



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Dr. Moulay Tahar Saida

Faculté des sciences

Département De Biologie Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie Et
Valorisation biologique des Plantes

**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER II EN BIOLOGIE**
Option : Microbiologie appliquée

Présenté par :

M^{elle}. LAOUINATI Fatma Imene

Sur le thème intitulé :

**Effet des Lactobacilles probiotiques et l'extrait
de *Melissa officinalis* chez les rats Wistar
intoxiqués par le plomb sur la dépression.
Etude microbiologique et biochimique**

Soutenu le : 12-09-2019

Devant la commission de jury, composé de :

Président	Mr AMMAM	MCB
Encadreur	Mme Amara Sabrina	MAA
Examineur	Mme Hassani Maya	MCB
Examineur	Mme DAHANI Moufida	MAA

Année académique 2018/2019

Remerciements

Tout d'abord je remercie Allah le tout puissant, de m'avoir accordé la santé, la volonté et les moyens de réaliser ce travail.

Mon vif remerciement et ma profonde gratitude s'adressent à mon encadreur

M^{me} AMARA. S, qui a accepté de m'encadrer, je le remercie infiniment pour sa grande patience, ses encouragements, son aide et ses conseils, durant la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail, au présidente : **M^{me} DAHANI.M** , à l'examinatrice : **M^{me} HASSANI.M**

Un grand merci au **Mr. AMMAM** pour son aide technique et sa disponibilité

Je remercie vivement le doctorant **Mr. FIDAH. H** pour son aide, son dévouement, sa disponibilité et ses précieux conseils.

Je remercie infiniment papa **Rabah** qui m'a été d'une aide précieuse et primordiale pour la réalisation de ce mémoire, et pour tout ce qu'il fait pour moi au quotidien lui et maman **Noria** que dieu vous garde pour nous.

Finalement, un grand merci à tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chère,

A MA CHÈRE MÈRE **NORIA** ET MON CHÈRE PÈRE **RABAH**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération

pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et

j'espère que votre bénédiction ma compagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos

innombrables sacrifices. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Je t'aime papa, je t'aime maman

A MA CHÈRE SŒUR **IKRAM**

Je te souhaite une vie pleine de bonheur, de prospérité, de succès et que dieu, le tout puissant, te protège, te garde et éclaire ton chemin et t'aide à réaliser à ton tour tes vœux.

A MON CHÈRE FRÈRE **ALI**

Que dieu te protège et guide tes pas et sauvegarde ta petite fille l'adorable Eline.

A MON CHÈRE FIANCÉ **HADJ**

Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour ton amour, soutien, et ton encouragement que dieu te protège et t'aide à réaliser tes vœux.

A ma chère grande sœur **KHADIDJA** et son mari **ABDELKRIM** et ses enfants ma princesse

TASNIM et mon prince **YACINE**



A ma chère voisine ASSIA et son mari DJAWAD et ses anges MANEL et RANIA

A mon petit frère AIMEN que j'aime

A mes chères copines FATIHA, HADJA, GHANIA, IKRAM, SAFAA

Je vous aime

Fatma Imene

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer d'une part, les modifications induites par une exposition subchronique au plomb selon différentes approches expérimentales : neurocomportementales et biochimiques chez des jeunes rats d'autre part, évaluer l'efficacité du probiotique (*Lactobacillus plantarum* NSC5C) à raison de 10 % et l'extrait aqueux de la mélisse (*Melissa officinalis*) par une injection intra péritonéale de 10ml /1kg durant une période de 50 jours à rétablir ou non les effets néfastes du métal étudié .

L'exposition subchronique au plomb à une concentration de 2g/l des rats pendant la période de développement, a permis d'observer une augmentation du poids corporels et diminution du poids cérébral comparé à ceux des témoins. Les résultats relatifs aux tests de comportement plus précisément ceux de la dépression (Forced swimming test), de l'anxiété (labyrinthe de croix surélevé) et de l'Open field, dévoilent clairement que l'intoxication au Pb provoquent des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice et une réduction du comportement d'exploration du milieu qui reflète l'instauration d'un état de stress, d'anxiété et de dépression.

Cette intoxication par exposition au Pb a révélé également une perturbation des différents paramètres biochimiques notamment les biomarqueurs de stress cérébraux.

Par ailleurs, le traitement par le probiotique (*Lactobacillus plantarum* NSC5C) a permis d'enregistrer une diminution du poids corporels et augmentation du poids cérébral des jeunes rats comparé aux rats intoxiqués. De plus, l'utilisation des différentes techniques relatives aux tests de comportements révèlent que le probiotique corrige l'état dépressif, l'anxiété et hypoactivité locomotrice respectivement observé chez les rats exposés au Pb.

D'autre part le traitement par l'extrait aqueux de la plante (*Melissa officinalis*) a permis d'enregistrer une diminution du poids corporels et augmentation du poids cérébral des jeunes rats comparé aux rats intoxiqués. De plus, l'utilisation des différentes techniques relatives aux tests de comportement révèlent que l'extrait aqueux corrige l'état dépressif, l'anxiété et hypoactivité locomotrice respectivement observé chez les rats exposés au Pb.

Ce que justifie la grande importance de *Melissa officinalis* dans la médecine traditionnelle et ces vertus thérapeutiques (antidépresseur. Anxiolytique, antistress).

Mots clés : Cerveau, Plomb, probiotique, *Lactobacillus plantarum NSC5C*, *Melissa officinalis*, troubles neurocomportementaux, antioxydant, Anxiolytique, antistress, antidépresseur.

Abstract

The objective of this study is to evaluate subchronic exposure to co-lead induced changes according to different experimentations: neurobehavioural, biochemical, and histological approaches in young rats during development periods. On the other hand, the objective is to test the efficacy of the probiotic (*Lactobacillus plantarum* NSC5C) at a rate of 10% and the aqueous extract of Melissa (*Melissa officinalis*) by intraperitoneal injection of 10ml /1kg during a period of 50 days.

The lead subchronic exposition with a concentration of 2g/l and of rats during the development period has permitted to observe an increase in body weight and a decrease in brain weight compared to witnesses. The relative results to the behavioral tests specially those of depression (forced swimming test), anxiety (elevated-plus maze) and the one of the Open Field clearly showed that the Pb intoxication provoke neurobehavioral disorders manifesting by locomotor hypoactivity and a reduction of the environmental exploration behavior that reflects an instauration of a state of stress, anxiety and depression.

This poisoning by exposure to Pb also revealed a disturbance of the different biochemical parameters biomarkers of brain stress.

Otherwise, Probiotic treatment (*Lactobacillus plantarum* NSC5C) can record a decrease in body weight and an increase in brain weight of young rats compared to the intoxicated ones. Thus, the use of the different techniques relative to behavioral tests reestablish that the probiotic corrects the depressive state, anxiety and locomotor hypoactivity respectively observed on young exposed rats to Pb during the period of development..

reveal that the probiotic corrects depressive state, anxiety and locomotor hypoactivity respectively observed in rats exposed to Pb.

On the other hand the treatment with the aqueous extract of the plant (*Melissa officinalis*) can record a decrease in body weight and an increase in brain weight of young rats compared to the intoxicated ones. Thus, the use of the different techniques relative to behavioral tests reestablish that the aqueous extract of the plant corrects the depressive state, anxiety and locomotor hypoactivity respectively observed on young exposed rats to Pb during the period of development..

This fact justifies the major importance of *Melissa officinalis* on the traditional medicine and its therapeutic virtues (antidepressant. Anxiolytic, anti-stress).

Keywords: Brain, Lead, Rat, probiotic, *Lactobacillus plantarum* NSC5C, *Melissa officinalis*, aqueous extract ,depression, anxiety, stress, neurobehavioral disorders, antioxidant, anxiolytic, antistress, antidepressant.

المخلص

إن الهدف من هذه الدراسة، هو تقييم التغييرات الناجمة عن طريق التعرض الشبه مزمن للرصاص بالنظر الى مختلف التجارب السلوكية و البيوكيميائية و النسيجية لدى الجرذان الفتيّة خلال فترة النمو. من ناحية أخرى ، لتقييم فعالية البروبيوتيك (لاكتوباسيلوس بلانتاروم) بمعدل 10 ٪ والمستخلص المائي لميليسا (ميليسا أوفيسيناليس) عن طريق الحقن داخل الصفاق بجرعات تقدر ب 10ملل/كغ لمدة 50 يوما تعديل أو لا الآثار الضارة للمعدن المدروس .

التعرض الشبه مزمن للرصاص بتركيز 2غ/ل للجرذان خلال فترة التطور.سمح لنا بملاحظة ارتفاع في الوزن الجسدي وانخفاض في وزن الدماغ مقارنة بالجرذان الشاهدة بينت نتائج الاختبارات السلوكية و خاصة على وجه التحديد الكآبة (اختبار السباحة القيصرية) والقلق (مناهة الصليب المرفوعة) و اختبار الحقل مفتوح. على أن التسمم بالرصاص يسبب اضطرابات في السلوك العصبي مما يؤدي إلى قصور النشاط الحركي وتقليل السلوك الاستكشافي للبيئة التي تعكس إدخال حالة من التوتر والقلق والاكتئاب لدى الجرذان المسممة.

هذا التسمم بالرصاص يعمل بالموازاة على إحداث اضطرابات مختلفة بيوكيميائية على مستوى الدماغ ، ولا سيما المؤشرات الحيوية للإجهاد الدماغي

سمح العلاج بالبروبيوتيك ، (لاكتوباسيلوس بلانتاروم) على تسجيل انخفاض في الوزن الجسدي و ارتفاع في وزن الدماغ لدى الجرذان الفتيّة مقارنة بتلك المسممة. ان استعمال مختلف التقنيات المتعلقة بالاختبارات السلوكية، بينت أن هذا البروبيوتيك له تأثيرات ملاحظة كخفض حالة الكآبة و القلق و تحسين الأداء الحركي لدى الجرذان المسممة بالرصاص خلال فترة التطور .

كما سمح ايضا العلاج ب المستخلص المائي للنبتة (ميليسا أوفيسيناليس) على تسجيل انخفاض في الوزن الجسدي و ارتفاع في وزن الدماغ لدى الجرذان الفتيّة مقارنة بتلك المسممة. ان استعمال مختلف التقنيات المتعلقة بالاختبارات السلوكية، بينت أن هذا المستخلص المائي له تأثيرات ملاحظة كخفض حالة الكآبة و القلق و تحسين الأداء الحركي لدى الجرذان المسممة بالرصاص خلال فترة التطور و هذا ما يبرر أهميته الكبرى في ميدان الطب التقليدي و جودته الفعالة خاصة ضد الأكسدة،القلق و الكآبة

الكلمات المفتاحية: الدماغ ، الرصاص ، الجرذان ، بروبيوتيك ، لاکتوباسیلوس بلانتاروم ، ميليسا أوفيسيناليس ، المستخلص المائي ، الاكتئاب ، القلق ، التوتر ، الاضطرابات العصبية السلوكية ، مضادات الأكسدة ، مزيل القلق ، ضد الإجهاد ،مضاد للاكتئاب

NSC5C *NSC5C* *NSC5C*

Liste des figures

Figure 01 : les types de microbiote.....	6
Figure 02 : composition de la flore intestinale.....	7
Figure 03 : (ADNr 16S) montrant la relation phylogénétique de <i>Lb. Plantarum</i> à un ensemble sélectionné de bactéries lactiques représentatives.....	11
Figure 04 : plomb dans l'organisme.....	21
Figure 05 : la toxicité du plomb sur la synthèse de l'hémoglobine.....	24
Figure 06 : Les effets du plomb sur la santé.....	26
Figure 07 : Sites d'action présumés du plomb dans les neurones.....	29
Figure 08 : Mélisse officinale (<i>Melissa officinalis</i>).....	33
Figure 09 : Colonies de <i>Lactobacillus plantarum</i>	39
Figure 10 : procédé de préparation du lait fermenté par les probiotiques.....	39
Figure 11 : Le lait fermenté par la souche NSC5C.....	40
Figure 12 : Carte de localisation du lieu de récolte.....	40
Figure 13 : <i>Melissa officinalis</i> à l'état frais.....	41
Figure 14 : <i>Melissa officinalis</i> sèche.....	41
Figure 15 : <i>Melissa officinalis</i> broyée.....	41
Figure 16 : Procédé d'extraction (extrait aqueux).....	42
Figure 17 : Exemple d'un lot contenant des jeunes rats.....	44
Figure 18 : schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	45
Figure 19 : Epreuve de test de la nage forcée (FST).....	46
Figure 20 : Epreuve du labyrinthe en croix surélève.....	47
Figure 21 : Epreuve L'open-field.....	48
Figure 22 : Sacrifices et prélèvements d'organes.....	49

Liste des tableaux

Tableau 01 : Critères de sélection des probiotiques destinés à l'Homme.....	12
Tableau 02 : principales données physico-chimiques du plomb et ses dérivés.....	16
Tableau 03 : Teneurs moyennes en plomb des aliments issus de l'EAT2 (moyennes arithmétiques en mg/kg poids frais).....	18
Tableau 04 : Genre, espèce et source d'isolement de la bactérie lactique utilisée.....	39
Tableau 05 : Evaluation des paramètres pondéraux des rats témoins, Pb, et traité par les probiotique et la plante.....	53

Liste des figures

Figure 01 : les types de microbiote.....	6
Figure 02 : composition de la flore intestinale.....	7
Figure 03 : (ADNr 16S) montrant la relation phylogénétique de <i>Lb. Plantarum</i> à un ensemble sélectionné de bactéries lactiques représentatives.....	11
Figure 04 : plomb dans l'organisme.....	21
Figure 05 : la toxicité du plomb sur la synthèse de l'hémoglobine.....	24
Figure 06 : Les effets du plomb sur la santé.....	26
Figure 07 : Sites d'action présumés du plomb dans les neurones.....	29
Figure 08 : Mélisse officinale (<i>Melissa officinalis</i>).....	33
Figure 09 : Colonies de <i>Lactobacillus plantarum</i>	39
Figure 10 : procédé de préparation du lait fermenté par les probiotiques.....	39
Figure 11 : Le lait fermenté par la souche NSC5C.....	40
Figure 12 : Carte de localisation du lieu de récolte.....	40
Figure 13 : <i>Melissa officinalis</i> à l'état frais.....	41
Figure 14 : <i>Melissa officinalis</i> sèche.....	41
Figure 15 : <i>Melissa officinalis</i> broyée.....	41
Figure 16 : Procédé d'extraction (extrait aqueux).....	42
Figure 17 : Exemple d'un lot contenant des jeunes rats.....	44
Figure 18 : schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	45
Figure 19 : Epreuve de test de la nage forcée (FST).....	46
Figure 20 : Epreuve du labyrinthe en croix surélève.....	47
Figure 21 : Epreuve L'open-field.....	48

Figure 23 : Traitement du sang prélevé.....	49
Figure 24 : le rendement d'extrait en %.....	52
Figure 25 : Poids relatif du cerveau (g).....	53
Figure 26 : Gain corporel moyen (g).....	54
Figure 27 : Le temps d'immobilité et mobilité durant le test de la nage forcée des jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités avec les probiotiques, et intoxiqués et traités par la plante.....	55
Figure 28 : Le temps dans les Bras ouverts et les bras fermés durant le test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués et traités par probiotique.....	56
Figure 29 : Le temps dans les Bras ouverts et les bras fermés durant le test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués et traités par probiotique.....	57
Figure 30 : La comparaison des différents paramètres du test d'open-field entre les jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués traités par probiotique.....	58
Figure 31 : Le dosage de la glycémie chez les jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par la plante et intoxiqués traités par les probiotique.....	59
Figure 32 : Le dosage de MDA chez les jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués traités par probiotique.....	60

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : degré Celcius

ACHE : Acétylcholinestérase

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

ANOVA : Analyse of variance

ATSDR : Agency For Toxics Substances And Disease Registry.

BF : Bras Ferme

BO : Bras Ouvert

cm : centimètre

ED : Eau distillée

EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

EPM: Elevated-Plus Maze

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

FST: The forced Swimming Test

g : gramme

GABA : acide γ -amino-butyrique.

GOD : Glucose Oxydase

H₂O₂ : Peroxydase d'hydrogène

IP : intra péritonéale

Kg : Kilogramme

Kh₂po₄ : Phosphate de monopotassium

Lb : *Lactobacillus*

M : Mol

MAO-A : Le gène MAO-A code pour l'enzyme MAOA qui accélère l'oxydation (digestion) des amines incluant le neurotransmetteur monoamine qu'est la sérotonine (5-HT).

MDA : *malondialdéhyde*

mg : milligramme

MgSo₄ : Sulfate de magnésium

ml: millilitre

mM : millimole

NaCl : Chlorure de Sodium

Nb : Nombre

NBT : Nitroblue tetrazolium

nm : nanomètre

nm : nanomètre

OMS : Organisation Mondiale De Santé

ONAB : Office National Des Aliments Du Bétail

PAL : **phosphatases alcaline**

Pb -Mo : Intoxiqué traite par plante

Pb- Prob : Intoxiqué traité par probiotique

Pb : Intoxiqué

Pb : plomb.

Ph : Potentiels Hydrométrique

Rdt : Rendement

SOD : Superoxyde dismutase

T : Témoin

TIM : Temps d'immobilité

WGO : World Gastroenterology Organization

WHO : World Health Organization

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : degré Celcius

ACHE : Acetylcholinesterase

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

ANOVA : Analyse of variance

ATSDR : Agency For Toxics Substances And Disease Registry.

BF : Bras Ferme

BO : Bras Ouvert

cm : centimètre

ED : Eau distillée

EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

EPM: Elevated-Plus Maze

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

FST: The forced Swimming Test

g : gramme

GABA : acide γ -amino-butyrique.

GOD : Glucose Oxydase

H2O2 : Peroxydase d'hydrogène

IP : intra péritonéale

Kg : Kilogramme

Kh2po4 : Phosphate de monopotassium

Lb : *Lactobacillus*

M :Mol

MAO-A : Le gène MAO-A code pour l'enzyme MAOA qui accélère l'oxydation (digestion) des amines incluant le neurotransmetteur monoamine qu'est la sérotonine (5-HT).

MDA : malondialdéhyde

mg : milligramme

MgSo4 : Sulfate de magnésium

ml : millilitre

mM : millimole

NaCl : Chlorure de Sodium

Nb : Nombre

NBT : Nitrobleu tetrazolium

nm : nanomètre

nm : nanomètre

OMS : Organisation Mondiale De Santé

ONAB : Office National Des Aliments Du Bétail

PAL : phosphatases alcaline

Pb -Mo : Intoxiqué traite par plante

Pb- Prob : Intoxiqué traité par probiotique

Pb : Intoxiqué

Pb : plomb.

Ph : Potentiels Hydrométrique

Rdt : Rendement

SOD : Superoxyde dismutase

T : Témoin

TIM : Temps d'immobilité

WGO : World Gastroenterology Organization

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
Synthèse bibliographiques	
Chapitre I. Flore intestinale et probiotiques	3
I.1 Définition de la flore intestinale.....	3
I.2 Composition de la flore intestinale.....	3
I.2.1 Le microbiote dominant.....	3
I.2.2 Le microbiote sous-dominant.....	4
I.2.3 Le microbiote de passage.....	5
I.2.4 Les virus.....	6
I.2.5 Autres : les eucaryotes.....	7
I.3 Probiotiques.....	7
I.3.1 Définition.....	7
I.3.2 Classification des probiotiques.....	8
I.3.3 Caractéristiques des probiotiques.....	8
I.4 Le genre <i>Lactobacillus</i>	9
I.5 Critères de sélection des souches probiotiques destinées à l'Homme.....	11
I.6 Utilisation des probiotiques en santé humaine.....	12
I.7 Intérêt des probiotiques.....	13
I.8 rôle des probiotiques sur le psychisme.....	14
Chapitre II. Plomb, Anxiété et Dépression	15
II. 1 Historique et ancienne utilisation du Pb.....	15
II.2 Propriétés physico-chimiques de plomb et ses dérivés.....	15
II. 3 Sources d'exposition au plomb.....	17
II. 3.1 Alimentation.....	17

II. 3.2 L'eau.....	18
II. 3.3 Les sols et poussières.....	18
II. 3.4 .Activité professionnelle et loisirs.....	19
II. 3.5 Les peinture au plomb.....	19
II.4. Toxicocinétique.....	19
II. 4.1 Absorption du plomb.....	19
II. 4.1.1 Absorption digestive du plomb.....	19
II.4.1.2 Absorption cutané du plomb.....	20
II.4.1.3 Absorption respiratoire du plomb.....	20
II.4.2 Distribution du plomb dans l'organisme.....	20
II.4.2.1 Le plomb dans le sang.....	20
II 4.2.2 Le plomb dans les tissus mous.....	20
II. 4.2.3 Le plomb osseux.....	20
II.4.3 Élimination du plomb.....	21
II. 5 toxicité du plomb.....	22
II.5.1 Intoxication aiguë.....	22
II.5.2 Intoxication chronique.....	22
II 5.2. 1 Effet de plomb.....	22
II.5.2.2 Effet Enzymatique.....	22
II.5.2.3 Effets rénaux.....	23
II.5.2.4 Effets digestifs.....	23
II.5.2.5 Effets hépatique.....	23
II.5.2.6 Effets hématologiques.....	23
II.5.2.7 Effet sur le système nerveux.....	24
II.5.2.8 Effets sur la reproduction.....	25
II.5.2.9 Effet cardiovasculaire.....	25
II.5.2.10 Effet cancérogénèse.....	25
II.6 Plomb et fonctionnement du système nerveux central.....	26
II.6.1 Plomb et développement du système nerveux central.....	26
II.6.1.1 Plomb et l'expression de certain gène.....	27
II.6.1.2 Plomb est cytoarchitecture.....	27
II.6.2 Effets sur les systèmes neurotransmetteurs.....	27
II.6.2.1 Sur système dopaminergique.....	28
II.6.2.2 Sur système glutaminergique.....	28

II.6.2.3 Système cholinergique.....	28
II.6.3 Plomb et communication des cellules nerveuses.....	28
II.6.3.1 Le second messenger et les protéines kinases.....	28
II.6.3.2 Le système du 3ème messenger.....	29
II.7 Plomb et fonctionnement du système endocrinien.....	30
II.8 l'anxiété, réaction neurocomportementale d'anticipation.....	30
II.8.1 Anxiété naturelle et troubles anxieux.....	30
II.9 la dépression, trouble psychiatrique.....	30
II.9.1 Définition et classification des troubles dépressifs.....	30
Chapitre III : <i>Melissa officinalis</i>	32
III.1 Description botanique.....	32
III.2 Classification botanique.....	33
III.3 Répartition géographique et habitat.....	34
III.4 Histoire de l'utilisation de la mélisse en phytothérapie.....	34
III.5 Constituants principaux.....	34
III.6 Caractéristiques chimiques.....	34
III.7 Propriétés médicinales de la mélisse.....	35
III.7.1 Antalgique dans les douleurs d'origine digestive.....	35
III.7.2 Effets sur le système nerveux central.....	35
III.7.2.1 Effet anxiolytique.....	35
III.7.2.2 Effet antidépresseur.....	36
III.7.2.3 Sédatif et inducteur du sommeil.....	36
III.7.3 Antioxydant.....	37
III.7.4 Virucide.....	37
III.7.4.1 Action sur le Virus d'Immunodéficience Humaine.....	37
III.7.4.2 Action sur l' <i>Herpes simplex virus</i>	37
III.7.5 Phytosanitaire.....	38
Matériels et méthodes	39
1. Préparation du probiotique.....	39
1.1 La souche bactérienne.....	39
1.2 Purification de la souche Bactérienne.....	39
1.3 Procédé de préparation.....	39
1.4 Posologie du probiotique.....	40

2. Extraction.....	40
2.1 La récolte du matériel végétale.....	40
2.2 Le séchage.....	41
2.3 Procédé d'extraction.....	41
2.4 Calcul du rendement.....	42
2.5 Préparation de solution d'extrait injectable.....	43
3. Les animaux d'expérimentation.....	43
3.1 Répartition des groupes	43
3.2 Evolution du poids corporel.....	46
3.3 Testes neurocomportementaux.....	46
3.3.1 L'épreuve de la nage forcée (Forced Swimming Test).....	46
3.3.2 Le labyrinthe en croix surélevé.....	47
3.3.3 L'open-field.....	48
3.4 Sacrifices et prélèvements du sang et des organes.....	49
3.5 Dosage biochimique.....	50
3.5.1 Dosage du glucose.....	50
3.5.2 Dosage du malone-dialdéhyde (MDA).....	50
Résultats et interprétations.....	52
1. Calcul de rendement.....	52
2. Effet du plomb sur le poids corporel et le poids du cerveau.....	52
3. Effet du plomb sur le gain de poids	54
4. Tests neurocomportementaux.....	54
4.1 L'épreuve de la nage forcée (Forced Swimming Test).....	54
4.2 Le labyrinthe en croix surélevé « Elevated plus maze ».....	55
4.3 Open Field.....	57
5. Dosages biochimiques.....	59
5.1 Dosage de la glycémie.....	59
5.2 Dosage de MDA.....	60
Discussion.....	61
Conclusion et perspectives.....	68
Références bibliographiques.....	70
Annexes.....	87

L'exposition humaine aux métaux neurotoxiques est un problème mondial de santé publique. Les métaux qui provoquent une toxicité neurologique, tels que le plomb (Pb), requièrent un intérêt particulier et leurs effets peuvent être irréversibles. L'exposition au Pb dans l'enfance peut avoir comme conséquence des déficits cognitifs et comportementaux. Ces effets sont de longue durée et persistent à l'âge adulte.

En raison de l'omniprésence de ce métal la réduction de l'exposition humaine à des niveaux toxiques reste un défi de la santé mondiale publique (Neal et Guilarte, 2013).

