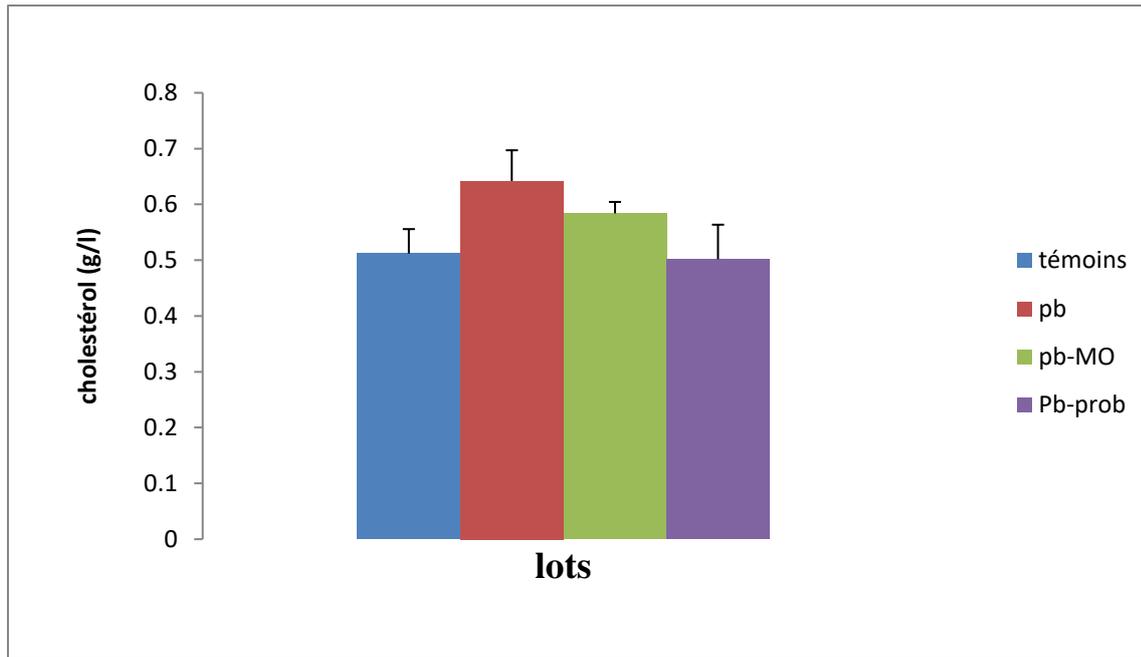


Figure 21 : Teneur en cholestérol sérique.

5. Le paramètre du stress oxydant :

Le malondialdéhyde (MDA)

Le plomb est connu par ses effets néfastes qui provoquent la production des radicaux libres (Bechara et al., 1993).

Le taux de MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés (de la famille n-6) par des espèces réactives de l'oxygène générées par certains contaminants (métaux lourds). Les hydroperoxydes ainsi formés se décomposent en intermédiaires radicalaires et en aldéhydes dont un des représentants les plus réactifs est le malondialdéhyde (MDA). Le MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Le dosage de ce composé présente donc un intérêt certain chez les soumis à des contaminations multiples.

D'après les résultats illustrés dans la figure 21 et 22, nous avons observé une augmentation hautement significative du taux du MDA hépatique et cérébral chez les rats traités par le plomb par rapport aux rats témoins, tandis que les rats traités par la combinaison (Pb-mo) et par la combinaison (pb-prob) montrent une diminution significative du taux du MDA du cerveau et une diminution non significative du taux du MDA du foie en comparaison aux rats intoxiqué.

