

Introduction Générale

De nos jours, l'objectif primordial à l'échelle nationale et internationale dans le développement durable, se focalise sur la protection de l'environnement et essentiellement sur l'amélioration de la qualité de vie et de la santé humaine. Il interpelle aussi bien les chercheurs que les décideurs à œuvrer en partenariat dans le but de la valorisation de produits locaux.

Le Maroc étant un producteur traditionnel des plantes aromatiques et médicinales reste l'un des principaux fournisseurs à l'échelle mondiale de produits et sous-produits de telles plantes. En fait, les plantes d'agrumes et le caroubier, sont une partie importante de l'activité agricole de la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc. Le jujube reste parmi les fruits dits " Oublies" puisque l'industrialisation n'a pas intégré sa transformation agroalimentaire.

Les ressources végétales spontanées sont une source d'intérêt primordial pour les humains et leurs besoins (Bouallala et al. 2014). Les plantes constituent l'une des principales sources de découverte de nouveaux médicaments (Asma H.S. et al, 2016). Parmi ces plantes on trouve : Ziziphus jujube (Z. jujube), qui serait essentielle en médecine et qui est utilisé traditionnellement dans différents pays pour traiter diverses maladies, la caroube, le citron, l'orange et d'autres plantes.

Le mot "Urolithiase" est dérivé du grec "Urone" pour urine et "Lithos" pour les pierres. L'urolithiase est définie comme la présence d'un ou plusieurs calculs en tout point des voies urinaires (Thomas B. et al, 2005). Il s'agit d'un trouble courant dont on estime qu'il peut toucher jusqu'à 12 % de la population, selon les pays avec un taux de récurrence de 70 à 80 % chez les hommes et de 47 à 60 % chez les femmes (Smith C.L. et al, 1992). La majorité des calculs contiennent du calcium, en particulier de l'oxalate de calcium (80%) et d'autres en contiennent 20% (Moe O.W., 2006).

La formation de pierres ou de calculs est appelée lithiase. Si les calculs sont formés dans le rein on parle de néphrolithiase et si les calculs sont formés dans la vessie urinaire, l'uretère ou n'importe où dans l'appareil urinaire on parle d'urolithiase (Ram J. et al, 2015).

Les recherches ont montré que le traitement de l'urolithiase, outre le coût élevé, les ondes de choc aux doses thérapeutiques peuvent causer des lésions rénales aiguës, une diminution de la fonction rénale et une augmentation de la réapparition des calculs et formation de calculs chez les patients (Kalyan S.B. et al, 2009 ; Deepti Sharma et al, 2016).

L'urolithiase oxalocalcique est le type d'urolithiase le plus répandu qui, comparé à d'autres types d'urolithiase, est en constante progression (Knoll T. et al, 2011). La formation de calculs urinaires est un processus complexe qui comporte plusieurs étapes

telles que la sursaturation, la nucléation, la croissance, les regroupements et l'agrégation et la rétention (Bijjaulya R.K. et al, 2017). Ces calculs peuvent résulter de l'influence de plusieurs facteurs : épidémiologiques, biochimiques et des facteurs de risque génétiques (Atodariya U. et al, 2013). Un apport élevé en calcium alimentaire peut inhiber la formation de calculs rénaux plutôt que de causer les calculs (Johri N. et al, 2010).

La prévalence des calculs rénaux est à la hausse globalement, alors que la pathogenèse de cette maladie et les méthodes préventives restent à élucider (Hannache B. et al, 2012).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) environ 70 % de la population mondiale utilisent des médicaments traditionnels pour guérir diverses maladies. L'utilisation de plantes médicinales pour le traitement de l'urolithiase n'est pas seulement simple, mais aussi rentable.

A travers des travaux antérieurs, sur d'autres régions du Maroc, ont permis d'identifier les plantes médicinales les plus utilisées traditionnellement pour le traitement de la lithiase urinaire : *Herniaria hirsuta* avec un effectif (21,6 %), suivi de, dans un ordre décroissant, *Petroselinum crispum* (12,4 %), *Zizyphus lotus* (10,5 %), *Citrus limon* (9,7 %), *Opuntia ficus-indica* (7 %), *Coriandrum sativum* (6,6 %), *Zea mays* (5,6 %), *Apium graveolens* (4,8 %) et de *Crocus sativus* (3,6 %) (Ghourri M. et al, 2013 ; Salhi S. et al, 2010 ; Hseini S. et al, 2007 ; Lahsissene H. et al, 2009).

De nombreuses techniques d'analyse ont été utilisées, reposant parfois sur des équipements inaccessibles en pratique clinique courante, comme le microscope électronique à balayage ou les compteurs des particules.

Le premier calcul vésical connu remonte aux environs de 4800 ans avant Jésus-Christ et a été découvert dans les restes d'une momie en haute Egypte (Daudon M., 2005).

Les bénéfiques pour la santé d'une alimentation riche en fruits et légumes sont bien connus (Slavin J.L. et al, 2012). La plupart des calculs urinaires sont principalement composées des sels de calcium précipité, dont le plus courant est l'oxalate de calcium monohydraté (Mandel N., 1996). De nombreuses plantes ont été utilisées pour traiter les maladies rénales et se sont avérées efficaces parmi elles les plantes dites médicinales (Beghalia M. et al, 2008).

Le présent travail vise à contribuer à : l'utilisation de simples méthodes de chimie analytique pour l'étude de la lithiase urinaire afin de déterminer la situation épidémiologique de l'urolithiase, et aussi de valoriser des déchets des produits agro-alimentaires, dans la région Béni Mellal- Khénifra. Pour cela, notre étude se devise en trois parties :

- ☒ **La première partie** a été consacrée à l'étude bibliographique sur : les différents types de la lithiase urinaire et aussi les sous-produits agro-alimentaires (caroube, citron, jujube et orange).
- ☒ **La seconde partie** de cette thèse est consacré à nos travaux personnels, par l'étude des effets de différentes pulpes des produits agro-alimentaire sur la cristallurie, soit sur une solution de l'oxalate de calcium soit sur des urines des patients lithiasiques.
- ☒ **La troisième partie** est consacré à l'étude de la lithiase urinaire dans la région Béni Mellal- Khénifra, et comporte une investigation clinique sur la situation épidémiologique de cette maladie dans la région par une enquête épidémiologique suivie d'une étude morphoconstitutionnelle. Le présent travail a pour but d'appliquer : la statistique descriptive, l'ACP, et la CHA sur les 113 urines des patients, collectées arbitrairement, de juillet à septembre 2017, au sein du Centre Hospitalier Régional à la ville de Béni Mellal. En fait, les facteurs étudié (l'âge du patient, l'aspect de l'urine, Whewellite en tant qu'espèce lithogène, leucocytes, globules rouges et cadavre) peuvent aussi bien permettre de classer les urines des patients que de présenter une corrélation avec l'apparition de cristaux dans les urines des patients.

Références

- **Asma H.S.**, Moza T.H.G., Hossain M.A., Comparative evaluation of total phenols, flavonoids content, and antioxidant potential of leaf and fruit extracts of Omani *Ziziphus jujuba* L. (2016), *Pac. Sci. Rev. A: Nat. Sci. Eng.* 18 (1), 78–83.
- **Atodariya U.**, Barad R., Upadhyay S., Upadhyay U.: Antiurolithiatic activity of *Dolichos biflorus* seeds. *J Pharmacogn Phytochem.* (2013), 2:209-13.
- **Beghalia M.**, Ghalem S., Allali A., Marouf A.: Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. (2008), *Journal of Medicinal Plants Research* 2 (3), 066–070.
- **Bijauliya R.K.**, Alok S., Jain, S. K., Singh, V. K. and Singh D.: Herbal and allopathic medicine for kidney, gallbladder, and urinary stones: a review. *Int J Pharm Sci Res* (2017), 1935. p. 8.
- **Bouallala M.**, Bradai L., & Abid M. : Diversité et utilisation des plantes spontanées du sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne : Cas de la région du Souf. *Revue ElWahat pour les reherches et les études*, (2014), 7(2) : 18-26.
- **Daudon M.**: Epidémiologie actuelle de la lithiase rénale en France. *Annales d'urologie* (2005) ;39 :209-31.
- **Deepti Sharma**, Yadu Nandan Dey, Indu Sikarwar , Richa Sijoria , Manish M. Wanjari , Ankush D. Jadhav.: In vitro study of aqueous leaf extract of *Chenopodium album* for inhibition of calcium oxalate and brushite crystallization. *egyptian journal of basic and applied sciences.* (2016). 164–171.
- **Ghourri M.**, Zidane L. et Douira A. : Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc Saharien). *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* (2013);7: 1688-700.
- **Hannache B.**, Bazin D., Boutefnouchet A., Daudon M. : Effet des extraits de plantes médicinales sur la dissolution des calculs rénaux de cystine in vitro : étude à l'échelle mésoscopique, *Progrès en urologie.* (2012) : 22 ; 577 - 582.
- **Hseini S.** et Kahouadji A. : Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental). *Lazaroa* (2007), 28 :79-93.
- **Johri N.**, Cooper B., Robertson W., Choong S., Rickards D., Unwin R.: An update and practical guide to renal stone management. *Nephron Clin Practice* (2010); 116:c159–71.

- **Kalyan S.B.**, Christina A.J.M., Syama S.B., Selvakumar S., Sundara S.K.: Urolithiatic activity of *Hibiscus sabdariffa* Linn. On ethylene glycol-induced lithiasis in rats. *Nat Prod Rad* (2009), 8: 43–7.
- **Knoll T.**, Schubert A.B., Fahlenkamp D., Leusmann D.B., Wendt-Nordahl G., Schubert G.: Urolithiasis through the ages: data on more than 200,000 urinary stone analyses. *J Urol* (2011),185 :1304e11.
- **Lahsissene H.**, Kahouadji A., Tijane M. et Hseini S. : Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia* (2009) ; N° :186.
- **Moe O.W.**: Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet* (2006);367: 333–44.
- **Mandel N.**: Mechanism of stone formation. *Seminars in Nephrology*. (1996), 16, 364–374
- **Ram J.**, Moteriya P., Chanda S.: An overview of some promising medicinal plants with *in vitro* anti-urolithiatic activity. *J Pharm.* (2015), 5:23-8.
- **Salhi S.**, Fadli M., Zidane L. et Douira A. : Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* (2010), 31: 133-46.
- **Slavin J.L.**, Lloyd B.: Health benefits of fruits and vegetables. *Adv Nutr* (2012),3: 506e16.
- **Smith C.L.**, Guay D.R.P.: Nephrolithiasis. In: Di Piro JT, Talbert RL, Hayes PE, Yee GC, Matzke GR, Posey LM, editors. *Pharmacotherapy and pathophysiologic approach*, vol. 2. Elsevier; (1992). p. 720–36.
- **Thomas B.**, Hall J.: Urolithiasis. *Surgery (Oxford)* (2005), 23:129–33.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

Etude Bibliographique

I- Anatomie de l'appareil urinaire :

I-1. Aperçu général sur le système urinaire :

Au sein du corps humain l'un des principaux systèmes d'organes constitutifs est le système urinaire (Florian C., 2011). Cet appareil englobe un ensemble d'organe permettant la production, le stockage et l'évacuation d'urine (Marieb E.N., 2008). Il se divise en deux parties anatomiques (Figure I.1):

- ✓ La partie en haut de l'appareil qui comprend deux reins (droit et gauche) avec deux uretères, et un bassinets (pyélon);
- ✓ La partie bas de l'appareil comprend : la vessie et l'urètre (Pebert F. et al, 2003).

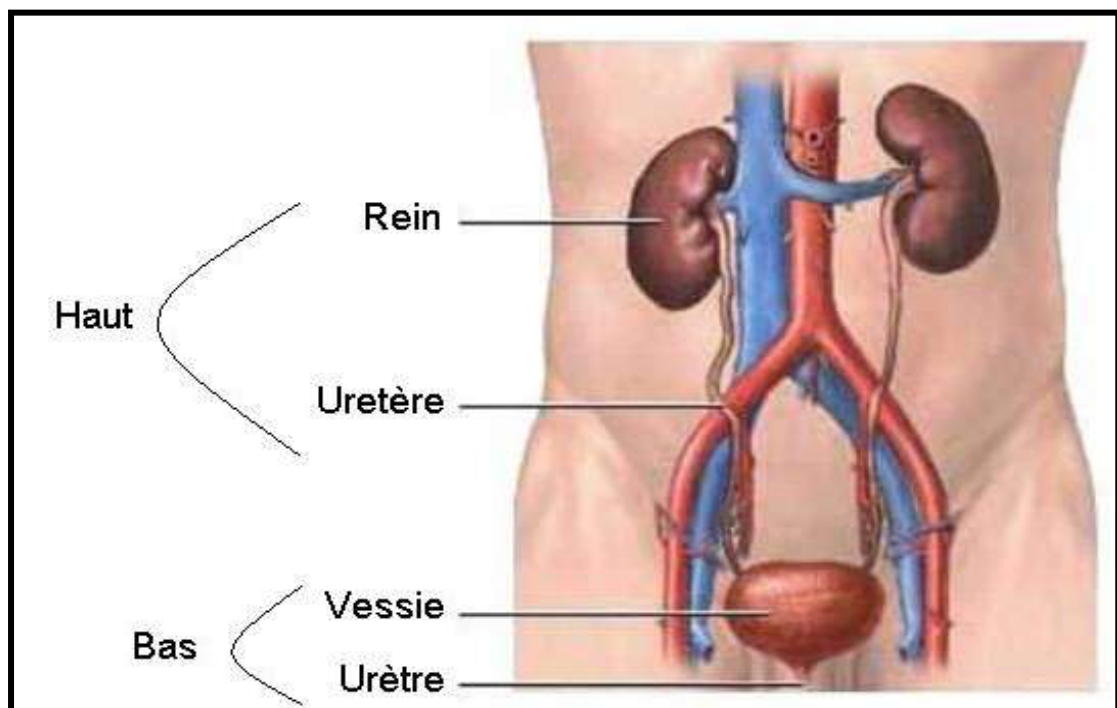


Figure I.1: Anatomie macroscopique de l'appareil urinaire (Florian C., 2011).

Le rôle le plus connu des deux reins consiste en la production de l'urine. Les bassinets et les uretères la drainent vers la vessie, où elle s'accumule jusqu'à son évacuation par l'urètre. Ce ne sont donc que des éléments évacuateurs (Rabiller J., 2013). Ainsi, il possède une fonction endocrine qui joue un rôle considérable dans la régulation des métabolismes de l'organisme (Nguyen T.Q.H., 2009).

I-2. Physiologie de l'appareil urinaire :

2-1. Rein

Les reins sont deux petits organes appartenant au système urinaire de couleur rouge foncé en forme de haricot. Ils sont logés contre la paroi abdominale postérieure,

en position rétropéritonéale (sous le péritoine pariétal) dans la région lombaire supérieure. Habituellement, le rein droit est un peu plus bas que le gauche, un rein mesure en moyenne 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur. Sa taille peut diminuer en cas d'insuffisance rénale chronique (Marieb E.N., 2008). Comme ils filtrent le sang et permettent l'équilibration continue de sa composition, les reins sont très vascularisés. Le quart environ du volume sanguin total de l'organisme (1,2L/min) passe à travers les reins (Marieb E.N., 2008).

Le néphron est l'unité structurale et fonctionnelle des reins (Figure I.2). Il assure la formation de l'urine qui est le résultat de trois processus : la filtration, la réabsorption tubulaire et la sécrétion tubulaire.

Chaque rein comporte plus d'un million de néphrons situés dans le tissu interstitiel où cheminent également les vaisseaux sanguins rénaux et les nerfs (Nguyen T.Q.H., 2009).

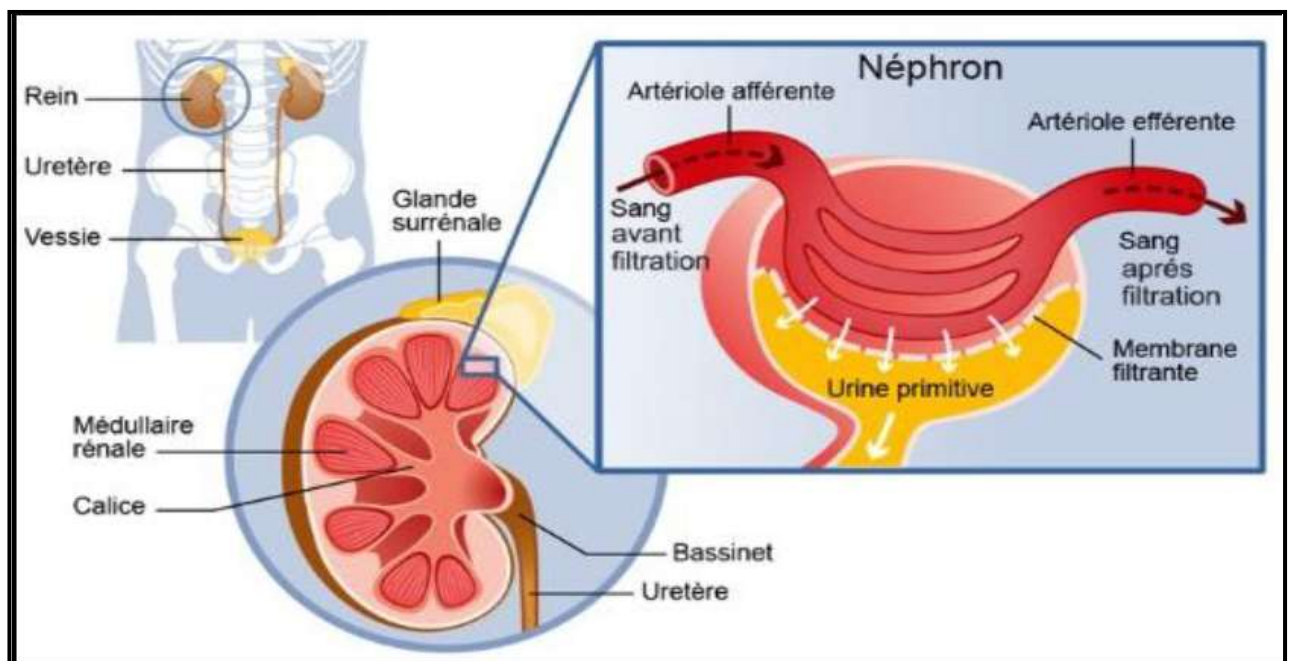


Figure I.2: Schéma structure du rein et du néphron (Nguyen T.Q.H., 2009)

2-2. Fonction exocrine (Production de l'urine) :

Chaque jour, les reins transforment plus de 150 litres de plasma en environ 1 à 1,8 litres de liquide hautement concentré : l'urine (Rabiller J., 2013). Ils filtrent et traitent le plasma en excréant dans l'urine des déchets métaboliques et les ions qui sont en excès, puis ne renvoient dans le sang que les substances nécessaires dans les bonnes proportions (Marieb E.N., 2008).

D'autres systèmes de l'organisme participent aussi à l'excrétion telle que la peau et les poumons mais l'élimination des déchets azotés, les toxines et les médicaments relève principalement des reins (Marieb E.N., 2008).