Le microbiote intestinal joue un rôle prépondérant de par ses nombreuses fonctions physiologiques essentielles à la digestion et plus généralement au maintien de la santé de l'hôte, mais également par sa grande contribution au développement et à l'activation du système neurologique. C'est pourquoi il fait l'objet de nombreuses observations.

La perturbation du microbiote, tant en quantité qu'en diversité microbienne, appelée dysbiose, peut survenir à la suite de divers événements tels qu'un stress, un changement d'alimentation, la prise d'antibiotiques mais peut aussi être à l'origine de plusieurs pathologies tel que les maladies psychiatriques, C'est pourquoi ces dernières années, l'idée de moduler de façon positive le microbiote s'est développée, cela grâce à l'administration de micro-organismes vivants appelés désormais probiotiques. L'un des ces probiotiques les plus étudiés actuellement est *Lactobacillus plantarum*.

Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger contre les maladies ou d'attaques extérieures.

Les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive de ses applications dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (Tchamdja, 1995 ; Mayer, 2012).

De ce fait, depuis des décennies la mélisse (*Melissa officinalis*) est utilisée pour ses vertus culinaires et médicinales. De plus, d'autres propriétés lui ont été

découvertes, comme par exemple un effet anti-inflammatoire, antibactérien, anti-oxydantes etc.

A la lumière de ces données notre travail a pour objectif d'évaluer l'effet probiotique de *Lactobacillus plantarum* et d'extrait aqueux de *Melissa officinalis* sur des rats Wistar intoxiqués par l'acétate de plomb durant la période de développement.

Différentes approches expérimentales ont été développées dans l'exploration du fonctionnement cérébral :

- Une approche comportementale (activité locomotrice, test d'anxiété, test de dépression)
- Une approche biochimique (Dosage de glycémie et dosage de MDA)

Chapitre I. Flore intestinale et probiotiques

I.1 Définition de la flore intestinale

La flore, ou microbiote, est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans un environnement spécifique appelé microbiome, chez un hôte qui peut être animal ou végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (**Burcelin et al ; 2016**)

La grande majorité des micro-organismes réside dans notre intestin et prend le nom de microbiote intestinal (flore intestinale). Il est constitué principalement de bactéries, mais aussi minoritairement d'archées, de levures et de virus. Les micro-organismes sont dix fois plus nombreux que nos cellules (10¹⁴ bactéries contre 10¹³ cellules). Véritable forme de commensalisme, les bactéries présentes dans notre tractus digestif perdurent par la consommation de produits alimentaires ou issus de la desquamation de nos tissus et par cela même, nous permettent d'exercer les mécanismes physiologiques nécessaires pour assurer notre bonne santé. C'est pourquoi le microbiote et plus largement l'intestin est aujourd'hui considéré comme un organe à part entière (**Walsh et al; 2014, Konturek et al; 2015**)

I.2 Composition de la flore intestinale

Le microbiote intestinal est composé de plusieurs centaines d'espèces bactériennes dont le plus grand nombre forme le microbiote dominant, puis ensuite le microbiote sous-dominant et le microbiote de passage.

L'analyse en biologie moléculaire de l'ARN 16S bactérien a identifié 4 phyla majoritaires dans le tractus intestinal : Firmicutes et Bacteroidetes (> 90%), Actinobactéries (<10%), et Protéobactéries. 95% des bactéries de notre tractus digestif sont anaérobies et près de 80% sont Gram positives

I.2.1 Le microbiote dominant :

1. Le phylum des Firmicutes (flore dominante)

Les Firmicutes sont des bactéries Gram positives et constituent l'un des principaux phylums des bactéries. Leur diversité est très importante que ce soit sur leurs formes (coccoïde, spiralé...), leurs métabolismes (aérobie, anaérobie) ou leurs formes de résistances (présence ou absence de spores). Ce phylum contient 3 classes : *Bacilli*, *Clostridia* et *Mollicutes*. Au niveau des selles, les phylotypes les plus abondants sont

représentés dans les 2 principaux groupes des *Clostridium*, le groupe IV et XIVa. Le groupe IV représente environ 20% du microbiote. L'espèce prédominante est *Faecalibacterium prausnitzii* qui possède un large éventail d'enzymes pouvant métaboliser les carbohydrates pour former du butyrate et du lactate. Le groupe XIVa représente comme le IV environ 20% du microbiote intestinal et est composé d'une collection disparate de genres et d'espèces de bactéries. Les genres les plus abondants retrouvés dans les selles sont : *Roseburia* et *Ruminococcus* ainsi que la famille des Lachnospiracées comprenant les genres *Eubacterium* et *Clostridium*.

2. Le phylum des Bacteroidetes (flore dominante)

Ce phylum comporte 3 classes : *Bacteroidales* (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*) *Flavobacterium* et *Sphingobacterium*. Les espèces les plus représentées sont les *Bacteroides* qui représentent le groupe le plus important de bacilles Gram négatives anaérobies avec par exemple *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides caccae* et *Bacteroides thetaiotaomicron*. Cette dernière bactérie est connue pour être impliquée dans des fonctions bénéfiques pour l'hôte, tel que l'absorption des nutriments, la maturation et la maintenance des cellules épithéliales.

3. Le phylum des Actinobactéries (flore dominante)

Les deux genres retrouvés en abondance dans les selles sont *Bifidobacterium* et *Collinsella*.

Ce phylum est composé d'organismes Gram positifs. Il est composé de bactéries morphologiquement différentes, des formes coccoïdes (*Micrococcus*), cocco-bacillaire (*Arthrobacter*) et des formes pouvant présenter des hyphes (*Nocardia*).

(Konturek et al; 2015)

I.2.2 Le microbiote sous-dominant

Le microbiote sous-dominant est présent dans des proportions plus faibles que le microbiote dominant. Il représente 10^6 à 10^8 UFC/gramme de selles.

Ce sont essentiellement des bactéries aéro-anaérobie facultatives. Parmi celles-ci on va retrouver des entérobactéries telles que *Escherichia coli* mais aussi les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, et *Lactobacillus*.

4. Le phylum des Protéobactéries (entérobactéries) (flore sous dominante)

Les protéobactéries sont minoritaires par rapport aux autres genres (8%) et sont représentées par les genres *Escherichia*, *Desulfovibrio* et *Helicobacter*.

5. Autres phyla (flore sous dominante)

D'autres phyla sont représentés mais en faible quantité, il s'agit du phylum des *Verrucomicrobia* avec comme espèce *Akkermansia mucinophila* et du phylum des Fusobactéries.

6. Les Archées (flore sous dominante)

Les Archées ont été découvertes vers la fin des années 70 dans des environnements extrêmes. Elles sont assez similaires en taille et en forme aux bactéries et elles appartiennent aux procaryotes. Cependant, elles possèdent des propriétés métaboliques et génétiques proches des eucaryotes. On peut citer les espèces de *Methanobrevibacter*.

Ces procaryotes sont capables de produire du méthane dans des conditions d'anaérobie. Cette production est importante pour prévenir l'accumulation d'acides et de produits de fin de réaction dans l'intestin. **(Konturek et al; 2015)**

1.2.3 Le microbiote de passage

Le microbiote de passage ou de transit, provenant essentiellement de l'alimentation, regroupe les espèces bactériennes qui traversent le tube digestif sans le coloniser. On les retrouve à des taux inférieurs à 10^6 UFC/gramme de fèces.

Il comprend des entérobactéries des genres *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* mais aussi des staphylocoques et des levures du genre *Candida*.

Leur pouvoir pathogène est normalement inhibé par l'effet barrière exercé par le microbiote dominant, on a donc un portage asymptomatique, mais il pourra être exprimé dans certains cas lors d'une dysbiose. **(Singer et al; 2015)**

Il est donc important que cet équilibre microbiote commensal / microbiote pathogène persiste.

La composition du microbiote humain en terme de phyla est donc assez homogène entre individus mais hétérogène au niveau des espèces.

La plus grande partie (environ les deux tiers) des espèces dominantes du microbiote est propre à chaque individu et sous l'influence des facteurs intrinsèques tels que la

génétique ou la localisation géographique de l'individu mais aussi extrinsèques comme l'alimentation ou l'ingestion de médicaments ou polluants.

Ainsi telle une empreinte digitale, le microbiote intestinal est propre à chaque individu, tout en gardant des fonctions physiologiques similaires d'un individu à l'autre. **(Marteau et al ; 2017)**

La qualité du microbiote peut être temporairement modulée par certains facteurs endogènes tels que le système immunitaire intestinal ou le pH du tube digestif ou exogènes comme l'alimentation, l'ingestion de polluants ou de médicaments (notamment d'antibiotiques), mais tend à revenir à sa composition initiale, c'est le phénomène de résilience.

Il peut aussi être volontairement modulé dans certains cas avec des probiotiques ou une alimentation particulière.

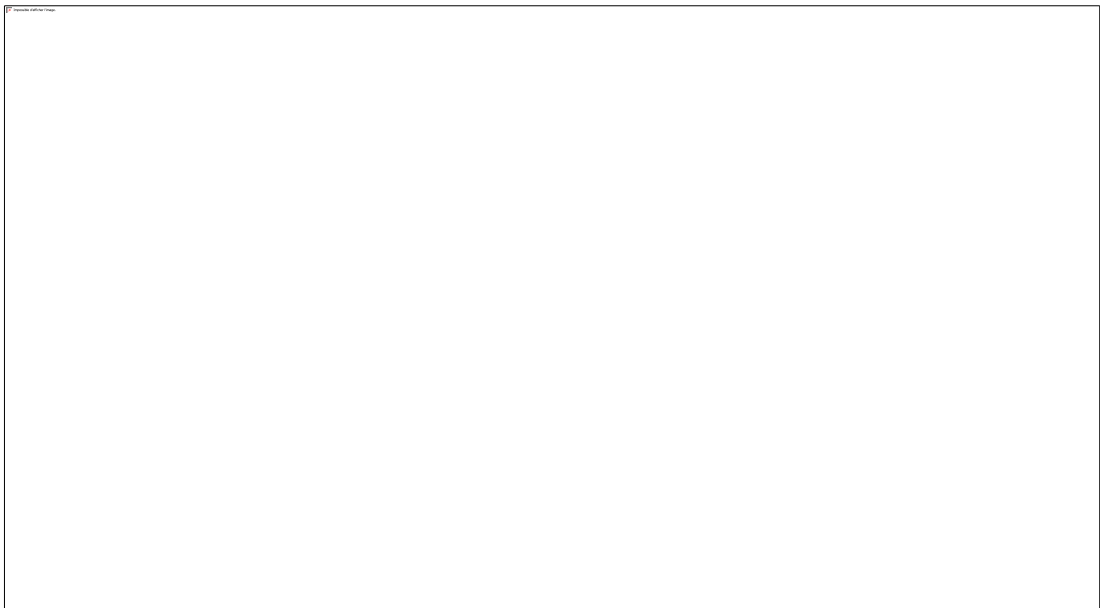


Figure 01 : les types de microbiote **Google images, Illustrations**

I.2.4 Les virus

Après la communauté bactérienne, les virus sont considérés comme l'espèce la plus abondante au niveau intestinal. Pour l'instant, peu d'études ont été réalisées mais on retrouve la présence majoritaire de phages et de prophages. On estime le nombre de phages à 10^{12} à 10^{13} particules par microbiote qui sont répartis dans environ une

centaine d'espèces dont le taxon prédominant appartient à la famille des Podoviridés. (Salonen et al ; 2014)

I.2.5 Autres : les eucaryotes

L'étude complète du composant eucaryote dans le microbiote intestinal n'en est qu'à son début, loin derrière l'étude des bactéries. Les premières études ont été réalisées sur les parasites présentant une pathogénicité certaine (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*).

Chez l'adulte sain, ils représentent environ 0,5% de la flore microbienne intestinale, les champignons ainsi que le genre *Blastocystis* sont les eucaryotes dominants. (Salonen et al; 2014)

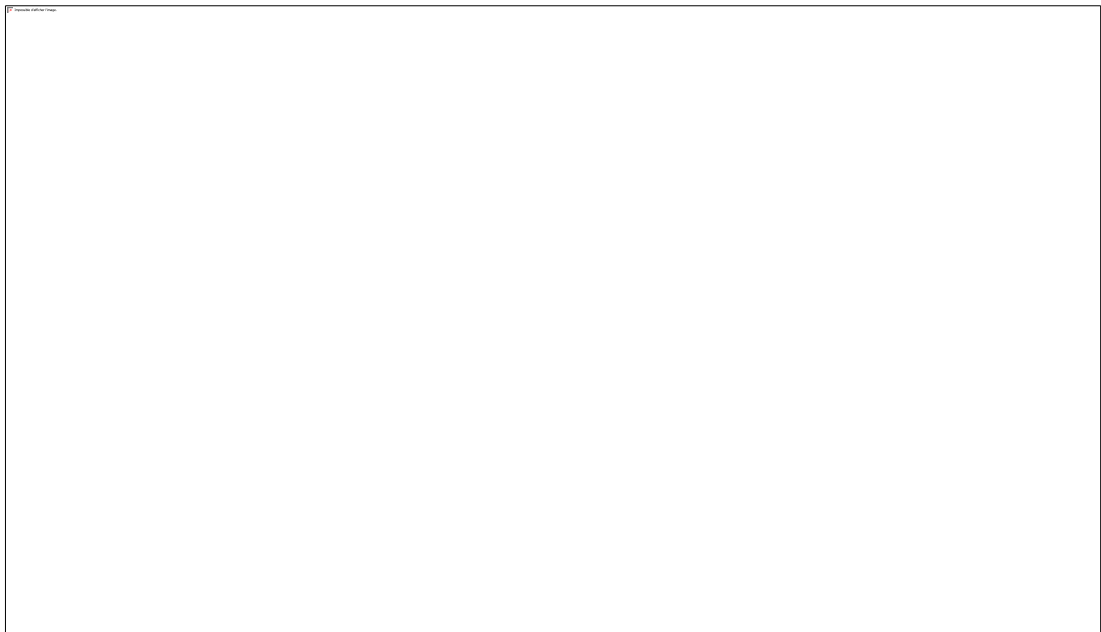


Figure 02 : composition de la flore intestinale. (Cheng et al ; 2013)

I.3 Probiotiques

I.3.1 Définition

Le terme "probiotique", dérive de deux mots grecs "pros" et "bios" qui signifient « pour la vie » (Bernier, 2010).

Celle adoptée par le comité mixte d'experts **FAO/WHO (2002)** qui les définit comme "des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte"

Il existe 4 grands groupes de probiotiques :

A) 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 :

1. les Lactobacilles (*Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus caséi*)
2. les coques (Entérocoques et Streptocoques).

B) Les bifidobactéries : D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. La population de bifidobactéries diminue avec l'âge et leurs espèces varient selon l'âge.

C) Les différentes levures de type *Saccharomyces cerevisiae*. : Elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire mais peuvent aussi être utilisées en tant que complément alimentaire.

D) Les autres bactéries sporulées, dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. (Robin et Rouchy, 2011)

I.3.2 Classification des probiotiques

Les probiotiques sont constitués de bactéries ou de levures naturellement présents chez l'homme, notamment au niveau de la flore digestive. Trois grands groupes de microorganismes probiotiques peuvent être distingués (Lignon et Chiny, 2013)

Les bactéries lactiques, les plus représentées. Elles sont capables de digérer le lactose et de le convertir en acide lactique, qui constitue leur principal produit du métabolisme glucidique et diminue le PH environnemental. Elles incluent les genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* ;

1. **Les bactéries non lactiques (*Bacillus*),** étaient utilisées dans la prévention et le traitement des diarrhées mais, devant l'absence d'essais de leur efficacité, ces bactéries ont été délaissées ;
2. **Les levures,** telle que la souche *Saccharomyces cerevisiae var boulardii*.

I.3.3 Caractéristiques des probiotiques

De façon plus spécifique, pour qu'un microorganisme soit considéré comme étant

Potentiellement probiotique, il doit présenter les caractéristiques suivantes (**Salminen *et al* ; 1996 ; Tannock, 1999 ; Stanton *et al* ; 2001**)

1. Etre un habitant naturel de l'intestin humain ;
2. Etre capable de coloniser le milieu intestinal, persister et se multiplier ;
3. Adhérer aux cellules intestinales et exclure ou réduire l'adhérence des pathogènes ;
4. Avoir un métabolisme actif et produire des substances inhibant les pathogènes (acides,
5. peroxyde d'hydrogène H₂O₂, bactériocines,...).
6. Non invasif, non carcinogène et non pathogène ;
7. Etre capable de co-agréger pour former une flore normale équilibrée ;
8. Absence de toxicité ;
9. Possibilité de production en grande échelle ;
10. Possibilité de cryoprotection ;
11. Résistance à la bile et au mucus intestinal (l'acide).

Les microorganismes probiotiques doivent également être technologiquement adaptés à interagir dans les produits alimentaires, tels qu'ils conservent à la fois la viabilité et l'efficacité dans les produits alimentaires (sur une échelle commerciale) pendant et après la consommation. Les probiotiques doivent être capables de survivre aux applications industrielles (par exemple la transformation des produits laitiers) et aussi être en mesure de croître ou survivre à des niveaux élevés dans le produit à la fin de la durée de conservation. (**Farnworth, 2008**)

I.4 Le genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* représente le plus large groupe des bactéries lactiques, il contient le plus grand nombre d'espèces qui peuvent être isolées de différents biotopes (humains, animaux, plantes... etc.) (**Stiles et Holzapfel, 1997**)

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques. Le pH optimal de croissance est de 5,5 à 6,2, leurs GC % sont de 36 à 47 (**Siegmund *et al* ; 2000**). Anaérobies ou micro aérophiiles, catalase

négative (AIT ABDELOUAHAB, 2001) .La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C, mais peuvent croître à un intervalle de température allant de 2°C à 53°C. Les thermophiles sont incapables de se développer à moins de 15°C.

Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux **(Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al ; 1994)**.

Ce genre fait partie de la famille des *Lactobacillaceae* ordre des *Lactobacillales* classe des *Baccilli*, phylum des *Firmicutes*. Cette famille regroupe trois genres différents : *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *pediococcus*. **(Axelsson, 2004 ; Felis et Dellaglio, 2007)**.

Le genre *Lactobacillus* peut être divisé en trois groupes **(ABABSA, 2012)** :

-groupe I : il comprend les espèces Homofermentaires obligatoires, ce groupe est constitué d'environ 25 espèces généralement thermophiles comme *Lb. Acidophilus* **(FEDERIGHI, 2005)**.

-group II : ce sont les espèces hétéro fermentaires facultatives, il est constitué d'une vingtaine d'espèces majoritairement mésophiles **(FEDERIGHI, 2005)**.

-groupe III : il est constitué des espèces hétéro fermentaires obligatoires, c'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles **(FEDERIGHI, 2005)**.

1. *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)

Selon (Molin, 2006), *Lactobacillus plantarum* diffère des autres *Lactobacillus spp*

Par:

1. un génome qui est relativement important 3,3 Mb.
2. une capacité à fermenter de nombreux glucides.
3. Une exigence au Mn^{2+} comme cofacteur pour la pseudocatalase dans le but d'hydrolyser H_2O_2 .
1. Manifeste peu d'auxotrophies : vitamine B5 (indispensable à la formation du coenzyme-A) et vitamine B3 (précurseur du NADH).
2. Une résistance aux conditions acides du fait de sa présence dans les aliments fermentés.
3. Capable de métaboliser les acides phénoliques.

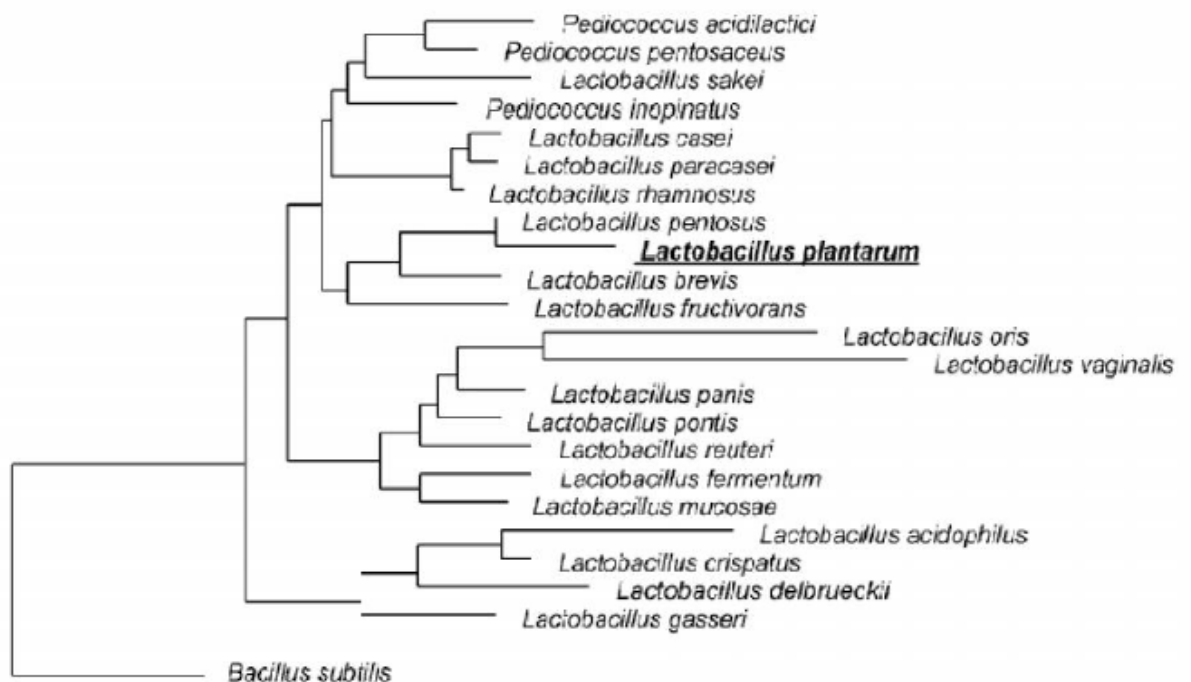


Figure 03: Dendrogramme (ADNr 16S) montrant la relation phylogénétique de *Lb. Plantarum* à un ensemble sélectionné de bactéries lactiques représentatives (Maaike et al ; 2005)

I.5 Critères de sélection des souches probiotiques destinées a l’Homme

Pour être sélectionnées en tant que probiotiques chez l’Homme, les souches Microbiennes doivent posséder certaines propriétés fonctionnelles, sécuritaires et Technologiques (FAO/ OMS, 2001 ; FAO/OMS, 2002 ; Tannock, 2003 ; WGO, 2008 ; Vasiljevic et Shah, 2008). Les différents critères de sélection sont résumés dans le Tableau 01.

Tableau 01. Critères de sélection des probiotiques destinés a l’Homme (FAO/OMS, 2002).

CRITERES FONCTIONNELS	CRITERES DE SECURITE	CRITERES TECHNOLOGIQUES
- tolérance à l'acidité et aux enzymes gastriques.	- souche pour l'usage humain d'origine humaine (isolée du tractus intestinal d'un Homme sain) ou alimentaire (utilisée dans les produits fermentés).	- stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini.
- tolérance à la bile et aux enzymes digestives.		- conservation des propriétés probiotiques après production.
- adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus gastrointestinal.		
- production de substances antimicrobiennes et antagonisme vis-à-vis des pathogènes.	- souche déposée dans une collection de cultures reconnue internationalement.	
- effets sur la santé documentés.	- souche caractérisée par des techniques phénotypiques et	

génotypiques.

- historique de non pathogénicité.

- pas de transmission possible de gènes de résistance aux

antibiotiques.

I.6 Utilisation des probiotiques en santé humaine

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des Probiotiques. Ils participent à :

- l'amélioration de la digestion de lactose (sécrétion de lactase) ;
- la réduction des produits du catabolisme éliminés par le foie et le rein ;
- l'augmentation de la valeur nutritionnelle (bonne digestion et absorption des minéraux et vitamines) ;
- l'influence positive sur la flore intestinale ;
- la bonne croissance et au bien-être ;
- la régulation de la motilité intestinale (constipation, syndrome d'irritation intestinale) ;
- la prévention de l'ostéoporose, du cancer, de hypertension et l'athérosclérose ;
- réduction du taux de cholestérol et la modulation du système immunitaire ;
- réduction de l'inflammation ou des réactions allergiques. (**Gourbeyre P, 2011 ; Mercenier A, 2002**)

I.7 Intérêt des probiotiques

4. Critères d'efficacité

Consommés en quantité suffisante par ingestion, les probiotiques joueraient un rôle majeur dans l'équilibre et la stabilité du microbiote intestinal et confèreraient un bénéfice santé à l'hôte. Pour cela, ils doivent remplir certaines conditions définies :

- L'origine des souches probiotiques doit être connue ainsi que leur identification précise.
- Les probiotiques doivent être d'une parfaite innocuité pour l'Homme à dose thérapeutique.
- La survie des probiotiques durant le processus de fabrication du produit doit être garantie. Le choix des souches ayant une bonne stabilité est important.
- Les probiotiques doivent rester stables pendant toute la durée de conservation du produit.
- Le probiotique doit arriver intact sur son site d'action. Par exemple, si leur lieu d'action est l'intestin grêle ou le colon, les probiotiques doivent présenter une résistance suffisante aux acides gastriques, aux sels biliaires et pancréatiques de façon à arriver vivants. Parfois, un enrobage résistant au suc gastrique sera nécessaire.
- Un bon probiotique doit pouvoir adhérer aux cellules de la muqueuse intestinale pour permettre un échange d'informations et par exemple stimuler l'immunité

Les probiotiques peuvent être considérés comme tels si ils ont fait preuve de leur effet bénéfique pour la santé dans des études scientifiques. En effet, ces dernières années, le rythme de la recherche sur les probiotiques s'est accéléré, mais pour que ces études soient valables certaines conditions doivent être respectées.

Les effets décrits dans l'étude peuvent seulement être attribués aux souches testées, et ne peuvent être étendus ni à l'espèce ni à un ensemble du groupe des bactéries qui auraient des effets similaires n'ayant pas été testés.