Résultats et discussion

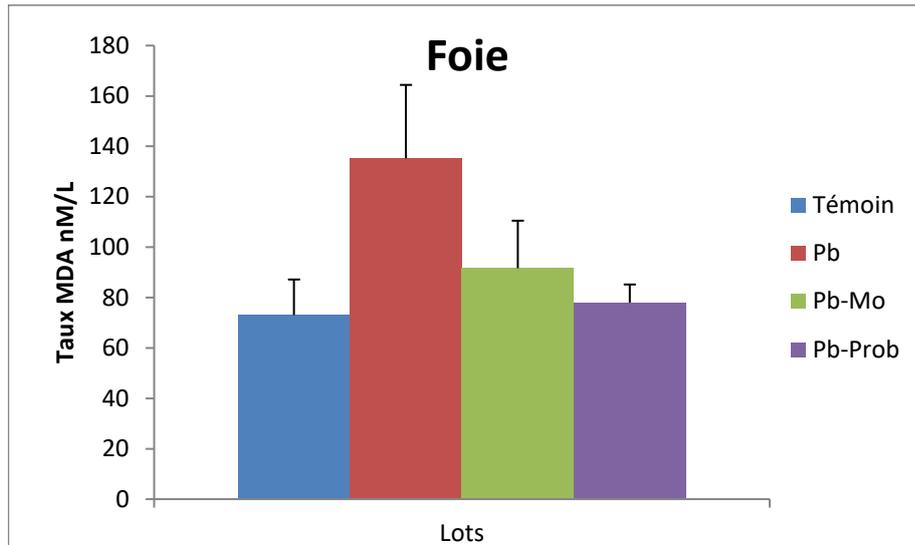


Figure 22 : Variations de taux de MDA tissulaire dans le **foie** des rats

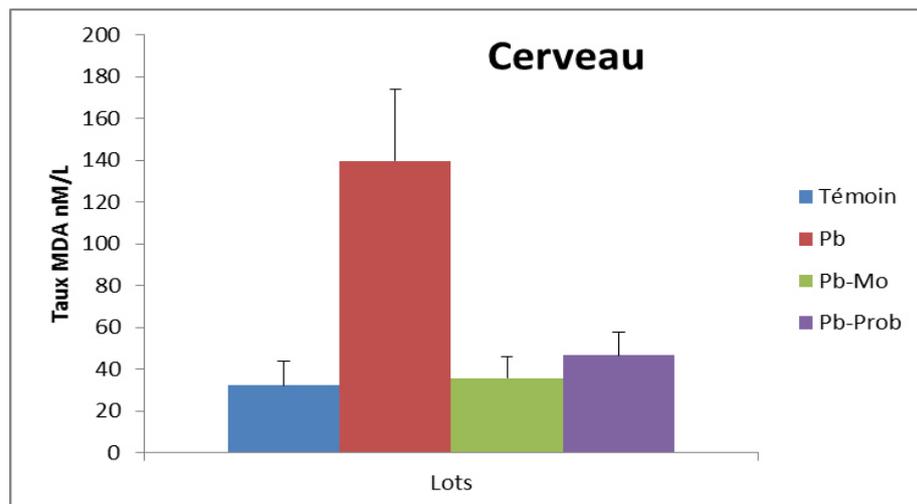


Figure 23 : Variations de taux de MDA tissulaire dans le **cerveau** des rats

On peut conclure que les groupes traités par probiotique et par *Mélissa officinalis* améliore la perturbation induite par ce métal dans ces organes (foie, cerveau).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Lakshmi et al., (2013) ; Bekkara A ; 2017** ont montré que l'administration de plomb chez les rats a induit une augmentation de peroxydation lipidique au niveau du foie et dans le cortex cérébral par rapport au groupe témoin.

Résultats et discussion

Ainsi **El-Nekeety et al., (2009); Saka et al., (2011)** ont montré que le traitement par l'acétate du plomb a abouti à une augmentation significative dans le taux de MDA hépatique.

L'intoxication chronique par plomb affecte la structure de la myéline dans le système nerveux central des rats par le ciblage des glycoprotéines (**Crichton, 2012**).

Wojdylo et al., 2007 signalent que la plupart des espèces de la famille de Lamiaceae possèdent une activité antioxydant en raison de la présence de poly phénols. La fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydant dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants.

Selon les études de **Gohari et al., 2011**, l'ensemble des extraits méthanolique de la partie aérienne d'échantillon de plantes *Salvia officinalis* (famille de Lamiaceae) possède une activité antioxydant. L'activité antioxydant de ces espèces peut être due à la présence de flavonoïdes, poly phénols, coumarines même mono terpènes dans les extraits de plantes.

Un des axes santé visé dans le projet Probiotique est le pouvoir antioxydant. Les méthodes permettant de mesurer la diminution du stress oxydatif sont nombreuses (**Griffiths et al., 2002**). Elles peuvent être divisées en trois catégories : (1) la composition (production d'enzymes, d'antioxydants) ; (2) le potentiel (capacité à diminuer l'effet de molécules oxydantes); (3) la susceptibilité à l'oxydation (résistance aux radicaux libres).

L'étude de **Bruno Ebel ; 2012** pour Le but du confirmer les résultats obtenus par l'**INRA MICALIS** sur la susceptibilité à l'oxydation des souches probiotiques. L'INRA a en effet testé au préalable la résistance de plus de 150 souches au stress oxydant (H₂O₂) et a sélectionné les 6 meilleures. Ces souches sont *Lb. brevis*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. plantarum*, *Lb. zaeae* et *St. thermophilus*. A ces souches sont également ajoutées la référence industrielle, *Lb. fermentum* ME-3, la référence académique, *Lb. paracasei*. La multiplication des approches *in vitro* par notre laboratoire devrait ainsi permettre de choisir les deux souches au pouvoir antioxydant le plus élevé pour mener par la suite des expériences *in vivo*

Selon **Kechaou N ; 2012** le dosage des MDA au niveau des foies montre une différence significative de taux de MDA pour les souris stressées et traitées avec la souche VEL12237 (*Lb. zaeae*) et les souches ME-3 (*Lb. fermentum*) et VEL12348 (*Lb. brevis*) diminuent les concentrations en MDA

Résultats et discussion

Les souches *B. bifidum*, *Lb. brevis*, *Lb. zeae* et *Lc. lactis* présentent une capacité à diminuer la formation d'un radical libre. (**Bruno Ebel ; 2012**)

CONCLUSION

CONCLUSION :

Le plomb est utilisée dans l'industrie et dans la fabrication de produits domestiques depuis de nombreux siècles Mais l'époque moderne, grâce aux progrès effectués en toxicologie et en épidémiologie au cours du XXe siècle est la période pendant laquelle une forte incidence à l'exposition au plomb s'est manifestée et a donné lieu à de nombreux travaux sur ce sujet.