Un exemple d'élimination de tels déchets est illustré par la réaction chimique dont l'équation est la suivante :



D'autres déchets sont éliminés notamment l'acide urique provenant de la dégradation d'ARN et ADN et la créatinine, déchet de l'action musculaire. La formation de l'urine est le résultat de trois processus (Figure I.3) : Filtration, réabsorption et sécrétion.

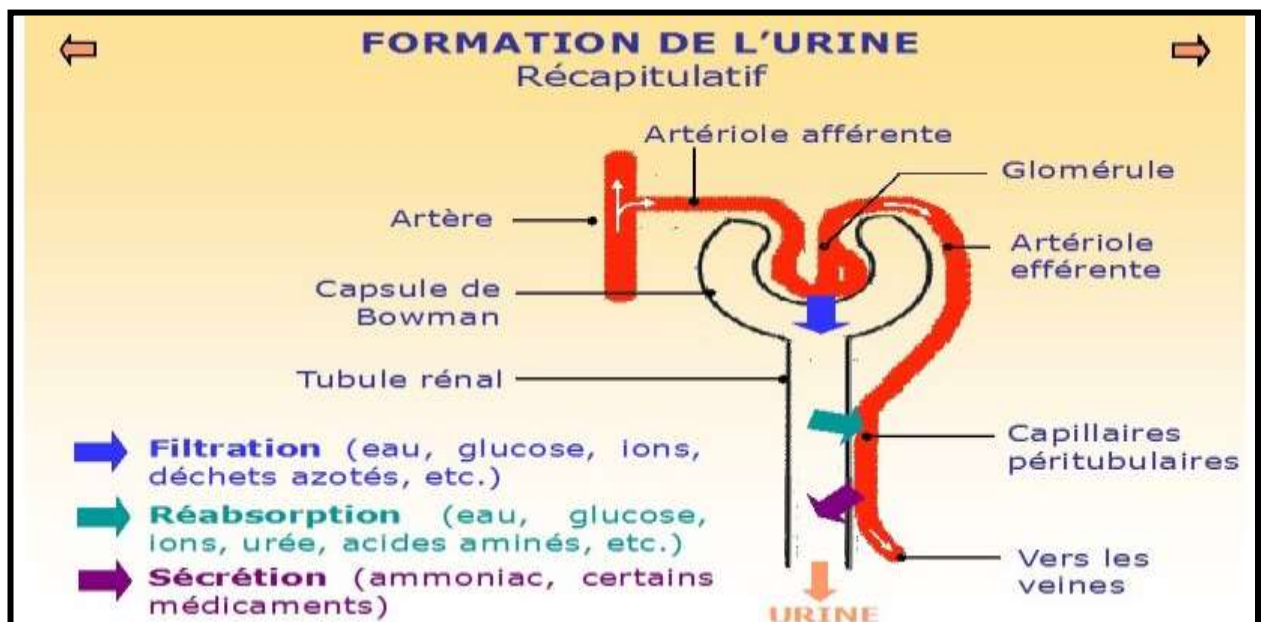


Figure I.3 : Formation de l'urine (Dr. A. GUENDOOUZ, 2019).

2-2-1. Filtration glomérulaire :

La filtration glomérulaire est un processus unidirectionnel, passif et non sélectif, qui se passe au niveau des glomérules (Capsule de Bowman). Ces derniers agissent comme un filtre qui ne laisse passer que les molécules de faible poids moléculaire (Rabiller J., 2013).

Cette filtration glomérulaire produit une "urine primitive" qui a approximativement la même composition ionique que le plasma mais qui est dépourvue de cellules sanguines et de macromolécules.

L'urine primitive subit ensuite des changements de composition pour devenir l'urine finale (Marieb E.N., 2008).

2-2-2. Réabsorption tubulaire :

Pendant le passage du filtrat dans les tubules, en utilisant l'ATP, de nombreuses substances seront réabsorbées et renvoyées dans le sang (notamment l'eau, le glucose, les acides aminés, les ions) pour le maintien de l'homéostasie. Ce mouvement sélectif contenu dans les tubules vers le plasma est la réabsorption tubulaire (Nguyen T.Q.H., 2009). Environ 178,5 Litres sur les 180 Litres filtrés sont réabsorbés.

La différence de 1,5 Litres est éliminée sous forme de l'urine (Marieb E.N., 2008).

2-2-3. Sécrétion tubulaire :

Il s'agit du transport sélectif des substances telles que les ions H^+ , les ions K^+ et la créatinine du sang des capillaires péri-tubulaires vers la lumière des tubules pour être éliminés dans l'urine.

Ce processus semble important dans l'élimination des substances qui ne se trouvent pas déjà dans le filtrat (comme certains médicaments et certaines toxines) ou dans la régulation de pH sanguin (Rabiller J., 2013).

2-2-4. Composition de l'urine :

L'urine est généralement claire et sa couleur jaune va du pâle à l'intense. Cette couleur est attribuable à la présence d'urobiline, un pigment qui résulte de la destruction de l'hémoglobine des globules rouges.

Plus il y a de solutés, plus sa couleur jaune est intense. Elle est normalement sans odeur (Rabiller J., 2013).

Elle est composée principalement de déchets azotés et de substances inutiles pour l'organisme (les ions Na^+ et K^+ , l'urée, l'acide urique, la créatinine, l'ammoniac, les ions bicarbonates et d'autres ions).

Les quantités des différents solutés dans l'urine sont très inégales et la concentration de chacun d'eux dans l'urine par rapport au plasma est également très différente (Marieb E.N., 2008 ; Rabiller J., 2013).

Son pH est légèrement acide aux environs de 6, mais il peut devenir beaucoup plus acide, ou beaucoup plus alcalin selon le métabolisme et le régime alimentaire (Rabiller J., 2013).

La présence de substances anormales telles que le glucose, les protéines plasmatiques, les globules rouges, l'hémoglobine, les globules blancs et la bile dans l'urine facilite la formulation d'un diagnostic (Marieb E.N., 2008).

2-3. Fonction endocrine :

Les fonctions régulatrices de l'appareil urinaire ne s'arrêtent pas à ce niveau. Il a aussi la fonction d'une glande endocrine en sécrétant différentes hormones qui sont :

- ✓ L'érythropoïétine (EPO) qui stimule la formation des globules rouges,
- ✓ La rénine qui stimule la fabrication de l'angiotensine.

Enfin, les cellules rénales transforment la vitamine D en sa forme active et sécrètent la prostaglandine qui a un effet vasodilatateur et hypertenseur (Marieb E.N., 2008).

II- Lithiase urinaire :

II-1. Définition :

La lithiase rénale est une maladie métabolique multifactorielle à priori non infectieuse dérivant du le nom du grec « lithos » qui signifie pierre (Slimani Y., 2008), également appelée "pierres aux reins" (Figure I.4) (Dalibon P., 2015).

Le calcul étant une agglomération de cristaux liés par une matrice organique (**Daudon M. et al, 2008**). Ces cristaux seront dans la majorité des cas spontanément éliminés sans qu'aucun symptôme ne les relève. Dans les formes sévères ou négligées, la manifestation clinique est la colique néphrétique.

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente qui affecterait selon les pays de 4 à 20 % de la population adulte (Doré B., 2004), avec un taux de récurrence qui avoisine les 50% sur cinq ans (Docti, 2013). Elle peut affecter jusqu'à deux fois plus l'homme que la femme (Oussama A. et al, 2000).

La figure I.4 suivante, illustre un schéma d'un calcul de l'uretère :

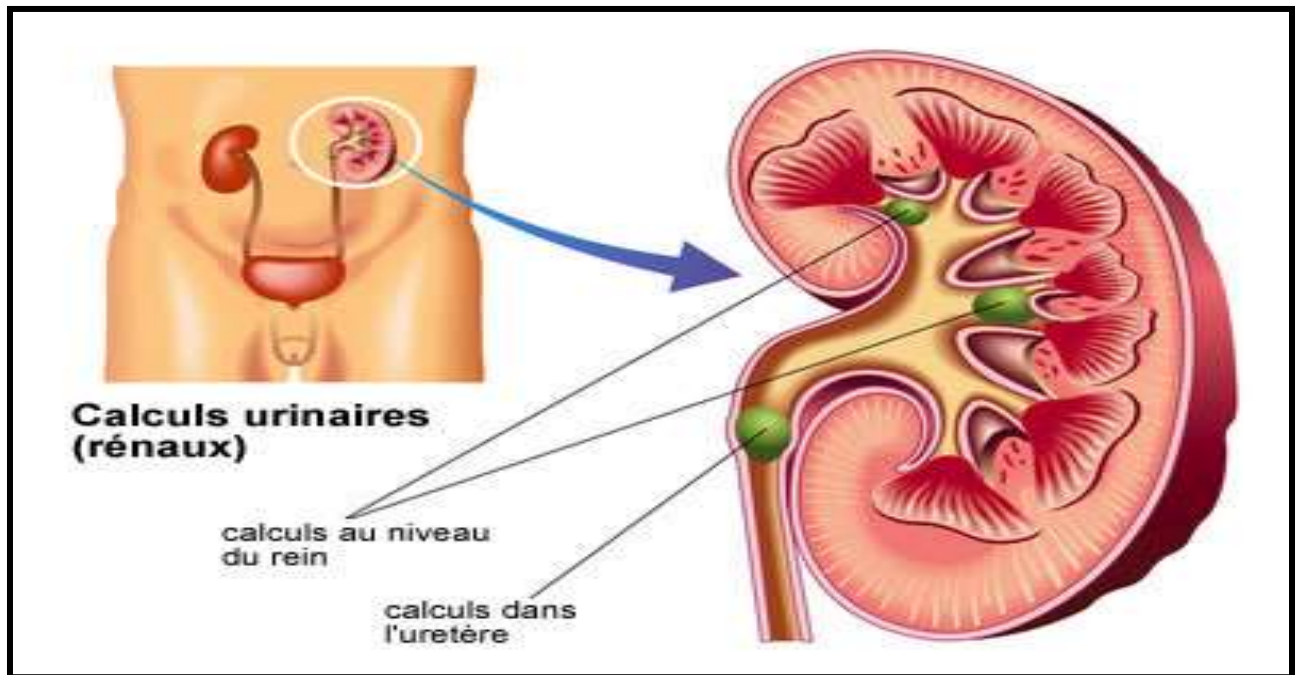


Figure I.4: Schéma d'un calcul de l'uretère (Dr. Marcelo THIEL, 2017).

II-2. Différents types des calculs :

Les calculs présentent une composition hétérogène dans 90 à 95% des cas. Ainsi, et pour des raisons de simplification, plusieurs publications limitent l'expression de la composition cristalline à l'espèce majoritaire (Daudon M. et al, 2005).

L'observation de 45 320 calculs a montré que la plupart des espèces cristallines pouvaient être reconnues par leurs caractéristiques structurales complétées par une technique de caractérisation par spectroscopie vibrationnelle et plus précisément par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (Daudon M. et al, 2012).

De telles observations, on a pu déterminer plusieurs types de calculs. Le tableau I.1, illustre ces différents types de calculs avec leurs noms minéralogiques et leurs formules chimique :

Tableau I.1 : Nom chimique, nom minéralogique et formule chimique des espèces cristallines observées dans les urines (Daudon M. et al, 2015)

Nom chimique	Espèce cristalline ou nom minéralogique	Formule
Oxalates de calcium	Whewellite	$\text{Ca}(\text{COO})_2, \text{H}_2\text{O}$
	Weddellite	$\text{Ca}(\text{COO})_2, 2\text{H}_2\text{O}$
	Caoxite	$\text{Ca}(\text{COO})_2, 3\text{H}_2\text{O}$
Carbonate de calcium	Calcite	CaCO_3
Phosphates de calcium	Hydroxyapatite	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$
	Carbapatites (dahllites)	$\text{Ca}_x\text{M}_y(\text{PO}_4)(\text{CO}_3)\text{OH}$
	Brushite	$\text{CaHPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$
	Phosphate octocalcique pentahydraté	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4), 5\text{H}_2\text{O}$
	Phosphates amorphes de calcium carbonatés	Diverses
Phosphates de magnésium	Newberyite	$\text{MgHPO}_4, 3\text{H}_2\text{O}$
	Bobierite	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2, 8\text{H}_2\text{O}$
	Phosphate trimagnésien pentahydraté	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2, 5\text{H}_2\text{O}$
Phosphate calciomagnésien	Whitlockite	$\text{Ca}_9\text{Mg}(\text{PO}_4)_6, n\text{H}_2\text{O}$
Phosphate ammoniacomagnésiens	Struvite	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4, 6\text{H}_2\text{O}$
	Dittmarite	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$
	Hannayite	$\text{Mg}(\text{NH}_4)_2(\text{HPO}_4)_2, 6\text{H}_2\text{O}$
Acide uriques	Uricite	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4$
	Acide urique monohydrate	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4, \text{H}_2\text{O}$
	Acide urique dihydraté	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4, 2\text{H}_2\text{O}$
	Acide urique amorphe	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4, n\text{H}_2\text{O}$
Urates	Urate acide d'ammonium anhydre	$\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_4\text{N}_5$
	Urate acide de sodium monohydrate	$\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_3\text{N}_4\text{Na}, \text{H}_2\text{O}$
	Urate amorphe de potassium anhydre	$\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_3\text{N}_4\text{K}$
	Quadriurate de potassium	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{KN}_8\text{O}_6$
	Urate de sodium et potassium	$\text{C}_5\text{H}_2\text{O}_3\text{N}_4\text{NaK}$
	Urate acide de calcium hexahydraté	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_6\text{N}_8\text{Ca}, 6\text{H}_2\text{O}$
	Urate acide de magnésium hexahydrate	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_6\text{N}_8\text{Mg}, 6\text{H}_2\text{O}$
Dioxypurines	Xanthine	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2\text{N}_4$
	Dihydroxy-2,8-adenine	$\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_2\text{N}_5$
Pyrimidine	Orotate de potassium	$\text{KC}_5\text{H}_3\text{O}_4\text{N}_2$
Aminoacides	Cystine	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}_2$
	Tyrosine	$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$
	Leucine	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$

2-1. Oxalates de calcium :

Les oxalates de calcium (Figure I.5) sont largement décrits comme étant les principales composantes inorganiques des calcifications pathologiques (Leroy C., 2016).

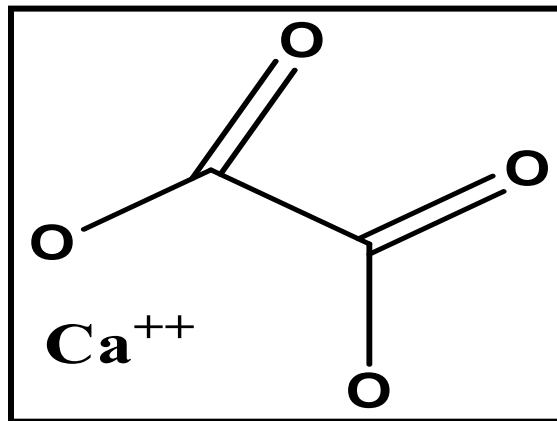


Figure I.5: Espèce chimique d'Oxalate de calcium.

Les calculs d'oxalate de calcium sont le type de néphrolithiase le plus courant (Assadi F. et al, 2017).

Toutefois, les cristaux de OxCa se présentent couramment en deux catégories différentes formes : (Fig. I.6) :

- ✓ Oxalate de calcium monohydrate (OCM) : Connue sous le nom minéralogique de whewellite (a). C'est la forme cristalline la plus couramment observée (77,98%). Elle a pour principale étiologie une hyperoxalurie et est très dure (El Kabbaj S. et al, 2000).
- ✓ Oxalate de calcium dihydraté (OCD) : connue sous le nom minéralogique de weddellite de formule chimique $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (b),

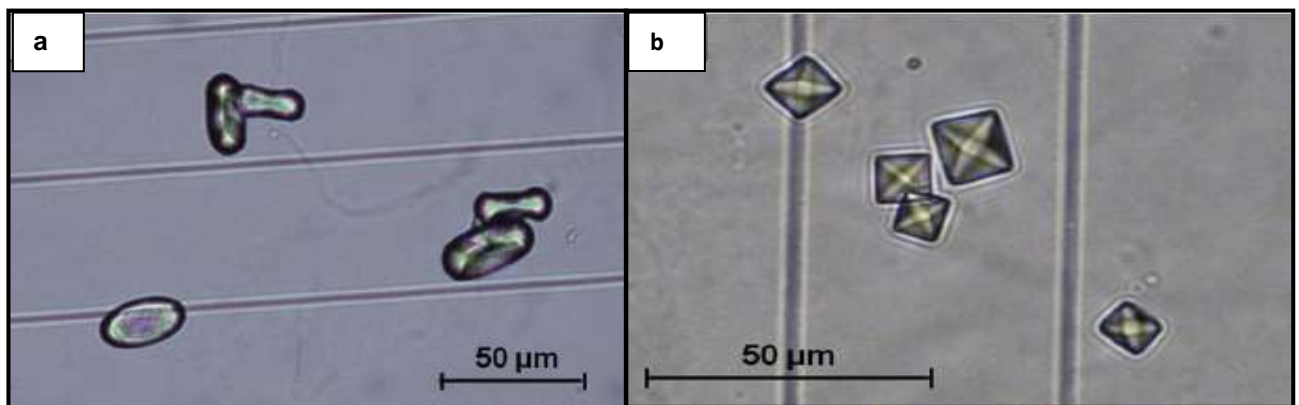


Figure I.6: Cristallurie mixte de weddellite et de whewellite en MOLP :

(a) Cristaux ovales typiques de la whewellite à noyau déprimé.

(b) Cristaux bipyramidaux (octaédriques) de Weddellite. (Daudon M. et al, 2016).

Chaque forme est convertible en une autre forme. L'OCD se transforme en OCM qui est la forme thermodynamiquement la plus stable et la moins soluble.

Par contre, l'OCM peut se transformer en OCD dans un environnement enrichi en inhibiteurs (Daudon M. et al, 1984).

2-2. Acide urique :

Les espèces cristallines d'acide urique ont la formule chimique brute $C_5H_4N_4O_3$ (Figure I.7 et I.8) (Saderne S., 2013).