De même, les études qui prouvent l'efficacité de souches spécifiques à des doses précises ne sont pas suffisantes pour prouver des effets sur la santé à des doses moindres. Il n'est donc pas possible d'établir un dosage général pour tous les probiotiques. (**Joly et al ; 2007**)

I.8 rôle des probiotiques sur le psychisme

De précédentes expériences avaient déjà montré la capacité du cerveau à envoyer des signaux au système digestif. Les personnes stressées sont d'ailleurs souvent vulnérables aux problèmes intestinaux. Une publication suggère que le dialogue ne

se fait pas en sens unique, mais que la flore intestinale peut également communiquer avec le système nerveux. « Les personnes qui souffrent de problèmes digestifs se sentent parfois déprimées ou anxieuses, explique Kirsten Tillisch, les connexions entre le cerveau et le système digestif vont dans les deux directions. » mettant en évidence l'influence primordiale de l'alimentation sur notre santé. En modifiant les habitudes alimentaires, les chercheurs pourraient contrôler la personnalité et traiter certaines maladies comportementales. D'autre part, cette étude pose la question de l'effet des antibiotiques sur notre comportement. **(Ducrotté, 2008 ; Chouraqui).**

Chapitre II. Plomb, Anxiété et Dépression

II. 1 Historique et ancienne utilisation du Pb

Le plomb (Pb) est l'un des métaux les plus utilisés par l'homme mais aussi l'un des plus toxiques. Depuis plusieurs siècles **(Fahr ,2014)** Il a été utilisé, entre autres, pour la construction de conduites d'eau et d'édifices, dans la fabrication de peinture et de batteries, dans les cartouches d'armes à feu et comme additif à l'essence.**(Boucher, 2010)** et en verrerie, notamment pour la production de cristal **(Garnier, 2005).**

Le plomb (Pb) est un métal lourd naturellement présent dans l'environnement terrestre et aquatique. Il a également été émis dans l'environnement par l'industrie,

l'automobile, l'emploi de peintures et pigments. Le principal organe cible du plomb est le système nerveux central. L'exposition chronique au plomb peut provoquer des effets toxiques neuro-comportementaux (effet sur le développement staturo-pondéral, intellectuel et psychomoteur chez le jeune enfant âgé de moins de 2 ans). Le plomb peut aussi avoir des effets néphrotoxiques (sur les reins), endocriniens et sur le système hématopoïétique (anémie) **(La Cire Rhône ,2010)**.

Le plomb Son nom vient du latin plumbum signifiant liquide argenté. Parmi les métaux lourds dont le numéro atomique est supérieur à 60 **(Fahr ,2014)**. Le plomb est l'un des métaux qui a été le plus anciennement et le plus largement utilisé par l'homme, probablement en relation avec sa grande malléabilité, sa ductilité et son faible point de fusion, entre 328 et 347°C **(Fussler, 2011)**.

II.2 Propriétés physico-chimiques de plomb et ses dérivés :

Le plomb existe sous de très nombreuses formes : métallique mais également d'acétate, de bromure, de carbonate, de chlorure, de nitrate, d'oxyde, de sulfate et de tétrastyle. **(Happiette ; 2010)**, Le plomb se présente sous forme organique telle que ses composés tétra alkyle, tri alkyle et di alkyle de plomb ou sous forme inorganique telle que ses carbonates, oxycarbonates, oxydes et halogénures de plomb **(Santé Canada, 2010)**. ; Ces deux composés étaient utilisés pour augmenter l'indice d'octane dans l'essence en Europe **(ANSES, 2011) (Tableau02)**.

Tableau 02 : principales données physico-chimiques du plomb et ses dérivés **(Garnier ,2005)**

dénomination	Masse atomique	Point de fusion °C	Point d'ébullition °C
--------------	----------------	--------------------	-----------------------

plomb	207.19	327.5	1740
acétate de plomb	325.28	280	
carbonate neutre de	267.2		315
plomb			(décomposition)
carbonate basique de	775.2		400
plomb			(décomposition)
chlorure de plomb	278.11	501	950
nitrate de plomb	331.20		453
			(décomposition)
oxyde jaune de	223.19	888	
plomb			
minium de plomb	685.57	500	
sulfate de plomb	303.25	1170	
sulfure de plomb	239.25	1114	

L'usage de plomb

Le plomb est utilisé dans la fabrication de batteries d'accumulateurs, de munitions, de dispositifs de protection contre le rayonnement nucléaire et les rayons X, de gaines pour câbles utilisés dans l'industrie de production d'énergie et dans celle des communications, de revêtements de plomb pour les toitures, de matériaux de restauration des bâtiments anciens, de revêtements résistant aux produits chimiques, de matériaux anti-bruit, d'équipement électrique et électronique, d'équipement de véhicules à moteur et d'autres moyens de transport et dans la composition de roulements. Il entre aussi dans des compositions comme les alliages de laiton et de bronze, dans les métaux de fonderie, les verres, les glaçures céramiques, les stabilisants pour plastiques et les peintures, et dans des produits extrudés utilisés en construction comme les tuyaux, les siphons et les coudes, dans les réservoirs à combustible et de stockage, dans les enceintes de traitement et dans certaines soudures. Les utilisations moins importantes du plomb comprennent la fabrication de produits comme les masses d'équilibrage, les quilles de yachts, les ornements et les vitraux. L'utilisation de

plomb dans l'essence, les peintures, les pigments et les encres colorées est restreinte ou interdite dans de nombreux pays.

Le plomb est un métal qui se rencontre à l'état naturel en petites quantités dans la croûte terrestre. De plus, le nombre des gisements de minerai de plomb concentrés et facilement accessibles est étonnamment élevé et répandu de par le monde. Le plomb se manifeste surtout sous forme de sulfure, dans la galène.

https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/chem_profiles/lead/basic_lead.html

II. 3 Sources d'exposition au plomb :

Les sources de contamination par le plomb sont donc très diverses.

II. 3.1 Alimentation :

Les sources de plomb dans les aliments peuvent être naturelles ou anthropogéniques, et la contamination peut survenir à l'origine (matière première contaminée par le plomb atmosphérique ou géogénique) ou à n'importe quel point du processus de fabrication, par contact avec des outils métalliques, lors de la soudure, les pigments, vernis, ou l'emballage. Le plomb pénètre aussi dans l'alimentation à partir d'une eau potable ou d'irrigation chargée, d'ustensiles de cuisine, et de poussières domestiques. **(Oulhote, 2012)** Le plomb peut se déposer sur les fruits et les feuilles par la poussière et les précipitations. Les céréales, les fruits et les légumes ne poussant pas sous terre et ayant une surface étendue constituent donc tout particulièrement des sources d'exposition au plomb. **(BfR, 2011)** et aussi dans le lait maternel est lié à l'exposition actuelle de la mère et aux expositions passées remobilisées à partir des os **(Chien et al ; 2006)**. Même de faibles niveaux de plomb dans le lait maternel influencent fortement la plombémie d'un nourrisson **(Ettinger et al ; 2006) (Tableau03)**.

Tableau 03 : Teneurs moyennes en plomb des aliments issus de l'EAT2 (moyennes arithmétiques en mg/kg poids frais) (ANSES ,2011)

Catégories alimentaires	Pb (mg/Kg)
Pain et panification sèche	0.017
Céréales pour petit déjeuner	0.005
Pâtes	0.002
Riz et blé dur ou concassé	0.002
Viennoiserie	0.011
Biscuits sucrés ou salés et barres	0.010
Pâtisseries et gâteaux	0.009
Lait	0.006
Ultra-frais laitier	0.006
Fromages	0.008
Oeufs et dérivés	0.004
Beurre	0.009
Huile	0.003
Margarine	0.009
Viande	0.008
Volaille et gibier	0.004
Abats	0.020
Charcuterie	0.014
Poissons	0.004
Crustacés et mollusques	0.113
Légumes (hors pomme de terre)	0.008
Pommes de terre et apparentés	0.005

II. 3.2 L'eau :

L'eau potable demeure une des sources résiduelles les plus importantes d'exposition au plomb (EFSA, 2010). Le plomb contenu dans l'eau provient, pour majorité, de la dissolution du plomb constitutif des canalisations. Cette dissolution dépend de l'acidité (c'est-à-dire du pH), de la température, de la dureté de l'eau et du temps pendant lequel l'eau stagne dans les tuyaux. (Happiette, 2010) il provient principalement des éléments de plomberie tels que les raccordements de service en Plomb, la robinetterie et les soudures. (Clément, 2012).

II. 3.3 Les sols et poussières :

Dans le sol le Pb se trouve sous les formes chimiques suivantes : Pb^{2+} , $PbHCO_3^+$, $PbOH^+$, $PbSO_4$, $Pb(OH)_2$, $PbCO_3$, PbO , $Pb(PO_4)_2$, $PbO(PO_4)_2$, $PbCl^+$ (Baba Ahmed ,2012) donc est un élément naturellement présent à la surface de la Terre. Cependant, la majorité du plomb

présent dans l'environnement provient des activités humaines : industries de métallurgie et de sidérurgie notamment, sans oublier la pollution. (Happiette, 2010) La dégradation des peintures anciennes conduit à la formation d'écailles et de poussières très riches en plomb, qui peut être facilement ingérées par les jeunes enfants. (Oulhote, 2012).

II. 3.4 .Activité professionnelle et loisirs :

La contamination par le plomb peut être certes d'origine domestique mais elle peut également survenir sur le lieu de travail ; Les professions à risque d'exposition au plomb sont :

Dans l'industrie telle que : l'extraction et la métallurgie du plomb, du zinc et la récupération et le recyclage de vieux métaux, dans l'artisanat : comme la fonderie d'art et la joaillerie, dans le secteur du bâtiment : la pose ou dépose de canalisations en plomb le découpage au chalumeau de ferrailles peintes (Happiette, 2010).

II. 3.5 Les peinture au plomb :

L'ingestion de plomb présent dans les anciennes couches de peinture (celles-ci contiennent dans certains cas jusqu'à 50% de plomb) peut ainsi constituer une source importante d'exposition (Clément, 2012) Elles peuvent contenir jusqu'à 3000 µg de plomb par gramme de peinture. (Happiette, 2010) En effet, la détérioration de la peinture avec le temps, l'humidité et lors des travaux favorisent l'apparition d'écailles et de poussières riches en plomb entraînant la contamination du sol et de l'air. (sabbar, 2013).

II.4. Toxicocinétique :

La toxicocinétique étudie le devenir des produits toxiques dans l'organisme juste après l'exposition : les produits chimiques qui pénètrent dans le corps par les différentes voies respiratoire, cutanée, digestive sont distribués dans l'organisme par voie sanguine avant d'être transformés.

II. 4.1 Absorption du plomb :

Trois voie d'expositions au Pb son possible pour l'homme ; l'ingestion, l'inhalation et le contacte cutanée.

II. 4.1.1 Absorption digestive du plomb :

Le plomb arrive dans le tube digestif par la nourriture, les mains sales, les objets contaminés portés à la bouche. Le passage sanguin du plomb est favorisé par certains aliments ex régime riche en graisse. **(Podevin ,2010)** Chez l'adulte, l'absorption digestive du plomb est faible (5 à 10 %). Elle est beaucoup plus importante chez le jeune enfant (40 à 55 %) **(Happiette, 2010)**.

II.4.1.2 Absorption cutané du plomb :

L'absorption cutanée est le mode le moins important mais qui reste non négligeable. Seuls les composés organiques du plomb, liposolubles, utilisent cette voie, et seulement si la Peau est lésée. **(Sabbar, 2013)**Le passage transcutané des dérivés inorganiques du plomb est très faible (< 0,5 %) si la peau est intacte. La pénétration des poussières déposées sur la peau des mains est digestive, elle résulte de l'activité main-bouche et de la contamination d'aliments ou d'objets portés à la bouche **(Fussler ,2011)**.

II.4.1.3 Absorption respiratoire du plomb :

L'absorption des vapeurs de plomb est respiratoire, la rétention respiratoire des particules est comprise entre 30 et 50 %, selon leur granulométrie et la ventilation des personnes exposées

II.4.2 Distribution du plomb dans l'organisme :

La distribution du plomb dans l'organisme n'est pas homogène Elle a fait l'objet de nombreuses modélisations ; les plus généralement admises distinguent trois compartiments, en fonction de leurs cinétiques d'élimination : le sang, les tissus mous et l'os **(Fussler, 2011)**.

II.4.2.1 Le plomb dans le sang :

Le sang c'est Le premier compartiment où la demi-vie du plomb est de 35 jours qui ne représente que 1 à 2 % de la quantité présente dans l'organisme **(sabbar, 2013)** Le plomb absorbé par voie digestive passe dans la circulation sanguine **(ATSDR ,2007)**. Dans le sang, 98 % du plomb se retrouve dans le compartiment intra-érythrocytaire ; le reste du plomb est lié à l'albumine. Ensuite distribué dans le tissu osseux et les tissus mous tels que le cerveau, les reins et le foie **(Santé Canada, 2001)**

II 4.2.2 Le plomb dans les tissus mous :

est formé par le foie, reins, cerveau où la demi-vie est de 40 jours. (Sabbar, 2013) qui contiennent 5 à 10 % de la dose interne (Fussler ,2011).

II. 4.2.3 Le plomb osseux :

Le plomb est stocké sous forme biologiquement inactif et très peu toxique. Sa demi-vie est de l'ordre de 5 à 27 ans les sels de plomb se fixent en particulier dans les os du squelette et y sont stockés en entrant en compétition avec les ions calcium (Ca^{2+}). C'est le cas de 80 à 90 % du plomb absorbé avec comme conséquence, l'augmentation de sa concentration avec l'âge (sabbar ,2013) (Figure 04)

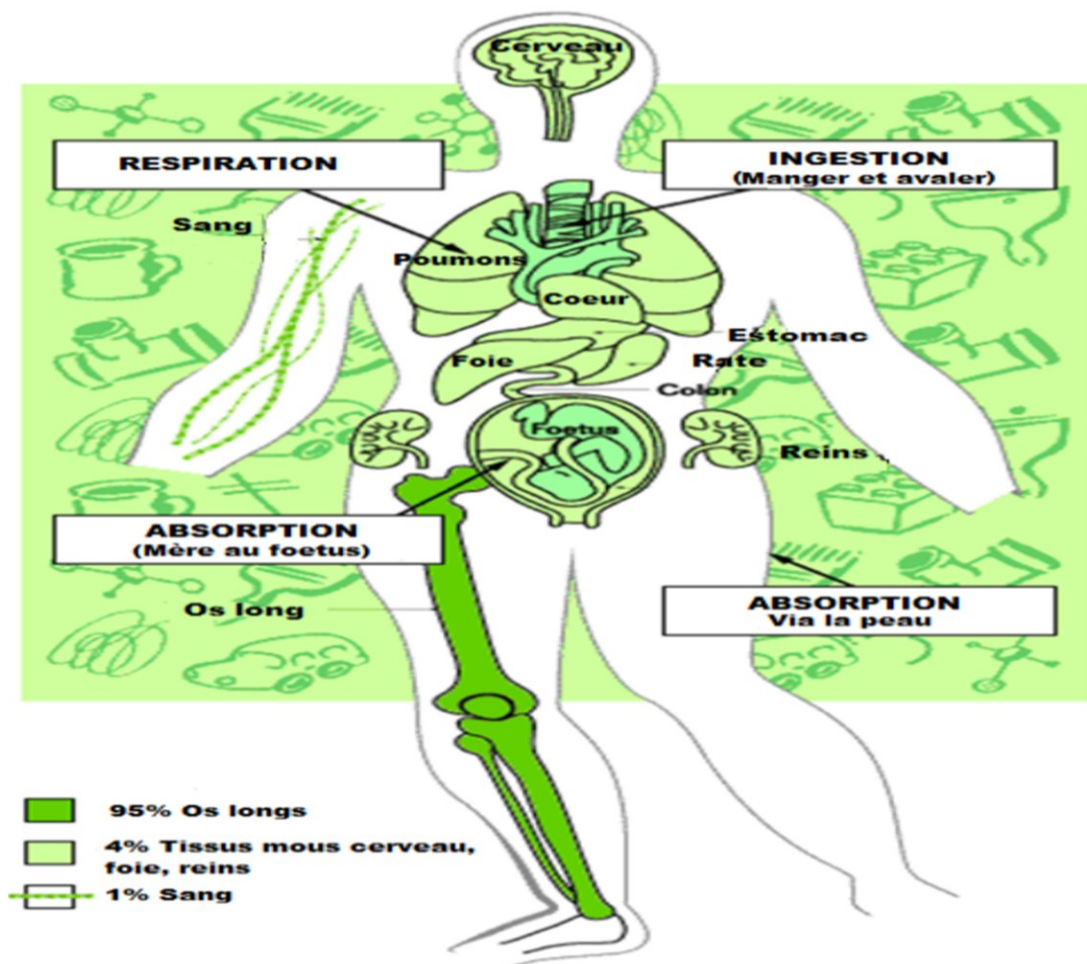


Figure 04 : plomb dans l'organisme (sabbar, 2013).

II.4.3 Élimination du plomb

L'excrétion du plomb est principalement urinaire (> 75 %) et fécale (15-20 %). Le plomb peut également être éliminé par la salive, la sueur, les cheveux et les ongles. (sabbar ,2013).

II. 5 Toxicités du plomb :

L'exposition au Pb constitue un risque pour la santé humaine. Une fois dans l'organisme, le Pb se concentre, via la circulation sanguine, dans le cerveau et les os. (Fahr, 2014).

II.5.1 Intoxication aiguë :

L'intoxication aiguë évolue en deux phases. Deux à 48 heures après la prise surviennent des douleurs abdominales, des vomissements et parfois une diarrhée. Ces troubles digestifs sont habituellement modérés et de brève durée (Garnier *et al* ; 2000).

II.5.2 Intoxication chronique :

Intoxications chroniques du plomb sont caractérisées par des effets essentiellement neurologiques. Les effets neurotoxiques sont plus importants et plus redoutés chez l'enfant que chez l'adulte, en raison d'un système nerveux central encore en voie de développement chez le fœtus puis chez l'enfant en bas âge(Oulhote, 2012).Une intoxication au plomb peut induire le saturnisme, maladie provoquant différents symptômes dont le retard mental et la paralysie des membres (Acosta *et al* ; 2011).

II. 5.2.1 Effet de plomb :

Les effets nocifs du plomb incluent des dommages sur le système nerveux, la reproduction, le système rénal, le flux sanguin, l'altération de la synthèse de l'hémoglobine, entre autres. Certains dérivés inorganiques du plomb sont également considérés comme cancérogènes probables pour l'homme (Groupe 2A) (IARC, 2006).

II.5.2.2 Effet Enzymatique :

Le plomb bloque plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine, il joue un rôle de catalyseur des réactions de peroxydation lipidique et inhibe l'activité de la plupart des enzymes antioxydants (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase et glutathion réductase) sur différents types cellulaires (**Sandhir et Gill, 1995 ; Gürer et al ;1998 ; Penugonda et al ; 2006**) et aussi bloque le fonctionnement des enzymes à zinc, telles que la phosphatase acide, l'ATPase, l'anhydrase carbonique ou l'acétylcholine estérase (**Grennwood, et Earnshaw,1984**).

II.5.2.3 Effets rénaux :

À long terme, l'exposition au plomb à des doses élevées est considérée comme l'une des causes de la néphropathie chronique, qui peut évoluer vers une insuffisance rénale (**Oulhote ,2012**) Il existe deux types de néphropathies sont induits par l'exposition au plomb : l'une néphropathie subaiguë, qui survient précocement après le début de l'exposition au plomb. Elle est, histologiquement, caractérisée par une atteinte des cellules tubulaires proximales qui sont hyperplasiques avec une atteinte mitochondriale et des inclusions intranucléaires et l'autre une néphropathie tardive, qui s'observe après 10 à 30 ans d'exposition au plomb. L'atteinte est cette fois tubulo-interstitielle et glomérulaire et elle est définitive. (**Sabbar, 2013**).

II.5.2.4 Effets digestifs :

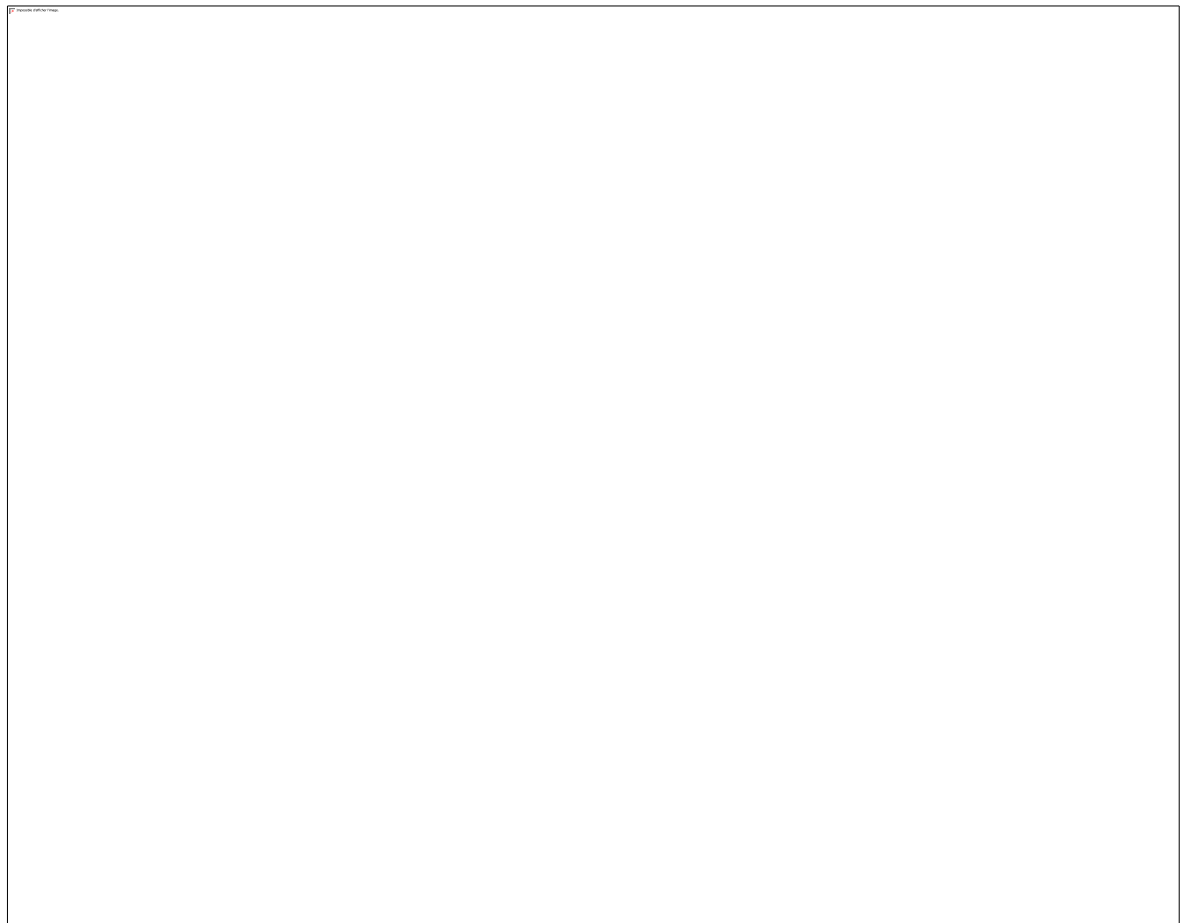
L'ingestion du plomb peut provoquer une irritation de l'appareil digestif, des nausées, des vomissements et des diarrhées. (**Sigma, 2013**).

II.5.2.5 Effets hépatique :

La cytolysé hépatique est un signe d'intoxication aiguë par le plomb. Elle ne s'observe Qu'après des contaminations massives, correspondant à une plombémie supérieure à 1500- 2000 µg/l. Le plomb inhibe la synthèse des hémoprotéines, particulièrement celle du Cytochrome P450 (**sabbar ,2013**).

II.5.2.6 Effets hématologiques :

Les effets du plomb sur le système hématologique sont connus depuis longtemps (**Oulhote,2012**) son effet sur les érythrocytes, causant généralement l'anémie ferriprive, (**EIFadeli et al ;2015**) est une caractéristique commune de l'intoxication et est produite principalement par deux mécanismes : une interférence avec la synthèse de l'hème principalement en inhibant la déshydratase de l'acide delta-aminolévulinique (ALAD) qui catalyse la transformation de l'acide delta-aminolévulinique (ALA) en porphobilinogène et la ferrochélatase (ou hème-synthétase) qui contrôle la dernière étape de la synthèse de l'hème. (**Sabbar, 2013**) et augmentation du taux de destruction érythrocytaire, entraînant une réduction de l'hémoglobine (**Oulhote ,2012**) (**Figure 05**).