Notre travail a porté sur l'impact de l'intoxication chronique à l'acétate de plomb sur les différents organes : cerveau, foie, chez les rats wistar. Cette exposition à l'acétate de plomb à la dose de 2g/l diluée dans l'eau d'abreuvement a été réalisée sur une durée de 7 semaines.

Les résultats obtenus montrent que l'intoxication chronique par l'acétate de plomb est responsable de l'apparition d'importants changements induis par un stress oxydatif qui perturbent les systèmes enzymatiques de détoxification et les capacités défensives de l'organisme.

L'exposition du plomb induit une augmentation non significative des poids corporels rats intoxiqué, Par ailleurs, le traitement par la plante et le probiotique a permis d'enregistré une diminution non significative des poids corporel de ces deux lots comparés au lot témoin.

L'exposition au plomb entraine une augmentation non significative dans la glycémie des rats intoxiqué, Par contre le probiotique permis de baissé le taux de glucose, Par ailleurs l'administration de la plante au rats intoxiqués a permis d'augmenté la glycémie de manière non significatif.

L'exposition au plomb entraine Une augmentation non significative des taux de triglycéride et de cholestérol a été observée chez les rats intoxiqués, Par ailleurs, le traitement par la plante et le probiotique a permis d'enregistré une diminution de ces deux paramètre.

Concernant le taux de MDA les résultats obtenus ont montré que l'intoxication au plomb entraine une augmentation hautement significative du taux du MDA hépatique et cérébral chez les rats exposés au plomb, Tandis que les rats traités par la combinaison (Pb-mo) et par la combinaison (pb-prob) entraine une diminution significative du taux du MDA du cerveau et une diminution non significative du taux du MDA du foie .

En fin, Nous pouvons confirmer que le plomb a des effets hépatotoxiques et neurotoxique en raison de leurs effets sur la fonction métabolique du foie et sur les systèmes nerveux.

CONCLUSION

Notons que le traitement par *Mélissa officinalis* et La souche NSC5C *Lactobacillus plantarum*. Ils ont un effet sur le poids corporel et taux de MDA cérébrale et hépatique. et un effet sur taux le cholestérol et triglycéride tandis que La souche NSC5C *Lactobacillus plantarum* a un meilleur effet sur la glycémie par rapport *Mélissa officinalis*.

Cependant, notre travail laisse entrevoir de nombreuses perspectives d'expérimentation afin de pouvoir approfondir la compréhension des mécanismes impliqués dans les effets protecteurs de la Mélisse et souche NSC5C *Lactobacillus plantarum* contre l'intoxication au plomb. Il serait intéressant d'augmenter la durée et l'efficacité pour la précision de l'effet des prébiotiques et de la mélisse sur plomb, et d'étudier les modifications histologiques au niveau du tissu hépatique et cérébral.

Il serait souhaitable de doser d'autres paramètres comme les enzymes antioxydantes comme la catalase, Superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase.

Annexes

Annexes 1

Composition des milieux de culture (pour 1L d'eau distillée)

❖ **Milieux de cultures :**

Gélose MRS

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Citrate d'ammonium	2 g
Acétate de sodium	5 g
Sulfate du magnésium	0,2 g
Sulfate de manganèse	0,05g
Phosphate di potassique	2 g
Agar	5 g
Tween 80	1 ml
PH	6,2±0,2

Annexes

Annexes 2

❖ Produits chimiques

✓ Fushine de Ziehl

Fushine basique	1g
Alcool éthylique	10ml
Phénol	5g
Eau distillée	100ml

✓ Violet de gentiane phénique

Violet de gentiane	1g
Phénol	11g
Ethanol	10ml
Eau distillée	100ml

- ✓ **Lugol**
- ✓ **NaCl**
- ✓ **TBS**
- ✓ **H₂O₂ (10%)**
- ✓ **Alcool (95°)**
- ✓ **Formol**
- ✓ **L'acide Thio barbiturique TBA.**
- ✓ **L'acide trichloroacétique TCA (20%)**
- ✓ **Le n-butanol.**
- ✓ **NaOH**

Annexes

Annexes 3

❖ Coloration de Gram

✓ Préparation de frottis :

Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer au centre de la lame ;

Étaler avec la pipette sur la lame, de façon à obtenir un étalement mince ;

Sécher et fixer en portant la lame au-dessus de la flamme du Bec Bunsen.

✓ Coloration :

La coloration de Gram consiste à déposer quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant 1 minute, après rinçage, on redépose du Lugol pendant 1 minute, les bactéries sont décolorées à l'alcool 95° puis on rince avec de l'eau distillée. Enfin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir 20 secondes. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique (**Larpen et Larpen., 1990**).