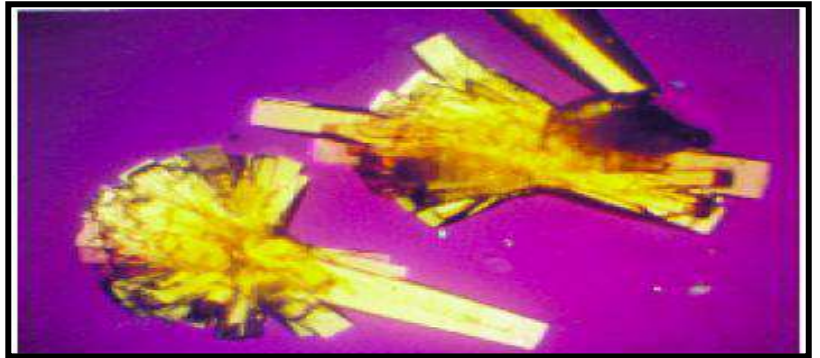
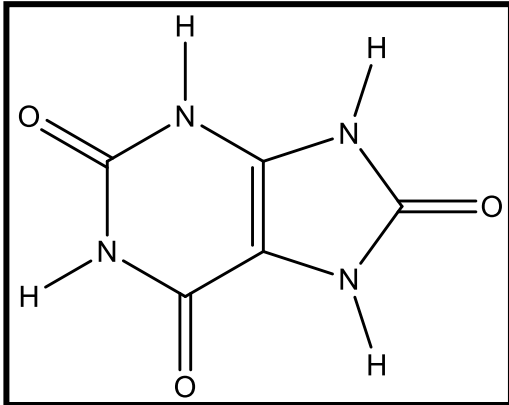


Figure I.7: Espèce chimique composée de volumineux agrégats et de cristaux d'acide urique. **Figure I.8 :** Cristallurie d'acide urique dihydraté, tubulaires, vu par MOLP (Kaid-Omar Z. et al, 1999).

C'est une molécule quasiment insoluble dans l'eau résultant de la dégradation et de l'excrétion des purines.

Il existe sous deux formes : l'acide urique anhydre et l'acide urique dihydraté. Les deux grandes causes biochimiques de leur formation sont l'hyperacidité permanente des urines ($pH \leq 5,0$) et l'hyperuricémie (Doré B., 2004).

2-3. Phosphates de calcium :

Il existe deux formes d'espèces cristallines phosphate de calcium : brushite ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$) et carapatite $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (Figure I.9) (Leroy C., 2016). Cette dernière est la plus majoritaire. Par contre, les brushites sont une forme très récidivante dont les calculs sont difficiles à fragmenter par les ondes de choc (Sekkoum K. et al, 2010 ; Daudon M. et al, 2011).

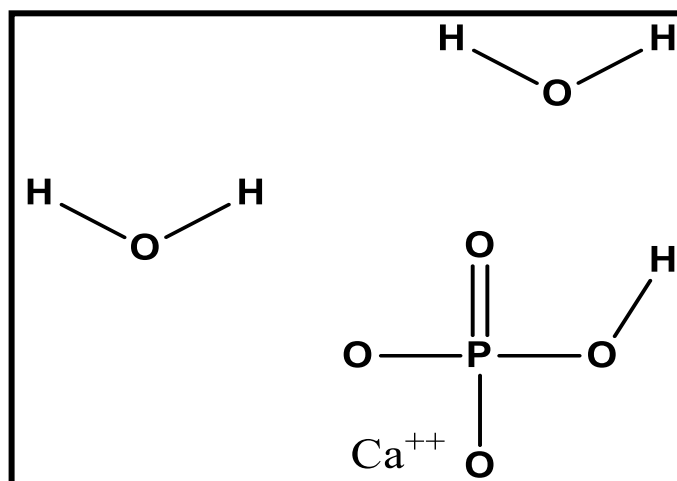


Figure I.9: Espèce chimique d'brushite.

La brushite est une espèce cristalline que l'on trouve principalement dans les urines avec une hypercalciurie avec une certaine hyperphosphaturie et un pH de près de 6,4 (Figure I.10) (Daudon M. et al, 2016).

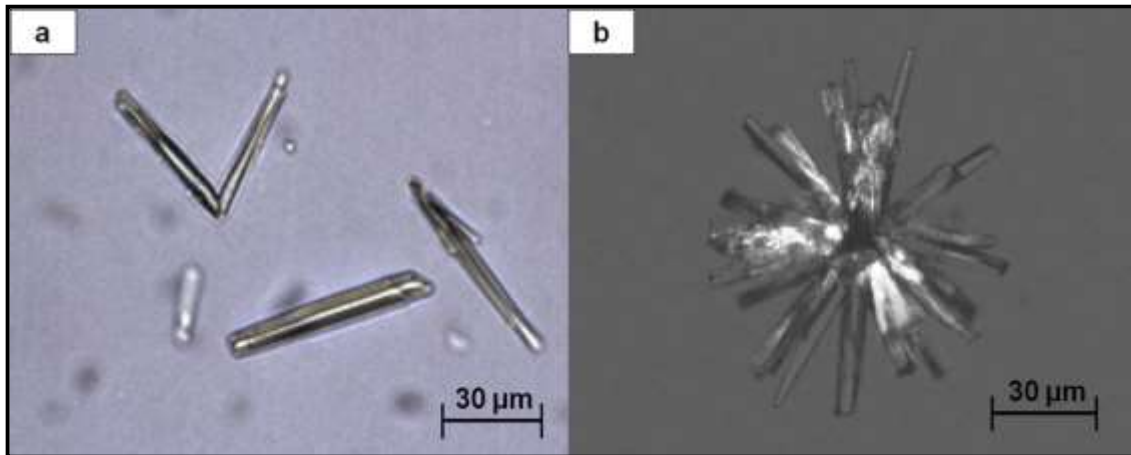


Figure I.10: (a) Cristaux de brushite en forme de tige.

(b) Agrégat de cristaux de brushite en MOLP (Daudon M. et al, 2016).

L'hypercalciurie, quelle qu'en soit l'origine, est une cause métabolique fréquente de la lithiase phosphocalcique (Boslama S. et al, 2015). Cette dernière est favorisée par les suppléments en phosphore et en vitamine D prescrites pour protéger l'os (Daudon M. et al, 2011).

2-4. Urate d'ammonium :

L'urate d'ammonium est un type moins fréquent mais néanmoins présent. Il a pour formule chimique brute $C_5H_7N_5O_3$. L'origine de l'urate d'ammonium est souvent très différente de celle de l'acide urique et relève schématiquement de deux mécanismes distincts ayant cependant un trait commun, l'hyperuricurie. La cause de cette hyperuricurie peut être métabolique, nutritionnelle et souvent les deux à la fois.

La cristallisation de l'urate d'ammonium nécessite, outre une hyperuricurie, un pH urinaire peu acide, voire alcalin et une concentration élevée en ions ammonium (Figure I.11) (Daudon M. et al, 2004). Elles sont davantage urico-dépendants que pH-dépendants (Kaid-Omar Z. et al, 1999).

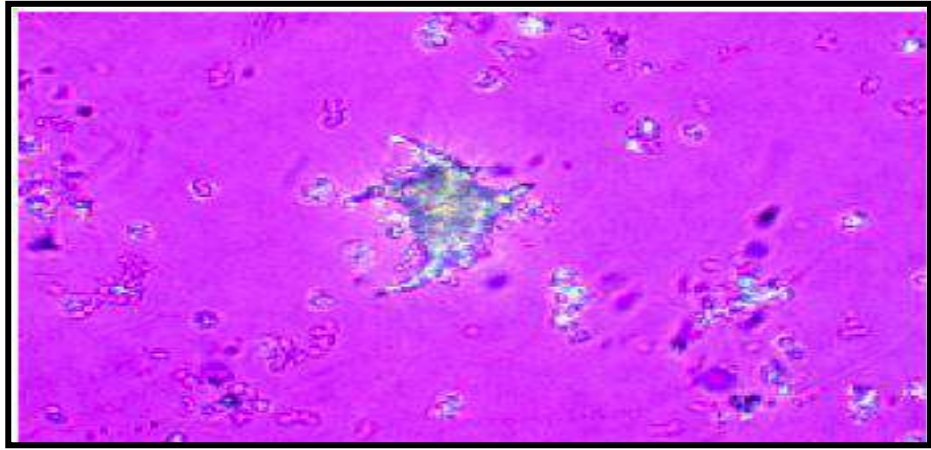


Figure I.11: Cristallurie d'urate acide d'ammonium en MOLP.

On reconnaît l'urate d'acide d'ammonium grâce à de telle forme irrégulière de l'agrégat central (Figure I.11), avec des excroissances irrégulières.

2-5. Calcul de cystine :

Les calculs de cystine résultent d'un excès de cystine urinaire, dû à un défaut génétique dans la réabsorption rénale d'acides aminés dibasiques, y compris la cystine (Grieff M. et al, 2013). La cystine a été isolée des calculs urinaires en 1810 par Wollaston (Thomas K. et al, 2014). Elle est de formule chimique $(SCH_2CHNH_2COOH)_2$ (Figure I.12).

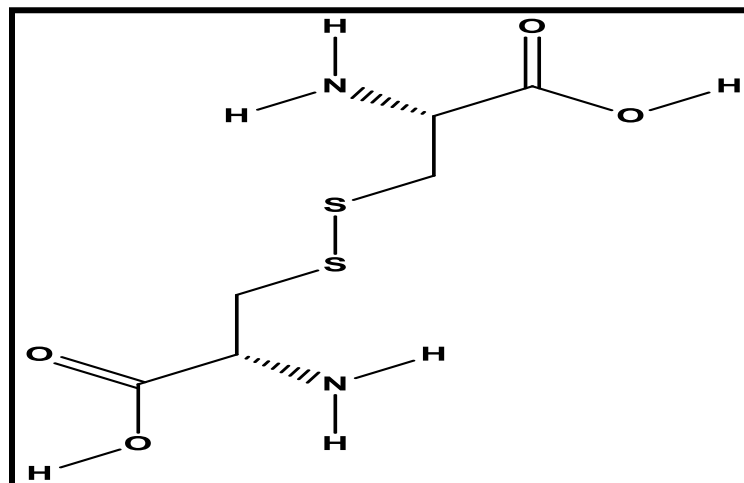


Figure I.12: Espèce chimique cystine.

La lithiase cystinique présente le plus faible pourcentage des composés des calculs rénaux (figure I.13). Elle est minoritaire dans certains pays avec quelques différences de fréquence d'un pays à l'autre (Sekkoum K. et al, 2010). Elle représente environ 0,5% de l'ensemble des lithiases de l'adulte (Daudon M. et al, 2011).

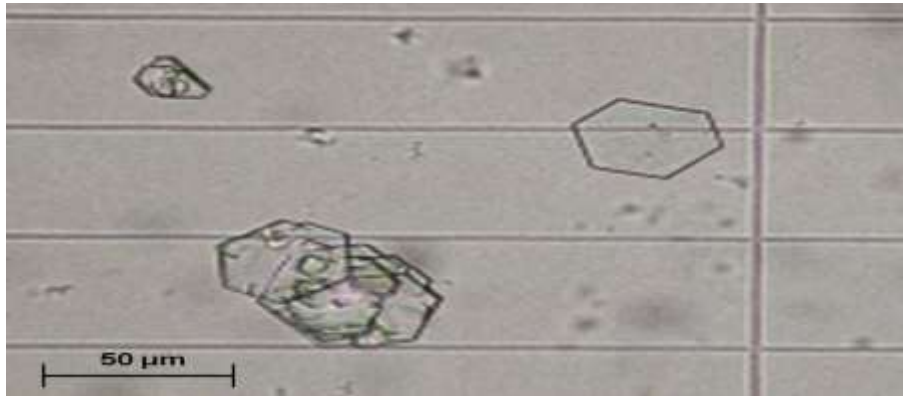


Figure 1.13: Agrégats de cristaux hexagonaux de cystine, en MOLP (Daudon M. et al,2016).

La cystinurie correspond à une altération du transporteur membranaire dans le tube proximal. Elle est responsable de lithiases multirécidivantes et, souvent, d'une altération de réabsorption tubulaire rénale de la cystine et des acides aminés basiques (ornithine, lysine, arginine) qui évolue rarement vers l'insuffisance rénale terminale (Daudon M. et al, 2011).

La consanguinité est un facteur favorisant la cystinurie qui se transmet selon le mode autosomique récessif (Bousslama S. et al, 2015). La cristallurie faite d'acide urique dihydrate suggère une ammoniagenèse rénale défectueuse telle qu'observée dans le syndrome métabolique ou le diabète de type 2 (Mbarki M. et al,2005).

2-6. Calculs médicamenteux :

Les calculs d'origine médicamenteuse représentent environ 1 % de l'ensemble des calculs (Daudon M. et al, 2011). Les calculs médicamenteux peuvent être divisés en deux grandes catégories :

- ✓ D'une part, celles qui résultent de la cristallisation urinaire d'un médicament ou d'un métabolite peu soluble dont l'excrétion urinaire est importante. Ce sont, pour la plupart, des anti-infectieux au sens large : antiseptiques, antibiotiques et antiviraux tels que les nitrofuradoïne, sulfamides, triamtérène, allopurinol (Slimani Y., 2008) ;
- ✓ D'autre part, celles liées aux effets métaboliques des médicaments sur l'excrétion de solutés lithogènes ou sur le pH urinaire contribuant aussi à augmenter la sursaturation en composés habituels des urines (Servais A. et al, 2006). Ainsi la composition chimique de l'urine étant modifiée dans le sens d'une plus grande tendance à la cristallisation.

C'est le cas du triamtèrene (Teriam), de l'allopurinol (Zyloric), des sulfamides (Bactrim), de l'amoxicilline (Clamoxyl), de l'indinavir (Crixivan) dans les trithérapies pour HIV (Traxer O., 2007).

II-3. Lithogénèse

La lithogénèse est un processus plurifactoriel qui conduit de la sursaturation des urines jusqu'à la formation des calculs. Elle se traduit par une cascade d'évènements qui se déroulent rarement de manière continue mais au généralement de façon intermittente, selon la variation biochimique urinaire (Daudon M. et al., 2011 ; Fellahi T.S., 2011).

La lithogénèse comporte plusieurs phases (Figure I.14) :

1. **La sursaturation des urines** : C'est le moteur de la formation de cristaux dans les reins ;
2. **La germination cristalline** : Le niveau de sursaturation à partir duquel les cristaux se forment rapidement, Les cristaux engendrés par une sursaturation élevée des urines sont initialement très petits (< 100 nm) ;
3. **La croissance cristalline** : Les cristaux vont grossir plus ou moins rapidement par captation de nouvelles molécules de la substance sursaturée présente dans l'urine et former des particules plus grosses, comprises, selon les espèces cristallines et la composition urinaire, entre 1 et 100µm ;
4. **La phase d'agrégation ou agglomération cristalline** : Elle met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, est un processus rapide. Elle peut, de ce fait, engendrer des particules volumineuses (des macromolécules urinaires) dans un délai très court contribuant ainsi à l'architecture du calcul ;
5. **La rétention des particules cristalline** : Les particules cristallines formées au cours des différentes phases de la cristallogénèse vont être retenues dans le rein ou les voies urinaires et vont croître pour former un calcul ;
6. **La formation et croissance des calculs** : La vitesse de croissance du calcul initié par la rétention cristalline est ensuite très variable, dépendant du niveau de sursaturation des urines et donc de la nature des anomalies métaboliques présentes.

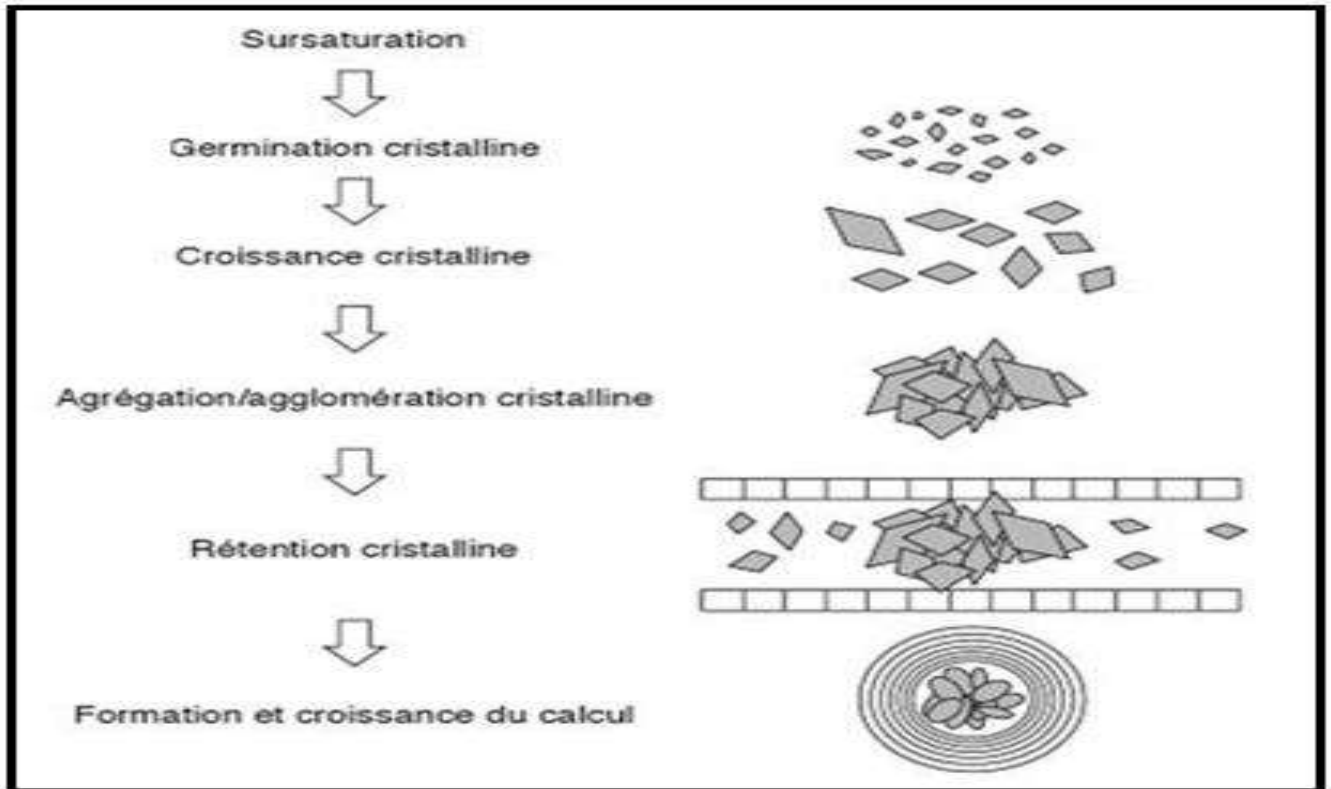


Figure I.14 : Etapes de la lithogénèse (Daudon M. et al, 2008 et 2012).

La formation des calculs résulte du déséquilibre entre les facteurs promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse (Soula M., 2009). Cet équilibre peut être rompu soit par un excès des promoteurs, soit par un déficit des inhibiteurs (Hannache B., 2014).

3-1. Promoteurs de la lithogénèse :

Dans les urines, normalement, il existe un équilibre entre promoteurs et inhibiteurs de cristallisation. Cet équilibre peut être rompu soit par un excès des promoteurs, soit par un déficit des inhibiteurs.

Les promoteurs de la cristallisation sont : les ions tel que calcium, oxalate, potassium, phosphate, urate ... etc participe à la formation des espèces insolubles (Tableau I.2). Ils s'associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable peu soluble (Fellahi T.S., 2011 ; Daudon M. et al, 2008).

Tableau I.2 : Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines (Daudon M. et al, 2008).