Légende : ✗ inhibition

Figure 05 : la toxicité du plomb sur la synthèse de l'hémoglobine. **(Garnier, 2005)**

II.5.2.7 Effet sur le système nerveux :

Le principal organe cible du plomb est le système nerveux central. L'exposition chronique au plomb peut provoquer des effets toxiques neurocomportementaux (effet sur le développement staturo-pondéral, intellectuel et psychomoteur chez le jeune enfant âgé de moins de 2 ans). **(La CIRE Rhône, 2010)** Le plomb entraîne une encéphalopathie et une neuropathie dépendantes de l'âge, de la voie de pénétration, et de la dose. **(sabbar,2013)** Le plomb provoque des lésions de l'endothélium capillaire, surtout au niveau du cervelet. Le transport des acides aminés à travers la barrière hématoencéphalique est ralenti et, par là même, la synthèse protéique très active au sein du cerveau dont dépendent capacité d'apprentissage et mémoire. **(Pletscheret Liechti, 2007).**

II.5.2.8 Effets sur la reproduction :

Le plomb est nocif pour le développement du fœtus même à des concentrations sanguines qui ne produisent pas de toxicité clinique chez la mère. Les principaux effets du plomb sur le système de reproduction que l'on a observés chez la femme sont les suivants : retards de maturation sexuelle, risques d'avortement spontané, réduction du poids à la naissance et naissances prématurées **(Selevan et al ; 2003)** Chez l'homme, les effets du plomb sur la reproduction les plus couramment signalés, notamment la réduction de la numération spermatique, la malformation congénitale et un risque accru d'infertilité, étaient à des concentrations sanguines supérieures à 10 µg/dl **(Alexander et al,1996 ; Sallmen et al ,2000 ; Bonde et al ,2002)** et des modifications des concentrations sanguines de testostérone ont parfois été retrouvées **(Garnier ,2005).**

II.5.2.9 Effet cardiovasculaire :

À long terme, l'exposition au plomb est associée aux maladies cardiovasculaires, en particulier l'hypertension **(Oulhote ,2012)** Des événements cardiovasculaires autres que l'hypertension, y compris des anomalies électro-cardiographiques, des

changements dégénératifs du muscle cardiaque, une myocardie et l'athérosclérose, etc., (Navas et al ,2006; US.EPA ,2006).

II.5.2.10 Effet cancérigène :

La cancérigénicité du plomb et de ses dérivés est discutée par les experts. Certaines études épidémiologiques effectuées chez l'adulte en milieu professionnel suggèrent un effet cancérigène du plomb (poumon, estomac, et probablement vessie) mais le plus souvent il existe une coexposition (tabac, arsenic, etc.). Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a toutefois classé le plomb et ses composés comme cancérigènes possibles pour l'homme (Groupe 2B) (IARC ,2006). Les composés inorganiques de plomb se classent parmi les agents probablement cancérigènes pour l'homme, soit dans le groupe 2A de l'IARC, alors que ses composés organiques sont parmi les agents inclassables (groupe 3) (IARC, 2013). (Figure 06)

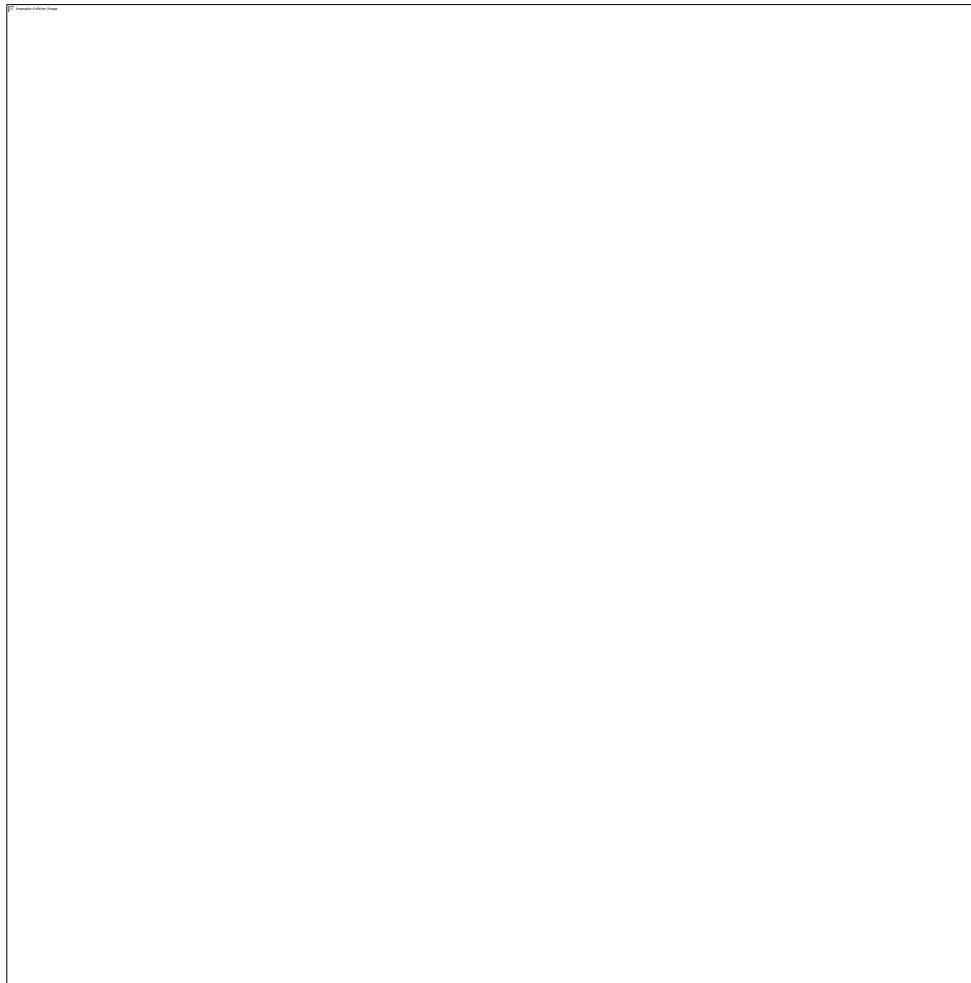


Figure 06 : Les effets du plomb sur la santé (Bellinger et Needleman ,2003)

II.6 Plomb et fonctionnement du système nerveux central

II.6.1 Plomb et développement du système nerveux central :

L'affinité du plomb pour le système nerveux central est reconnue. Les régions du cerveau les plus sensibles aux effets du plomb sont l'hippocampe, le système limbique, le cortex préfrontal et le cervelet. Un des mécanismes d'action proposés pour expliquer la neurotoxicité du plomb serait son action inhibitrice sur la neurotransmission glutamatergique, plus particulièrement au niveau des récepteurs NDMA, qui est le principal système de neurotransmission excitateur du système nerveux central et un acteur majeur de la plasticité synaptique, phénomène

caractéristique du développement cérébral, de l'apprentissage et de la mémoire (Toscano et al ; 2007).

II.6.1.1 Plomb et l'expression de certain gène :

En effet, le plomb apparaît comme génotoxique par son action sur des enzymes impliquées dans la synthèse, la réparation ou même la structure de l'ADN (Milgram, 2008). Sa capacité à entrer en compétition avec d'autres métaux divalents a également été mise en cause pour expliquer sa génotoxicité et notamment sa capacité à induire des cassures simples brins de l'ADN (Shaik et al ; 2006). Il paraît évident que le plomb activant la liaison à l'ADN de plusieurs facteurs de transcription, il stimule ce faisant l'expression des gènes régulés par ces facteurs. Mais il existe d'autres mécanismes d'action par lesquels le plomb interfère avec l'expression des gènes. Parmi les gènes cibles, on relève les « Gènes de réponse immédiate précoce » qui codent pour des protéines constitutives des facteurs de transcription. (Kim et al ; 1997).

II.6.1.2 Plomb est cytoarchitecture :

L'exposition au plomb montre des changements dans le développement cytoarchitectural de l'hippocampe et du cortex, une réduction du nombre et du diamètre des axones du nerf optique et une démyélinisation des nerfs périphériques (Rodier, 1995), et peut aussi inhiber la prolifération cellulaire de fibroblastes et de cellules rénales par blocage du cycle cellulaire en phase G0/G1 (Iavicoli et al ,2001 ; Giuliani et al , 2005) et induit de l'apoptose sur des fibroblastes en culture (Iavicoli et al ; 2001).

II.6.2 Effets sur les systèmes neurotransmetteurs :

L'exposition au plomb affecte une grande variété de systèmes de neurotransmetteurs dans le cerveau. Il a été largement démontré que l'exposition à de faibles doses de plomb induit des changements neurochimiques dans les systèmes monoaminergiques et aminoacidergiques (sabbar ,2013). Le plomb interfère avec la libération de neurotransmetteurs, les produits chimiques utilisés par les neurones d'envoyer des signaux à d'autres cellules (Dart et al ; 2004).

II.6.2.1 Sur système dopaminergique :

L'effet du plomb consiste à une défaillance dans la régulation de la synthèse de la dopamine et de sa libération (**Slechtta, 1995**), accompagnée d'une inhibition de la transmission synaptique dans les nerfs périphériques (**Tong et al ; 1995**).

II.6.2.2 Sur système glutaminergique :

Le plomb exerce une action inhibitrice sur le récepteur au glutamate de type NMDA (**Alkondon et al ; 1990**). Le Pb interfère avec la libération de glutamate, un neurotransmetteur important dans de nombreuses fonctions, y compris l'apprentissage, en bloquant les récepteurs N- Méthyl D- aspartate (NMDA), le ciblage de ces récepteurs est considéré comme l'une des principales causes de plomb de la toxicité pour les neurones (**Xu et al ; 2005**).

II.6.2.3 Système cholinergique :

L'acétylcholine, (ACh), est un neurotransmetteur qui joue un rôle important aussi bien dans le système nerveux central, où elle est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, notamment dans l'activité musculaire et les fonctions végétatives. Par ailleurs, Le plomb décline la libération d'acétylcholine et diminue la fonction cholinergique in vivo et in vitro (**Slechtta, 1995**).

II.6.3 Plomb et communication des cellules nerveuses :

La neurotoxicité du plomb pourrait prendre sa source dans la multitude des mécanismes intracellulaires qui, à différents niveaux, supportent la communication cellulaire et intracellulaire : les systèmes des premiers, seconds et troisièmes messagers (**Finkelstein et al ;1998**) Dans d'autres types cellulaires et notamment dans les cellules nerveuses, le plomb emprunte les systèmes de transport du calcium et est donc intimement lié au taux de calcium intra et extracellulaire (**Tiffany et Qian, 2001 ; Loikkanen et al ;2006 ; Kerper et Hinkle ;1997**).

II.6.3.1 Le second messenger et les protéines kinases :

La protéine kinase C (PKC) est impliquée dans la libération par exocytose de neurotransmetteurs supports de la transmission synaptique. (**Hussain et al ; 2000**)

donc l'action du plomb sur PKC peut expliquer son effet sur la potentiation à long-terme. Le plomb interfère avec ces processus intracellulaires en se substituant au calcium et en se liant à certaines protéines comme la calmoduline ou la protéine kinase C qu'il active (Long *et al* ; 1994).

II.6.3.2 Le système du 3ème messager :

Une exposition précoce au plomb provoque un pic de liaison prématuré des facteurs de transcriptions zinc finger protéine (ZFP) (Egr1 et Sp1). Cet effet passe par plusieurs actions dont la liaison du plomb à la région sensible au zinc et l'activation de la voie ERK/MAPK. Mais les ZFP ne sont pas les seuls facteurs de transcription dont l'action est perturbée par le plomb. C'est également le cas pour le complexe Ap1 (Chakraborti *et al* ; 1999) (figure 07).

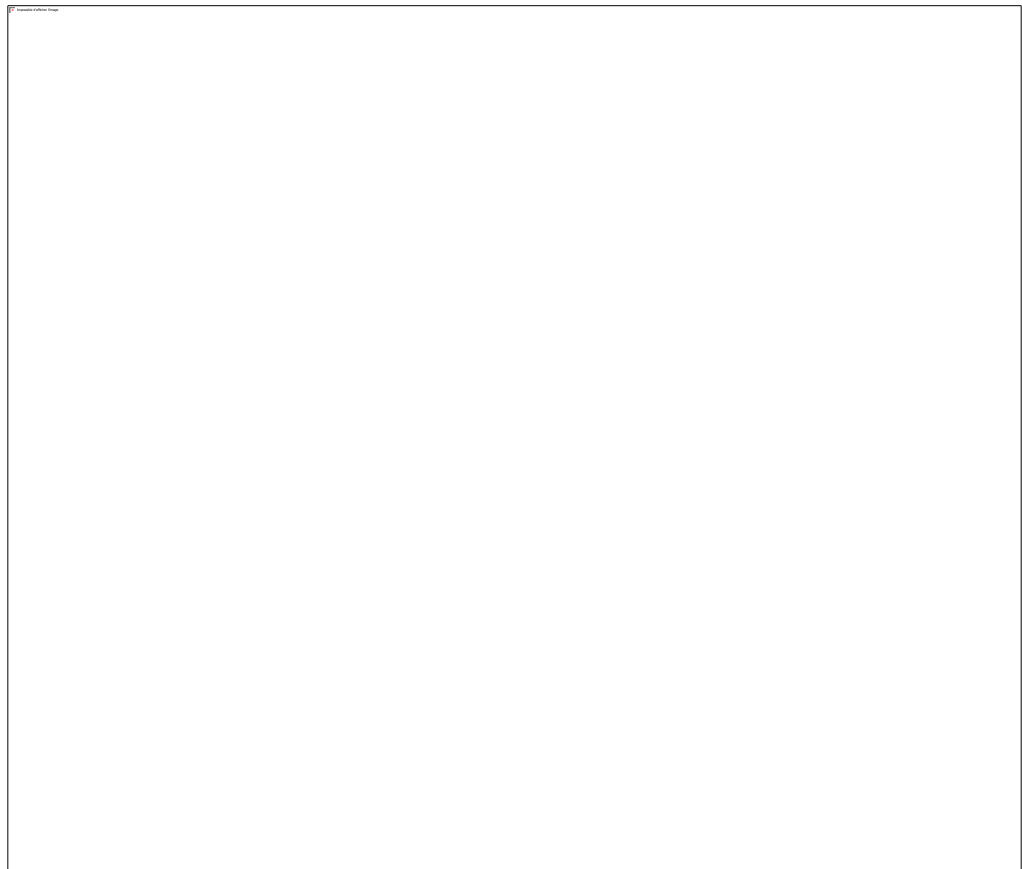


Figure 07 : Sites d'action présumés du plomb dans les neurones (Finkelstein *et al*, 1998).

Légende : Présentation des différents points d'interaction du plomb avec les mécanismes cellulaires des neurones : (1) canaux voltage-dépendants. (2) Neurotransmetteurs (système des premiers messagers). (3) Seconds messagers. (4) Protéines kinases. (5) Système des troisièmes messagers. (6) Réparation de l'ADN.

II.7 Plomb et fonctionnement du système endocrinien :

Plusieurs publications indiquent une association négative entre la Pbs d'une part et les concentrations circulantes des hormones thyroïdiennes et de la thyroid stimulating hormone(TSH) d'autre part (ATSDR ,1999 ; IPCS ,1995) chez des travailleurs exposés au plomb. Cette liaison n'a pas été retrouvée dans des populations d'enfants exposés. Elle semble n'apparaître que lorsque la Pbs est au moins égale à 500 lg/l. (Garnier ,2005).Des études sur le rat ont par exemple indiqué que le plomb peut causer un retard dans l'ouverture du vagin et une diminution du taux d'estradiol à la puberté (Ronis et al;1998) ; La seconde étude a fait apparaître un mécanisme hormonal par lequel le plomb pourrait induire un retard du déclenchement de la puberté. (Crettaz, 2011).

II.8 l'anxiété, réaction neurocomportementale d'anticipation

II.8.1 Anxiété naturelle et troubles anxieux

La réaction d'anxiété est la réaction neuro-comportementale causée par l'appréhension ou l'anticipation d'une situation aversive. Elle entraîne bien souvent le déclenchement de la réaction de stress. Cette réaction est naturelle et ressentie par tout individu au cours de sa vie. Elle peut néanmoins, lorsqu'elle est exagérée, être l'origine de plusieurs pathologies regroupées sous le terme de troubles anxieux.

C'est Freud qui, en 1895, donne le premier une description précise des différentes manifestations de l'anxiété pathologique : "l'inquiétude chronique, l'attaque d'angoisse, les équivalents physiques, les peurs illégitimes et sélectives que l'on appelle phobies, et les obsessions" (Freud, 1895). Sa contribution à la description des symptômes et à la classification des troubles anxieux est à ce jour indiscutée.

II.9 la dépression, trouble psychiatrique

II.9.1 Définition et classification des troubles dépressifs

Le terme de dépression provient du latin *depressio* qui signifie "enfouissement", "passage de haut en bas". C'est vers le milieu du XIXème siècle que le mot

commence à acquérir son caractère métaphorique, lorsqu'il est défini, en psychologie et psychiatrie, comme un état mental de lassitude, de découragement, plus général et moins grave que la mélancolie (**Lanteri-Laura, 2003**).

Aujourd'hui, la psychiatrie préfère le terme de "troubles dépressifs" car il reflète la multiplicité des expressions que peut prendre cette pathologie. Les troubles dépressifs sont classés par le DSM-IV-TR (**American Psychiatric Association, 2003**) dans la catégorie des troubles de l'humeur. Cette catégorie comprend :

- Les troubles dépressifs
- Les troubles bipolaires
- Les troubles de l'humeur dus à une affection médicale générale ou induits par une substance.

Les troubles dépressifs, encore appelés dépression unipolaire, se distinguent des troubles bipolaires par l'absence d'épisode maniaque. Leur diagnostic est établi par la présence d'un ou plusieurs épisodes thymiques, c'est à dire relatifs à l'humeur, appelés épisodes dépressifs majeurs, plus ou moins graves. Les critères de diagnostic d'un épisode dépressif majeur sont les suivant :

- Au moins l'un des 2 symptômes suivants est ressenti :
 - Humeur triste (ou dépressive) : absence de joie, sentiment d'oppression
 - Anhédonie : absence de plaisir, même pour les activités considérées antérieurement comme agréables
- Ainsi qu'au moins quatre des symptômes suivants est ressenti :
 - Changement d'appétit et/ou de poids
 - trouble du comportement, modification de l'activité psychomotrice
 - trouble de la concentration, de la prise de décision
 - Idées noires : idées de mort récurrentes, idées suicidaires, plan ou tentative de suicide
 - trouble du sommeil
 - Autodépréciation, diminution de l'estime de soi, sentiment de culpabilité
 - Asthénie (diminution de l'énergie)

Ces symptômes doivent être ressentis pendant au moins 2 semaines consécutives et être accompagnés d'une souffrance cliniquement significative ou d'une altération du fonctionnement social.

Chapitre III : *Melissa officinalis*

III.1 Description botanique

La mélisse (Figure 08 a) est une plante herbacée vivace* à la tige carrée (Figure 08 g), dressée et ramifiée, poussant en touffe, mesurant le plus souvent entre 30 et 80 centimètres de haut (**Perrot et Paris, 1971 ; Thoby, 2009**).

Les feuilles (Figure 08 f), pétiolées, sont réparties de façon opposée et décussée sur la tige (**Wichtl et 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 (**Perrot et Paris, 1971**).

Les fleurs sont regroupées par douzaine ou demi-douzaine, en verticille (Figure 08 c), à la base des feuilles. De couleur blanche à rosée, elles sont formées d'une corolle tubulaire (Figure 08 b) constituée de deux lèvres inégales. La lèvre supérieure est dressée (**Perrot & Paris, 1971**) et celle inférieure est divisée en trois lobes. Quatre étamines didyames* (Figure 08 d) s'insèrent sur le tube formé par la corolle, elles sont courbées et tendent ainsi les unes vers les autres. Le pistil, quant à lui, est constitué de quatre loges et possède un long style terminé par un stigmate. Le calice (Figure 08 e) est bilabié et pubescent (**Wichtl et Anton, 2003**).

Le fruit est un tétrakène contenant de petites graines brunes, foncées et luisantes.

La mélisse officinale peut parfois, notamment si elle est cueillie à l'état sauvage, être confondue avec d'autres plantes (**Wichtl et Anton, 2003 ; Babulka, 2005**) qui sont : la cataire citronnée (*Nepeta cataria* var. *citriodora*), la mélisse des bois (*Melittis melissophyllum*), la mélisse à grandes fleurs (*M. grandiflora* Sm.) et la mélisse de Moldavie (*Dracocephalum moldavicum*).

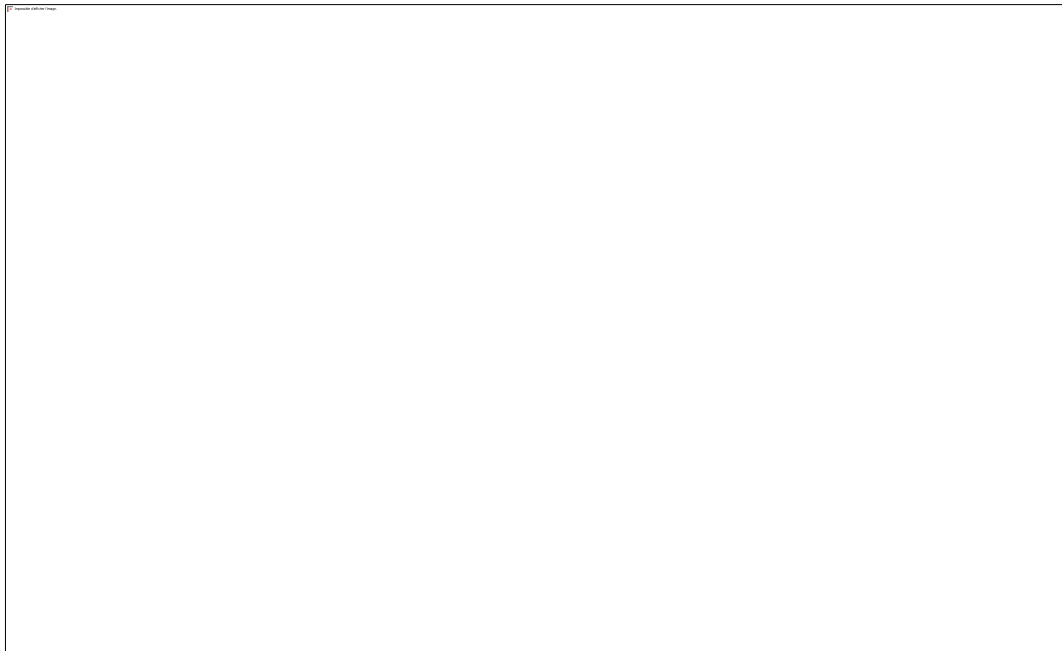


Figure 08 : Mélisse officinale (*Melissa officinalis*) <http://www.herbierimages.be>

a : plante entière ; b : fleur zygomorphe ; c : fleurs disposées en verticilles à la base des feuilles ; d : quatre étamines ; e : calice bilabié et pubescent ; f : feuille ; g : tige carrée.

III.2 Classification botanique

La classification botanique place *Melissa officinalis* dans :

Règne: *Plantae*

Sous-règne: *Tracheobionta*

Division : *Spermatophyta*

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones vraies

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Melissa*

Espèce : *Melissa officinalis* L.

(Dupont et Guignard, 2007)

L'espèce *Melissa officinalis* L. connu sous le nom vernaculaire français „Mélisse, Citronnelle“, arabe „ترنجان“ et en Algérie : Ifar zizwi

III.3 Répartition géographique et habitat

La mélisse est répandue dans la flore naturelle de la région Méditerranéenne, dans l'Europe du Sud, l'Afrique de Nord et à l'Est jusqu'au Caucase et l'Iran de Nord (**Toth et al ; 2003 ; Dastmalchi et al ; 2008**). Haies et bois, cultivée dans les jardins en Europe (**Hmamouchi, 1999**).

III.4 Histoire de l'utilisation de la mélisse en phytothérapie

La mélisse est une plante originaire de l'est du bassin méditerranéen (Turquie) Son utilisation, en tant que plante médicinale, remonte à Théophraste et Hippocrate, dans la Grèce antique. A l'époque, on reconnaissait déjà ses bienfaits pour calmer les personnes anxieuses et apaiser les troubles nerveux. Les Arabes l'ont utilisée comme antispasmodique et les Européens comme digestif calmant et traitement antiviral. Dans le monde contemporain, la mélisse est utilisée en phytothérapie pour traiter l'anxiété et les troubles nerveux ainsi que les problèmes gastrointestinaux. Elle est également utilisée pour son effet stimulant sur la fonction cérébrale et son efficacité dans le traitement de l'insomnie. (**Youla.A et Latrous.I.D ,2017**)

III.5 Constituants principaux

La plante de mélisse fraîche est composée de 0,01% d'huile essentielle, tandis que la plante sèche en contient 0,05%.

L'huile essentielle est constituée elle-même de :

- Aldéhydes terpéniques (citronellal et citral, un mélange de néral et de géraniol)
- Alcools terpéniques (eugénol, géraniol, citronellol, linalol)
- Sesquiterpènes (caryophyllène)
- La mélisse est composée de flavonoïdes, lutéoline, quercétol, acides phénols, caféine, chlorogénique, labiatique, mucilage, dérivés terpéniques (**Hmamouchi, 1999**).

III.6 Caractéristiques chimiques

L'huile essentielle de mélisse présente des activités antibactériennes, anti-parasitiques, antihistaminiques et antifongiques (**Sadraei et al ; 2003**). 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 germacrène D, ocimène, citronellol (**Carnat et al ; 1998**), oxyde de caryophyllène, néral acétate (**Rozzi et al ; 2002**), linalol, geraniol (**Ribeiro et al ; 2001**).

Les propriétés antioxydante, antibactérienne et antivirale de l'extrait aqueux de mélisse, déjà démontrées auparavant et liées à la présence de composés polyphénoliques dont l'acide rosmarinique, sont appuyées et complétées par les études récentes. Des travaux récents ont mis à jour d'intéressantes propriétés telles des activités antithyroïdienne et antigonadotrope, mais aussi des propriétés anti-inflammatoire et inhibitrice de la synthèse protéique. Ces dernières découvertes pourraient donner naissance à de nouvelles applications de la mélisse. D'autre part, en raison de sa forte teneur en acide rosmarinique, la mélisse pourrait constituer une source d'acide rosmarinique, composé qui est de plus en plus utilisé et recherché pour ses propriétés antibactériennes et antioxydantes entre autres (**Nathalie Ronat 1 UGA UFRP - Université Grenoble Alpes - UFR Pharmacie**)

III.7 Propriétés médicinales de la mélisse

La mélisse est depuis l'Antiquité une plante utilisée dans les cas de nervosité et de troubles mineurs du sommeil, ainsi qu'en cas de troubles gastro-intestinaux telles les flatulences et les douleurs abdominales. C'est de façon empirique que ces propriétés lui ont été attribuées (**Babulka, 2005 ; Ollier, 2011**).