Annexes

Annexes 4

Dosage Biochimique :

➤ Glycémie

Le glucose est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (Roder et Mallein, 1973)

➤ Cholestérolémie

Nous avons utilisé la méthode de Thomas (1992):

Une première réaction fait en sorte que les esters de cholestérol sont hydrolysés en cholestérol libre par une cholestérol estérase. Le cholestérol qui est entièrement libre réagit avec l'oxygène en présence de cholestérol oxydase pour donner de la cholesténone (l'hydroxyle en position, devient cétone) et du H₂O₂. Le peroxyde formé est réduit en H₂O par un indicateur en présence de peroxydase (on mesure la quinone-imine produite à 500 nm).

➤ Triglycéridémie

Nous avons utilisé la méthode Fossati (1974) pour le dosage les triglycérides dans le sérum respectivement. Elles reposent sur le dosage enzymatique du glycérol libéré après hydrolyse des triglycérides des lipoprotéines par la lipase.

- Utilisation du Kit GK, GPD :

Lipase : $TG + 3 H_2O \rightarrow Glycérol + 3AG$

GK : $Glycérol + ATP \rightarrow Glycérol-3-phosphate + ADP$

GPD: $Glycérol-3-phosphate + NAD^+ \rightarrow DHAP + NADH, H^+$

Elle est effectuée à pH = 9,4 en présence de magnésium et d'hydrazine. On lit l'absorbance à 340 nm.

Annexes

Annexes 5

La préparation des tampons (TBS) :

Pour 1l de TBS (50Mm de tris, 150Mm de Nacl, PH 7.4) :

✓ Tris :

1M → 157.6g

50×10^{-3} → 7.88g

✓ Nacl :

1M → 58.44g

150×10^{-3} → 8.77g

Références bibliographiques

- **Ademe.** Traitabilité des sols pollués-Guide méthodologique pour la sélection des techniques et l'évaluation de leurs performances. Version test. **2003**, 575. p. ISBN : 2-86817-719-0.
- **Albahary C, Richet G, Guillaume J, Morel Maroger L.** Le rein et le Saturnisme professionnel. *Arch Mal Prof.* **1965** ; 26: 5.
anticipatedcyto-and oncostaticactivity. Part 1 : The influence of water extr<1.cts from
Antihormonal effects of plant extracts:iodothyroninedeiodinase of rat liverisinhibited by
extracts and secondarymetabolites of plants.
- **Atkin MA, Gasper A, Ullegaddi R, et al.**—Oxidativesusceptibility of unfractionedserum or
plasma : response to antioxidantsin vitro and to antioxidantssupplementation. *Clin Chem*,
2005, **51**, 2138-2144.
- **Auf'mkolkM, KohrleJ, GumbingerH, WinterhoffH, HeschRD.**
- **Avery S.V.** Les cibles moléculaires du stress oxydatif/*Biochemical Journal.* **2011**; 434(2):
201-210. Doi:10,1042 / BJ20101695.
- **Awad L, Huel G, Lazar P, Boudenec C.** "Facteurs de variation interindividuelle de la
plombémie". *RevEpidem et Santé Publ.* **1981**, n° **29**, pp 113-124.
- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., 2005.**
Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de
chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sciences &
Technologie N°23.2005*; Pp :30-37.
- **Barinov A, Bolotin A, Langella P, Maguin E, Van De Guchte(2011).** Genomics of the
genus*Lactobacillus*. In « LacticAcid Bacteria and Bifidobacteria:Current Progress in
Advanced Research » Sonomoto and Yokota/ CaisterAcademicPress éd. Norfolk. United
kingdom.**2011**; pp. 3-32.
- **Bartels H.J., Johnson M.E. et Olson N.F. (1987).** *Milchwissenschaft*, 42, 83.-**Bencharif A.**
- **Baskaran A., Chua K.H., Sabaratnam V., Ram M.R., Kuppusamy U.R.**
Pleurotusgiganteus (Berk. Karun & Hyde), the giantoystermushroominhibits NO production
in LPS/H2O2 stimulated RAW 264.7 cells via STAT 3 and COX-2 pathways/*BMC
ComplementAlternMed.2017*; 17: 40.
- **Bellinger D, Sloman J, Leviton A, Rabinowitz M, NeedlemanHI,Wateraux C.** Low-level
lead exposure and children's cognitive function in the preschoolyears. *Pediatrics.* **19991** ; 87
(2) :219-227.
- **Betta A.** Applicazionesul campo del test di frequenzacritica di fusione in esposti a
piomboseguiti in cieco. *Med Lav.* **1983** ;**74**(1) :73-74.
- **Birben E., Sahiner U.M., Sackese C, Erzurum S., Kalayci O.** Oxidative Stress et
AntioxidantDefense/*WAO Journal.* **2012**; 5(1) :9-19 .
- **BRUNETON,**PharmacognosiePhytochimie Plantes médicinales. 3ème edition Editions TEC
& DOC.**1999** ; 531-532