	Promoteurs	Substances cristallisables	Espèces cristallines
Oxalates	Oxalate	Oxalates de calcium	Whewellite, weddellite, caoxite
	Calcium	Phosphates de calcium	Carbapatite, brushite, phosphate octocalcique pentahydraté, PACC
Phosphates	Phosphate	Phosphates de calcium et magnésium	Whitlockite
	Magnésium	Phosphates ammoniacomagnésiens	Struvite, dittmarite
Purines	Ammonium	Urate d'ammonium	Urate d'ammonium anhydre
	Urate	Acide urique	Uricite, acide urique monohydraté, acide urique dihydraté.
	Sodium	Urate de sodium	Urate acide de sodium monohydraté
	Potassium	Urate de sodium et potassium	Urate de sodium et potassium
		Urate de potassium	Urate acide de potassium anhydre
	Dihydroxy-2,8-adénine	Dihydroxy-2,8-adénine	Dihydroxy-2,8-adénine
	Xanthine + H ⁺	Xanthine	Xanthine
Cystine + H ⁺	Cystine	Cystine	

La lithiase oxalocalcique est caractérisée par un mécanisme lithogénique multifactorielle et complexe (Ernandez T. et al, 2013). Elle fait intervenir un déséquilibre entre une concentration urinaire excessives en solutés promoteurs tels que l'oxalate, le calcium et une teneur insuffisante en substances inhibitrices (Daudon M. et al, 2000).

Par contre, une concentration élevée en urate est une substance promotrice de la formation d'acide urique. Ainsi, les sujets atteints de goutte, avant l'instauration de traitement actifs, 20% d'entre eux présentent une lithiase urique (Hannache B., 2014).

3-2. Inhibiteurs de la lithogénèse :

Les inhibiteurs sont définis comme des molécules qui augmentent le seuil de sursaturation nécessaire à l'initiation de la nucléation, qui ralentissent la croissance cristalline et qui inhibent secondairement la nucléation.

En outre, les inhibiteurs sont des molécules qui augmentent le seuil de sursaturation nécessaire à l'initiation de la nucléation ralentissant la croissance cristalline et inhibant la nucléation (Fellahi T.S., 2011). L'inhibition peut porter sur l'une des différentes étapes de la formation cristalline : nucléation, croissance, agrégation et rétention (Daudon M. et al, 2012). Il existe deux catégories des inhibiteurs de la lithogénèse et sont classés selon leur mécanisme d'action :

- Les inhibiteurs de faible poids moléculaire : tel que Fe^{3+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} et citrate. Ces molécules ioniques urinaires agissent en formant un complexe soluble avec les substances cristallisables et diminuant ainsi la sursaturation. Ainsi, les anions du citrate, considérés comme l'un des principaux inhibiteurs, permettent de diminuer la sursaturation urinaire d'oxalate en formant des complexes solubles avec les ions calciques et agissent comme inhibeur de cristallisation (Hess B., 2001). Le magnésium agit essentiellement comme chélateur des ions oxalates. Il se complexe avec l'oxalate sous forme d'oxalate de magnésium très soluble diminuant la quantité d'ions oxalate disponibles pour fixer le calcium (Resnick M.I. et al, 1982).
- Les inhibiteurs de haut poids moléculaire tels que : protéine, protéine de tamm-horsfall (PTH), néphrocalcium, fibronectine ... etc qui exercent leurs actions directement sur les cristaux en bloquant les sites de croissance situés à leur surface (Doré B., 2004) et en s'opposant à l'agrégation et à leur fixation sur l'épithélium des tubes rénaux des voies urinaires (Wesson J.A. et al, 1998).

Il faut noter que des synergies ont été observées entre inhibiteurs de faible et de haut poids moléculaire. Ainsi, les ions de citrate contribuent à préserver l'activité anti-agrégant de la PTH (Hesse A. et al, 1976). La meilleure prévention de la lithiase consiste à passer principalement par la réduction de la concentration des solutés promoteurs et par une supplémentation en inhibiteurs de faible poids moléculaire tel que le citrate (Jungers P. et al, 1999).

3-3. pH urinaire :

Le pH urinaire exerce une influence considérable sur plusieurs molécules promotrices et inhibitrices de la lithogénèse, sur la solubilité des espèces cristallines et sur la précipitation de certains types de cristaux (Doré B., 2004).

Habituellement, le pH physiologique varie entre 5,5 et 7,0 (Brandi G. et al, 2008). L'urine à jeûne (urine du matin) est un indicateur de conclusion pathogénique. Un pH

d'urine à jeun inférieur à 5,3 (urine trop acide) favorise la précipitation de l'acide urique avec production d'une lithiase urique pure car la solubilité d'acide urique non dissocié n'est que de 0,54 mmol/L (Hesse A. et al, 1993).

Une autre caractéristique des espèces constituant les cristaux urinaires est le pH. Le tableau I.3 ci-dessous illustre, par exemple, que certains cristaux ont tendance à se retrouver en milieu acide et que d'autres ont tendance au milieu basique.

Tableau I.3: pH de quelques espèces chimiques de cristaux urinaires.

pH acide	pH alcalin
Acide urique	Phosphates Amorphes
Urates Amorphes	Struvite <i>Les cristaux de phosphates ammoniacomagnésiens</i>
Oxalate de calcium	Urates d'Ammonium
Cystine	Phosphates de calcium
	Carbonates de calcium

Tandis qu'un pH moins acide (pH entre 5,3 et 5,8) est souvent associé à des cristalluries mixtes faites tantôt d'acide urique, tantôt d'oxalate de calcium ou du mélange des deux espèces cristallines (Tazi El Pardy N., 2014).

Par contre, un pH basique favorise la précipitation de phosphate de calcium sous forme de carbapatite ou de phosphate amorphe de calcium carbonaté (Fellahi T.S., 2011).

Les struvites étant très solubles à pH acide, elles se formeront plutôt à pH alcalin contrairement aux oxalates de calcium dont la solubilité est peu influencée par le pH (Figure I.16). Des valeurs de pH d'urine à jeun supérieur à 5,8 sont un indice de trouble d'excrétion acide rénale de type d'une acidose tubulo-rénale distale (le plus souvent incomplète) et est souvent accompagnée d'une hypocitraturie (Hess B., 2001).

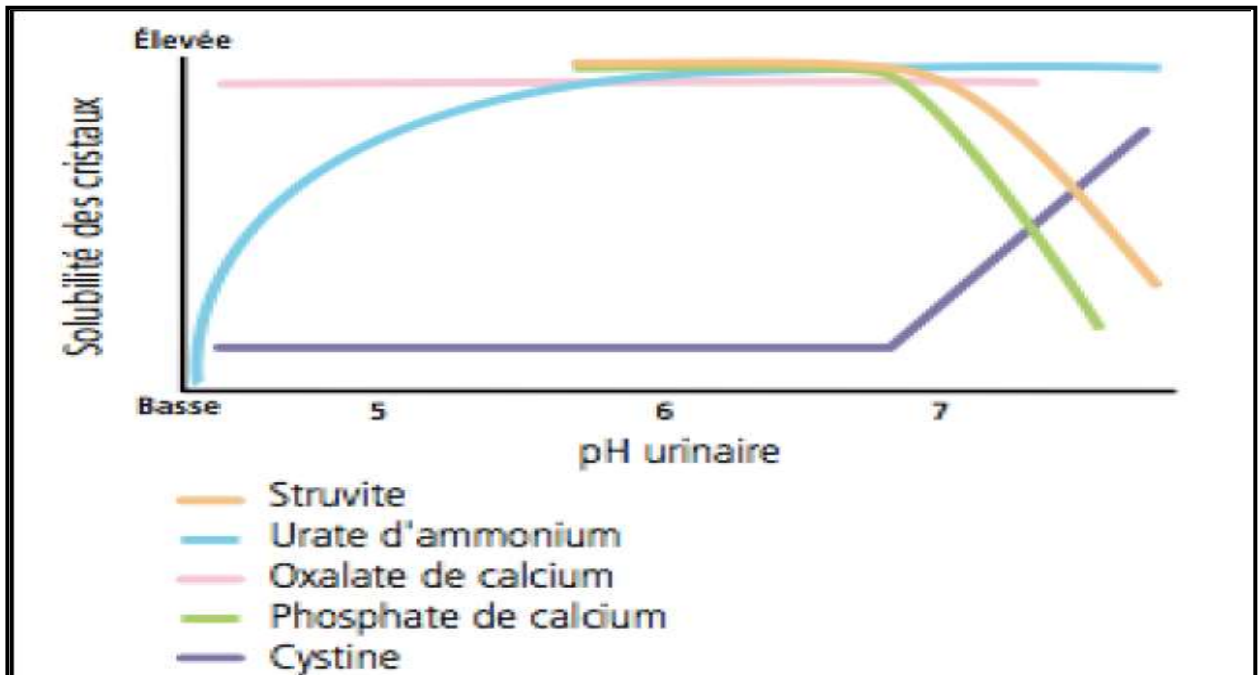


Figure I.15 : Solubilité des cristaux à pH urinaire (Pibot P. et al, 2010).

3-4. Facteurs de la lithiase urinaire :

De nombreux facteurs favorisent la formation des calculs dans les voies urinaires. Parmi ces facteurs on retrouve :

3-4-1. Facteurs nutritionnels :

D'après les enquêtes épidémiologiques, le comportement nutritionnel inadapté des personnes lithiasiques, qui peut relever une anomalie métabolique urinaire, et par conséquent la formation de calculs (Daudon M. et al, 2005). Le tableau suivant résume l'ensemble des effets directs et indirects d'habitudes alimentaires dans les mécanismes lithogènes.

Tableau 1.4 : Rôle des apports alimentaires dans la lithogénèse (Daudon M. et al, 2005).

Apport alimentaire	Mécanismes
Effets directs	
Élevé en calcium	Hypercalciurie
Élevé en oxalate	Hyperoxalurie
Élevé en purines	Hyperuricurie
Faible en fibres végétales	Hypercalciurie et oxalurie
Faible en boissons	Augmentation de la concentration des purines
Effets indirects	
Élevé en protéines	Hypercalciurie, pH urinaire acide, Hypocitraturie
Élevé en lipides	Hyperoxalurie
Élevé en sucres raffinés	Hypercalciurie
Élevé en sel	Hypercalciurie

Les aliments lithogènes sont actuellement bien connus : Les protéines animales, le sel et les sucres d'absorption rapide consommés de manière excessive engendrent une acidification urinaire, une augmentation de l'excrétion de calcium et de l'acide urique. Généralement, des apports caloriques excessifs réguliers ainsi qu'un apport hydrique insuffisant engendrent une sursaturation urinaire et favorisent la formation de lithiase rénale.

La grande majorité des lithiases relève d'anomalie métabolique urinaire induite par des comportements nutritionnels inadaptés (Fellahi T.S., 2011). Au Maroc, où la consommation alimentaire se rapproche de plus en plus de ceux des pays industrialisés, une étude s'est consacrée à l'évolution de la consommation alimentaire en Europe par rapport au XIX^{ème} siècle montre : Une consommation de sucre raffiné multipliée par 20, celles de graisse par 10, celle de protéine animale par 5 et celle de sel par 3 (Jungers P. et al, 2008). Parallèlement, la consommation des fibres a diminué.

Or, les apports élevés en protéines animales diminuent l'acide citrique urinaire, puissant agent antilithiasique et augmentent la calciurie et l'uricurie qui précipitent facilement les cristaux à pH acide. Les apports élevés en graisses, les aliments riches en oxalate (rhubarbe, chocolat noire ...) favorisent l'oxalurie (Docti, 2013).

Le citron, par sa richesse en potassium, est un puissant alcalinisant. Par ailleurs les agrumes sont riches en citrate, un composé qui contribue à prévenir la formation de calculs dans les urines ; le jus de tomate également (Mignon L. et al, 2015). En

revanche, il faudrait éviter la vitamine C en complément alimentaire car l'acide ascorbique se convertit en oxalate. Pour un patient lithiasique les apports en vitamine C ne devraient pas dépasser 500 mg par jour, que l'on trouve aisément dans l'alimentation.

De même, il faudrait éviter le thé et le chocolat qui sont riches en oxalate (Mignon L. et al, 2015). Les apports hydriques restent le premier facteur déclenchant la lithiase urinaire. Un apport hydrique insuffisant ou mal réparti au cours de la journée provoque une augmentation de la concentration des solutés lithogènes qui peut aggraver un déséquilibre entre promoteurs et inhibiteurs de la cristallisation (Fellahi T.S., 2011).

3-4-2. Anomalies morpho-anatomiques des voies urinaires :

Globalement au moins 10% de l'ensemble des calculs urinaires seraient associés à une anomalie anatomique de l'appareil urinaire (Fellahi T.S., 2011). Habituellement cette anomalie provoque :

- Un ralentissement de flux urinaire ;
- Une cristallisation des espèces en sursaturation ;
- Une prolifération de bactéries lithogènes ou la rétention de particules cristallins formées plus haut dans l'appareil urinaire (Daudon M. et al, 2003).

3-4-3. Facteurs génétiques :

Les lithiases urinaires induites par les maladies héréditaires monogéniques sont relativement rares mais souvent sévères, résultant de deux mécanismes principaux :

- ✓ Erreurs innées du métabolisme : Sont caractérisées par une anomalie enzymatique responsable d'un excès de production d'un métabolite dont l'excrétion urinaire entraîne la cristallisation. Tel est le cas de hyperoxalurie qui peut résulter d'un trouble génétique autosomique récessif rare de la synthèse de l'oxalate (hyperoxalurie primaire types 1 et 2), d'une augmentation de l'absorption de l'oxalate intestinal secondaire à une malabsorption (Jungers P. et al, 2008);
- ✓ Tubulopathies congénitales : Les anomalies de transporteurs membranaires entraînent des altérations des mécanismes de réabsorption de calcium, du phosphore, du magnésium ou des aminoacides dibasiques. Par exemple : une altération du transporteur membranaire de la cystine dans le tube proximal provoque la cystinurie qui est la plus fréquente de ces tubulopathies (Jungers P. et al, 2008).

3-4-4. Facteurs environnementaux :

Il existe toute une série de facteurs environnementaux favorisant la formation des calculs. Plusieurs hypothèses ont été discutées :

- ✓ Le risque de lithogénèse augmente avec les déplacements vers des régions à température et à ensoleillement nettement plus élevés ;
- ✓ Un ensoleillement plus fort associé à la synthèse accrue de vitamine D ;
- ✓ Changement des habitudes alimentaires (Fellahi T.S., 2011).

3-4-5. Facteurs médicamenteux :

La prise des médicaments lithogènes d'apparence métabolique tels que :

- ✓ Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique ;
- ✓ Supplémentation vitaminique D et calcique ;
- ✓ Acidifiants et alcalinisant urinaires (Daudon M. et al, 2011).

3-5. Méthodes et propriétés pharmacologiques des extraits organiques des plantes antilithiasiques :

L'utilisation des plantes médicinales remonte à plusieurs siècles. Une large étude a été menée sur l'effets de l'utilisation de certaines plantes marocaines de manière traditionnelle contre les troubles rénaux tels que la lithiase urinaire, antilithiasiques des plantes médicinales marocaines, en utilisant diverses approches expérimentales, le tableau I.5 suivant illustre des résultats de cette étude :

Tableau I.5 : Utilisation traditionnelle de quelques plantes antilithiasiques marocaine et les propriétés pharmacologiques des leurs extraits

Espèces (familles)	Partie utilisée	Extrait	Méthode utilisée	Effets	Références
Crocus sativus (Iridaceae)	Stigmates	Extrait aqueux	Induction de néphrolithias e chez les rats par l'éthylène glycol	- Les traitements prophylactiques et curatifs avec du safran réduisaient les niveaux élevés de MDA (un produit de peroxydation lipidique) - Le safran peut protéger contre la néphrolithias e d'OxCa induit par l'éthylène glycol	Amin B. et al, 2015
Zingiber Officinale (Zingiberaceae)	Rhizomes	Extrait éthanoli que	Induction de néphrolithias e chez les rats par l'éthylène glycol	-L'extrait éthanolique de Z. officinale (EZO) a augmenté la production d'urine significativement par rapport au témoin. - Le traitement EZO a considérablement réduit l'excrétion urinaire de calcium de phosphate, d'acide urique, de magnésium et d'urée _ Le dépôt accru de constituants formant les calculs dans les reins des rats a considérablement baisse par traitement curatif et préventif avec EZO	Lakshmi et Divya, 2015
Cynodon dactylon (Poaceae)	Racine	Extrait hydroal cooliqu e	Effet préventif contre l'induction de néphrolithias e chez les rats par l'éthylène glycol.	-Le nombre de depots a été significativement inferieur au groupe non trait avec l'extrait de plante. -C. dactylon a été capable de diminuer les calculs dans les reins dans le groupe traite avec l'extrait, -Le taux d'oxalate dans l'urine a diminué chez les rats néphrolithiasiques traités.	Khajavi A. et al, 2001

Le tableau I.5 résume l'effet antilithiasique essentiel de telles plantes médicinales marocaines ainsi que méthodes utilisées in vitro et in vivo pour révéler les effets d'extraction de ces plantes contre la formation des calculs.

La majorité des méthodes utilisées sur les calculs rénaux ont concerné l'oxalate de calcium car c'est le composé le plus dominant identifié dans les études épidémiologiques (Dami et al, 2015 ; Bouatia et al ; 2015, Boumzaoued et al, 2015).

III- Généralités sur le matériel végétal :

III-1. *Zizyphus lotus* L. (Jujubier) :

1-1. Systématique :

Le tableau suivant (tableau I.6), représente la classification du jujubier (*Zizyphus lotus* L.) :

Tableau I.6 : Classification de *Zizyphus lotus* L. :

Embranchement :	<i>Spermatophytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Rhamnales</i>
Famille	<i>Rhamnaceae</i>
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> L.

1-2. Description morphologique :

Le jujube, ou datte chinoise (*Zizyphus jujuba*, ou *Zizyphus zizyphus*) serait arrivé de Chine en Méditerranée (le nord d'Afrique), il y a 2000 ans avant Jésus Christ. C'est un fruit ovale ou rond, de couleur jaune, puis rouge-brique à pleine maturité.

Sa peau est fine et comestible, et sa chair blanche translucide est douce et parfumée. Les fruits se récoltent en septembre ou octobre quand ils se colorent bien et qu'ils sont bien rouges. On consomme ce fruit soit frais, soit en confiture.

C'est un fruit très nutritif, très riche en vitamine C et A, en fer et calcium et d'autres éléments tels que les flavonoïdes et les alcaloïdes.

Le Zizyphus lotus, communément appelé en Afrique du Nord "Sedra" ou "Nnbeg" (Bellakhdar J., 1997 ; Najjaa A. et Al 2020) est un arbuste fruitier, épineux, très ramifié, à grosse souche souterraine, de 2 à 4 mètres de haut ; présente des tiges à longs rameaux flexueux, en zigzag, d'un blanc grisâtre et il est peu exigeant en eau (Benammar C.E., 2011 ; Bonnet J., 2001) (Figure I.16).



Figure I.16 : Photographie d'arbuste de *Zizyphus lotus* L.