III.7.1 Antalgique dans les douleurs d'origine digestive

L'usage de la plante pour soulager les douleurs abdominales est propre à *M. officinalis*, Cette propriété antalgique serait due à une composante antispasmodique associée à une stimulation de la digestion, notamment par un effet cholérétique

III.7.2 Effets sur le système nerveux central

III.7.2.1 Effet anxiolytique

La GABA-transaminase, GABA-T, est l'enzyme responsable de la dégradation du GABA. Son inhibition entraîne donc une augmentation du GABA au niveau cérébral. Dans une étude de 2007, Awad et son équipe ont montré sur des cerveaux de rat qu'un extrait de mélisse

possédait une activité inhibitrice de la GABA-T *in vitro*, $CI_{50} = 0,35\text{mg/ml}$ (Awad *et al* ; 2007). Cette activité serait due à l'acide rosmarinique, à l'acide ursolique et à l'acide oléanolique (Awad *et al* ; 2009). Cependant, une étude *in vivo* serait nécessaire pour savoir si l'inhibition de la GABA-T par ces composés a un effet sur la fonction GABAergique.

III.7.2.2 Effet antidépresseur

Il a été montré chez la souris qu'un extrait aqueux de mélisse présente une activité, apparentée à une activité antidépressive chez l'homme, similaire à celle observée chez les animaux traités par imipramine⁷. Le test de la nage forcée permet d'évaluer les effets des traitements antidépresseurs sur la souris. L'animal est placé dans un récipient en verre cylindrique rempli à moitié d'eau. Alors soit il essaie d'escalader les parois pour s'échapper (escalade ou fuite), soit il nage, soit il se laisse flotter sans bouger (immobilisme). Ainsi, une activité antidépressive d'un produit se caractérisera dans ce test par une augmentation de l'activité locomotrice de la souris (temps de nage et escalade). L'étude d'Emamghoreishi et Talebianpour (2009) révèle que 25 mg/kg d'extrait aqueux de mélisse administrés par voie intra-péritonéale réduisent de 46 % l'immobilité de la souris, augmentent de 170 % les tentatives de fuite sans modifier le nombre de fois où la souris nage. Cette activité possède un effet au profil semblable à celui observé pour 15 mg/kg d'imipramine, mais est différent de celui observé pour 20 mg/kg de fluoxétine (Emamghoreishi et Talebianpour, 2009).

L'effet antidépresseur peut s'expliquer par l'inhibition de la monoamine oxydase de type A, MAO-A* par des extraits de *M. officinalis*. La CI_{50}^* pour l'extrait méthanolique étant d'environ 19 $\mu\text{g/ml}$, tandis qu'elle est d'environ 48 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux. En revanche, aucun d'eux n'a montré d'activité vis-à-vis de l'acétylcholinestérase (Lopez *et al* ; 2009). Cela signifierait une absence d'effets indésirables liés à une activité anticholinergique, contrairement aux antidépresseurs imipraminiques. Ceci est cependant en contradiction avec l'étude de Dastmalchi en 2009 qui montre une activité par rapport aux acétylcholinestérases. Toutefois, cette différence de résultats peut être due à la nature de l'extrait employé : extrait méthanolique ou aqueux dans un cas et hydro-alcoolique dans l'autre. Pour s'en assurer, il faudrait étudier l'effet de différents types d'extrait de mélisse sur les acétylcholinestérases.

III.7.2.3 Sédatif et inducteur du sommeil

Il semble que ni un extrait méthanolique ni un extrait aqueux de mélisse ne déplace le flumazenil de son récepteur GABA-A. Ceci suggère que ces extraits n'agissent

donc pas sur les sites récepteurs aux benzodiazépines (**Lopez et al ; 2009**). Ces extraits n'induiraient donc peut-être pas les mêmes effets secondaires que les benzodiazépines.

III.7.3 Antioxydant

La mélisse présente des propriétés antioxydantes importantes (**Dastmalchi et al ; 2008**). La mélisse exerce un effet protecteur marqué contre le stress oxydatif. Elle protège nos cellules contre le vieillissement prématuré dû aux radicaux libres. Si vous traversez une période de votre vie où vous suspectez un stress oxydatif élevé (stress, alimentation glycémique, toxines et pollution, exposition aux métaux lourds, maladies dégénératives et auto-immunes), la mélisse, en simple infusion de feuilles fraîches, vous fournira une protection journalière.

O Une étude démontre qu'elle protège le cerveau des souris contre le stress oxydatif déclenché par les métaux lourds ;

O Une étude démontre qu'elle protège le personnel médical contre le stress oxydatif des radiations dégagées par les appareils de radiographie, avec amélioration de nombreux paramètres : oxydation des lipides, dommages infligés à l'ADN, taux de superoxyde dismutase et de glutathion peroxydase, etc. <https://www.altheaprovence.com/blog/melisse-melissa-officinalis/>

III.7.4 Virucide

III.7.4.1 Action sur le Virus d'Immunodéficience Humaine

-Activité de la mélisse sur le VIH : La mélisse possède une activité sur le virion du VIH. En effet, l'efficacité d'un extrait aqueux de mélisse a été étudiée *in vitro* et *ex vivo*. Celui-ci n'a d'effet que sur les particules virales libres, en inhibant le mécanisme de fusion. Ce dernier semble pourtant être différent de celui de l'enfuvirtide, Fuzeon®, qui est aussi un inhibiteur de fusion. L'extrait n'est cytotoxique qu'à des concentrations relativement haute par rapport à la CI50* (**Geuenich et al ; 2008**).

III.7.4.2 Action sur l'Herpes simplex virus

-Activité de la mélisse sur l'HSV : L'activité anti-herpétique de l'huile essentielle de *M. officinalis* sur HSV13 de types 1 et 2, a été étudiée sur des cellules rénales de

singe. A très haute dilution (pour lesquelles la cytotoxicité est très faible), c'est-à-dire pour des concentrations inférieures à 0,002 %, il a été observé une inhibition de la formation de plaques virales de 98,8 % pour HSV-1 et 97,2 % pour HSV-2 (**Schnitzler *et al* ; 2008**). L'efficacité de l'huile essentielle de mélisse a aussi été montrée sur HSV 2 par Allahverdiyev et son équipe en 2004, pour des concentrations non-cytotoxiques inférieures à 100 µg/ml. La cytotoxicité envers les cellules HEp-2 apparaissait dès 100 µg/ml (**Allahverdiyev *et al* ; 2004**). Il semblerait que l'huile essentielle* empêche la pénétration du virus dans les cellules mais n'aurait aucune activité une fois le virus dans la cellule-hôte (**Schnitzler *et al* ; 2008**). Il semble donc que, à l'instar du VIH, seules les particules virales libres d'HSV soient sensibles à la mélisse.

III.7.5 Phytosanitaire

L'utilisation de la mélisse est depuis toujours orientée vers la médecine humaine. Or, depuis quelques années, d'autres usages sont étudiés notamment dans le domaine des produits phytosanitaires. (Herbicide ; Insecticide) (**PINEAU.S, 2012**).

1. Préparation du probiotique

1.1 La souche bactérienne :

la souche utilisée de cette étude est indiquée dans le tableau 04 :

Tableau 04 : Genre, espèce et source d'isolement de la bactérie lactique utilisée :

Souche	Genre et espèce	Source d'isolement
NSC5C	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de chamelle

1.2 Purification de la souche Bactérienne : Des ensemencements successifs sont réalisés sur la gélose MRS jusqu'à l'obtention de colonies d'aspect identique caractéristiques des lactobacilles. La pureté de la souche est confirmée par une observation microscopique après la réalisation d'une coloration de Gram.



Figure 09 : Colonies de *Lactobacillus plantarum*

1.3 Procédé de préparation :

Ensemencement de la souche bactérienne dans un tube contient 6 ml de lait semi
écrémé stérile



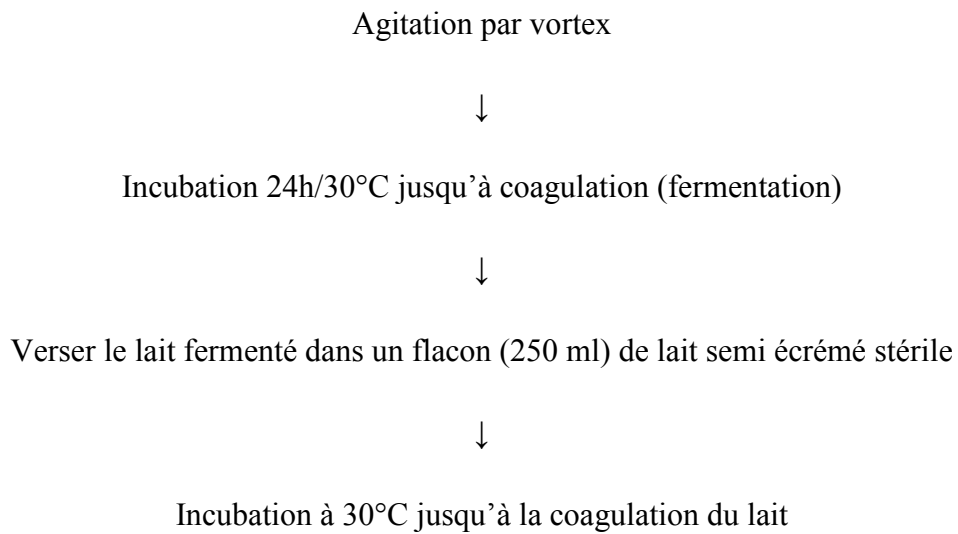


Figure 10 : procédé de préparation du lait fermenté par les probiotiques.

1.4 Posologie du probiotique :

Les animaux traités reçoivent dans l'eau d'abreuvement une quantité représentant 10% du volume total présenté.

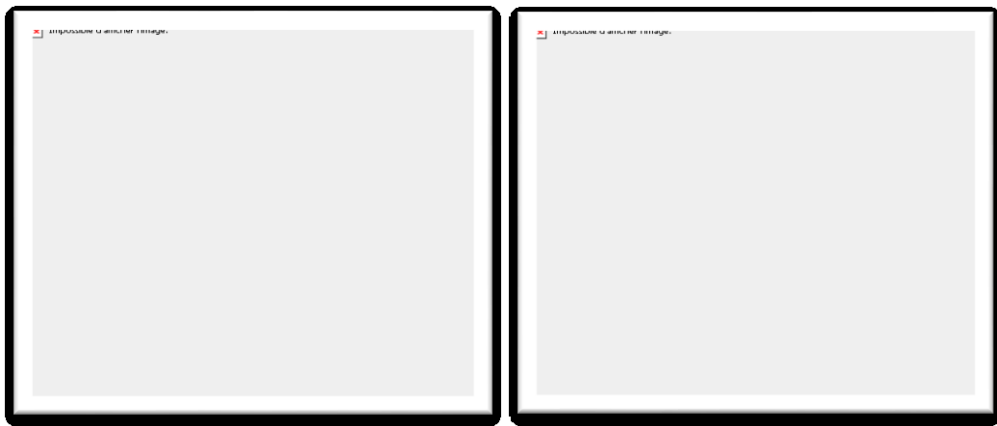


Figure 11: Le lait fermenté par la souche NSC5C.

2. Extraction :

1. La récolte du matériel végétale :

La plante a été récolté a la wilaya de Guelma au début de l'année 2019. (**Figure 12**)

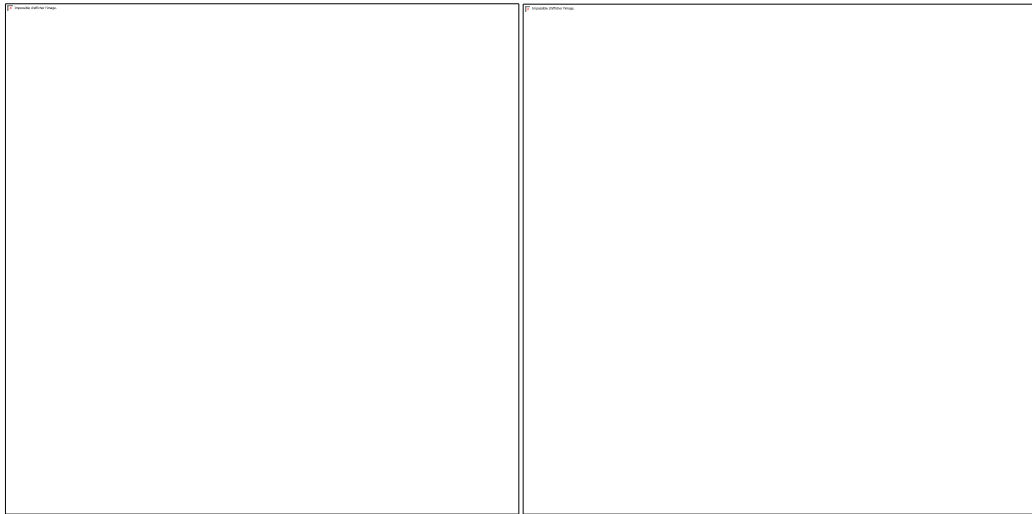


Figure 12 : Carte de localisation du lieu de récolte.

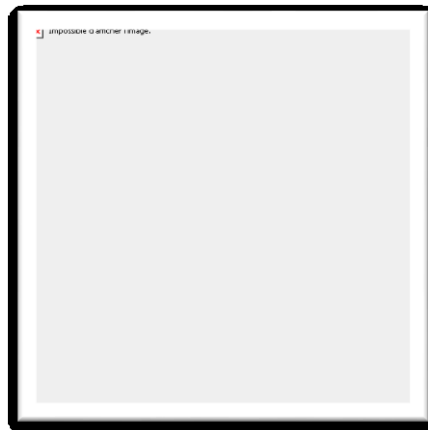


Figure 13 : *Melissa officinalis* à l'état frais

2.2 Le séchage :

Après avoir cueillir la plante fraîche, on s'est débarrassé des impuretés, ensuite étalée sur le sol et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 15 jours. Une fois séché, les feuilles sont broyées puis conservées dans des boites afin de les utiliser pour l'extraction (Laoufi et Nasri, 2010) (Figure 14 et 15).

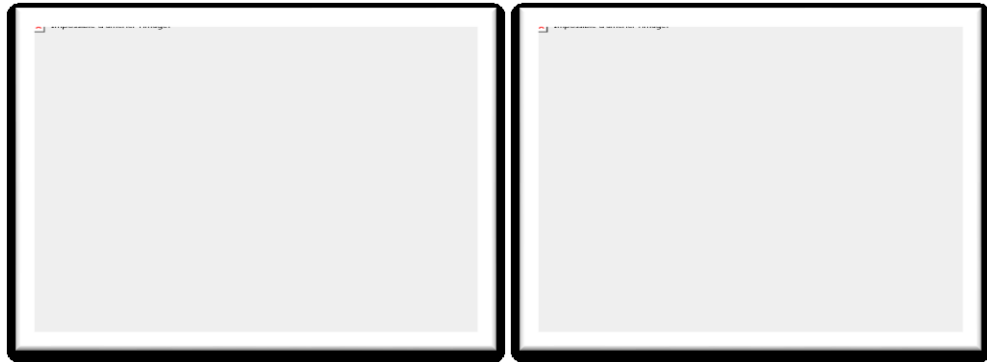


Figure 14 : Melissa officinalis sèche. **Figure 15 :** Melissa officinalis broyée.

2.3 Procédé d'extraction :

Infusion : elle consiste à verser de l'eau chaude sur les plantes sèches et broyées. La durée d'infusion est de 10 minutes.

25g du matériel végétal sec et broyé
+
250 ml d'eau distillée chauffée à 100 °C
↓
Agitation sur un agitateur magnétique (10 min)
Refroidissement ↓
1^{ère} filtration sur mousseline
↓
2^{ème} filtration sur papier wattman
Quelques jours ↓
Etuve (40°C)
↓ → Récupération de l'extrait
Extrait aqueux

Figure 16 : Procédé d'extraction (extrait aqueux)

2.4 Calcule du rendement :

Le rendement (Rdt) en extrait sec de la plante est déterminé en calculant le rapport suivant : (hadri ,2015)

$$\text{Rdt \%} = [\text{P1-P2/P3}] \times 100$$

P1 : Poids du cristalliseur après évaporation

P2 : Poids du cristalliseur vide

P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ

2.5 Préparation de solution d'extrait injectable :

- L'extrait aqueux de la mélisse est obtenu par dilution de l'extrait sec dans l'eau distillé à une dose de 25mg/Kg.
- La solution injectée pour chaque rat a raison de 10ml/1kg selon son poids.

3. Les animaux d'expérimentation :

Dans notre protocole expérimental, le modèle animal choisi est les rats albinos de souche *Wistar*. Les expériences sont réalisées sur des jeunes rats, d'un poids corporel entre 65g à 167g. Les animaux séjournent dans l'animalerie du département de biologie à Saida, à une température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), avec un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit (jour entre 7 et 19h), dans des cages

conventionnelles, menues d'une mangeoire et d'un biberon. Ils ont libre accès à une nourriture standard pour rongeur commercialisé par l'ONAB.

3.1 Répartition des groupes

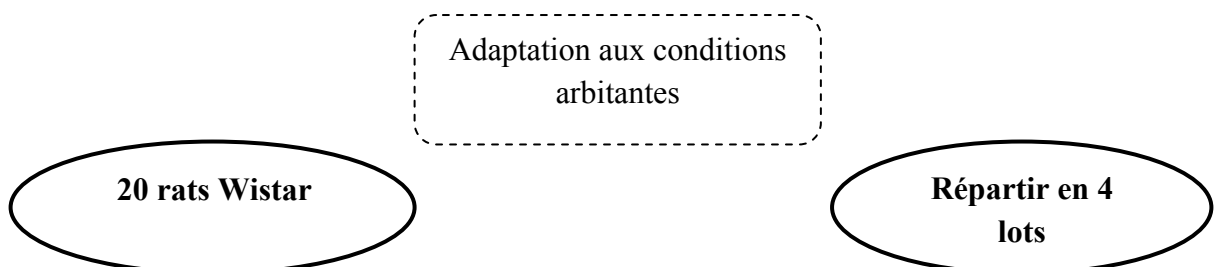
Un total de 20 rats Wistar répartis en nombre de 05 par cage (2 femelles et 3 males) est divisé en quatre lots expérimentaux :

1. **Un lot témoin (T)** : il est composé des animaux qui reçoivent l'eau distillée;
2. **Un lot intoxiqué (Pb)** : il est composé des animaux qui reçoivent l'acétate du Pb dilué dans l'eau distillée non traités à raison de 0.2 % ;
3. **Un lot intoxiqué traité par le probiotique (Pb-Prob)** : il est composé des animaux qui reçoivent l'acétate du Pb dilué dans l'eau distillée à raison de 0.2 % et du lait fermenté par le probiotique (*Lactobacillus plantarum*) à raison de 10%
4. **Un lot intoxiqué traité par la plante (Pb-Mo)** : il est composé des animaux qui reçoivent l'acétate du Pb dilué dans l'eau distillée.

Le traitement est reçu par une injection quotidienne intra péritonéale de l'extrait de *Melissa officinalis* à raison de 10ml/1kg.



Figure 17 : Exemple d'un lot contenant des jeunes rats.



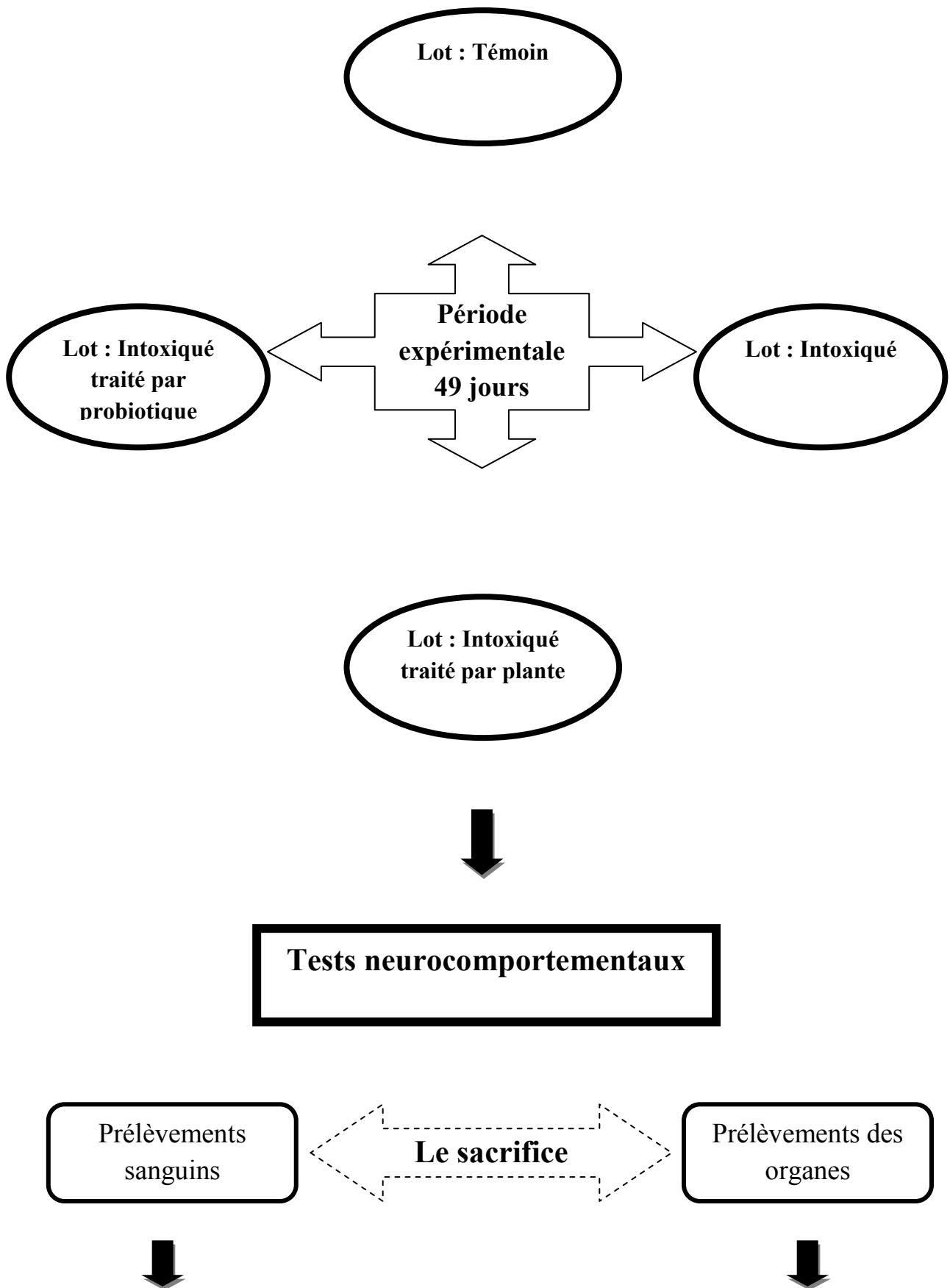




Figure 18 : schéma récapitulatif du protocole expérimental

3.2 Evolution du poids corporel

Le poids corporel de l'ensemble des rats a été mesuré chaque semaine à l'aide d'une balance électronique en gramme (g).

3.3 Testes neurocomportementaux

3.3.1 L'épreuve de la nage forcée (Forced Swimming Test)

L'épreuve de la nage forcée a été initialement proposée par (Porsolt et al ; 1977) comme épreuve permettant la sélection de molécules à activité antidépressive. Les rats sont placés durant 15 minutes dans la pièce où se déroule le test. Les animaux sont soumis à une épreuve de nage forcée d'une durée de 6 minutes. Ils sont placés à l'intérieur d'un cylindre de 20,7 cm de diamètre et de 39 cm de hauteur, dans une eau à 22°C. On mesure la durée pendant laquelle l'animal nage activement ou flotte seulement de manière à conserver la tête hors de l'eau (Figure 19). Après d'être débattu dans l'eau, l'animal devient presque immobile, bougeant les pattes de temps à autre pour rester à flot ou retrouver son équilibre. Cette immobilité est interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il ne pourra pas s'échapper. Dans le cadre de cette interprétation, l'immobilité est vue comme un comportement dépressif.



Figure 19 : Epreuve de test de la nage forcée (FST).

3.3.2 Le labyrinthe en croix surélevé

Ce test s'appuie sur le fait que le rat a une peur innée du vide. Permet de mesurer le degré d'anxiété d'un animal selon son aversion spontanée pour le vide. L'expérience exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement, les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratrice. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres aux espaces ouverts et éclairés. Partant de ce principe, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe (**Pellow et al ; 1985**).

Le labyrinthe en croix surélevé utilisé était un dispositif en bois, constitué de quatre plates-formes (les bras) formant une croix à angles droits mesurant chacun 50 cm de long et 10 cm de large. Le labyrinthe se situait à une hauteur de 50 cm au-dessus du sol. Deux bras en continuité, dits "fermés", sont protégés du vide par un mur et hauts de 40 cm; les deux autres, dits "ouverts", ne le sont pas. L'animal est placé au centre de la croix et on le laisse libre d'explorer les quatre bras. On mesure le temps qu'il passe dans les bras ouverts, censé témoigner de sa capacité à surmonter sa peur pour satisfaire sa curiosité (**Calenco-Choukroun et al ; 1991 et Ollat et Pirot, 2003**).

L'animal est placé en zone centrale, face à un bras fermé et le temps passé dans chaque compartiment est mesuré pendant 5 minutes (**Figure 20**).



Figure 20 : Epreuve du labyrinthe en croix surélevé.