Références bibliographiques

- **Carnat A. P., Carnat A., Fraisse D., Ricoux L. and Lamaison J. L., (1998).** The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *Officinalis*) tea, *Pharmaceutica Acta Helvetiae*.**1998**; 72 (5), 301-305.
- **Castaldo S.A., Freitas J.R., Conchinha N.V., Madureira P.A.** The Tumorigenic Roles of the Cellular REDOX Regulatory Systems/*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2016** ; 2016: 17 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8413032>.
- **Cecchi M.** Devenir du plomb dans le système sol-plante. Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Le titre de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse. **2008**. École doctorale : Sciences Ecologiques Vétérinaires Agronomiques et Bioingénieries. p1-205.
- **Chlabicz J, Galasinski W (1986)**Comparative study on the cytotoxicity of different Myrtaceae essential oils on cultured vero and RC-37 cells.
- **Chlabicz J., Rozanski A., Galasinski W.** Studies on substances of plant origin with
- **Collard J.** Stress oxydant.**2014**. (WWW. Labocollard .be J. Collard : Stress oxydant 2014).
- **Cook-Mills J.M., McCary C.A.** Isoforms of vitamin e differentially regulate inflammation/*Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*.**2010**; 10(4): 348–366.
- **Corrieu G, Luquet FM (2008).**The taxonomy of lactic acid bacteria. *In*: « Bactéries
- **Csiszár J., Horváth E., Bela K., Gallé Á.** Glutathione-Related Enzyme System: Glutathione Reductase (GR), Glutathione Transferases (GSTs) and Glutathione Peroxidases (GPXs)/*Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses*. **2016** :137-158.
- **Das K., Roychoudhury A.** Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants/*Front. Environ. Sci.* **2014**. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>.
- **De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB (2009).** Genus *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Listeria*. *In* : « Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes » Vol 3. Springer éd., New York. **2009**; pp.19-511.
- **Delattre J, Beaudeau J-L, Bonnefont-Rousselot D.**—*Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques*. Première édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, **2005**, 547 pages.
- **Dellaglio F, Felis, GE (2005).** Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *In* : « Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects». Caister Academic Press éd. Norfolk, UK. **2005**; pp. 25-49
- **Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., 1994.** Caractéristiques générale des bactéries lactiques in « Bactérielactique », de Roissard et Luquet, Tech.Doc., Lavoisier, Paris.
- **Di Meo M.T.S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M.** Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions /*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2016** ;

Références bibliographiques

2016 :44 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1245049>

- **Dias, R. S., Bambirra, E. A., Silva, M. E., and Nicoli, J. R. (1995)** Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1995**; 28, 323-325
- **DIKSHIT A, HUSAIN A** Antifungal action of some essential oil against animal pathogens *Fitoterapia*, **1984** ; 55(3) : 171-176
- **Dini L, Guidetti Am ,RuzittuM,GnoniGv ,Zara V (1999)** .Citrate carrier and
- **Duncan K.R., Suzuki Y.J.** Vitamin E Nicotinate/*Antioxidants*. **2017**; 6(1): 20. Doi:10.3390/antiox6010020.
- **Enoiu M.** Rôle pro-oxydant de la gamma-glutamyltransférase et de la gamma-glutamyltransférase « related » dans la peroxydation lipidique. **2001**:2. Thèse. Université Henri Poincaré Nancy.
- **FAO/OMS. (2002).** Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes.
- **Fialová S., Tekel'ová D., Mrlianová M., Grančai D., (2008).** The Determination of Phenolics Compounds and Antioxidant Activity of Mints and Balms Cultivated in Slovakia, *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae*. **2008**; 55, 96-102.
- **Flora S.J.S.** Aspects chimiques et biologiques des antioxydants pour les stratégies contre l'exposition aux métaux et métalloïdes/*Oxid Med cellulaire Longev.* **2009**; 2 (4): 191-206.
- **Garnier R.** Plomb. In Bismuth C, **Baud F, Conso F, Dally S, Frejavielle JP, Garnier R, Jaeger A.** Toxicologie clinique. 5eme edition, Flammarion, Paris, **2000** : 638-655.
- **Gbassi G. K. (2010).** Aspect physicochimique de l'encapsulation et de la désencapsulation des probiotiques. Thèse de doctorat en chimie. Ecole doctorale des sciences chimiques. Université de Strasbourg. **2010**; 31
- **Gilioli R, Grazia-Cassitto M.** Piombo e sistema nervoso i quadri clinici e subclinici con accenno al problema del monitoraggio neurologico in soggetti professionalmente esposti. *Med Lav.* **1978** ; **69** (1) :34-44.
- **Gonzalez-Vicente A. , Garvin J.L .** Effects of Reactive Oxygen Species on Tubular Transport along the Nephron/*Antioxidants (Basel)*. **2017**;23;6(2). Doi: 10.3390/antiox6020023.
- **Grimm M.O. , Mett.J. , Hartmann T.** The Impact of Vitamin E and Other Fat-Soluble Vitamins on Alzheimer's Disease/*Int J Mol Sci.* **2016** ; 17(11).
- **Haennien H, Mantere P, Hernberg S.** Subjective symptoms in low-level exposure to lead. *Neurotoxicology.* **1979**;4 (1):333-347.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P.** Le stress oxydant / *Rev Med Liege.* **2007**; 62(10): 628.