Les feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Les fleurs sont jaunes, pentamères et groupées en inflorescence cymeuses.

Les fruits (Figure I.17) sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux (Rsaissi N. et al, 2013 ; Ghalem M. et al, 2014). Ils sont cueillis parfaitement murs en septembre-octobre. C'est la période au cours de laquelle ils se détachent facilement (Bonnet J., 2001).



Figure I.17: Photographie du fruits et feuilles de *Zizyphus lotus* L..

Il existe plusieurs espèces dont voici quelques-uns :

- *Zizyphus Jujuba* (jujube chinois) ;
- *Zizyphus Mauritiana* L. : jujubier indien c'est un arbuste à rameaux cotonneux et à feuilles tomenteuses dessous ; fruits très petits ;
- *Zizyphus spina-christi* L. Wild. : C'est un arbuste, très épineux avec des rameaux flexibles, grêle disposée en zigzag pouvant atteindre 6 m ; à feuilles ovales glauques et à petits fruits globuleux, plus ou moins ovoïdes (d'environ 15 mm), à pulpe charnue comestible,

- *Zizyphus lotus* L. appelé également jujubier des Lotophages ou jujubier de Berbérie pousse sur les rives sud de la Méditerranée jusqu'en Afghanistan (Benammar C.E., 2011).

1-3. Usage traditionnel de zizyphus lotus :

Cette plante est employée dans la nutrition, la santé et les cosmétiques. En outre, dans la médecine traditionnelle, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, *Z. lotus* est administré en tant que :

- ✓ Agent sédatif, pectoral, émollient en utilisant les fruits, feuilles et/ou racines en décoction et macération (Kemassi A. et al, 2014 ; Boual Z. et al, 2015) ;
- ✓ Agents analgésique, tonique et anti-inflammatoire (El Hachimi F. et al, 2017 ; Claudine R., 2007 ; Borgi W. et al, 2007) ;
- ✓ Agent antidiabétique comme hypoglycémiant en utilisant les racines en décoction (Allali H. et al, 2008) ;
- ✓ Il est également, utilisé pour atténuer les maux gastro-intestinaux (Bakhtaoui F. et al, 2014) ;
- ✓ Contre les piqures des vipères au Sahara en utilisant les feuilles (Benchalah A. et al, 2004) ;
- ✓ Insomnie (Souleymane A., 2016) ;
- ✓ Agent diurétique (Bellakhdar J., 1997 ; Hseini S. et al, 2007).

1-4. Phytochimie de Zizyphus lotus :

Les propriétés des composés bioactifs issus des plantes dépendent de la partie de la plante concernée (racine, tige foliaire, pulpe ou fruit) et du type d'extrait utilisé. *Z. lotus* est connu par sa composition en principaux métabolites comprenant des phénols, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponines et d'autres biomolécules (Souleymane A., 2016). Ces phytoconstituants jouent des rôles importants pour supprimer différentes maladies, exerçant les effets antioxydants, anti-inflammatoires, antiobésité, anti-cardiovasculaires, hépatoprotecteurs, antidiabétiques, antimicrobiens, anticancéreux et gastro-intestinaux (Gowd et al., 2020 , Xu et al., 2019 , Feng et al., 2019 , Shishir et al., 2019 , Ji et al., 2017 ; Xie, Su, Sun, Zheng et Chen, 2017).

Au cours de la dernière décennie, il y a eu un intérêt croissant pour le rôle des polyphénols dans plusieurs pathologies humaines. Ils se sont avérés posséder des propriétés cardioprotectrices, anticancéreuses, antivirales, antiallergiques et antispasmodiques. Compte tenu de leur structure chimique caractérisée par la présence

de nombreux groupes phénoliques, les polyphénols sont également capables de récupérer les espèces radicales réactives et d'empêcher les réactions peroxydatives.

De nombreuses études ont montré leur capacité à prévenir les lésions des lipides, des protéines et des acides nucléiques par des espèces réactives d'oxygène et d'azote et de moduler les facteurs de transcription (Souleymane A., 2016). Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés et basiques tirés d'un végétal et existent sous forme de sels (citrate, tétrade, benzoate) ou d'une combinaison avec les tannins, leur masse moléculaire varie de 100 à 900 g/mol. Ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires ou polaires et solubles dans les solutions hydro alcooliques. Ils ont un goût amer tel que la morphine, la nicotine, la quinone (Bruneton J., 1999).

Plusieurs études scientifiques réalisées sur la plante *Z. lotus* ont montré la présence de nombreuses molécules biologiquement actives. Il a été apporté que les alcaloïdes de cette plante exercent des propriétés antifongiques et antibactériennes importantes (Souleymane A., 2016). Des études plus approfondies ont permis d'isoler sept alcaloïdes cyclopeptidiques à partir de *Z. lotus* (nommés lotucines de A, B et C) (Figure I.18(a,b,c)) (Ghedira K. et al, 1993 ; Ghedira K. et al, 1995).

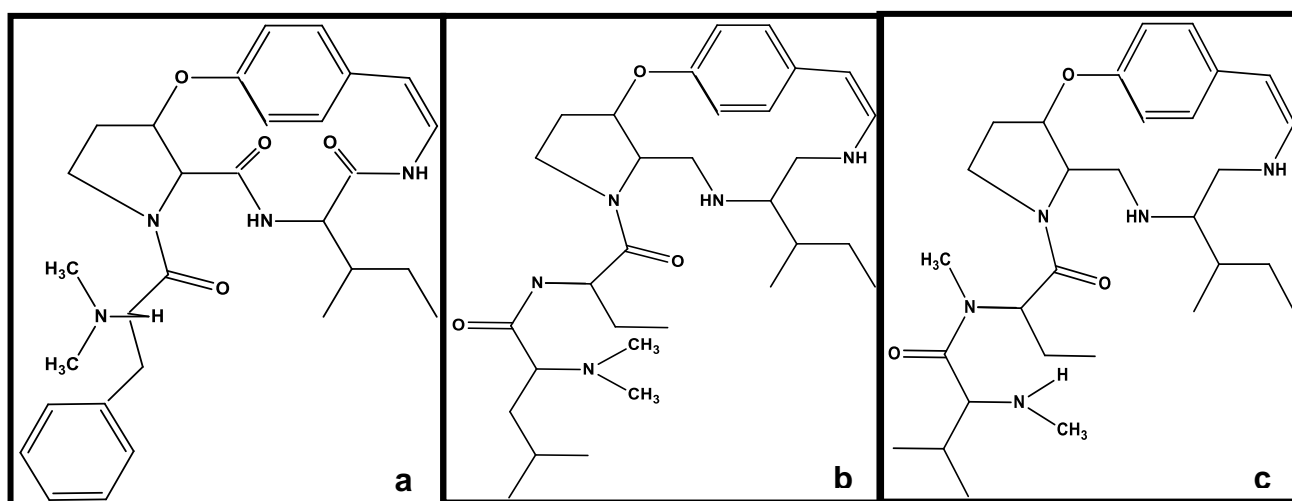


Figure I.18 : Lotucine A (a), Lotucine B (b), Lotucine C (c) (Ghedira et al,1995).

Une étude a fait l'objet de la préparation d'un médicament contenant la lotucine. Ce médicament possède une action inotrope positive. Il prolonge légèrement le temps de potentiel d'action des cellules musculaires cardiaques, peut augmenter le courant Ca^{2+} .

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétéroside. Ce sont des substances dont la particularité est de mousser avec l'eau. Certains saponosides sont utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoire veinotonique, stimulant, diurétique, antitumoral, anti-oedémateuse, et analgésique (Hostettmann K. et al, 1995).

Neuf saponines de *Z. lotus* ont été mentionnées dans la revue de Souleymane (sept jujubogenins et deux lotogenins) (Figure I.20 (a, b)) (Souleymane A., 2016). Selon Lavaud et al., ils ont isolé puis analysé quelques types de saponosides par chromatographie à partir des feuilles de *Z. lotus* dont les structures ont été établies comme suit :

- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6) - β -D-glucopyranosyl-jujubo génine-20-O-(2, 3, 4- O-triacétylique)- α -L-rhamnopyranoside (jujuba saponine I).
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6) - β -D-glucopyranosyl-jujubo génine-20-O- α -L-rhamnopyranoside (jujuba saponine II).
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[(4-sulfo)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl (jujuba génine III).

Ils ont identifié certaines structures de saponosides au niveau des écorces des racines de *Z. lotus* tel que : jujuboside C, lotoside I et lotoside II (Renault J.H.et al, 1997).

- 3-O- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranosyl – jujubo génin (Jujuboside C).
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2)-[β -D glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- β -D-galactopyranosyl lotogénin (Lotoside I) (Figure 22(b)).
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2)-[β -D glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl lotogénin (Lotoside II).

Jujuboside C et jujuboside A (Figure I.19(a)) sont des molécules actives dans l'écorce de *Z. lotus* et pourraient avoir des effets antibactériens et antifongiques (Souleymane A., 2016).

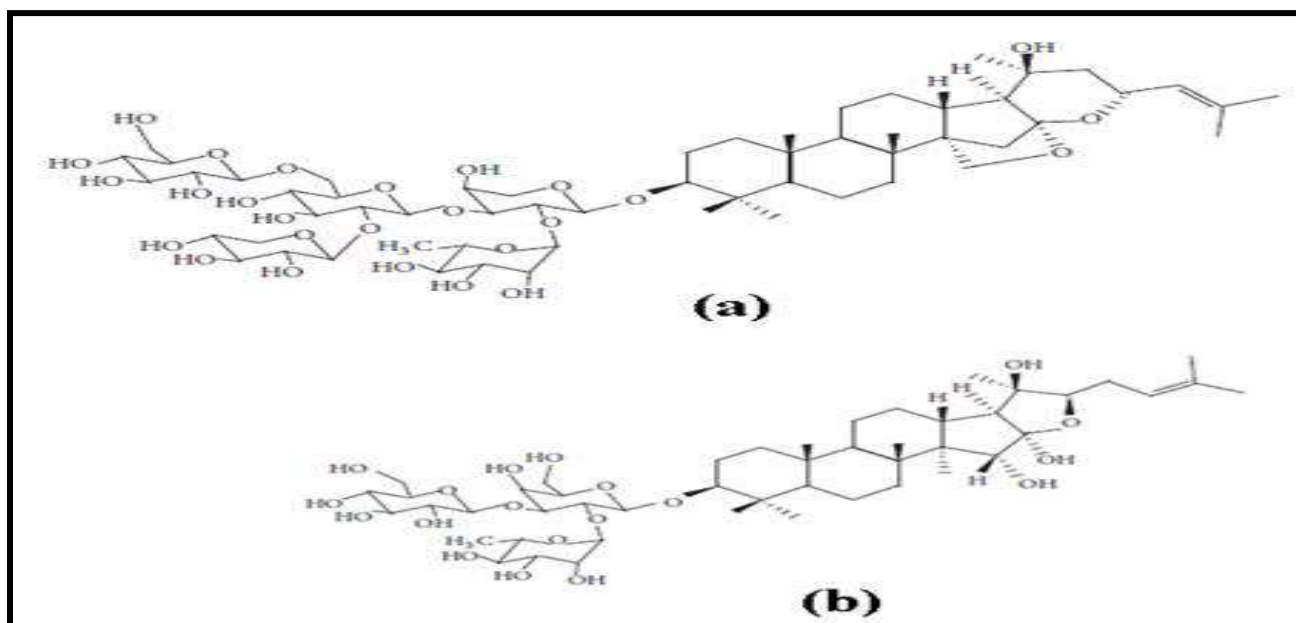


Figure I.19: Jujuboside A (a); Lotoside I (b) (Renault J.H.et al, 1997).

Une étude phytochimique détaillée d'un extrait de *Bacopa monniera* a abouti à l'isolement de deux nouveaux glycosides identifiés comme des glycosides des dérivés 20-désoxy de la jujubogénine et de la pseudojujubogénine. Les composés ont été testés pour leur activité cytotoxique, antioxydant.

Seuls quelques composés présentaient une cytotoxicité légère à modérée vis-à-vis des lignées cellulaires rénales non cancéreuses (Kasture V.S. et al, 2006). Parmi les aspects pharmacologiques recherchés par cette plante est l'effet antilithiasique. En effet, aucune étude scientifique prouvant l'efficacité de cette plante dans le traitement des calculs rénaux n'a été faite à notre connaissance, d'où l'intérêt de présent travail.

III-2. Caroubier :

2-1. Description botanique :

Le caroubier est un arbre ou arbuste, qui peut atteindre 7 à 20 m de hauteur et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m. Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune et brune, rugueuse à l'âge adulte, son bois de couleur rougeâtre est très dur, il peut vivre jusqu'à 200 ans (Rejeb M.N. et al., 1991 ; Ait Chitt M. et al., 2007). Les feuilles ont de 10 à 20 cm de longueur, persistantes, coriaces, alternes et caractérisées par un pétiole sillonné. Elles sont composées de 4 à 10 folioles, de couleur vert luisant sur la face dorsale et vert pâle sur la face ventrale (Rejeb M.N. et al., 1991 ; Batlle I. et al., 1997 ; Ait Chitt M. et al., 2007). Il perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet. Cet arbre développe un système racinaire pivotant, qui peut atteindre 18m de profondeur (Aafi A., 1996 ; Gharnit N., 2003).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille 6 à 16 mm de longueur, spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires, plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles elles se sont développées (Batlle I. et al., 1997).

Le fruit appelé caroube ou carouge, est une gousse indéhiscence à bords irréguliers, de forme allongée, rectiligne ou courbée, de 10 à 20 cm de longueur, 1,5 à 3 cm de largeur et de 1 à 2,5 cm d'épaisseur.

La gousse est composée de trois parties : l'épicarpe, le mésocarpe et les graines, elle est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses transversales et renferme de 4 à 16 graines dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10mm et de 7 à 8 mm. Sa couleur est d'abord verte, puis elle devient brune foncée à maturité (Rejeb M.N. et al, 1995 ;Batlle I. et al., 1997 ; Ait Chitt M. et al., 2007).

La figure suivante donne la production totale mondiale de caroube pour l'année 2017 :

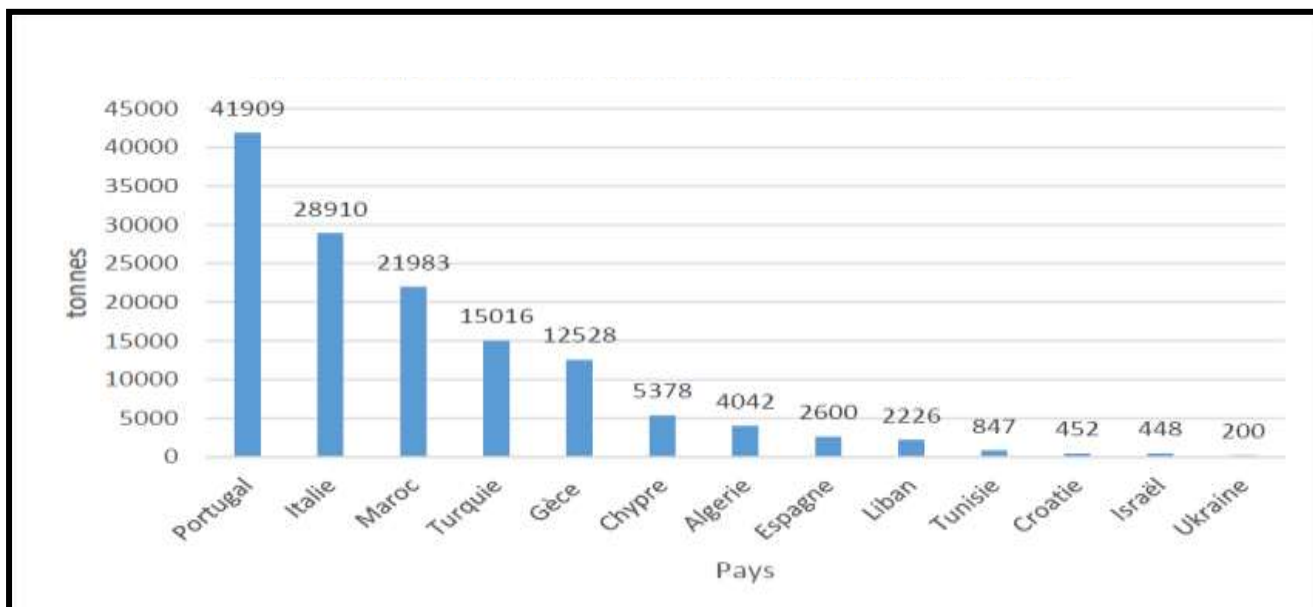


Figure 1.20: La production mondiale de caroube en 2017(FAOSTAT,2019)

Selon le FAOSTAT (2019), la production mondiale totale de la caroube est estimée à 136 539 tonnes. La plus grande production, 41 909 tonnes, est celle du Portugal, contre une production du Maroc estimée à 21 983 tonnes.

2-2. Répartition géographique :

Selon (Hillcoat D. et al., 1980) le caroubier est étendu, à l'état sauvage, en Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Palestine, Sud de Jordanie, Egypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre l'Ouest de la méditerranéen.

Il a été disséminé par les arabes le long de la côte Nord de l'Afrique, au Sud et à l'Est de l'Espagne et par les grecs en Grèce et en Italie. Dès lors, il a été diffusé au Sud du Portugal et au Sud-est de France (Konate I., 2007). Ensuite il a été introduit avec succès dans des pays ayant un climat méditerranéen : en Amérique du Sud, du Nord et en Australie par les Espagnols. Actuellement le caroubier se trouve aussi aux Philippines, en Iran, en Afrique du sud et en Inde (Berrougui H., 2007).

Au Maroc, à l'exception des zones arides, cette espèce est présente partout, dans les pays de l'Afrique de l'Ouest. Il est plus abondant dans le Moyen Atlas (Khenifra, en particulier la région de l'Oued Srou), ainsi que dans le sud où il se mélange souvent avec les *Genévrier thuya* et *phenicia juniper* (Boudy P., 1952). On le trouve également dans la Sais, l'Anti-Atlas, le Nord et l'Est de la France, Haut Atlas, Plateau central, Pré-Rif et Rif occidental, en particulier dans la région de Chefchaouen, à l'état spontané et domestiqué, comme dans Mokrisset Cercle (Lecomte M., 1969 ; Ouchkif M., 1988 ; Aafi A., 1996 ; Gharnit N. et al, 2004).

2-3. Taxonomie :

Scientifiquement, le caroubier est appelé *Ceratonia siliqua*. Ce nom dérive du grec keras et du latin siliqua ou gousse, faisant allusion à la forme de son fruit qui ressemble à la 'corne' de bouc (Bolonos M., 1955). Le mot "caroubier" viendrait de l'arabe al kharroube (Boudy P., 1950).

Il est aussi appelé Carouge, Pain de saint Jean-Baptiste, figuier d'Egypte, fève de Pythagore (Batlle I. et al., 1997). Pendant longtemps aux joailliers comme unité de poids pour peser les diamants, les perles et d'autres pierres précieuses (1 carras = 205,3 mg) (Rejeb M.N., 1995).