3.3.3 L'open-field

L'open-field est décrit par (**Dauge *et al* ; 1989**). C'est une large boîte carrée ouverte (70cm x 70 cm, et 34 cm de haut), à fond blanc, et fortement éclairée du dessus. Des lignes noires au sol délimitaient des carreaux (10 x 10 cm) (**Figure 21**). Ce test permet d'évaluer la réaction d'un animal vis-à-vis d'un environnement nouveau et spécial. Il crée une situation de conflit entre la tendance naturelle de l'animal à explorer ce nouvel environnement et son aversion pour les espaces ouverts. De ce fait, les animaux normaux ont tendance à passer plus de temps dans les coins et la périphérie de dispositif plutôt que dans le centre, qui est alors considéré comme la zone la plus anxiogène (**Alexis, 2011**). Chaque rat était initialement placé dans un des quatre coins de l'open field, la tête orientée vers le coin. Son comportement était observé pendant 6 minutes. Six paramètres étaient mesurés par l'expérimentateur :

- le temps de latence (exprimé en secondes), qui correspond au temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin,

- le nombre total de carreaux traversés par le rat pendant la durée du test (6 min), qui reflète l'activité locomotrice

- le nombre de visites dans les 9 carreaux du centre,

- le nombre total de redressements (animal positionné sur ses deux pattes postérieures, droit, en équilibre dans le vide ou contre une paroi),
- le nombre total de toilettages,
- le nombre total de défécations.

Ce test évalue les capacités exploratoires du rat dans un contexte stressant. (**Dauge et al ; 1989**)



Figure 21 : Epreuve de L'open-field

3.4 Sacrifices et prélèvements du sang et des organes

A la fin de l'expérimentation les animaux (à jeun la veille) sont pesés, anesthésiés au chloroforme et sacrifiés par dislocation cervicale et soumis ensuite à une dissection abdominale et de la tête. Les cerveaux sont prélevés puis rincés avec du NaCl à 9%, ressuyés avec des papiers absorbants et enfin pesés et conservés à -20 C° pour être utilisés pour le dosage du MDA. Le sang est prélevé puis récupéré dans des tubes héparinés, puis, centrifugé à 3000 tours/15min et le sérum est utilisé dans les dosages biochimiques (glycémie).

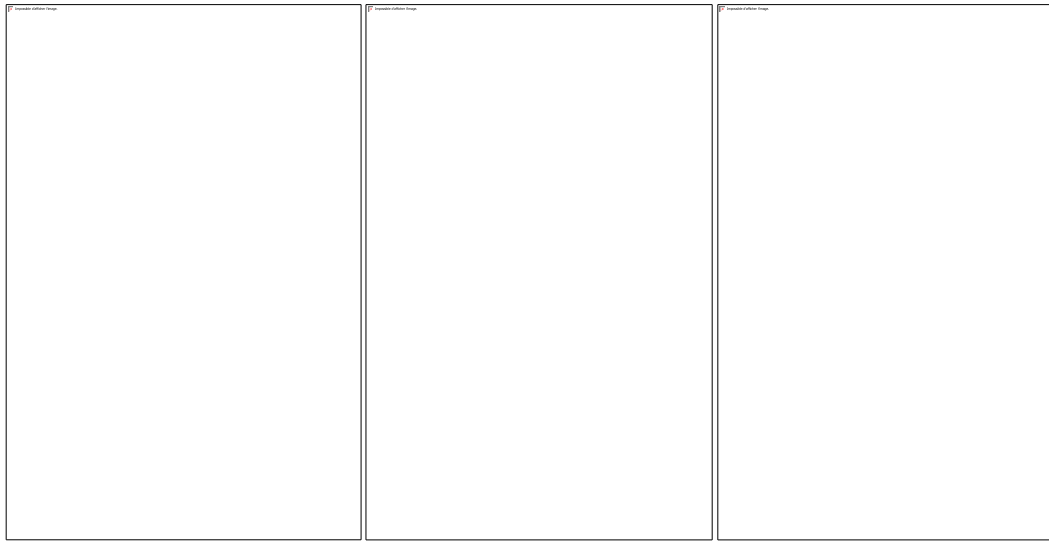


Figure 22 : Sacrifices et prélèvements d'organes



Centrifugation du sang prélevé
(3000 tours/15min)

sérum utilisé dans les dosages
biochimiques

Figure 23 : Traitement du sang prélevé

3.5 Dosage biochimique

3.5.1 Dosage du glucose

La méthode utilisée pour le dosage de la glycémie est une méthode colorimétrique (**Kitchronolab**). Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose sanguin en acide gluconique en formant le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier est détecté par le phenolaminophenazone avec la présence de la peroxydase (POD).



Un complexe coloré est estimé par spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

3.5.2 Dosage du malone-dialdéhyde (MDA)

Préparation de l'homogénat

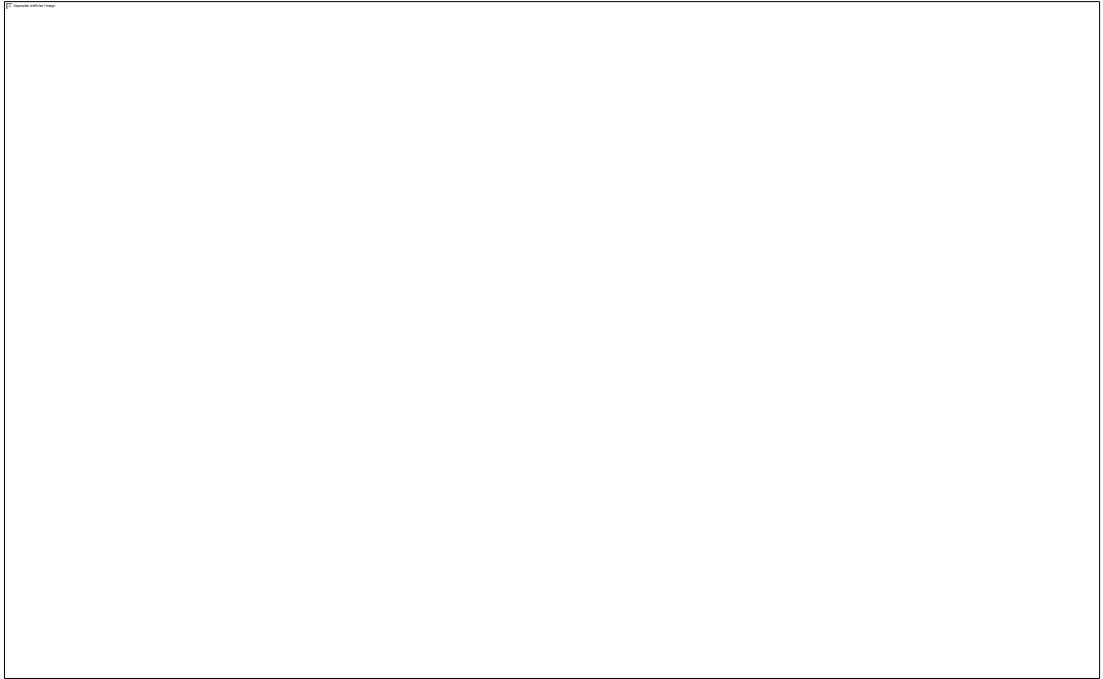
1g de cerveau des différents groupes sont broyés à froid en présence de 4 ml d'une solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) pour obtenir un homogénat. La suspension obtenu est centrifugée à (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs et conservés à -20°C jusqu'au dosage.

Mode opératoire

1. Prélever 0.5ml de l'homogénat.
2. Ajouter 0.5ml d'acide trichloracétique (TCA) 20%.
3. Ajouter 1ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%
4. Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 C° durant 15 minutes.
5. Refroidir et additionner 4ml de n-butanol.
6. Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
7. Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration du MDA :

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



1. Calcul de rendement

$$\text{Rdt \%} = \frac{P1-P2}{P3} \times 10 \rightarrow \text{Rdt} = 7\%$$

Figure

24 : le rendement d'extrait en %

2. Effet du plomb sur le poids corporel et le poids du cerveau :

aucune différence significative sur le poids corporel des animaux de l'ensemble des lots.

Les résultats du poids corporel montrent que les animaux exposés au Pb présentent une augmentation non significative du poids corporel comparés à ceux des animaux témoins durant les 07 semaines d'expérimentation alors que les rats traités par les probiotiques et par plante présentent une diminution non significative du poids corporel en comparaison aux témoins.

Les animaux qui sont exposés au plomb et traités par les probiotiques et la plante présentent une diminution du poids corporel par rapport aux rats intoxiqués non traités (**Tableau 05**).

Les animaux qui sont exposés au plomb et traités par probiotiques présentent une augmentation du poids corporel par rapport aux animaux qui exposés au plomb et traités par plante

Les résultats du poids du cerveau montrent que les animaux exposés au Pb présentent une diminution non significative du poids de cerveau en comparaison aux animaux témoins durant les 07 semaines d'expérimentation alors que les rats traités par les probiotiques et traités par la plante présentent une augmentation significative ($p < 0,05$: *) du poids du cerveau par rapport aux cerveaux des rats témoins.

Les animaux exposés au plomb et traités par les probiotiques et la plante présentent un poids du cerveau plus important par rapport aux rats intoxiqués non traités (**Tableau 05**).

Les animaux exposés au plomb et traités par les probiotiques présentent une augmentation du poids du cerveau par rapport aux animaux traités par la plante *Melissa officinalis* donc l'administration du probiotique reflète un meilleur développement des organes internes que la plante

Tableau 05 : Evaluation des paramètres pondéraux des rats témoins, Pb, et traité par les probiotique et la plante

	Témoin	Pb	Pb-Mo	Pb-Prob
Poids corporel (g)	232.6±19.09	244.6±16.01	159.8±2.65	170.2±2.95
Poids relatif du cerveau (g)	0.71±0,06	0.64±0,05	0.91±0,05*	0.92±0,04*

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($p < 0,05$: *)

Figure

25 : Poids relatif du cerveau (g)

3. Effet du plomb sur le gain de poids

Il n'y a pas de différence significative du gain de poids moyen des quatre lots d'animaux testés.

Les résultats trouvés chez les animaux intoxiqués présentent une augmentation non significative dans le gain corporel moyen par rapport aux témoins alors que les rats traités par les probiotiques et par la plante présentent une diminution non significative dans le gain corporel moyen par rapport aux témoins.

Les animaux traités par les probiotique et par la plante présentent une diminution dans le gain corporel moyen par rapport aux rats intoxiqués non traités.

Les animaux traités par probiotique présentent un gain de poids moyen supérieur par rapport aux rats traités par plante.

Figure 26 :

Gain corporel moyen (g)

4. Tests neurocomportementaux:

4.1 L'épreuve de la nage forcée (Forced Swimming Test)

Les résultats relatifs au test de la nage forcée ont montrés un temps d'immobilité (TIM) significativement supérieur ($p < 0.05$:*) chez les jeunes rats intoxiqués au plomb comparé à celui des rats témoins. Cette augmentation explique l'incapacité de l'animal à nager ceci est due à une diminution du tonus musculaire et l'instauration d'un comportement de désespoir alors qu'il y a aussi une augmentation non significative de TIM des rats traités par les probiotiques et par la plante par rapport aux rats témoins.

Il y a une différence significative entre le témoin et l'intoxiqué ($p < 0.05$:*) et pas de différence significative entre le lot témoin et les lots intoxiqués et traités (probiotiques, plante)

Dans le même contexte, les résultats ont montrés une diminution de TIM des jeunes rats intoxiqués et traité avec les probiotiques et par la plante par rapport aux rats intoxiqués ce qui pourrait s'expliquer par une réduction dans le comportement de désespoir (**Figure 27**).

De plus nous avons observé une diminution de TIM des rats intoxiqués traité par les probiotiques par rapport aux rats intoxiqués et traités par la plante.

Figure

27 : Le temps d'immobilité et mobilité durant le test de la nage forcée des jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités avec les probiotiques, et intoxiqués et traités par la plante.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ; Pb vs T ($p < 0.05$:*)

4.2 Le labyrinthe en croix surélevé « Elevated plus maze »:

Au cours de ce test aucune différence significative n'est observée entre les groupes pour tout les paramètres ($p > 0,05$)

Les résultats indiquent une augmentation non significative du temps passé dans les bras fermés chez les rats intoxiqué par rapport aux rats témoins et une diminution non significative de temps dans les BF chez les rats intoxiqués traités par les probiotiques et la plante par rapport aux rats témoins, et aussi une augmentation du temps passé dans les BF chez les rats intoxiqués par rapport aux rats intoxiqués et traités avec les probiotiques et par rapport aux rats intoxiqués et traités par la plante alors que ces résultats indiquent une diminution du temps passé dans les BF chez les rats intoxiqués et traités par la plante par rapport aux rats intoxiqués et traités les probiotiques que veut dire que le traitement par plante est plus efficace (**Figure 28**).

Figure 28 : Le temps dans les Bras ouverts et les bras fermés durant le test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués et traités par probiotique .

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($p > 0,05$)

Aussi, Les résultats statistiques enregistrés concernant ce test d'anxiété, montrent que les jeunes rats intoxiqués et les intoxiqués traités par la plante présentent un nombre de visites dans les BF est réduit comparé à celui des rats témoins Alors que les intoxiqués traités par les probiotiques présentent un nombre de visites dans les BF supérieur à celui des témoins.

D'autre part le nombre de visites dans les BF chez les rats intoxiqués est réduit comparé à celui des rats intoxiqués et traités par les probiotiques et le nombre de visites dans les BF chez les rats intoxiqués est supérieur à celui des rats intoxiqués et traités par la plante.

Ces résultats aussi montrent que le nombre de visite dans les BF chez les rats intoxiqués et traités par la plante est réduit comparé à celui des rats intoxiqués et traités par les probiotiques. **(figure 29)**

Figure

29 : Le temps dans les Bras ouverts et les bras fermés durant le test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués et traités par probiotique .

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($p > 0,05$)

4.3 Open Field :

Ce test permet d'évaluer la réaction de l'animal vis-à-vis d'un environnement nouveau et spécial, ainsi que son désir à explorer les espaces.

au cours de ce test aucune différence significative n'est observée entre les groupes pour tout les paramètres ($p > 0,05$). (**Figure 30**)

Le temps de latence est supérieur chez les rats intoxiqués et traités par les probiotiques

Le nombre total des carreaux traversés est supérieur chez les rats témoins

Le nombre de visites des 9 carreaux du centre est supérieur chez les rats témoins.

Le nombre de redressement est supérieur chez les rats témoins et intoxiqués traités par la plante

Le nombre de toilettage est supérieur chez les rats intoxiqués traités par la plante

Le nombre de défécations est supérieur chez les rats intoxiqués (**Figure 30**). Ce test évalue les capacités exploratoires du rat dans un contexte stressant. Le nombre de carreaux traversés et le nombre de redressement reflètent son activité exploratoire et

son état émotionnel. Les autres paramètres sont plutôt des indices de son état émotionnel.(Dauge *et al* ;1989)

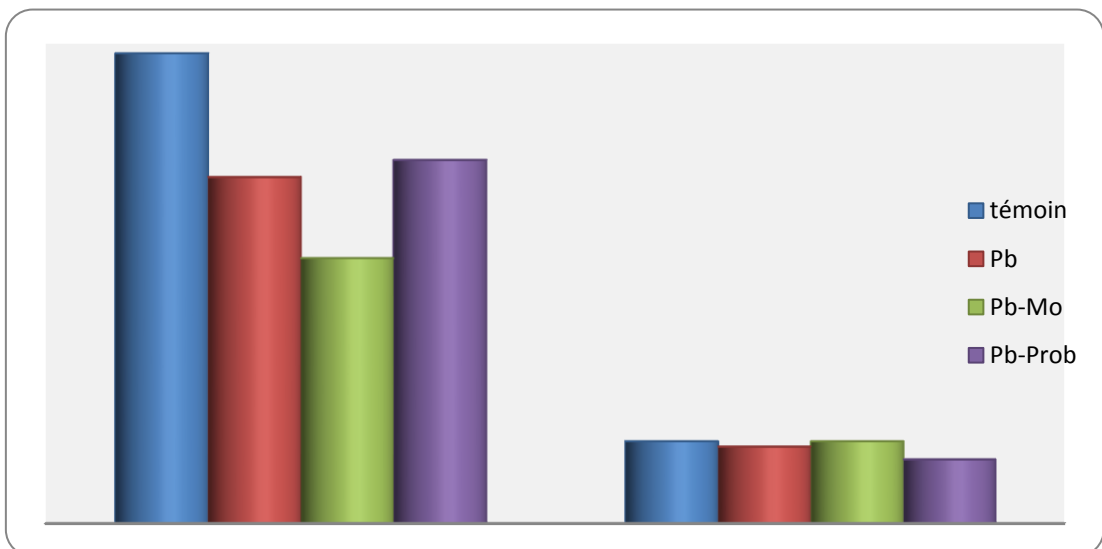


Figure 30 : La comparaison des différents paramètres du test d'open-field entre les jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués traités par probiotique

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($p > 0,05$)

5. Dosages biochimiques :

5.1 Dosage de la glycémie :

Aucune différence significative n'est observée du taux de la glycémie entre tous les lots.

Les résultats montrent qu'il y a une augmentation non significative du taux de la glycémie chez les rats intoxiqués au Pb et les rats intoxiqués au Pb et traités par la plante par rapport aux rats témoins cependant l'administration des probiotiques a permis d'enregistrer une diminution non significative dans le taux de glucose par rapport aux témoins.

On observe aussi que l'injection d'extrait aqueux a permis d'enregistrer une augmentation dans le taux de glucose par rapport aux rats intoxiqués alors que l'administration des probiotiques a permis d'enregistrer une diminution dans le taux de glucose par rapport aux rats intoxiqués .

Mais entre les deux lots traités, le taux de glycémie chez les rats intoxiqués et traités par la plante est supérieur au taux de glycémie chez les rats intoxiqués et traités par les probiotiques (**Figure 31**).

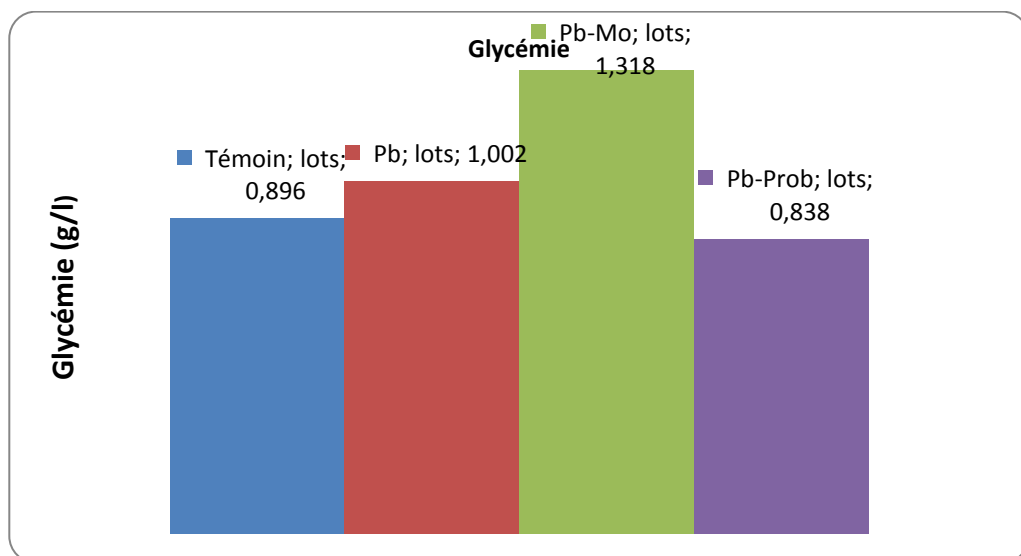


Figure 31 : Le dosage de la glycémie chez les jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par la plante et intoxiqués traités par les probiotique.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. ($p < 0.05$)

5.2 Dosage de MDA:

Aucune différence significative n'est observée du taux de MDA entre tous les lots.

Les résultats montrent qu'il y a une augmentation non significative du taux MDA chez les rats intoxiqués au Pb et les rats intoxiqués au Pb et traités par la plante et par les probiotiques par rapport aux rats témoins

On observe aussi que l'administration de probiotiques et l'injection d'extrait aqueux a permis d'enregistrer une diminution dans le taux MDA par rapport aux rats intoxiqués

Mais entre les deux lots traités, le taux de MDA chez les rats intoxiqués et traités par les probiotiques est supérieur au taux de MDA chez les rats intoxiqués et traités par la plante (**Figure 32**).

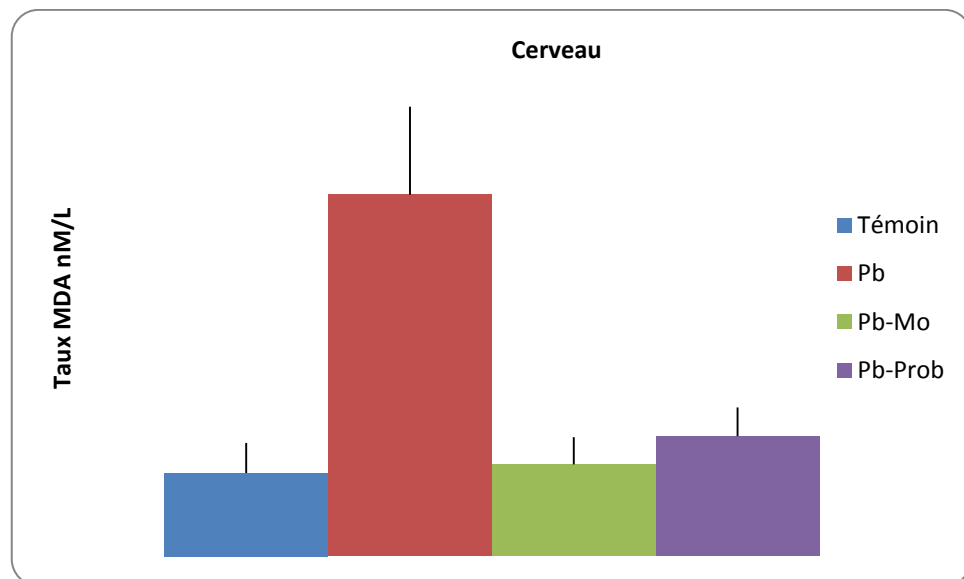


Figure 32 : Le dosage de MDA chez les jeunes rats témoins, intoxiqués au Pb, intoxiqués et traités par plante et intoxiqués traités par probiotique.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. ($p < 0.05$)

Le plomb est un contaminant environnemental, industriel ubiquitaire et neurotoxique, produisant des changements biochimiques dans le système nerveux central qui peuvent entraîner des effets sur le comportement (**Betharia et Maher, 2012**).

Les effets neurocomportementaux de l'exposition des neurotoxiques connus comme le Pb sont d'actualité, surtout quand l'exposition pendant la période de développement précoce. L'incidence de la toxicité sur le développement neurologique de la vie réelle dépend de l'exposition simultanée à plusieurs substances neurotoxiques présentes dans l'environnement, et il est donc important d'étudier ces combinaisons.

En parallèle à l'utilisation des médicaments modernes et surtout synthétiques, il est aussi possible de faire recours à la médecine alternative et traditionnelle afin d'améliorer les fonctions cognitives et profiter de leurs effets anxiolytiques.

De ce fait, notre travail a pour but d'évaluer l'effet thérapeutique du probiotique de *Lactobacillus plantarum* et l'extrait aqueux de la plante de *Melissa officinalis* vis à vis l'intoxication subchronique au plomb chez les jeunes rats *Wistar*.

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure d'un côté que le stress et la dépression ont une composante inflammatoire. Les probiotiques agissent sur cette composante inflammatoire en la réduisant, mais aussi sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, connu sous le nom d'axe du stress. La combinaison de ces probiotiques pris pendant 2 mois permet de réduire le niveau de stress, et d'accroître celui de bien-être. C'est une piste intéressante pour mettre au point des psychobiotiques naturels luttant contre les maladies psychiatriques sans risque d'effets secondaires. Des chercheurs de l'université de Cork, en Irlande, viennent de montrer l'intérêt des probiotiques, que l'on trouve notamment dans l'alimentation (yaourts), pour atténuer les symptômes du stress et de la dépression. Certaines bactéries probiotiques comme *Lactobacillus* produisent des substances qui agissent sur le cerveau.

Il s'agit, notamment, de la sérotonine, une hormone qui régule l'humeur, et de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), un acide aminé qui aide à faire baisser l'anxiété, la nervosité, la tension psychique. (**Biological Psychiatry, 2013**).

D'un autre côté la plante peut présenter un caractère pharmacologique intéressant du fait de leur composition chimique aussi variée et diversifiée. Le criblage phytochimique des extraits aqueux a mis en évidence les composés suivants : les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins et les saponines. La richesse de cette plante en métabolites secondaires justifie leur grande efficacité en usage thérapeutique traditionnel. Les flavonoïdes sont très abondants dans cette plante, ils sont connus par leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires (Wang et Mazza, 2002) et analgésiques (Pathak et al ; 1991; Meyre-Silva et al ; 1999 ; Bittar et al ; 2000). Il a été également démontré que certains composés flavonoïdes possèdent des propriétés sédatives, anticonvulsives et immunomodulatrices (Du et al ; 2002 ; Lyu et Park, 2005). Par ailleurs, les saponosides sont connus par leur effet anti-inflammatoire et antioedémateux (Ikegami et al ; 2006). Ils exercent également une action protectrice sur le système nerveux (Finar, 1956). Enfin, Les tanins possèdent une forte activité antioxydante, ce sont des très bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical superoxyde. Et sont tenus comme bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux (Bouchet et al ; 2000).

1. Effets du plomb sur le poids corporel :

Les rats traités soit par l'extrait aqueux de la mélisse ou par les probiotiques ont connu une diminution du poids corporel par rapport aux rats intoxiqués.

L'exposition à l'acétate de plomb a montré une augmentation de poids corporel et de croissance pondérale durant la période expérimentale chez les rats intoxiqués par ces éléments comparés aux témoins. C'est le contraire de l'effet anorexigène du Pb et son action sur les centres nerveux responsables de la régulation de la satiété et de la faim. Nos résultats sont en contradiction avec les travaux entrepris par différents auteurs (Gautam et al ; 2001 ; Smith et al ; 2008 ; Ibrahim et al ; 2012). Ils ont observé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats intoxiqués selon la dose administrée et la durée d'exposition par contre nous avons observé une augmentation dans la consommation de la nourriture chez les rats intoxiqués.