Références bibliographiques

- **Hare J.**—Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N Engl J Med*, **2004**, 351, 2112-2114.
- **Hayon JC, (2007)** Les plantes qui nous soignent, Traditions et thérapeutique Editions Ouest France. **2007** ; 22-23
- **Hinsinger P, Schneider A, Dufey JE.** Le sol : ressource en nutriments et biodisponibilité. In « Sols et Environnement », Dunod (ed), **2005** ; Paris, 285-305.
- **Hogg T., 2005.** Essential microbiology. *John Wiley & Sons, Ltd.* **2005**; 188-190.
Horm Metab Res. **1984** Apr; 16(4): 188-92.
- **Hrycay E.G., Bandiera S.M.** Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer/*Adv Pharmacol.* **2015**; 74: 35-84.
interactions métaux –oxydes de fer dans des sols contaminés. Première rencontre nationale de la recherche sur les sites et les sols pollués, bilan et perspectives. **2002** ; Paris 7^e
- **Kabel A.M.** Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition/*World Journal of Nutrition and Health.* **2014**; 2 (3): 35-38. Doi: 10.12691/jnh-2-3-2.
- **Kang S., Lee Y.H., Lee J.E.** Metabolism-Centric Overview of the Pathogenesis of Alzheimer's Disease/*Yonsei Med J.* **2017**; 58(3): 479-488. Doi: 10.3349/ymj.2017.58.3.479.
- **Kumar R.S., Narasingappa R.B., Joshi C.G., Girish T.K., Prasada Rao U.J., Danagoudar A.** Evaluation of Cassia tora Linn. against Oxidative Stress-induced DNA and Cell Membrane Damage/*J Pharm Bioallied Sci.* **2017**; 9(1): 33-43. Doi: 10.4103/0975-7406.206215.
- lactiques, de la génétique aux ferments ». TEC&DOC/ Lavoisier éd. Paris. France. **2008**; pp 19-106.
- **Landrans M, Paclot C.** "Le saturnisme infantile". *change santé sociale.* **1994** ; **74** : 23- 28.
- **Landrans M., Le Goaster C., Bouy P., Debaisieux F., Roussel C.** evaluation de l'exposition des enfants aux polluants émis par l'usine métal blanc à bourg- fidèle, st-maurice, rnsf et ddass des ardennes, **1999**, 47, , p. et annexes.
- **Larrondo JV, Agut M, Calvo-Torras MA,** Antimicrobial activity of essences from labiates. *Microbios.* **1995**; 82(332): 171-2.
- **Lauwerys RR.** Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. **1998.** Paris, Masson, 4nd Ed.
- **Lessler MA.** Lead and lead poisoning from antiquity to modern times. *Othio J Sci* **1988** ; 3: 78-84.
- **Li C., Miao X., Li F., Wang S., Liu Q., et al.** Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy/*Oxid Med Cell Longev.* **2017.** Doi: 10.1155/2017/9702820.
lipogenic enzyme activities' in lead nitrate induced proliferative and apoptic phase in rat liver/*Biochem Mol Biol Int*; 47, 607-14.
- **Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N.** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health /*Pharmacogn rev.* **2010**; 4(8): 118-126. Doi:

Références bibliographiques

10.4103/0973-7847.70902.

- **Main P.A.E., Angley M.T., O'Doherty C.E., Thomas O., Fenech M.** The potential role of the antioxidant and detoxification properties of glutathione in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis / *Nutrition & Metabolism*. **2012**; 35 Doi: 10.1186/1743-7075-9-35.
- **Makhloufi.** (2012). Caractérisation d'une bactériocine d'une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat université de Pierre et Marie Curie. ; 3-86. Marteau Ph., Pochart Ph., Bouhnik Y., Rambaud J-C. (1994) Écologie microbienne, Survie et effets de *Lactobacilles acidophiles* et *Bifidobactéries* des produits laitiers fermentés dans le tube digestif de l'homme. *Cah. Nutr. Diet.* ; 29, 6. Marteau P., Rambaud J-C. (1998). Probiotiques en gastroentérologie. *Hépatogastro*. **2012**; 71-75.
- **Mandal M.A.** Systèmes Antioxydants d'Enzymes / *DM.News-Medical.net - An AZoNetwork Site. Owned and operated by AZoNetwork*. **2012**.
- **Marreiro D.N., Cruz K.C., Morais J.C., Beserra J.B., Severo J.S., et al.** Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms / *Antioxidants*. **2017**; 6(24). Doi: 10.3390/antiox6020024. *Melissa officinalis* L. on the protein biosynthesis in vitro.
- **Meyer S., Reeb C. et Bosdeveix R. (2008)** - *Botanique : Biologie et physiologie végétales - 2ème édition* - Paris : Editions Maloine. **2008**; 490 p.
- **Milosevic N, Maier P (2000)**. Lead stimulates intercellular signaling between hepatocytes and Kupffer cells, *Eur J Pharmacol*, 401, 317-328.
- **Mohammed M.T., Kadhim S.M., Jassim A. M.N. , Abbas S.I.** Free radicals and human health/ *International Journal of Innovation Sciences and research*. **2015**; 4(6) : 218-223.
- **Moukette B., Pieme C.A., Nya Biapa P.C., Ngogang J.Y.** In vitro antioxidant and anti-lipoperoxidative activities of bark extracts of *Xylopias aethiopicas* against ion-mediated toxicity on liver homogenates / *J Complement Integr Med*. **2015**; 12(3): 195-204. Doi: 10.1515/jcim-2015-0002.
- **Newland L, W, Daum KA.** Handbook of environmental chemistry. Anthropogenic compound, 3 - B. Hutzinger O., Springer-verlag.
- **Noori S.** An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System / *Open Access Scientific Reports* . **2012** 1:413. <http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.413>.
- **Novel, G., 1993.** Les bactéries lactiques. Microbiologie industrielle, les Micro-organismes d'intérêt industriel. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. et Doc. Lavoisier Paris. **1993**; pp: 170-374. *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et recherches*. **1987**; 32 : 25-45.