La classification de caroube est donnée par le tableau I.7 suivant :

Tableau I.7 : Classification de caroubier (Quezel P. et al 1963).

Embranchement :	<i>Spermatophytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua L.</i>

2-4. Composition chimique de la caroube :

Des études sur la composition phénolique de la caroube a montré une variabilité au niveau du rendement et la différence significative dans les différents échantillons de gousses de caroube. Cette variabilité de la composition phénolique s'explique par plusieurs facteurs, parmi eux on trouve : l'origine géographique et la nature du cultivar (variété).

La composition chimique de la caroube est donnée par le tableau I.8 suivant :

Tableau I.8: composition chimique de la caroube (Biner B. et al., 2007).

La pulpe 90%	La graine 10%
Glucides 48 à 72 %	L'enveloppe tégumentaire (cuticule) 30-33%
Protéines 1-2%	
Matières grasses 0.5-0.7%	
Cellulose et hémicellulose 18 %	L'endosperme (albumen) 42-46 %
Minéraux (Ca, Mg, K, P)	
Pectines et fibres 4.2 à 9.6%	L'embryon (germe) 23-25%
Cendres 1.5-2.4%	
Polyphénols 16 – 20 %	

Les analyses nutritionnelles effectuée des constituants de différentes parties (feuilles, écorces, téguments et pulpes) de trois variétés du caroubier (femelle spontanée, mâle spontanée et femelle greffée) ont montré que cette plante constitue une ressource importante de minéraux, surtout le calcium, le fer et le potassium. (El hajaji H. et al, 2013).

Le calcium présente une prédominance remarquable dans les feuilles et les écorces par rapport aux autres éléments détectés (K, Mg, Na, P, Cl, Cu, Fe, Zn et Se) (El hajaji H. et al, 2013).

En comparaison avec les écorces, et à l'exception du potassium en tant que macronutriment principal, les trois catégories des feuilles ont une concentration plus élevée en d'autres éléments minéraux analysés (Ca, Mg, P et Zn) (Tableau I.9 et I.10) ; alors que pour le cuivre, le fer et le sélénium, les écorces présentent des teneurs élevées.

Dans les feuilles, le fer est le constituant majoritaire des micronutriments chez les trois catégories ; ce qui est en accord avec les résultats d'une étude similaire réalisée au Portugal (El hajaji H. et al, 2013 ; Custódio L. et al,2007)

Pour les principaux oligoéléments, le fer est majoritairement présent dans l'écorce. L'analyse et la comparaison des résultats obtenus nous ont conduits à conclure que l'écorce du type femelle greffée contient des concentrations plus élevées en potassium, en magnésium, en phosphore, en chlore et en fer, comparativement à l'écorce des deux autres types (El hajaji H. et al, 2013).

Tableau I.9 : Teneurs en minéraux (mg/kg de matière sèche) des feuilles et des écorces du caroubier (El hajaji H. et al, 2013).

	Feuilles			Ecorces		
	Femelle spontanée	Male spontané	Femelle greffée	Femelle spontanée	Male spontané	Femelle greffée
Ca	191949,256	153282,048	148309,793	146028,931	151784,690	59764,147
K	30036,130	36115,193	32414,285	33441,305	53819,752	65558,510
Mg	16436,379	17192,032	16867,115	8271,895	6975,625	12538,050
Na	7985,129	7545,141	8424,476	6295,228	7637,179	6940,236
P	8288,887	9036,849	8887,762	4822,101	5387,424	9712,154
Cl	189,322	195,214	190,124	120,321	111,325	156,126
Cu	53,255	81,696	62,704	88,041	95,139	91,712
Fe	2429,514	1892,435	1621,644	3600,600	5474,610	9180,598
Zn	260,709	91,685	82,740	124,820	120,765	99,908
Se	1,2990	0,8945	0,432	1,278	0,147	0,155

Tableau I.10 : Teneurs en minéraux (mg/kg de matière sèche) de la pulpe et des téguments de caroube (El hajaji H. et al, 2013).

	Téguments		Pulpe	
	Femelle spontanée	Femelle greffée	Femelle spontanée	Femelle greffée
Ca	161392,173	89511,054	20600,000	22740,000
K	26046,115	19120,283	208930,000	200470,000
Mg	40540,663	23502,251	5290,000	3960,000
Na	15802,176	9414,404	4710,000	6390,000
P	14387,650	5307,810	17430,000	21050,000
Cu	248,179	118,069	74,180	126,661
Fe	2187,349	1692,038	1390,820	144,695
Zn	2550,080	1361,322	358,063	267,797
Se	1,407	0,609	0,967	0,495

2-5. Utilisation du caroubier :

Le caroubier se révèle actuellement l'arbre le plus performant parmi les arbres fruitiers et forestiers puisque toutes les parties de l'arbre (feuille, fleur, fruit, bois, écorce

et racine) sont utiles, notamment le fruit. Ces parties sont utilisés dans plusieurs domaines à savoir ; pharmaceutique, cosmétique, alimentation animale, humaine et tannerie (Aafi A., 1996).

La caroube est exploitée également dans le secteur cosmétique (savons, crèmes, dentifrices...) (Calixto F.S. et al, 1982), pour sa capacité à former une solution très visqueuse, à une faible concentration en raison de ses propriétés épaississantes, émulsifiantes et stabilisantes (Batlle I. et al.,1997). Utilisé notamment dans le secteur pharmaceutique (médicaments, sirops...), dans les préparations alimentaires diététiques, pour diminuer l'apport alimentaire dans le traitement de l'obésité ; et en cas d'insuffisance rénale chronique, elle retiendra dans le tube digestif, l'urée, la créatinine, l'acide urique, l'ammoniaque et les phosphates provoquant un abaissement important et bénéfique du taux d'urée dans le sang (Berrougui H., 2007), Également, grâce à ses propriétés épaississantes et gonflantes, utilisée en imprimerie, photographie, matière plastique, encre et cirage, pour la croissance bactérienne et d'autres applications dans le textile (Calixto F.S. et al, 1982). La tannerie (Biner B. et al.,2007 ; Dakia P.A et al., 2007).

Quant aux autres parties de la plante à savoir le bois, il est très apprécié en ébénisterie et pour la fabrication du charbon. L'écorce et les racines sont employées dans le tannage grâce à leur teneur en tanins.

III-3. Agrumes :

Les agrumes sont les fruits dont la production est la deuxième plus importante au monde avec plus de 115 millions de tonnes par an (FAO, 2013). Ils sont des fruits fortement demandés sur les marchés internationaux, grâce à leur grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. Les agrumes sont cultivés dans des zones tempérées chaudes jusqu'aux zones tropicales (entre les 40° de latitudes nord et sud).

Si les exportations des produits agroalimentaires ont pu atteindre 2,9 millions de tonnes durant la campagne 2017-2018, soit une augmentation de 4% par rapport à la campagne 2016-2017, c'est surtout grâce à la croissance du volume exporté des agrumes durant la campagne 2017-2018. En effet, les agrumes (oranges, angériens, mandarines et clémentines) ont atteint 677 000 tonnes en 2017-2018, soit une hausse de 4% par rapport à 2016-2017 (650 000 tonnes).

Bien que les agrumes soient produits dans plus de 140 pays, la Chine, le Brésil, les Etats-Unis et le bassin méditerranéen produisent plus de 64% de la production mondiale (FAO, 2014). La production se décline essentiellement en 4 catégories : citron,

mandarine, pamplemousse et orange avec une part de 54% de la production mondiale (USDA, 2017).

Le tableau I.11 rapporte les principaux pays producteurs d'orange dans la région méditerranéenne selon FAO, 2016 :

Tableau I.11 : Les principaux pays producteurs d'orange dans la région méditerranéenne. (FAO, 2016).

Pays	Production en milles de tonnes (MT)
Espagne	3641,4
Egypte	3610,4
Italie	1854,9
Algérie	1025,5
Maroc	925,0
Grèce	808,1

La production d'oranges est surtout concentrée en Amérique du sud et en Californie alors que la production de mandarines et de petits fruits est localisée en Chine, au Japon et dans le bassin méditerranéen.

La production de l'orange pour l'année 2017/2018 devrait chuter de 4 MT par rapport à celle de l'année précédente (USDA, 2018), et cela peut être dû aux conditions météorologiques défavorables entraînant des récoltes plus faibles.

La figure I.21 illustre l'évolution de la production mondiale par variété d'agrumes par million de tonnes, selon ONAGRI 2018 :

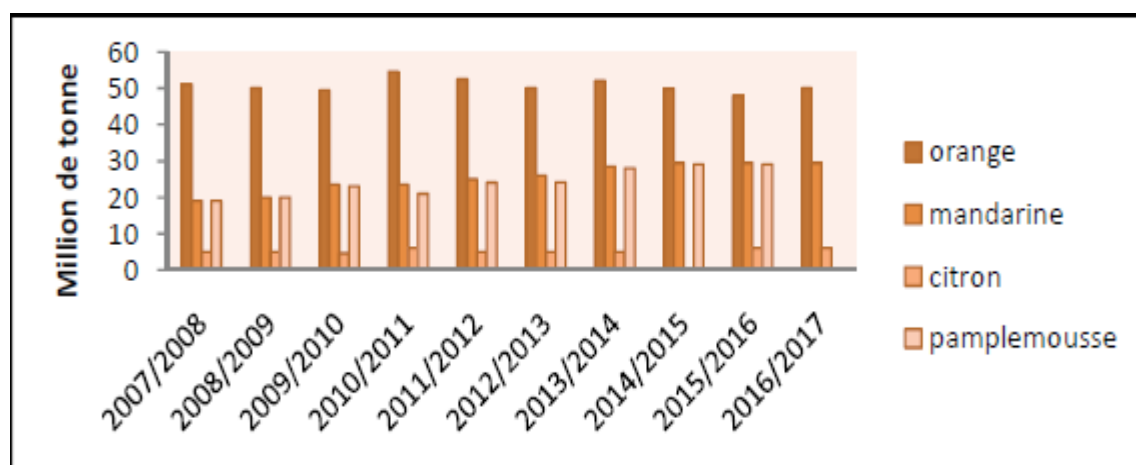


Figure I.21 : Evolution de la production mondiale par variété d'agrumes par million de tonnes (ONAGRI, 2018).

3-1. Description botanique :



Les espèces des agrumes sont de trois genres principaux du groupe *citrinae* dans la famille des Rutacées : Citrus (agrumes), Forunella et Poncirus.

Les fruits utilisés dans notre étude comprennent deux genres de citrus : (***citrus limen, citrus sinensis***).

Deux variétés d'oranges et de citron ont été récoltées pendant le moins de Février (2017) dans la région de Beni Méllal-Khénifra. La récolte a été réalisée d'une manière aléatoire en fonction de la période de maturation de chaque variété et les fruits sélectionnés sont murs et sains.

Les caractéristiques de chaque variété sont récapitulées sur le tableau suivant (tableau I.12):

Tableau I.12 : Caractéristiques des variétés étudiées (JACQUEMOND C. et al, 2009)

Variétés	Caractéristiques	Fruits frais
Double Fine (D.F)	<ul style="list-style-type: none"> - Peau mince luisante et lisse, très adhérente à la pulpe, de couleur orange au début, rouge sanguin sur une face à maturité. - Pulpe très ferme, juteuse et sans pépins - Les arbres ont un port sphérique à feuillage clairseme. - Les fruits oblongs. 	
Citron Jaune (C.J)	<ul style="list-style-type: none"> - Les fruits mur peuvent rester plusieurs mois sur les arbres sans pourrir ni perdre leurs qualités. - Sont assez réguliers et peu allongés, avec une peau lisse. - Ils sont juteux avec quelques pépins. 	

3-2. Description morphologique et physiologique des agrumes :

Les agrumes comportent une grande diversité d'espèces. Cette diversité n'est pas complètement explorée et exploitée.

En fait, les agrumes appartiennent principalement à trois genres botaniques sexuellement compatibles : *Fortunella, Poncirus et Citrus*.

Une classification botanique de Citrus est récapitulée dans la figure I.22 :

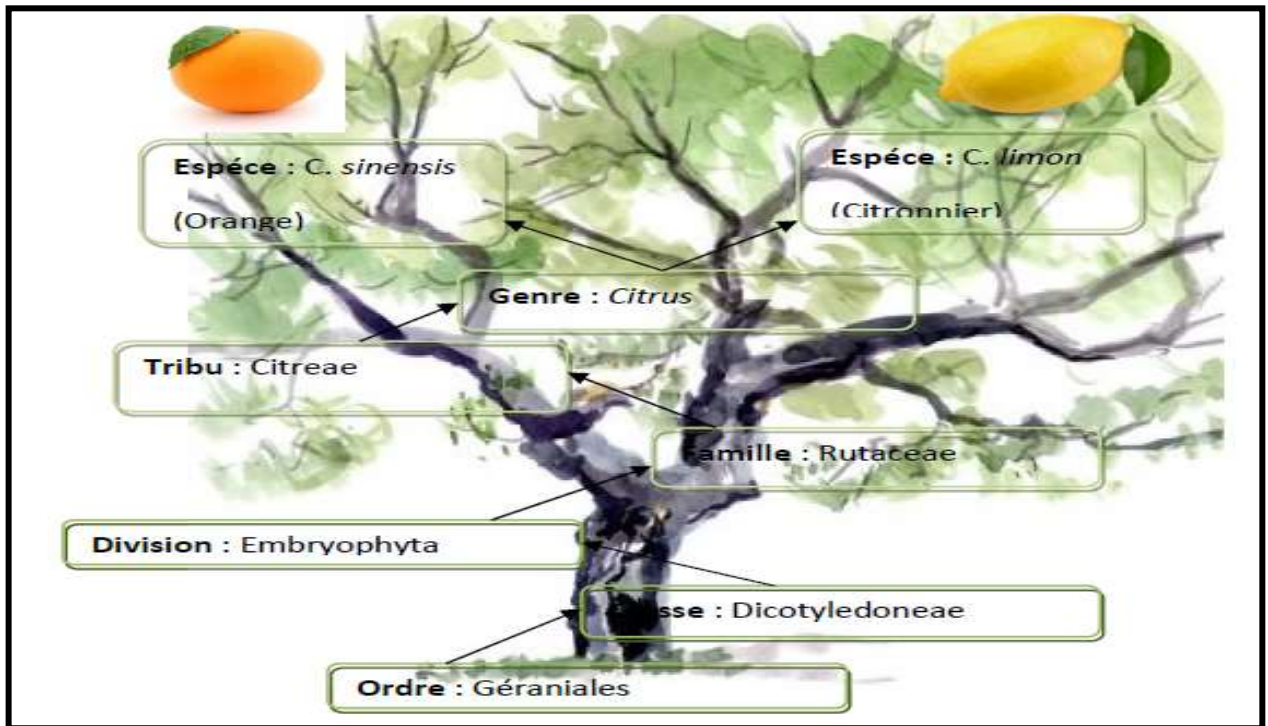


Figure I.22: Classification systématique des deux espèces étudiées d'agrumes.

Toutes les espèces appartenant à ce genre proviennent des régions tropicales et subtropicales du sud-est d'Asie. (FAO, 2015).

Tous les fruits des agrumes ont la même structure. Seuls la dimension et la forme changent d'une espèce à une autre.

3-2-1. Orange :

L'orange, dont le nom scientifique est *Citrus sinensis*, fait partie du genre *Citrus* qui est constitué de plus de 1300 espèces (Ould yerou K.*et al.*, 2017). L'orange constitue un véritable gisement de nutriments essentiels (M'hiri N., 2015), qui contribue à l'équilibre nutritionnel de tous à cause de leur richesse en substances et principes actifs indispensables au bon fonctionnement du métabolisme humain.

La systématique de l'orange *Citrus sinensis* est présentée dans le tableau I.13, suivant :

Tableau I.13 : Classification de l'orange, citrus sinensis :

Règne	<i>Végétal</i>
Ordre	<i>Géraniales</i>
Sous-ordre	<i>Géraniiineae</i>
Classe	<i>Dicotyledoneae</i>
Sous-classe	<i>Archichalmydeae</i>
Division	<i>Embryophyta</i>
Sous-division	<i>Angiosperme</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Sous-famille	<i>Aurantiodeae</i>
Tribu	<i>Citreae</i>
Sous-tribu	<i>Citrinae</i>
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus sinencis</i>

3-2-2. Citron :

Le citronnier, un membre de la famille des Rutacées, est un petit arbre (arbuste) vert et aromatique dont la taille peut varier de 2 à 10 m de haut, porte 5-6 branches charpentières très fournies en rameaux. Les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol. Les feuilles des citronniers sont des feuilles vertes, alternatives et Persistantes, très adurantes en raison des multiples poches à essence qu'elles contiennent, qui sont visible à l'œil nu (Gollouin F. et al, 2013).

Le citron est un fruit riche en vitamine C et d'un large éventail de vitamines de groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes. La teneur en glucides et en protéines est faible, il est riche en substances minéral (le potassium est le minéral le plus abondant).

La systématique du *citrus Limon* est présentée dans le tableau I.14, suivant :

Tableau I.14 : Classification du citron, citrus Limon :

Règne	<i>Végétal</i>
Ordre	<i>Géraniales</i>
Sous-ordre	<i>Géraniiineae</i>
Classe	<i>Dicotyledoneae</i>
Sous-classe	<i>Archichalmydeae</i>
Division	<i>Embryophyta</i>
Sous-division	<i>Angiosperme</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Sous-famille	<i>Aurantiodeae</i>
Tribu	<i>Citreae</i>
Sous-tribu	<i>Citrinae</i>
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus Limon</i>

3-3. La structure anatomique :

La figure I.23 suivante schématise la structure anatomique de l'orange :

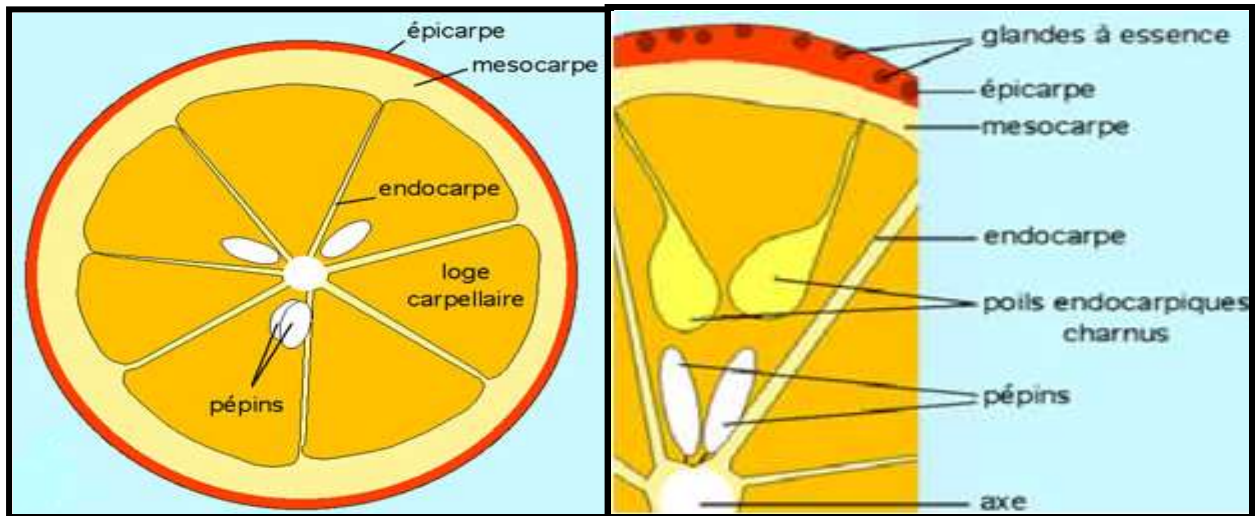


Figure I.23 : Schémas détaillant la structure anatomique de l'orange.