2. Effets du plomb sur le poids du cerveau

Les organes prélevés à la fin du traitement (cerveau) ont connu une variation significative de leur poids.

Nous avons observé que l'administration du plomb diminue le poids cérébral, Ces résultats pourraient être dus à un retard de développement des organes internes (**Smith et al ; 2008; Bisson, 2012 ; Adli et al ; 2014**). Nos résultats s'accordent aussi avec ceux (**Ronis et al ; 1998**) qui suggèrent que le Pb peut agir sur le développement cérébral en inhibant les différentes hormones de croissance et les facteurs associés.

3. Effets du plomb sur le gain de poids

Les résultats trouvés chez les animaux intoxiqués présentent une augmentation dans le gain corporel moyen alors que les rats traités par les probiotiques et traités par la plante présentent une diminution dans le gain corporel moyen par rapport aux témoins.

Les animaux traités par les probiotiques et par la plante présentent une diminution dans le gain corporel moyen par rapport aux rats intoxiqués.

Dans le même contexte, l'administration de probiotiques et L'injection de l'extrait aqueux de la plante «*Melissa officinalis*» a des rats exposés au plomb a permis d'observer une nette diminution dans le gain corporel en comparaison aux rats exposés au plomb et non traités.

4. Effet du plomb sur le comportement cognitif chez le rat

Les résultats ont montré des modifications dans le comportement des jeunes rats témoins , intoxiqués , intoxiqués traités par les probiotiques de *Lactobacillus plantarum* , et intoxiqués traités par l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* et cela dans les différents tests.

Le test de la nage forcée est le modèle le plus largement utilisé pour évaluer l'activité potentiel antidépressante chez les rongeurs (**Cryan et al ; 2002 ; Emamghoreishi., 2009**).Tout fois, les résultats obtenus montrent un temps d'immobilité (TIM) significativement élevé chez le groupe intoxiqué par rapport au groupe témoin.

Cela pourrait être dû aux effets du Pb agissant comme un élément dépressif sur le système sérotoninergique particulièrement de systèmes monoaminergiques dans les zones du cerveau différentes, principalement l'axe hypothalamo-hypophysaire, hippocampe et striatum. Nos résultats sont en accord d'une part avec **(Kimura et al ; 1978 ; Moreno et al ; 2009 ; Adli et al ; 2014)** qui indiquent que les rats intoxiqués avaient un comportement dépressif comme qui a été détecté dans le test de nage forcée.

Par ailleurs, les rats intoxiqués traités par les probiotiques et l'extrait aqueux présente une réduction de (TIM) comparant avec les intoxiqués, ces résultats montrent que cet extrait présente un effet antidépressif, notre résultats est en accord avec ceux de **(ginseng et al ; 2015)** qui montrent que la mélisse possède des propriétés antidépresseur et assure l'équilibre du système nerveux et aussi les probiotiques a un effet antidépresseur car les probiotiques pouvaient atténuer le comportement dépressif **(Jessica,2011)**,

De plus, comme la plupart des plantes, la mélisse est en mesure de fournir le soulagement du stress, la dépression et l'épuisement mental en raison de sa nature rafraichissante **(lancomega; 2014)**.

De même, le test du labyrinthe en croix surélevées a montré que le temps de séjour des jeunes rats intoxiqués dans les bras fermés était plus élevé que celui des rats témoins. Ce comportement anxieux des rats pourrait être traduit par une interaction du plomb avec les neurones sérotoninergiques et dopaminergiques de l'hippocampe. Une augmentation de niveaux de 5-HT dans l'hippocampe est à l'origine d'un effet d'anxiogène **(Leret et al ; 2003 ; Liu et al ; 2015)**. L'élaboration de l'état anxieux correspond à ces perturbations qui sont associées au système dopaminergique et cholinergique **(Bear et al ; 2007)**. Etant donné que tout comportement dépend d'une commande cérébrale, les désordres comportementaux observés chez l'animal anxieux orientent la réflexion vers l'existence d'un dysfonctionnement dans la circulation ou le traitement de l'information au sein du système nerveux central **(Slimani et al ; 1997)**. Certaines réponses physiologiques et psychologiques au stress sont contrôlées par l'axe hypothalamo-hypo-corticotrope et les systèmes monoaminergiques cérébraux.

Toutefois, l'administration des probiotiques à des rats exposés à l'acétate de plomb a permis d'observer une nette diminution dans le temps de séjour dans les bras fermés. Cela montre que le probiotique (*Lactobacillus plantarum* NSC5C) a des propriétés anxiolytiques.

Alors que l'injection de l'extrait aqueux à des rats exposés à l'acétate de plomb a permis d'observer une nette diminution dans le temps de séjour dans les bras fermés ainsi le nombre d'entrées dans les BF montre que l'extrait aqueux a des propriétés anxiolytiques.

Le test d'open field a permis initialement d'observer que les rats intoxiqués au Pb présentent un état de stress important dans un nouvel environnement. Certains auteurs rapportent des résultats similaires (**Moreno et al ; 2009**). De plus, les animaux exposés au Pb présentent une diminution significative dans le nombre des carreaux traversés et dans l'activité locomotrice verticale ce qui indique une hypoactivité locomotrice comparés aux rats témoins. Ces résultats sont compatibles à ceux des différents auteurs (**Marreilha et al ; 2012; Molina et al ; 2011; Oszlanczia et al ; 2010**).

Cependant, nous avons observé que l'administration de probiotiques a permis d'enregistrer une nette amélioration dans l'activité locomotrice chez les rats intoxiqués au Pb, ainsi que l'amélioration de leur états exploratoire et émotionnel.

Nous avons également observé que l'injection de l'extrait aqueux a permis d'enregistrer une nette amélioration dans l'activité locomotrice chez les rats intoxiqués au Pb, ainsi que l'amélioration de leur états exploratoire et émotionnel, donc l'extrait aide à soutenir les systèmes nerveux, Elle peut aider à ouvrir et libérer les blocages émotionnels et apporter un sentiment d'équilibre. Nos résultats sont en accord avec ceux d'**Hassan et al. (2013)** qui montrent que l'extrait de la mélisse offre une protection suffisante contre les lésions cérébrales induites par l'irradiation-gamma et l'apoptose chez les souris et stabiliser la membrane par des mécanismes qui comprennent une régulation des régulateurs clés apoptotiques (Bcl2 et P53).

Pour plus d'investigations dans l'effet du stress au Pb, nous avons mesuré la glycémie chez le rat. Nos résultats indiquent une hyperglycémie chez les rats intoxiqués comparé aux rats témoins. L'administration chronique au Pb durant la période de développement cause un dysfonctionnement du métabolisme énergétique qui se manifeste par une augmentation de la concentration du glucose sanguine qui est dû probablement à la glycogénolyse hépatique et musculaire à fin de couvrir les besoins énergétiques cérébraux. Nos résultats, montrent que l'hyperglycémie est le

résultat de l'effet du stress qui est expliqué par l'action des hormones de stress à savoir corticolibérine, la corticotropine, et la cortisone dans l'hypothalamus, l'hypophyse et la glande corticosurrénale respectivement, activant les enzymes du métabolisme du glucose (Kasdallah et al ; 2005).

L'administration de probiotique à des rats exposés aux Pb entraîné une diminution du taux de glucose dans le sang, il a été montré que ce probiotique possède une activité hypoglycémique par la régulation de métabolisme énergétique et leur effet antistress.

L'injection de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* à des rats exposés aux Pb a entraîné une augmentation du taux de glucose dans le sang, il a été montré que cet extrait n'a pas baissé le glucose alors qu'il fallait le diminuer.

5. Effet du plomb sur le dosage de MDA

Les chimistes G. Mannish et W. Jacobsen ont synthétisé la MDA pour la première fois en 1910. Les tests sur animaux ont commencé en 1939 et les tests sur humains quelques années plus tard. Elle a été testée comme antidépresseur sur 500 sujets entre 1949 et 1957 et comme coupe-faim. Toutes ces recherches ont été menées par Smith, Kline & French, un groupe pharmaceutique.

La Central Intelligence Agency a expérimenté la MDA sous le nom de code EA-1298 au cours de leur recherche pour la drogue-qui-fait-dire-la-vérité ultime. Aucune substance de ce type n'a visiblement été trouvée. Un sujet est mort après une injection de 450 mg de MDA en 1953. La société H.D. Brown a déposé le brevet de la MDA comme agent antitussif en 1958, et Smith, Kline & French ont déposé le brevet de la MDMA comme inhibiteur d'anxiété en 1960 et en 1962 comme coupe-faim. Le scientifique Gordon Alles a étudié les effets de la MDA et a expérimenté lui-même la drogue, qui l'a beaucoup impressionnée. Il a publié plusieurs articles sur la MDA qu'il a appelée la « drogue du calin ». Avec la prohibition du LSD, la MDA a trouvé son chemin sur le marché en 1960 et elle a été très recherchée. Elle est désormais classée comme drogue de classe 1 dans beaucoup de pays.

La MDA (3,4-methylenedioxyamphétamine) et la MDMA ont une structure similaire. En raison de ses similarités, la MDA fonctionne de façon pharmacologique de presque de la même manière que la MDMA. Les deux substances libèrent d'avantage de sérotonine et de

dopamine dans le cerveau. La libération de sérotonine donne une sensation d'euphorie et augmente les capacités d'empathie. Les récepteurs 5-HT_{2a} sont bien plus stimulés avec la MDA qu'avec la MDMA, ce qui entraîne de puissants effets psychédéliques. Bien que la MDMA provoque des hallucinations, celles-ci sont moins profondes et n'apparaissent qu'avec des dosages élevés. Le corps convertit partiellement la MDMA en MDA après un dosage élevé. Il est possible que la MDMA ne provoque elle-même pas d'hallucinations, mais que ce soit dû à la MDA. **(Rothman et al ; 2006, Battaglia, 1987, Kirsten et al ; 2001, Naranjo et al ; 1967)**

Toutefois, les résultats qu'on a obtenue montrent que le taux de MDA est élevé chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et rats traités en confirmant que La MDMA est un psychostimulant. Elle agit en entraînant dans le cerveau une libération plus importante qu'à l'accoutumée de certains neurotransmetteurs : la sérotonine, la dopamine et la noradrénaline. Les qualités entactogènes de la MDMA peuvent être liées à la sécrétion indirecte d'ocytocine via l'activation massive du système sérotoninergique L'ocytocine est une hormone peptidique libérée lors de moments particuliers en lien avec l'affect comme la naissance, l'orgasme, la reconnaissance sociale ou l'empathie **(Rothman et al ; 2006, Battaglia, 1987, Kirsten et al ; 2001, Naranjo et al ; 1967)**

L'administration de probiotiques et l'injection d'extrait aqueux a réduit d'enregistrer le taux de MDA cerveau ce que confirme que les deux sont des traitements contre la dépression avec un degré d'efficacité différent entre les deux.

L'intérêt principal de cette étude était en premier lieu, d'évaluer le risque de l'intoxication subchronique au plomb. En employant plusieurs approches ; neurocomportementale et biochimiques ainsi que de tester l'efficacité de l'administration de probiotiques (*Lactobacillus plantarum*, NSC5C) et l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* à rétablir ou non les dommages causés par ce métal.

En effet, les différents travaux entrepris chez l'animale et l'homme ont permis de montrer que L'exposition environnementale subchronique au plomb durant la période du développement pourrait être un facteur critique responsable des déficits cognitifs et comportemental ainsi que la maturation du système nerveux juvénile.

Cependant nos résultats ont montré que l'exposition chronique à l'acétate du plomb à une dose de 2g/l de Pb chez les rats, entraîne une augmentation du poids corporel et réduction du poids cérébral enregistré chez les jeunes rats intoxiqués comparé aux rats témoins.

Cet exposition subchronique de ce xenobiotique au cours de la période de développement entraîne des perturbations neurocomportementales tel que l'installation des états d'anxiété, dépression et une diminution de l'activité locomotrice chez les sujets intoxiqués, De même, l'analyse biochimique révèle un taux de glycémie moyen et le taux de MDA supérieur.

Par ailleurs, l'administration de probiotique de *Lactobacillus plantarum* (10%) a permis d'observer une diminution dans le gain corporel et l'amélioration du poids cérébral ainsi une nette amélioration dans les différents tests neurocomportementaux et d'autre part les tests biochimiques montrent une diminution des taux de glycémie et de MDA par rapport aux rats intoxiqués. Ceci se traduit par l'effet de ce probiotique comme un stimulant nerveux, un améliorateur cognitif et régulateur biochimique, et protecteur contre les lésions cérébrales.

D'autre part, l'injection de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* (10ml/1kg) a permis d'observer une diminution dans le gain corporel et l'amélioration du poids

cérébral ainsi une nette amélioration dans les différents tests neurocomportementaux et d'autre part les tests biochimiques montrent une amélioration de glycémie et diminution du taux de MDA par rapport aux rats intoxiqués. Ceci se traduit par l'effet de cet extrait comme un stimulant nerveux, un améliorateur cognitif et régulateur biochimique, et protecteur contre les lésions cérébrales.

Perspectives

-Il serait envisageable de développer une série d'expériences d'ordre biochimique et d'autres tests neurocomportementaux pour mieux étudier l'impact du plomb et au niveau du système nerveux central.

-De compléter cette étude par une approche histologique.

-De doser les paramètres suivant : PAL, ACHE, et MAO-A.

A

1. **Ababsa A. (2012).** Recherche De Bactériocines Produites Par Les Bactéries Lactiques Du Lait. Mémoire De Magister En Génie Microbiologie. Université Ferhat Abbas Setif.
2. **Acosta-Saavedra, L.C., Moreno, M.E., Rodríguez-Kessler, T., Luna, A., Gomez, R., Arias-Salvatierra, D., Calderon-Aranda, E.S., (2011).** Environmental Exposure to Lead And Mercury In Mexican Children: A Real Health Problem. *Toxicology Mechanisms And Methods* 21, 656–666.
3. **Alexander, B.H., Checkoway, H., Van Netten, C., Muller, C.H., Ewers, T.G., Kaufman, J.D., Mueller, B.A., Vaughan, T.L., Faustman, E.M. (1996).** Semen Quality Of Men Employed At A Lead Smelter. *Occup Environ Med* 53:411–416.
4. **Alkondon, Costa Ac, Radhakrishnan V, Aronstam Rs, Albuquerque Ex. (1990)** Selective Blockade Of Nmda-Activated Channel Currents May Be Implicated In Learning Deficits Caused By Lead. *Febs Lett*, 261: 124-130
5. **Allahverdiyev A., Duran N., Ozguven M. Et Koltas S. (2004)** - Antiviral Activity Of The Volatile Oils Of *Melissa Officinalis* L. Against Herpes Simplex Virus Type-2 - *Phytomedicine*, 11 - P. 657-661
6. **American Psychiatric Association (2003)** *Dsm-Iv-Tr* Washington Dc, Traduction Française Par Jd Guelfi Et Al., Paris, Masson
7. **Anses. (2011).** Étude De L'alimentation Totale Française 2. Paris: Agence Nationale De Sécurité Sanitaire De L'alimentation, De L'environnement Et Du Travail
8. **Anses-Etude De L'alimentation Totale Française 2 (Eat 2) Edition Scientifique, Juin (2011)**
9. **Atsdr** (Agency for Toxic Substances and Disease Registr) **(2007b).** Toxicological Profile For Lead. In *Atsdr. Toxic Substances Portal – Lead*
10. **Atsdr** Agency for Toxic Substances and Disease Registry **(2007a).** "Toxicological Profile for Lead." Atlanta (Ga): Us Department Of Health And Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances

and Disease Registry. Available
From: www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=96&tid=22

11. **Atsdr. (1999).** Agency For Toxic Substances And Disease Registry: Toxicological Profile For Lead. Atlanta, Ga: U S Department Of Health And Human Services, Public Health Service.
12. **Awad R., Levac D., Cybulska P., Merali Z., Trudeau V. Et Arnason J. (2007)** - Effects Of Traditionally Used Botanicals On Enzymes Of The Gamma-Aminobutyric Acid (Gaba) System - *Can J Physiol Pharmacol*, 85 - P. 933-942
13. **Awad R., Muhammad A., Durst T., Trudeau V. L. Et Arnason J. T. (2009)** - Bioassay-Guided Fractionation Of Lemon Balm (*Melissa Officinalis L.*) Using An In Vitro Measure Of Gaba Transaminase Activity - *Phytother Res*, 23 - P. 1075-1081
14. **Axelsson. L (2004).** Lactic Acid Bacteria : Classification And Physiology. In *Lactic Acid Bacteria, Microbiological And Functional Aspect*. Third Edition Marcel Dekker.

B

15. **Baba Ahmed Abderrazzak (2012)** étude De Contamination Et D'accumulation De Quelques Métaux Lourds Dans Des Céréales, Des Légumes Et Des Sols Agricoles Irrigués Par Des Eaux Usées De La Ville De Hammam Boughrara
16. **Babulka P. (2005)** - La Mélisse (*Melissa Officinalis L.*) - *Phytothérapie*, 3 - P. 114-117
17. **Barley Ea, Walters P, Tylee A, Murray J (2012)** General Practitioners' And Practice Nurses' Views And Experience Of Managing Depression In Coronary Heart Disease: A Qualitative Interview Study, *Bmc Fam. Pract.* 13:1. Doi: 10.1186/1471-2296-13-1
18. **Bellinger Needleman Hl. (2003).** Intellectual Impairment And Blood Lead Levels. *New England Journal Of Medicine* 349: 500-502.
19. **Berglund, Klaminder J, Nyholm Ne. (2008).** Effects Of Reduced Lead Deposition On Pied Flycatcher (*Ficedula Hypoleuca*) Nestlings: Tracing

-
- Exposure Routes Using Stable Lead Isotopes. *Environmental Science & Technology* 43: 208-213.
20. **Bernier, L. (2010).** Les Probiotiques En 2010 : Une Revue De La Littérature. 2010. Thèse Pharm: Université D'Angers, 166.
21. **Betharia S, Maher TJ. (2012)** Neurobehavioral effects of lead and manganese individually and in combination in developmentally exposed rats. *Neurotoxicology.* 33: 1117-27. PMID 22732189 DOI: 10.1016/j.neuro.2012.06.002
22. **Binder Eb, Salyakina D, Lichtner P, Wochnik Gm, Ising M, Pütz B, Papiol S, Seaman S, Lucae S, Kohli Ma, Nickel T, Künzel He, Fuchs B, Majer M, Pfennig A, Kern N, Brunner J, Modell S, Baghai T, Deiml T, Zill P, Bondy B, Rupprecht R, Messer T, Köhnlein O, Dabitz H, Brückl T, Müller N, Pfister H, Lieb R, Mueller Jc, Löhmussaar E, Strom Tm, Bettecken T, Meitinger T, Uhr M, Rein T, Holsboer F, Muller-Myhsok B (2004)** Polymorphisms In Fkbp5 Are Associated With Increased Recurrence Of Depressive Episodes And Rapid Response To Antidepressant Treatment, *Nat. Genet.* 36(12): 1319-1325
23. **Bittar M., Maria de Sousa S., Yunes R., Lento R., Monache F.D., Filho V.C. (2000).** Antinociceptive activity of 13, 118- Binaringenin, a biflavonoid present in plants of the Guttiferae. *Planta Medica*, 66, 84-86.
24. **Bittar, M., de Souza, M.M., Yunes, R.A., Lento, R., Delle Monache, F., Cechinel-Filho, V. (2000).** Antinociceptive activity of 13,118-binaringenin, a biflavonoid present in plants of the Guttiferae. *Planta Med.* 66, 84-86
25. **Bonde, Joffe, M., Apostoli, P., Dale, A., Kiss, P., Spano, M., Caruso, F., Giwerzman, A., Bisanti, L., Porru, S., Vanhoorne, M., Comhaire, F., Zschiesche, W. (2002).** Sperm Count And Chromatin Structure In Men Exposed To Inorganic Lead: Lowest Adverse Effect Levels. *Occup Environ Med* 59: 234–242.
- Boucher, (2010)** Potentiels Evoques Cognitifs : Indice De Neurotoxicité Chez Les Enfants Inuits Exposés Aux Contaminants Environnementaux *Brain Res.* 287(3): 211-224

-
26. **Bouchet N., Lévesque J., Pousset J-L., (2000).** HPLC isolation, identification and quantification of tannins from *Guiera senegalensis*. *Phytochem. Anal.*, 11, 52-56.
 27. **Bremner Jd, Vythilingam M, Ng Ck, Vermetten E, Nazeer A, Oren Da, Berman Rm, Charney Ds (2003)** Regional Brain Metabolic Correlates Of Alpha-Methylparatyrosine-Induced
 28. **Brunello N, Blier P, Judd Ll, Mendlewicz J, Nelson Cj, Souery D, Zohar J, Racagni G (2003)** Noradrenaline In Mood And Anxiety Disorders: Basic And Clinical Studies, *Int. Clin.*
 29. **Bundesinstitut Für Risikobewertung, (Bfr) Du 19 Septembre (2011)** (La Faq De L'institut Allemand D'évaluation Des Risques)
 30. **Burcelin, R., S. Nicolas, Et V. Blasco-Baque. (2016).** « Microbiotes Et Maladies Métaboliques - De Nouveaux Concepts Pour De Nouvelles Stratégies Thérapeutiques ». *Médecine/Sciences* 32 (11): 952-60

C

31. **Calenco-Choukroun, G.** et al. Opioid agonists and endogenous enkephalins induce different emotional reactivity than agonists after injection in the rat ventral tegmental area. *Psychopharmacology* 103, 493–502
32. **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*, 72 (5), 301-305.
33. **Cheng, Jing, Airi M. Palva, Willem M. De Vos, Et Reetta Satokari. (2013).** « Contribution Of The Intestinal Microbiota To Human Health: From Birth To 100 Years Of Age ». *Current Topics In Microbiology And Immunology* 358: 323-46
34. **Chien , Yeh Cy, Lee Hc, Jasmine Chao H, Shieh Mj, Han Bc. (2006).** Effect Of The Mother's Consumption Of Traditional Chinese Herbs On Estimated Infant Daily Intake Of Lead From Breast Milk. *Science Of The Total Environment* 354: 120-126.

-
-
35. **Chouraqui.J**, “Prébiotiques, Probiotiques, Symbiotiques Et Alimentation Infantile.” Chu Grenoble.
 36. **Clark Db (2003)** Serum Tryptophan Ratio And Suicidal Behavior In Adolescents: A Prospective
 37. **Clément Cartier, (2012)** Identification Et Traitements Des Principales Sources De Plomb Eneau Potable
 38. **Cory Slechta ; Annual Review Of Pharmacology And Toxicology, Vol. 35: 391 -415 (Volume Publication Date April (1995)**
 39. **Crettaz, Juillet (2011)** Relations Entre Perturbation Endocrinienne Et Bisphénol A, Plomb Et Cadmium • Bulletin De Veille Scientifique No 15 • Santé / Environnement / Travail •

D

40. **Dart.,; Hurlbut, K.M.; Boyer-Hassen, L.V. (2004).** "Lead". In Dart, Rc. Medical Toxicology (3rd Ed.). Lippincott Williams & Wilkins. Isbn 0-7817-2845-2
41. **Dastmalchi K., Damien Dorman H.J., Oinonen P.P., Darwis Y., Laakso I. And Hiltunen R., (2008).** Chemical Composition And In Vitro Antioxidative Activity Of A Lemon Balm (*Melissa Officinalis L.*) Extract Lwt, 41, 391 R 400.
42. **Dastmalchi K., Dorman H. J. D., Oinonen P. P., Darwis Y., Laakso I. Et Hiltunen R. (2008) -** Chemical Composition And In Vitro Antioxidative Activity Of A Lemon Balm (*Melissa Officinalis L.*) Extract - Lwt, 41 - P. 391–400
43. **Dauge V, Rossignol P, Roques B.P. (1989):** Comparison Of The Behavioural.
44. **Dellaglio, F. Felis, G.E.** Taxonomy Of Lactobacilli And Bifidobacteria.
45. **Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim Ek, Lanctôt Kl (2010)** A Metaanalysis Of Cytokines In Major Depression, Biol. Psychiatry 67(5): 446-57
46. **Du X.M., Sun N.Y., Takizawa N., Guo Y.T., Shoyama, Y. (2002).** Sedative and anticonvulsant activities of goodyerin, a flavonol glycoside from *Goodyera schlechtendaliana*. Phytotherapy Research, 3, 261-3.

-
-
47. **Ducrotte.P**, “Syndrome De L’intestin Irritable : Rôle De La Flore Et Intérêt Potentiel Des Probiotiques,” *Côlon Rectum*, Vol. 1, No. 4, Pp. 237–241, Jan. (2008).
48. **Dupont F., Guignard J.L., (2007).** *Botanique : Systématique Moléculaire*. Edition Masson, 1ère Edition, 285 P.

E

49. **El-Fadeli1, Raschida Bouhouch, Laila Chabaa , Abdelmounaim Aboussad ,Michael B. Zimmermann And Azzedine Sedkil (2015)** Prévalence De La Carence Martiale, De La Contamination Par Le Plomb Et Leur Association Chez Les Enfants De La Région De Marrakech
50. **Emamghoreishi M. Et Talebianpour M. S. (2009)** - Antidepressant Effect Of Melissa Officinalis In The Forced Swimming Test - *Daru J Pharm Sci*, 17 (1) - P. 42-47
51. **Ettinger , Téllez-Rojo Mma, Amarasiriwardena C, Peterson Ke, Schwartz J, Aro A, Et Al. (2006).** Influence Of Maternal Bone Lead Burden And Calcium Intake On Levels Of Lead In Breast Milk Over The Course Of Lactation.*American Journal Of Epidemiology* 163: 48-56.
52. **European Food Safety Authority (Efsa). (2010).** Efsa Panel on Contaminants In The Food Chain (Contam), Scientific Opinion On Lead In Food. *Efsa Journal* 8(4):1-147.