Références bibliographiques

- **Ozgun D, Vural HC (2011).** Identification of *Lactobacillus* strains isolated from faecal specimens of babies and human milk colostrum by API 50 CHL system. *J.M.G.G.* **2011**; 3(3): 46-49.
- **Pagliara P, Chionna A, Carla EC, Caforio S, Dind L (2003).** Lead nitrate and gadolinium chloride administrations modify hepatocyte cell surfaces. *Cell Tissue Res*, 312, 41 -8.
- **Pasternak G, Becker Ce, Lash A, Bowler R, Estrin Wj, Law D.** Cross-sectional neurotoxicology study of lead-exposed cohort. *J Toxicol Clin Toxicol.* **1989** ; 27 (1-2) : 37-51.
- **Pereira RP, Fachineto R, De souza prestes A, Puntel RL, Santos da silva GN, Heinzmann BM, Boschetti TK, Athayde ML, Burger ME, Morel AF, Morsch VM, Rocha JB (2008),** Antioxydant effects of different extracts from, *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochem Res.* 2008 Oct 14. PHARMACOPEE EUROPEENNE, 6^{ème} édition
- **Perrot E. et Paris R. (1971) -** Les plantes médicinales- Tome 2- France: Presses Universitaires de France, Pharmazie. **1984**; 39 (11) : 770.
- **Pieme C.A., Tatangmo J.A., Si Smo G., Nya P.C.B., Moor V.J.A., et al.** Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes/*BMC Res Notes.* **2017**; 10(1):141. Doi: 10.1186/s13104-017-2463-6.
- **Ponthieu M., Juilot F., Morin G., Benedetti M.F.** Mobilisation des
- **Ribeiro M.A., Bernardo-Gil M.G. and Esquivel M.M., (2001).** *Melissa officinalis* L.: study of antioxidant activity in supercritical residues, *Journal of Supercritical Fluids.* **2010**; 21 51 R 60.
- **Roissart H, Luquet FM (1994).** Méthodes d'Identification des Bactéries Lactiques. In : « Bactéries Lactiques ; Aspects fondamentaux et technologiques ». Vol 2. Coquand éd., Grenoble. France. **1994**; pp. 141-167.
- **Roissart H, Luquet FM (1994).** Méthodes d'Identification des Bactéries Lactiques. In : « Bactéries Lactiques ; Aspects fondamentaux et technologiques ». Vol 2. Coquand éd., Grenoble. France. **1994**; pp. 141-167.
- **Rozzi N. L., Phippen W., Simon J. E. and Singh R. K., (2002).** Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* **2002** ; 35, 319-324.
- **Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K. and Benno Y., 2004.** Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. In: *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. **2004**; 515-530.
- **Sandhir R, Gill KD (1995).** Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biol Trace Elem. Res.* 48-91-7.

Références bibliographiques

- **SARI A. O. et CEYLAN A.(2002)** - *Yield Characteristics and Essential Oil Composition of Lemon Balm (Melissa officinalis L.) Grown in the Aegean Region of Turkey*- Turk J Agric For. **2002** ; 26 - p. 217-224
- **Sarma A.D., Mallick R.A., Ghosh A.K.** Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions/*International Journal of Pharma Sciences et Recherche (IJPSR)*. **2010**; 1 (3) :185-
- **Schiavone S., Jaquet V., Trabace L., Krause K.H.** Severe Life Stress and Oxidative Stress in the Brain: From Animal Models to Human Pathology /*Antioxid Redox Signal*. **2013**; 18(12): 1475–1490. Doi:10.1089/ars.2012.4720.
- **Schmidt J.L., Tourneur C. et Lenoir J. (1994)**. Fonctions et choix des bactéries lactiques et Schroder JI, Basta Nt, Casteel Sw, Evans Tj, Payton Me. Validation of the In vitro gastrointestinal (IVG) method to estimate relative bioavailable lead in contaminated soils. J Environ Qual. 2004; 33: 513-521.
- **Selevan SG, Landrigan PJ, Stern FB, Jones JH.** Mortality of lead smelter workers. *Am J Epidemiol*. **1985** ; **122** (4): 673-683.
- **Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M.** Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions / *Journal of Botany*. **2012**; 2012 . <http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037>.
-
- **Shinde A., Ganu J., Naik P.** Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review/*Journal of Dental & Allied Sciences*. **2012**; 1(2):63-66.
- **Sieg Dj, Billings RE (1997)** .Lead /cytokine –mediated oxidative DNA damage in cultured mouse hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 142, 106-115.
- **Sirilun S., Chaiyasut C., Kantachote D. et Luxananil P. (2010)**. Characterisation of non human origin probiotic *Lactobacillus plantarum* with cholesterol-lowering property. African Journal of Microbiology Research. **2010**; 4 (10) : 994-1000
- **Sposito G, Lund LJ, Chang AC.** Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge : I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. *Soil Science Society of America Journal*. **1982** ; **46**: 260-264.
- **Szalay J.** What Are Free Radicals? /Live Science Contributor. **2016**.
- **Tanguy M., Begué-Simon A.M.** Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation /*Médecine*. **2009** ; 5 (6):256-260.
technologies laitières. in : Bactéries lactiques II. De Roissart H. et Luquet F.M., Ch. IV-2. **1994**; P.39-45. Edition Loriga.
- **TEUSCHER E, ANTON R, LOBSTEIN A,** Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Editions TEC&DOC. **2005** ; (300-303)