Les écorces d'oranges constituent un gisement riche en ingrédients nutritionnels (eau, protéines, sucres et minéraux) et en ingrédients fonctionnels (huiles essentielles, fibres, caroténoïdes, vitamine c, composés phénoliques) ayant des applications très variées dans les industries agroalimentaires, cosmétique, nutraceutique et dans les industries de production de biocarburant et de matériaux biodégradables (Ledesma-Escobar C.A. et al, 2014).

L'épiderme est la surface périphérique du fruit, représente 8 à 10% du fruit. Il contient de nombreuses glandes sécrétrices d'essences (glande Schizolysigènes) réparties d'une façon irrégulière qui confère l'odeur particulière des oranges, rappelant le mot flaveur (M'hiri N., 2015).

Les oranges sont une très bonne source de composés phénoliques (Balasundram N. et al., 2006). Ces derniers se trouvent en grande proportion dans l'écorce (plus de 15% que la pulpe) (Goulas V. et al, 2012).

La figure I.24 suivante schématise la structure anatomique du citron :

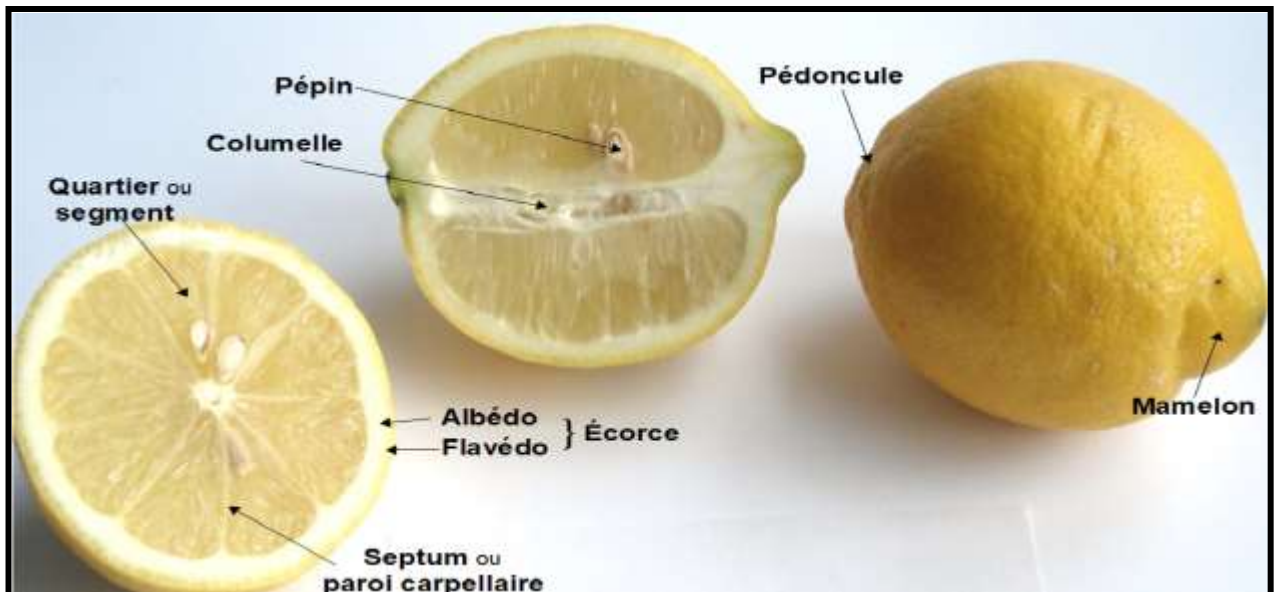


Figure 1.24: Schéma détaillant la structure anatomique du citron (Duan L. et al., 2014).

Le fruit de citron est composé d'endocarpe et de péricarpe, ce dernier comprend l'albédo et le flavédo qui est une zone colorée contenant les poches schizolysigènes réparties de façon très irrégulière (Figure 1.24) (Bachés B.M., 2011 ; Duan L. et al., 2014).

Les écorces d'agrumes sont riches en composés phénoliques, essentiellement des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les flavonoïdes des écorces d'agrumes sont caractérisés par leurs activités anti-oxydantes, thérapeutique, antivirale, antifongique et antibactérienne (Huang W.Y. et al., 2010).

L'extraction des composés phénoliques à partir des écorces d'agrumes a considérablement attiré l'intérêt scientifique pour les utiliser comme des antioxydants naturels, conservateurs principalement dans les aliments mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Ramphul D. et al., 2010).

3-4. Composition chimique globale des écorces d'agrumes :

Avec une composition riche en minéraux, en polyphénols, en vitamines, en fibres, en flavonoïdes, en limonoïdes, les agrumes sont bénéfiques pour la santé et préviennent plusieurs maladies telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les désordres intestinaux.... (Ladanyia M., 2008).

La composition chimique des écorces d'agrumes est sujette à des variations sous l'influence de divers facteurs et notamment la variété. De plus, dans une même variété, la teneur en divers composés dépend des facteurs climatiques et environnementaux. La composition chimique globale des écorces d'agrumes des principales variétés

comestibles, exprimée en g pour 100g base sèche (bs) est représentée sur le tableau I.15 suivant :

Tableau I.15 : Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes (100 g/g en base sèche).

Variété de citrus	Orange	Citron	Mandarine
Eau	2,97 _a - 3,14 _b	3,01 _b	3,79 _b
Lipides	0,95 _a	0,48 _b	1,57 _c
	1,66 _b	1,51 _c	2,97 _b
	4,00 _c	1,89 _d	-
Protéines	1,79 _b	5,87 _b	2,16 _e
	2,67 _e	6,79 _d	7,33 _c
	7,90 _f	7,88 _g	8,55 _b
	8,01 _a	-	-
	9,06 _c	-	-
Glucides	15,01 _b	6,52 _c	8,50 _c
	46,60 _a	13,77 _g	18,27 _b
	47,81 _c	14,89 _b	-
Minéraux	2,56 _c	2,52 _c	3,96 _b
	3,31 _a	4,68 _b	4,06 _e
	3,45 _b	-	10,03 _c
	4,24 _e	-	-
Fibres	6,30 _c	14,00 _h	7,14 _e
	13,38 _e	-	27,89 _b
	13,90 _h	-	-
	41,64 _b	-	-
	42,13 _a	-	-

a :Kammoun M. et *al.*, 2011;

b : Ghanem N. et *al.*, 2012 ;

c : Marin F.A. et *al.*, 2007 ;

d : Fiaguerola F. et *al.*, 2005 ;

e : Magda R.A. et *al.*, 2008 ;

f : Grigelmo-Minguel N. et *al.*, 1999 ;

g : Masmoudi M. et *al.*, 2008 ;

h : Gorinstein S. et *al.*, 2001;

Les écorces d'agrumes présentent des teneurs élevées en eau (variant de 2,97-3,79 g/g bs), soit 60% à 75% en base humide) et en sucres solubles (6,52-47,81 g/100g bs). De ce fait, c'est un coproduit hautement périssable qui fermente et présente un développement des moisissures (Ferhat S. et *al.*, 2011 ; Kammoun M. et *al.*, 2011).

De plus, ce coproduit est riche en protéines (1,79-9,06 g/100g bs) et en minéraux (2,52-10,03 g/100 bs) alors que les lipides sont très peu abondants (de 0,48 jusqu'à 4 g/100g bs).

Les écorces sont particulièrement riches en composés digestibles et offrent de nombreuses possibilités d'utilisation pour l'alimentation fonctionnelle humaine et animale ainsi qu'en tant que complément alimentaire (Bampidis V.A. et al, 2006).

L'utilisation des écorces fraîche en alimentation pour bétail est limitée à cause des maladies que peut provoquer la consommation de ce produit (mycotoxicose, para kératose du rumen) (Duoss-Jennings H.A. et al. 2013).

Les écorces d'agrumes sont une source importante d'essences odorantes et d'huile essentielles de 0,6 à 1% (Yeoh S. et al., 2008 ; Hosni K. et al. 2010 ; Farhat S. et al., 2011).

Les écorces contiennent aussi des pigments, essentiellement des caroténoïdes (0,01-0,20 g/100g bs) mais aussi des anthocyanes (dans le cas des oranges Sanguines).

3-5. Antioxydants :

Les antioxydants sont des composés qui peuvent atténuer, inhiber ou prévenir l'oxydation des matières oxydables en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif (Kim D.K. et al, 2004).

Les agrumes sont importants en raison de leurs propriétés nutritionnelles et antioxydantes.

Les antioxydants les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le β -carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les polyphénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques.

3-6. Visée thérapeutique de biomolécules :

De nombreux travaux réalisés sur différentes espèces de citrus ont montré qu'elles contenaient en majorité des composés phénoliques ayant un fort potentiel antioxydant corroborant leurs usages traditionnels. Parmi toutes ces espèces, l'orange et le citron sont populaires par leur richesse en vitamine c et en quantités considérables de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les caroténoïdes (Del Rio J.A. et al., 2004).

Les polyphénols constituent une famille de molécules très répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits sachant qu'ils sont des métabolites secondaires. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions

directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction (Cheynier V. et al., 2006).

Il existe différentes classes de polyphénols notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes les tanins, les stilbenes, les lignines, les saponines et les phytotrons ; les plus importants sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins (Cheynier V. et al., 2006).

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits et donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Ils sont stockés sous forme libre ou conjuguée mais leur localisation cellulaire est encore incertaine, bien que certains résultats favorisent le stockage dans la vacuole et/ou dans le réticulum endoplasmique.

En effet, les flavonoïdes possèdent non seulement des propriétés antioxydantes mais aussi anticancéreuses, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires et antiallergiques expliquant de ce fait leur intérêt thérapeutique. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes.

Références

- **Aafi A.** : Note Technique sur le Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Centre National de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc), (1996), 10 p.
- **Ait Chitt M.**, Belmir M. et Lazrak A. : Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAV Rabat, (2007), pp.1-4.
- **Allali H.**, Benmehdi H, Dib MA, Tabti B, Ghalem S. et Benabadji N. Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, (2008); 20 (4):2701-10.
- **Amin B.**, Feriz H.M., Hariri A.T., Meybodi N.T. et Hosseinzadeh H.: Protective effects of the aqueous extract of *Crocus sativus* against ethylene glycol induced nephrolithiasis in rats. *Experimental and Clinical Sciences Journal*, (2015), 14: 411-22.
- **Assadi F.**, Moghtaderi M. : Calculs rénaux préventifs. Continuer l'éducation médicale. *Int J Prev Med*, 8 (1), (2017) ; p. 67
- **Bachés B.M.** : Agrumes comment les choisir et les cultiver facilement. Editions Eugen Ulmer, 8 rue blanche, 75009 Paris, (2011) ; PP. 6-8-9-11-63.
- **Balasundram N.**, Sundrum K., Sammer S.: Phenolics compound in plants and agroindustrial by-product: Antioxydant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, (2006), 99, 191–203
- **Bakhtaoui F.**, Lakmichi H., Francis Megraud F., Abderrahmane Chait A. et Gadhi C.E.A.: Gastro-protective, Anti-Helicobacter pylori and, Antioxidant Properties of Moroccan *Zizyphus lotus* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* (2014) ; 4(10):81-7.
- **Bampidis V.A.**, Robinson P.H. : Les sous-produits d'agrumes utilisés dans l'alimentation des ruminants : un bilan. *Science et technologie de l'alimentation animale*. (2006); 128,(3–4) , pages 175-217.
- **Benammar C.E.** : Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale nord-africaine, *Zizyphus lotus* L. (Sedra) : Etude des différents extraits. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen (2011), 120pp.
- **Battle I. et Tous J.** : Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops». 17. Institute of plant Genetic and crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy, (1997) ;97 p.
- **Benchalah A.**, Bouziane H. et Maka M. : Fleur du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. *Phytothérapie* (2004) ; 6:191-7.

- **Bellakhdar J.** : la pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press (1997), 764pp.
- **Berrougui H.** : Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale aux vertus médicinales, Maghreb Canada Express Vol. 5, N° 9.
- **Biner. B.,** Gubbuk. H., Karhan. M., Aksu. M., Pekmezci. M.: Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey, Food Chemistry N°100, (2007), pp.1453-1455.
- **Bolonos M.** : Rapport sur le caroubier. Institutoforestal de Investigaciones y experiencias Madrid (Espagne), (2007), (1955) ;9p.
- **Bonnet J.** : Larousse des arbres. Dictionnaire des arbres et des arbustes. (2001) ; 512 pp.
- **Boual Z.,** Kemassi A., Chouana T., Michaud P. et Ould El Hadj M.D.: Chemical Characterization and Prebiotic Effect of Water-Soluble Polysaccharides from *Zizyphus lotus* Leaves. International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering (2015); 9(12): 1189-92.
- **Bouatia M.,** Benramdane L., Oulad Bouyahya Idrissi M., et Draoui M.: An epidemiological study on the composition of urinary stones in Morocco in relation to age and sex. African Journal of Urology (2015); 21:194-7.
- **Boumzaoued H.,** Laziri F., El Lekhlifi Z., Qarro A. et El Assyry A.: Prevalence of urinary lithiasis in the Moulay Ismail Military Hospital (Meknes-Morocco). Journal of Material and Environmental Science (2015); 6(6):1578-83.
- **Boudy P.** : Economie forestière Nord-Africain (tome II) : Monographie et traitement des essences forestière. Ed. Larose, Paris, (1950) ; pp.443-445.
- **Boudy P.** : Guide du Forestier en Afrique du Nord, Ed. La Maison Rustique, (1952), 505 p.
- **Bouslama S.,** Boutefnouchet A., Hannache B., Djemil T., Kadi A., Dahdouh A., Saka S. et Daudon M. : Détermination de la composition de 359 calculs du haut appareil urinaire collectés dans la région Est-Algérien. Progrès en Urologie, (2015), 26(1):41-4.
- **Bouzidi H.** et Daudon M. : Cystinurie : Du diagnostic à la surveillance thérapeutique. Annales de Biologie Clinique (2007) ; 65 : 473-81.
- **Borgi W.,** Ghedira K., Chouchane N.: Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. Fitoterapia (2007); 78:16-9.
- **Brandi G.,** Nakada S.Y. et Penniston K.L.: Practical approach to metabolic evaluation and treatment of the recurrent stone patient. Wisconsin Medical Journal (2008); 107:91-100.

- **Bruneton J.**: Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3 -ème édition, Tec et Doc (ED) Paris, (1999) ; 658-666pp.
- **Calixto F.S.** and Canellas J.: Components of nutritional interest in carob pods *Ceratonia siliqua*, Journal of the Science of Food Agriculture N°33, (1982), pp. 1319–1323.
- **Correia P. J.**, Martins-Loução M. A. : L'utilisation de macronutriments et d'eau dans les zones méditerranéennes marginales: le cas du caroubier. Recherche sur les grandes cultures, (2005) 91 (1) , , pages 1-6
- **Claudine R.** : Le nom de l'arbre : le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier. Actes sud le Majan, 1ère édition France, (2007) ; 45-62pp.
- **Cheynier V.**, Sarni-Manchado P. : Les polyphénols en agroalimentaire. 50-59. Lavoisier-Tec & Doc, Paris. (2006)
- **Custódio L.**, Correia P. J., Martins-Loução M. A., omano A.: Floral Analysis and Seasonal Dynamics of Mineral Levels in Carob Tree Leaves, *J. Plant Nutr.*, 30 (2007) 739-753.
- **Dalibon P.** : La lithiase urinaire, une affection sous surveillance. (2015), *Actualités Pharmaceutiques* ,54(542): 23-29.
- **Dami F.**, Chouhani B., Elhabbani R., Tazi N., Kabbali N., Arrayhani M. et Sqalli T. : Profil épidémiologique des patients Lithiasiques. Néphrologie et thérapeutique (2015) ; 11(5) : 406.
- **Dakia. P.A.**, Wathelet. B., Paquot. M.: Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ Food Chemistry Vol. 102, N° 4, (2007), pp. 1368-1374.
- **Daudon M.** et Réveillaud R.J.: Whewellite and weddellite: Toward a different etiopathogenesis. The significance of morphological typing of calculi. Nephrologie (1984); 5(5):195-201.
- **Daudon M.**, Cohen-Solal F. et Jungers P. : Mécanismes de la lithogénèse et de la cristallurie. Biologie & Santé (2000) ; 1(1).
- **Daudon M.**, Cohen-Solal F., Lacour B. et Jungers P. : Lithiases et anomalies des voies urinaires : la composition des calculs est-elle indépendante de l'anomalie anatomique. Progrès en Urologie 2003 ; 13 :1320-9.
- **Daudon M.**, Bounxouei B., Santa Cruz F., Leite Da Silva S., Diouf B., Angwafoo III F.F., Talati J. et Desrez G. : Composition des calculs observés aujourd'hui dans les pays non industrialisés. Progrès en Urologie (2004) ; 14 :1151-61.

- **Daudon M.**, Hennequin C., Boujelben G., Lacour B. et Jungers P.: Serial crystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stone formers. *Kidney International* (2005) ; 67(5):1934-43.
- **Daudon M.**, Traxer O., Lechevallier E. et Saussine C. : Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en Urologie* (2008);18(12):802-14.
- **Daudon M.** et Knebelman B. : Epidémiologie de la lithiase urinaire. *La revue du Parisien*,(2011); 61: 372-78.
- **Daudon M.**, Traxer O. et Jungers P. : *Lithiase Urinaire*, 2ème ed., Lavoisier, Médecine Sciences, Paris, (2012), 672 pp.
- **Daudon M.**, Frochot Vincent, Bazin Dominique, Jungers Paul. : L'étude de la cristallurie améliore le diagnostic et la prise en charge thérapeutique de la lithiase rénale. *C. R. Chimie* 19, (2016) : 1514-1526.
- **Del Rio J.A.**, Fustera M.D., Gomeza P., Porrás I., Garcia-Lidon A., Ortun, A. : Citrus limon : a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chemistry*. (2004), 84, 457-461.
- **Docti news**, no 51, Janvier 2013.
- **Doré B.** : *Les lithiases rénales*. Ed Springer, Paris (2004) ; 49-77.
- **Duan L.**, Guo L., Liu E. H. & Li P. Characterization and classification of seven citrus herbs by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines. *J. chromatogr A*. (2014). 1339:27-118.
- **Duoss-Jennings H. A.**, Schmid Ty B. T., Todd R. Callaway, Carroll Jeffery A., James M. Martin, Sara A. Shields-Menard, Paul R. Broadway, and Donaldson Janet R. : Effet des sous-produits d'agrumes sur la survie des sérogroupes d'*Escherichia coli* O157 :H7 et non-O157 dans les fermentations microbiennes ruminales in vitro de bovins. *International Journal of Microbiology*, (2013), Article ID 398320, 5 pages.
- **Dugrand- Judek A.** : Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre *Citrus*. (2015)
- **EL Hachimi F.**, Alfaiz C., Bendriss A., Cherrah Y. et Alaoui K. : Activité anti-inflammatoire des graines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (2017) ; DOI : 10.1007/s10298-016-1056-1.
- **El Hajaji H.**, Farah A., Ennabili A., Bousta D., Greche H., El Bali B., Lachkar M. : Etude comparative de la composition minérale des constituants de trois catégories de *Ceratonia siliqua* L. *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (2) (2013) 165-170.