F

53. **Fahr (2014)** N° D’ordre : 2743 Tude Physiologique Et Moléculaire De La Tolérance Et L’accumulation Du Pb Chez Une Population Métallicole Et Une Population Non Métallicole
54. **FAO/OMS (2001).** Health And Nutritional Properties Of Probiotics In Food Including
55. **FAO/OMS (2002).** Guidelines For The Evaluation Of Probiotics In Food.Food And Agriculture Organization Of The United Nations And World Health Organization (Organisation Mondiale Pour La Santé Oms).*Working Group Report*. London, Ontario, Canada.

-
56. **FAO/WHO, (2002).** Report Of A Joint Fao/Who Working Group On Drafting Guidelines For The Evaluation Of Probiotics In Food. London Ontario, Canada. Pp: 1-11.
57. **Farnworth E.R. (2008).** Kefir: From Folklore To Regulatory Approval. *Journal Nutraceuticals Functional Medicine Foods*. 1 Pp: 57-68.
58. **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* 55, 96-102.
59. **Fiche Rédigée Par La Cire Rhône Alpe Janvier (2010)**
60. **Finar L. (1956).** Organic chemistry: Stereochemistry and the chemistry of Natural Products. Edition low-priced. p. 718.
61. **Finkelstein , Markowitz M, Rosen J (1998).** Low-Level Lead-Induced Neurotoxicity in Children: An Update on Central Nervous System Effects. *Brain Res. Rev.*,
62. **Fredereghi M (2005).** Les Bactéries Lactiques.
63. **Freud S (1895)** « Qu'il Est Justifié De Séparer De La Neurasthénie Un Certain Complexe Symptomatique Sous Le Nom De « Névrose D'angoisse » » (1895), In *Névrose, Psychose Et Perversion*, P.U.F., 1973
64. **Fussler Bagur Elsa 2011 N° 2011pa06g058** rituels Et Intoxication Au Plomb Chez L'adulte²⁷, 168-176.

G

65. **Garnier R.** Plomb. In: Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Fréjaville J, Garnier R, Et Al., Editors. *Toxicologie Clinique*. Paris: Flammarion Médecine-Sciences; 2000. P. 638–55.
66. **Geuenich S., Goffinet C., Venzke S., Nolkemper S., Baumann I., Plinkert P., Reichling J. Et Keppler O. T. (2008)** - Aqueous Extracts From Peppermint, Sage And Lemon Balm Leaves Display Potent Anti-Hiv-1 Activity By Increasing The Virion Density - *Retrovirology*, 5 - P. 27
67. **Giuliani, R.,** Bettoni, F., Leali, D., Morandini, F., Apostoli, P., Grigolato, P., Cesana, B. M., and Aleo, M. F. (2005). Focal Adhesion Molecules As

Potential Target Of Lead Toxicity In Nrk-52e Cell Line. Febs Letters 579, 6251-6258.

68. **Google Images, *Illustrations***

69. **Gourbeyre P., Denery S. Et Bodinier M.(2011).** Probiotics, Prebiotics, And Synbiotics: Impact On The Gut Immune System And Allergic Reactions. *Journal Of Leukocyte Biology*. 85: 685-695. *Journal Of Microbiology Research*. 4 (10) : 994-1000

70. **Grenwood, A. Earnshaw, Chemistry Of The Elements, Pergamon Press, Oxford, (1984)**

H

71. **Hadri.N(2015).**Etude Phytochimique Et Activité Antioxydant D'Extrait De Plantes Sedurn Villosum L (Orpin) Et Anabasis Articularata Moq. (Forsk). These De Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

72. **Haenisch B, Bönisch H (2011)** Depression And Antidepressants.

73. **Happiette** Laurent, Le Saturnisme D'hier Et D'aujourd'hui Université Paris. (2010). P 29

74. **Hasler G, Fromm S, Carlson Pj, Luckenbaugh Da, Waldeck T, Geraci M, Roiser Jp, Neumeister A, Meyers N, Charney Ds, Drevets Wc (2008)** Neural Response To Catecholamine Depletion In Unmedicated Subjects With Major Depressive Disorder In Remission And Healthy Subjects, *Arch. Gen. Psychiatry* 65(5): 521-531

75. **Hettema Jm, Neale Mc, Kendler Ks (2001)** A Review And Meta-Analysis Of The Genetic Epidemiology Of Anxiety Disorders, *Am. J. Psychiatry* 158(10): 1568-1578

76. Hippocampus: Implications For The Neurobiology Of Depression, *Biol. Psychiatry* 43(8): 547- 573

77. **Hmamouchi M., (1999).** Les Plantes Médicinales Et Aromatiques Marocaines : Utilisations, Biologie, Ecologie, Chimie, Pharmacologie, Toxicologie-Imprimerie De Fédala, Mohammedia (Maroc), 389 Pp.

78. **Http : //www.Herbierimages.Be**

79. **Http://Monographs.Iarc.Fr/Eng/Classification/Index.Php** (Page Consultée Le 15 Avril 2013).Iarc Monographs- Classifications Web Portal For.

-
-
80. <https://www.Altheaprovence.Com/Blog/Melisse-Melissa-Officinalis/>
81. https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/chem_profiles/lead/basic_lead.html
82. **Hussain Rj, Parsons Pj, Carpenter Do (2000).** Effects Of Lead On Long-Term Potentiation Hippocampal Ca³ Vary With Age. *Dev. Brain Res.*, 121, 243-252.

I

83. **Iarc** (International Agency for Research On Cancer) **(2013).** Iarc Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans. In World Health Organization (Who). Classifications.
84. **Iarc. (2006).** Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans: Inorganic And Organic Lead Compounds. International Agency For Research On Cancer.
85. **Iavicoli, Sgambato, A., Carelli, G., Ardito, R., Cittadini, A., and Castellino, N. (2001).** Lead-Related Effects on Rat Fibroblasts. *Mol Cell Biochem* 222, 35-40.
86. **Ikegami, F., Sumio, M., Fujii, Y. (2006).** Pharmacology and toxicology of Bupleurum root-containing Kampo medicines in clinical use, *Hum. Exp. Toxicol.*, 25, 481-494.
87. **Ikegami, F., Sumio, M., Fujii, Y. et al., (2006).** Pharmacology and toxicology of Bupleurum root-containing Kampo medicines in clinical use, *Hum. Exp. Toxicol.*, 25, 481-494.
88. **Ipcs.** Environmental Health Criteria 165. Inorganic Lead. Geneva: Who; 1995 300p.

J

89. **Joly, B. Coffin, And B. Messing,** “Rôle De La Flore Dans Les Pathologies Digestives (Maladie De Crohn, Rectocolite Ulcérohémorragique, Cancer Colorectal Excl),” *Nutr. Clin. Métabolisme*, Vol. 21, No. 2, Pp. 89–94, Jun. **(2007).**

K

90. **Kerper, And Hinkle, P. M. (1997).** Lead Uptake In Brain Capillary Endothelial Cells:Activation By Calcium Store Depletion. *Toxicol Appl Pharmacol* 146, 127-33.
91. **Khalid N.M. Et Marth E.H., (1990).** Lactobacilli, Their Enzymes And Role. In: Ripening And
92. **Kim, Annadata M, Goldstein G, Bressler Jp (1997).** Induction of C-Fos M Rna By Lead In Pc12 Cells. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 15, 175-182.
93. **Kitchronolab,** Evaluation des propriétés antihyperglycémiantes et hypolipidémiantes in vivo des fractions polysaccharidiques solubles de deux plantes médicinales camerounaises à savoir *chromolaena odorata* et *harungana madagascariensis*
94. **Konturek P. C., D. Haziri, T. Brzozowski, T. Hess, S. Heyman, S. Kwiecien, S. J. Konturek, And J. Koziel,** "Emerging Role Of Fecal Microbiota Therapy In The Treatment Of Gastrointestinal And Extra-Gastrointestinal Diseases," *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.*, Vol. 66, No. 4, Pp. 483–491, Aug. (2015)

L

95. **Lambert G, Johansson M, Agren H, Friberg P (2000)** Reduced Brain Norepinephrine And Dopamine Release In Treatment-Refractory Depressive Illness: Evidence In Support Of The Catecholamine Hypothesis Of Mood Disorders, *Arch. Gen. Psychiatry* 57(8): 787-793
96. **Lang Ue, Borgwardt S (2013)** Molecular Mechanisms Of Depression: Perspectives On New Ligands, *Embo Mol Med.* 2(11): 429-39
97. **Lanteri-Laura G (2003)** Introduction Historique Et Critique A La Notion De Dépression En Psychiatrie, Cinquième Conférence Internationale Philosophie Et Psychiatrie "Douleur Et Dépression" (Paris 28-30 Juin 2001) Dont L'ouvragephénoménologie Des Sentiments Corporels (Sous La Direction De B. Granger Et C. Charbonneaud, Association Le Cercle Herméneutique, Puteaux, 2003)
98. **Leake A, Fairbairn Af, Mckeith Ig, Ferrier In (1991)** Studies On The Serotonin Uptake Binding Site In Major Depressive Disorder And Control

-
- Post-Mortem Brain: Neurochemical And Clinical Correlates, Psychiatry Res. 39(2): 155-165
99. **Lignon L. Et Chiny P.(2013).** Les Allergies Et Intolérances Alimentaires. Existe-T-Il Un Intérêt Des Probiotiques Dans La Prise En Charge Thérapeutique. Thèse De Doctorat En Pharmacie. Université De Lorraine. 180p.
100. **Loikkanen, J., Naarala, J., Vahakangas, K. H., And Savolainen, K. M. (2006).** Effect of Glutamate And Extracellular Calcium On Uptake Of Inorganic Lead (Pb²⁺) In Immortalized Mouse Hypothalamic Gt1-7 Neuronal Cells. Toxicol Lett 160, 227-32.
101. **Long, Rosen, J. F., And Schanne, F. A. (1994).** Lead Activation Of Protein Kinase C From Rat Brain. Determination of Free Calcium, Lead, And Zinc By 19f Nmr. J Biol Chem 269, 8347.
102. **López Jf, Chalmers Dt, Little Ky, Watson Sj (1998)** A.E. Bennett Research Award. Regulation Of Serotonin_{1a}, Glucocorticoid, And Mineralocorticoid Receptor In Rat And Human
103. **Lopez V., Martin S., Gomez-Serranillos M. P., Carretero M. E., Jager A. K. Et Calvo M. I. (2009)** - Neuroprotective And Neurological Properties Of Melissa Officinalis - Neurochem Res, 34 - P. 1955-1961
104. **Lyu S.Y., Park W.B. (2005).** Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC in vitro incubation with flavonoids. Archives of Pharmaceutical Research, 5, 537-81.
105. **Lyu S.Y., Park W.B. (2005).** Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC in vitro incubation with flavonoids. Archives of Pharmaceutical Research, 5, 537- 81.

M

106. **Marteanu P, Doré J, Cossart P.** Le Microbiote Intestinal : Un Organe A Part Entière. Montrouge : Éditions John Libbey Eurotext, DI 2017. (2017).
107. **Mclean Cp, Anderson Er (2009)** Brave Men And Timid Women ? A Review Of The Gender Differences In Fear And Anxiety, Clin.Psychol. Rev.29: 496-505

-
108. **Mercenier A., Pavan S. Et Pot B.(2002).** Probiotics As Biotherapeutic Agents: Present Knowledge And Future Prospects. *Current Pharmaceutical Design.* 8: 99-110.
 109. **Meyer Jh, Ginovart N, Boovariwala A, Sagrati S, Hussey D, Garcia A, Young T, Praschak-Rieder N, Wilson Aa, Houle S (2006)** Elevated Monoamine Oxidase A Levels In The Brain
 110. **Meyre-Silva C., Yunes R., Santos A.R.S., Magro J.D., Monache F.D., Filho V.C. (1999).** Isolation of a C-Glycoside Flavonoid with antinociceptive action from Aleurites moluccana Leaves. *Planta Medica,* 65, 263- 294.
 111. **Meyre-Silva C., Yunes R., Santos A.R.S., Magro J.D., Monache F.D., Filho V.C. (1999).** Isolation of a C-Glycoside Flavonoid with antinociceptive action from Aleurites moluccana Leaves. *Planta Medica,* 65, 263- 294.
 112. **Milgramle (2008)** Effets Cytotoxiques Et Phénotypiques De L'uranium Et Du Plomb Sur Des Modèles Cellulairesostéoblastiques.
 113. **Molin G. (2006)** *Lactobacillus Plantarum 29 3w.* Proviva.Com/ Upload/ Pdf/ Dokumentation.Pdf

N

114. **Nathalie Ronat** 1 Uga Ufrd- Université Grenoble Alpes- Ufr Pharmacie.
 1. Neal et Guilarte, (2013) Mechanisms of lead and manganese neurotoxicity
 2. **Nemeroff Cb, Vale Ww (2005)** The Neurobiology Of Depression: Inroads To Treatment And New Drug Discovery, *J. Clin. Psychiatry* 66 Suppl 7: 5-13

O

3. **Ollat H., Pirot S. (2003),** Physiopathologie de la dépression. Un trouble de la neuroplasticité ? (I). *Neuropsychiatrie : Tendances et Débats* 2003 ; 20 : 15-26.
4. **Ollier C. (2011)** - Le Conseil En Phytothérapie - 2ème Edition - Reuil-Malmaison : Editions Pro-Officina - 178 P.
5. **Oulhote (2012)** Contribution Del'environnementrésidentiel Al'exposition Au Plombdes Enfants De 6 Moisà 6 Ans En France,2008-2009

P

6. **P. C. Konturek, D. Haziri, T. Brzozowski, T. Hess, S. Heyman, S. Kwiecien, S. J.**

-
7. **Papay Jp, Costello Rj, Hedl Jj, Spielberg Cd (1975)** Effect Of Trait And Stat Anxiety On The Performance Of Elementary School Children In Traditional And Individualized Multiage Classrooms, *J. Educ. Psychol.* 67: 840-846
 8. **Pariante Cm (2006)** The Glucocorticoid Receptor: Part Of The Solution Or Part Of The Problem?, *J. Psychopharmacol.* 20(4 Suppl): 79-84
 9. **Pathak D., Pathak K., Sigla A.K. (1991).** Flavonoids as medicinal agents: recent advances. *Fitoterapia*, 62, 371-388.
 10. **Peabody Ca, Faull Kf, King Rj, Whiteford Ha, Barchas Jd, Berger Pa (1987) Pineau.S, (2012).** Mécanismes D'action Cellulaires Et Physiologiques Des Composés De La Mélisse (*Melissa Officinalis* L.) Et De La Valériane (*Valeriana Officinalis* L.) Caractérisation Et Perspectives D'applications Pharmaceutiques Et Phytosanitaires. These De Doctorat En Pharmacie.
 1. **Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M, (1985)** Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat.
 2. **Perrot E. Paris R. (1971)** - Les Plantes Médicinales - Tome 2 - France : Presses Universitaires De France - 117 P.
 3. **Pletscher, Bernard Liechti (2007)** Plomb Et Risques Professionnels
 4. **Podevin, (2010)** saturnisme Professionnelle
 5. **Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M (1977)** Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants.

R

6. **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*, 21 51-60.
7. **Robin .J, Rouchy, A.** “Les Probiotiques.” Centre D'étude Et De Développement De La Nutrithérapie, Juin-2011.
8. **Rofes.C, (2014),** Interets Du Microbiote Intestinal Et Probiotiques, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Faculté Des Sciences Pharmaceutiques.

-
9. **Ronis, Badger T, Shema S (1998).** Effects on Pubertal Growth And Reproduction In Rats Exposed To Lead Perinatally Or Continuously Throughout Development. *J Toxicol Environ Health.* 1998 ; 53: 327–341.
 10. **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.*, 35, 319–324.
 11. **Ruhé Hg, Mason Ns, Schene Ah (2007)** Mood Is Indirectly Related To Serotonin, Norepinephrine And Dopamine Levels In Humans: A Meta-Analysis Of Monoamine Depletion Studies, *Mol. Psychiatry* 12(4): 331-359
- S**
12. **Sa M, Ying L, Tang Ag, Xiao Ld, Ren Yp (2012)** Simultaneous Determination Of Tyrosine,
 13. **Sabbar (2013)** Conséquences De La Toxicité Du Plomb Sur L'activations Du Ganglions De La Base Et Les Rythmes Circadiennes Chez Les Rat Approches Electrophysiologique Neurochimique Et Anatomofonctionnelle 09-04-2013 N° D'ordre 2630.
 14. **Sadraei H., Ghannadi A. And Malekshahi K., (2003).** Relaxant Effect Of Essential Oil Of *Melissa Officinalis* And Citral On Rat Ileum Contractions, *Fitoterapia*, 74 (5), 445-452.
 15. **Sallmen, Lindbohm, M.L., Anttila, A., Taskinen, H., Hemminki, K. (2000).** Time To Pregnancy Among The Wives Of Men Occupationally Exposed To Lead. *Epidemiology* 11: 141–147.
 16. **Salminen S., Isolauri E. Et Salminen E. (1996).** Clinical Uses Of Probiotics For Stabilising Gut Mucosal Barrier: Successful Strains And Future Challenges. *Antonie Van Leeuwenhoek* 70 : 347-358.
 17. **Salonen.A And W. M. De Vos,** “Impact Of Diet On Human Intestinal Microbiota And Health,” *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, Vol. 5, Pp. 239–262, 2014.
 18. **Santé Canada (2010b).** Rapport Sur La Biosurveillance Humaine Des Substances Chimiques De L'environnement Au Canada. In Santé Canda. [Http://Www.Hc-Sc.Gc.Ca/Ewh-Semt/Alt_Formats/Hece-](http://www.Hc-Sc.Gc.Ca/Ewh-Semt/Alt_Formats/Hece-)

-
- Sesc/Pdf/Pubs/Contaminants/Chms-Ecms/Report-Rapport-Fra.Pdf (Page Consultée Le 8 Février 2013) Www.Hc-Gc.Ca
19. **Santé Canada (2013b)**. Rapport Final Sur L'état Des Connaissances Scientifiques Concernant Les Effets Du Plomb Sur La Santé Humaine. In Santé Canada. Santé De L'environnement Et Du Milieu De Travail. [Http://Www.Hc-Sc.Gc.Ca/Ewh-Semt/Alt_Formats/Pdf/Pubs/Contaminants/Dhhsrl-Rpccscepsh/Dhhsrl-Rpccscepsh-Fra.Pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/pdf/pubs/contaminants/dhhsrl-rpccscepsh/dhhsrl-rpccscepsh-fra.pdf) (Page Consultée Le 12 Avril 2013). Www.Hc-Sc.Gc.Ca
 20. **Scherrer Jf, True Wr, Xian H, Lyons Mj, Eisen Sa, Goldberg J, Lin N, Tsuang Mt (2000)** Evidence For Genetic Influences Common And Specific To Symptoms Of Generalized Anxiety And Panic, *J. Affective Disorders* 57(1): 25-35
 21. **Schlossberg K, Massler A, Zalsman G (2010)** Environmental Risk Factors For Psychopathology, *Isr J Psychiatry Relat Sci.* 47(2): 139-143
 22. **Schnitzler P., Schuhmacher A., Astani A. Et Reichling J. (2008)** - Melissa Officinalis Oil Affects Infectivity Of Enveloped Herpesviruses - *Phytomedicine*, 15 - P. 734-740
 23. **Selevan, Rice, D.C., Hogan, K.A., Euling, S.Y., Pfahles-Hutchens, A., Bethel, J. (2003)**. Blood Lead Concentration And Delayed Puberty In Girls. *N Engl J Med* 348: 1527–1536.
 24. **Shaik, Sankar, S., Ready, S. C., Das, P. G., And Jamil, K. (2006)**. Lead-Induced Genotoxicity in Lymphocytes from Peripheral Blood Samples of Humans: In Vitro Studies. *Drug Chem Toxicol* 29, 111-124.
 25. **Sigma Chimie S.A.R.L L'isle D'abeau Chesnes**fiche De Données De Sécurité Conformément Au Règlement (Ce) No. 1907/2006 Version 5.0 Date De Révision 19.09.2012 Date D'impression 22.01.2013
 26. **Singer E. (2015)** La Flore Intestinale.; Faculté De Pharmacie De Lille 2.
 27. **Sirilun S., Chaiyasut C., Kantachote D. Et Luxananil P. (2010)**. Characterisation Of Non Human Origin Probiotic *Lactobacillus Plantarum* With *Cholesterol-Lowering* Property. *African Spoilage Of Cheese. Rev. Dairy Sci.* 73 : 158-167.

-
28. **Stanton C., Gardiner G., Meehan H., Collins K., Fitzgerald G., Lynch P.B. Et Ross R.P. (2001).** Market Potential For Probiotics. *American Journal Of Clinical*

T

29. **Tannock G.W. (1999).** The Normal Microflora: An Introduction. In Medical Importance Of Normal Microflora. Ed, *Kluwer Academic Publishers*, London, Uk. Pp: 1-23 *Nutrition*. 73:476-483.
30. **Tannock Gw (2003).** Probiotics: Time For A Dose Of Realism. *Curr. Issues. Intest.*
31. **Thoby C. (2009)** - La Mélisse Officinale, Melissa Officinalis L. - Thèse D'exercice : Pharmacie, Université De Nantes, N°18 - 136 P.
32. **Tiffany-Castiglion, E., and Qian, Y. (2001).** Astroglia As Metal Depots: Molecular Mechanisms For Metal Accumulation, Storage And Release. *Neurotoxicology* 22, 577-92.
33. **Toscano, Guilarte Tr.** Lead Neurotoxicity: From Exposure To Molecular Effects Brain Research Review. 2005; 49 (3), Pp. 529-554.
34. **Toth J., Mrlinova M., Tekelova D. And Korenova M., (2003).** Rosmarinic Acid Á An Important Phenolic Active Compound Of Lemon Balm (Melissa Officinalis L.), *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae* 50, 139-146.

U

35. **Us EPA. (2006).** Air Quality Criteria for Lead: Final Report. Epa/600/R-05/144af-Bf. Washington, Dc. Us Environmental Protection Agency.

V

36. **Vasiljevic T, Shah Np (2008).** Probiotics—From Metchnikoff To Bioactives. *Int. Dairy. J.* 18: 714–728.

W

37. **Walsh C. J., C. M. Guinane, P. W. O'toole, And P. D. Cotter,** “Beneficial Modulation Of The Gut Microbiota,” *Febs Lett.*, Vol. 588, No. 22, Pp. 4120–4130, Nov. 2014.

-
38. **Wang J., And Mazza G., (2002).** Effects of anthocyanins and other Phenolic compounds on the Production of Tumor Necrosis factor α in LPS/IF N- γ Activated RAW 264.7 Macrophages. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4183.
39. **Wang, J ; Mazza, G. (2002).** Effect of Anthcyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7.Macrophages.*J.Agric.Food.Chem.*50.4183-4189, 2002
40. **Wgo: World Gastroenterology Organisation. (2008).** Probiotiques Et Prébiotiques.
41. **Wichtl M. Et Anton R. (2003)** - Plantes Thérapeutiques : Tradition, Pratique Officinale, Science Et Thérapeutique - 2ème Edition - Paris : Editions Tec&Doc - 691 P.
42. **Wittchen Hu, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, Jönsson B, Olesen J, Allgulander C, Alonso J, Faravelli C, Fratiglioni L, Jennum P, Lieb R, Maercker A, Van Os J, Preisig M, Salvador-Carulla L, Simon R, Steinhausen H-C (2011)** The Size And Burden Of Mental Disorders And Other Disorders Of The Brain In Europe 2010, *European Neuropsychopharmacology* 21(9): 655-679

Y

43. **Youla.A Et Latrous I.E ; (2017)** Contribution A L'étude Phytochimique Des Flavoides Chez L'espèce (*Melissa Officinalis* L.) Et Evaluation De Leur Pouvoir Antibactérien .Mémoire De Master En Biologie Et Physiologie Végétale, Université Des Frères Mentouri Constantine,Algerie.P6

Annexe I : composition de milieu**MRS**

Extrait de levure.....	05g
Extrait de viande	05g
Peptone.....	10g
Acétate de sodium.....	05g
Citrate de sodium	02g
Glucose.....	20g
KH ₂ PO ₄	02g
MgSO ₄	0.05g
Agar.....	12g
Tween 80.....	1ml
Eau distillée.....	1000ml
PH=6.5	

Annexe II : les colorants**Violet de gentiane phéniqué**

Violet de gentiane.....	10g
Phénol.....	20g
Ethanol à 0.95.....	100ml
Eau distillée.....	1000ml

Lugol

Iode.....	10g
Iodure de potassium.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

Fuchsine

Fuchsine basique.....	10g
Phénol.....	50g
Ethanol à 0.5.....	100ml
Eau distillée.....	1000ml

Annexe III :

Tampon TBS

Tris

$$\left\{ \begin{array}{l} 157.6 \text{ g} \rightarrow 1\text{M} \\ X \rightarrow 50 \times 10^{-3} \end{array} \right.$$

$X = 7.88 / 1\text{L}$

NaCl

$$\left\{ \begin{array}{l} 58.44 \text{ g} \rightarrow 1\text{M} \\ X \rightarrow 150 \times 10^{-3} \end{array} \right.$$

$X = 8.77 / 1\text{L}$

$$\left\{ \begin{array}{l} 7.88 \rightarrow 1000 \text{ ml} \\ X \rightarrow 500 \text{ ml} \end{array} \right.$$

$X = 3.94 \text{ g}$

$$\left\{ \begin{array}{l} 8.77 \rightarrow 1000 \text{ ml} \\ X \rightarrow 500 \text{ ml} \end{array} \right.$$

$X = 4.38$