Références bibliographiques

- **Thoby C. (2009)** - *La mélisse officinale, Melissa officinalis L.* - Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes, n°18
- **Tinggi U.** Sélénium: son rôle antioxydant dans la santé humaine /*Entourer la santé Précédent Med.* **2008**; 13 (2): 102-108.
- **Toth J., Mrlinova M., Tekelova D. and Korenova M., (2003).** Rosmarinic acid: an important phenolic active compound of lemonbalm (*Melissa officinalis* L.), *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae.* **2003**; 50, 139-146. **UK.2005**; pp. 25-49
- **Verberk Mm, Willems Te, Verplanke Aj, De Wolff Fa.** Environmental lead and renal effects in children. *Arch Environ Health.* **1987**; **51**(1): 83-87.
- **Vergely C., Rochette L.** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire/*médecine thérapeutique cardiologique.* **2003** ; 1 (1).
- **Verschoor M, Wibowo A, Herber R, Van Hemmen J, Zielhuis R.** Influence of occupational low-level lead exposure on renal parameters. *Am J Ind Med.* **1987** ;
- **Wichtl M. et Anton R. (2003)** - *Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique - 2^{ème} édition* - Paris : Editions Tec&Doc. **2003**; 691 p.
- **Zeeshan H.M.A.** Endoplasmic Reticulum Stress and Associated ROS/*Int J Mol Sci.* **2016**; 17 (3):327.
- **Zegarac J.P., PhD.** Oxidative Stress: Effects on Lipids, Proteins, and DNA/*BioAnalytical Testing and Research Laboratories. Brunswick Labs.* **2017.**
- **Zhang H. et Cai Y., 2014.** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York London P: 535.
- **Benbara Tassadit.** impacte de *lactobacillus plantarum* sur la prise de poids des caillies ; **2013**
- **Hamidi F, et Labani N ; 2016.** Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* L. chez les jeunes rats wistar intoxiqués au nickel : Evaluation de l'activité hépatique
- **Bechara, E.J.H., M.H.G. Medeiros, H.P. Monteiro, M. Her-mes-Lim, B. Periera, M. Demasi, C. Costa, 1993.** A free- radical hypothesis of lead poisoning and inborn porphyrias associated with 5- aminolevulinic acid overload. *Quin. Nova.*, 16: 385-92.
- **Dastmalchi K, Dorman HD, Oinonen PP, Darwis Y, Laakso I, Hitunen R.** Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemonbalm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT Food Sci Technol.* **2008**; 41:391-400.
- **Lakshmi B.V.S. , M. Sudhakar, M. Aparna, 2013.** Protective potential of Black grapes against lead induced oxidative stress in rats. *Environ Toxicol and pharmacol.* 35: 361–368.
- **El-Nekeety Aziza, A., A. El-Kady Ahmed, S. Soliman Mahmoud, S. Hassan Nabila, A. Abdel-Wahhab Mosaad, 2009.** Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against

Références bibliographiques

leadacetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicol.*, 47: 2209–2215.

- **Griffiths, H. R., L. Møller, G. Bartosz, A. Bast, C. Bertoni-Freddari, A. Collins, M. Cooke, S. Coolen, G. Haenen, A.-M. Hoberg, S. Loft, J. Lunec, R. Olinski, J. Parry, A. Pompella, H. Poulsen, H. Verhagen and S. B. Astley (2002).** "Biomarkers." *Molecular Aspects of Medicine* 23(1-3): 101-208.
- **Bruno Ebel,** Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz ; **2012**
- **FOSSATI P. PRINCE L,(1982)** serum triglycérides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin, Chem.* , 28/2077-2080
- **THOMAS C, THOMAS L (1992).** Labor diagnostik von Erkrankung en der Nier en und ableitenden Har n w eg e. Dans: Thomas L, éd. *Labor und Diagnose* 6 e édition. Philadelphie.

Les sites :

- http://julientap.free.fr/travail_fichiers/vitamine_E.pdf.2004.
- <https://www.nutralica.eu/dossiers-scientifiques/antioxydants-le-glutathion-reduit.html>
- http://grenet.free.fr/fjtreize/Entraîneurs/Documents/OHB/Stress_oxydant.pdf.
- <Http://www.herbierimages.be>
- <Http://www.passeportsante.net>