- **EL kabbaj S.**, Meiouet F. et El Amrani A. : Analyse des calculs urinaires par spectrophotométrie infrarouge à propos de 218 cas au Maroc. *Biologie et Santé* (2000), 1(1): 1-2.
- **El Kabbaj S.**, Meiouet F., El Amrani A. : Analyse des calculs urinaires par spectrophotométrie infra-rouge : à propos de 218 cas au Maroc. *Biol Sante*, 1 (2000), p. 14 - 23
- **Ernandez T.**, Stoermann Chopard C., Bonny O., Iselin C., Martin P.Y. et Jaeger P. : Approche pratique de la lithiase rénale : Duo entre généralistes et spécialistes. *Rev Med Suisse* (2013), 9: 456-61.
- **Erwan le fol** : Mineralogie au microscope polarisant, jeudi 18 Septembre 2008
- **Fellahi T.S.** : Bilan de la lithiase urinaire. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté de médecine et de pharmacie, (2011) ; 131pp.
- **Feng C.**, Wang B., Zhao A., Wei L., Shao Y., Wang Y., Zhang F.. Caractéristiques de qualité et activités antioxydantes du yogourt au lait de chèvre additionné de pulpe de jujube *Chimie alimentaire*, 277 (2019), pp. 238 – 245.
- **Ferhat S.**, Mnif S., Badis A., Eddouaouda K., Alouaoui R., Boucherit A., Mhiri N., Moulai-Mostefa N., Sayadi S. : Le criblage et la caractérisation préliminaire des biosurfactants produits par *Ochrobactrum* sp. 1C et *Brevibacterium* sp. 7G isolé de sols contaminés par des hydrocarbures, (2011) ; 65(8), pages : 1182-1188.
- **Florian C.** : L'insuffisance rénale chronique à la dialyse rôle du pharmacien d'officine dans l'accompagnement du patient dialysé Université Joseph Fourier, Faculté de pharmacie de grenoble, (2011) ; 159pp.
- **Fiagnerola F.**, Hurtado M.L., Estevez A.M., Chiffelle I., Asenjo F.: Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*. (2005), 91, 395-401.
- **Gollouin F.**, Tonelli N. : Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos, Paris Lavoisier, (2013) ; SAS.PP. 186-195.
- **Ghalem M.**, Merghache S. et Belarb M.: Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria. *Pharmacognosy Journal* (2014), 6(4):32-42.
- **Ghanem N.**, Mihoubi D., Kechaoua N., Boudhrioua Mihoubi N. Microwave dehydration of three citrus peel cultivars: Effect on water and oil retention capacities, color, shrinkage and total phenols content. *Industrial Crops and Products*, (2012), 40, 167-177.

- **Gharnit. N.** : Caractérisation et essai de régénération in vivo du caoubier (*Ceratonia siliqua* L.) originaire de la province de chef chaouen (Nord-ouest du Maroc). Thèse de Doctorat en science. Université Abdelmalek Essaadi. Tanger. (2003).
- **Gharnit N.,** El Mtili N., Ennabili A. and Sayah F.: Floral Characterization of Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) from the Province of Chefchaouen (NW of Morocco). Moroccan Journal of Biology, (2004), 41-51.
- **Ghedira K.,** Chemli R., Richard B., Nuzillard J.M., Zeches M. et Le Men-Olivier L.: Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. Phytochemistry, (1993); 32(6): 1591-4.
- **Ghedira K.,** Chemli R., Caron C., Nuzillard J.M., Zeches M. et Le Men-Olivier L.: Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. Phytochemistry (1995) ; 38(3) :767-72.
- **Gorinstein S.,** Martin-Belloso O., Park Y., Haruenkit R., Lojek A., Caspi A., Libman I., Trakhtenberg S., Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, (2001), 74, 309-315.
- **Goulas V.,** Manganaris G.A.: Exploring the phytochemical content and antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*, (2012), 131, 39-47.
- **Gowd V.,** Karim N., Xie L., Shishir I.R.M., Xu Y., Chen W.. Étude in vitro de la bioaccessibilité, de l'effet antioxydant et inhibiteur de l' α -glucosidase du pélargonidin-3- O -glucoside après interaction avec la bêta-lactoglobuline et le chitosane/pectine. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154 (2020), pp. 380 – 389.
- **Grieff M.,** Bushinsky David A. : La gestion nutritionnelle de l'insuffisance rénale , (2013), pages 699 à 709Pages 699 à 709.
- **Grigemo-Miguel N.,** Martin-Belloso O., Comparison of dietary fibre from byproducts of processing fruits and greens and from cereals. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, (1999), 32, 503-508.
- **Hannache B.** : La lithiase urinaire : épidémiologie, rôle des éléments traces et des plantes médicinales. Université Paris de Sud 11, (2014), 101pp.
- **Hess B.,** Zipperle L. et Jaeger P.: Citrate and calcium effects on Tamm- Horsfall glycoprotein as a modifier of calcium oxalate crystal aggregation. *American Journal of Physiology*, (1993); 265: 784-91.
- **Hess B.:** Néphrolithiase. *Forum Med Suisse*, (2001), N°45.
- **Hesse A.** et Schneider H.J.: Results of the standardization and centralization of stone analysis in the German Democratic Republic. *Urolithiasis research* (1976); 295-8.

- Hesse A., Siener R., Heynck H., Jahnen A. : L'influence des facteurs alimentaires sur le risque de formation de calculs urinaires . europe PMC, (1993), 7 (3): 1119-27; discussion 1127-8
- **Hillcoat. D.**, Lewis. G., Verdcourt. B. A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull.* (1980), 35(2): 261-271.
- **Hosni K.**, Zahed N., Chrif R., Abid I., Medfe W., Kallel M., Ben Brahim N., Sebei H.: Composition des huiles essentielles d'écorce de quatre espèces d'agrumes tunisiennes sélectionnées : preuves de l'influence génotypique. *Chimie alimentaire*, (2010); 123(4) , pages 1098-1104.
- **Hostettmann K.** et Marston A.: *Saponins (Chemistry and Pharmacology of Natural Products)* 1st Edition. Cambridge University Press; 1 edition, (1995); ISBN-10: 0521329701.
- **Huang Wu-Yang**, Majumder Kaustav, Wu Jianping : Capacité d'absorption des radicaux oxygène des peptides de l'ovotransferrine de protéine de blanc d'oeuf et leur interaction avec les produits phytochimiques. (2010) ; *Food Chemistry*, 123 ,635–641.
- **Hseini S.** et Kahouadji A. : Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental). *Lazaroa*, (2007) ; 28 :79-93.
- **Ji X.**, Peng Q., Yuan Y., Shen J., Xie X., Wang M.. Isolement, structures et bioactivités des polysaccharides du fruit du jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.): Un examen *Chimie alimentaire* , 227 (2017) , pp. 349 – 357.
- **JACQUEMOND C.**, AGOSTINI D. et CUR K. : Des agrumes pour l'Algérie, Bureau d'ingénierie en horticulture et agro-industrie, (2009) ; p 4
- **Jungers P.**, Daudon M. et Conort P. : *Lithiase rénale. Diagnostic et traitement*, Paris : Flammarion Médecine Sciences, (1999) ; 226pp.
- **Jungers P.**, Joly D., Blanchard A., Courbebaisse M., Knebelmann B. et Daudon M. : Lithiases rénales héréditaires monogéniques : récents acquis diagnostiques et thérapeutiques. *Néphrologie & Thérapeutique*, (2008) ; 4(4): 231-55.
- **Kammoun M.** , Miladi S. , Ben Ali Y. , Damak M. , Gargouri Y. & Bezzine S. : Etude in vitro de l'inhibition de la PLA2 et des activités antioxydantes des extraits de peau de feuille d' Aloe vera, (2011), *Lipids in Health and Disease*, volume 10 , Numéro de l'article: 30.
- **Kaid-Omar Z.**, Daudon M., Attar A., Semmoud A., Lacour B. et Addou A. : Corrélations entre cristalluries et composition des calculs. *Progrès en Urology*, (1999); 9: 633-41.

- **Kasture V.S.** et Kasture S.B.: *Bacopa monniera*. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine, (2006); 6(4): 253-63.
- **Kemassi A.**, Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine S.E., Aggoune M.S., Ould El Hadj-Khelil A. et Ould El Hadj M.D. : Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). Journal of Advanced Research in Science and Technology, (2014), 1(1), 1-5.
- **Kim D. k.**, Lee C.Y. : Étude approfondie sur la capacité antioxydante équivalente en vitamine C (VCEAC) de divers polyphénols dans le piégeage d'un radical libre et sa relation structurelle. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (2004); 44: 253–273.
- **Khajavi Rad A.**, Hadjzadeh M.A., Rajaei Z., Mohammadian N., Valiollahi S. et Sonei M.: The beneficial effect of *Cynodon Dactylon* fractions on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urology Journal*, (2011); 8(3): 179-84.
- **Konate I.**, Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries endophytes qui lui sont associées, Université Mohammed V-Agdal Faculté Des Sciences Rabat, thèse de doctorat. (2007),
- **Ladaniya S.M.** : Biologie, technologie et évaluation des agrumes. (2008); Ed: Elsevier: 13-26.
- **Lakshmi B.V.S.** et Divya V.: Antiurolithiatic and antioxidant activity Of *Zingiber Officinale* rhizomes on ethylene glycol-induced urolithiasis in rats. *International Journal of Advances in Pharmacy and Bioallied Sciences*, (2015); 2(3): 148-53.
- **Lecompte M.** : La Végétation du Moyen Atlas Central, Esquisse Phytoécologique et Carte des Séries de Végétation au 1/200.000. Travaux de l'Institut Scientifique Chérifien et de la Faculté des Sciences, Série Botanique et Biologie Végétale, N°31 Rabat, (1969), 34 p.
- **Ledesma-Escobar C.A.**, Luque de Castro M.D.: Towards a comprehensive exploitation of citrus. *Trends Food Science and Technology*, (2014); 39, 63-75.
- **Leroy C.** : Oxalates de calcium et hydroxyapatite : Des matériaux synthétiques et naturels étudiés par techniques RMN et DNP. Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, (2016), 263pp.
- **Magda R.A.**, Awad A.M., Selim K.A.: Evaluation of mandarin and orange peels as natural sources of antioxidant in biscuits. *Journal of Food Science & Technology*. (2008), 75-82.
- **Marieb E.N.** : Biologie humaine : Principes d'anatomie et de physiologie. Edit : ERPI 8ème édition, (2008), 708pp.

- **Marin F.A.**, Soler-Rivas C., Benavente-Garcio., Castillo J., Perez-Alvarez J.E.: By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*. (2007), 100, 736-741.
- **Masmoudi M.**, Besbes S., Chaabouni S., Robert C., Paquot M., Blecker C., Attia H.,.. Optimization of pectin extraction from lemon by-product with 752 acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*. (2008), 74, 185-192.
- **Mbarki M.**, Jabrane J., Oussama A., Daudon M., *Progr. Urol.* 5, (2005), 420.
- **Mignon L.** et Fichet M. : Calculs urinaire : la solution est dans l'assiette. Association Française d'Urologie, (2015), 4pp.
- **M'HIRI N.** : Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine » et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. 2015.
- **Najjaa H.**, Ben Arfa A., Elfalleh W., Zouari N., Neffati M.. Jujube (*Zizyphus lotus L.*): Avantages et ses effets sur les propriétés fonctionnelles et sensorielles de la génoise. *Plos one*, 15 (2020).
- **Nguyen T.Q.H.** : Insuffisance rénale chronique : épidémiologie de l'insuffisance rénale chronique chez l'enfant à l'Hôpital National Pédiatrique de Hanoi et analyse histologique de l'expression du récepteur B1 de la bradykinine sur des biopsies de transplants rénaux. Université de Toulouse III, Paul Sabatier, (2009), 228pp.
- **ONAGRI** : Note de veille Agrumicole Un regard sur le marché mondial et Tunisien des Agrumes. (2018).
- **Ouchkif M.** : Etude sur le Caroubier. Append Number 8 of Project Oued Srou. MARA (Morocco)-GTZ (Germany), DPA of Khenifra. (1988), 42 p.
- **Ould Yerou K.**, Ibri K., Bouhadi D., Hariri A., Meddah B., and Tir Touil A.: The use of orange (*Citrus sinensis*) peel as antimicrobial and anti-oxydant agents. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, (2017) ; 9(3), 1351-1357.
- **Oussama A.**, Kzaiber F., Mernari B., Hilmi A., Sermoud A., et Daudon M. : Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas Marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. *Progrès en Urology* (2000); 10 :404-10.
- **Pebret F.** : Anatomie Physiologie : Pharmacologie générale. 6ème édition, (2003), 622 pp.
- **Pibot P.**, Biourge V. et Elliott D.A. : Encyclopédie de La nutrition clinique féline. Genève, (2010).

- **Quezel P. et Santa S. :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (tome1), Editions du centre national de la recherche scientifique, (1963), pp.557.
- **Rabiller J. :** Exploration des difficultés dans la prise de traitements au long cours chez le patient transplanté rénal : comment le rendre acteur de sa santé. UFR, Sciences Pharmaceutique et Ingénierie de la santé, (2013), 211pp.
- **Ramphul D.,** Bahorun T., Bourdon E., Tarnus E., Aruoma O.I.: Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flaved extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, **(2010), 278:** 75-87.
- **Rejeb M. N. :** Le caroubier en Tunisie : Situations et perspectives d'amélioration, in Quel avenir pour l'amélioration des plantes, Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, (1995), pp. 79-85.
- **Rejeb M. N., Laffray D. and Louguet P.** Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) en Tunisie. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides. Group d'Etude de l'Arbre, Paris, France, **(1991) ; P:417-426.**
- **Renault J.H.,** Ghedira K., Thepenier P., Lavaud C., Zeches-Hanrot M. et Le Men-Olivier L. : Dammarane saponins from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, (1997); 44(7): 1321-7.
- **Resnick M.I.,** Munday D. et Boyce W.H.: Magnesium excretion and calcium oxalate urolithiasis. *Urology*, (1982); 20(4):385-9.
- **Rsaissi N.,** El Kamili, Bencharki B., Hillali L., Bouhache M.: Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube *Zizyphus Lotus (L.)* Desf. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, (2013); 4(9) :1521-8.
- **Saderne S. :** L'acide urique : une molécule physiologique pouvant être pathologique. Université de limoges. Faculté de pharmacie, (2013).
- **Sekkoum K.,** Cheriti A., Taleb S., Belboukhari N. et Djellouli H.M.: Inhibition effect of some Algerian Sahara Medicinal Plants on Calcium Oxalate Crystallization. *Asian Journal of Chemistry*, (2010); 22: 2891-7.
- **Servais A.,** Daudon M. et Knebelman B. : Lithiases médicamenteuses. *EMC-Urologie*, (2006); 1-10.
- **Shin Y.,** Yun M., Kim T., Kim Y., Lee K.. Une étude sur l'aptitude à la transformation des cultivars de poire et de jujubier chinois *Rapports de recherche de l'Administration du développement rural (République de Corée)*, 34 (1992), pp. 58 – 65.

- **Shishir I.R.M.**, Karim N., Gowd V., Xie J., Zheng X., Chen W.. Nanoliposome conjugué pectine-chitosane en tant que système de livraison prometteur pour la néohespéridine: caractérisation, comportement de libération, absorption cellulaire et propriété antioxydante *Alimentaire hydrocolloïdes*, 95 (2019) , pp. 432 - 444
- **Slimani Y.** : Etude de l'effet antilithiasique d' *Herniaria hirsuta* chez le rat. Université Mohammed 1er. Faculté des sciences Oujda, (2008).
- **Soula M.** : Rôle des règles hygiéno-diététiques dans la prévention secondaire de la maladie lithiasique urinaire chez le personnel navigant des forces armées. Faculté de médecine paris Descartes. Thèse de doctorat en médecine, (2009).
- **Souleymane A.**: Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus* L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, (2016); ID 2867470.
- **Sarni-Manchado P.**, cheynier V. : Les polyphénols en agroalimentaire 17, rue Auguste Frot 77590 Bois le roi impression : France que rcy-46090 Mercués N°805(I). 2006PP. 2-3.
- **Tazi El Pardya N.** : Intérêt de la cristallurie et du bilan biologique de première intention dans le trajet de soin des patients lithiasiques. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté de Médecine et de Pharmacie Fes, (2014), 88pp.
- **Dr. THIEL M.** : Lithiase ou calcul rénale. *Urologie et uroginecol*, 2017
- **Thomas K.**, Wong K., Withington J., Bultitude M. et Doherty A.: Cystinuria - a urologist's perspective. *Nature Reviews Urology*, (2014); 11: 270-7.
- **Traxer O.** : Lithiase urinaire. *la revue du praticien*, (2007), 57: 1805-1815.
- **Wesson J.A.**, Worcester E.M., Wiessner J.H., Mandel N.S. et Kleinman J.G.: Control of calcium oxalate crystal structure and cell adherence by urinary macromolecules. *Kidney Int*, (1998); 53: 952-7.
- **Xu X.**, Bao Y., Wu B., Lao F., Hu X., Wu J.. Analyse chimique et propriétés gustatives du jus d'orange, de carotte, de pomme et de jujube chinois fermenté par des probiotiques enrichis en sélénium. *Chimie alimentaire*, 289 (2019), pp. 250 – 258.
- **Yeoh S.**, Shi J., Langrish T.A.G. : Comparaisons entre différentes techniques d'extraction à base d'eau de la pectine des écorces d'orange, *Desalination* 218 (2008) 229–237.

PARTIE

EXPERIMENTALE

Chapitre II :

Matériels et méthodes :

I- Zone de collecte des échantillons :

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est l'orange et le citron que nous avons collectés au mois de février 2017 au niveau de la région de Béni Mellal-Khénifra, province de Béni Mellal. La collecte s'est faite manuellement d'un seul arbre pour chacune des deux variétés. Il en est de même pour la collecte de la caroube et du jujube qui ont été collectés en Aout 2016 à la province d'Azilal.

Les échantillons de l'urine, des patients lithiasiques, ont été collectés à l'hôpital régional de Béni Mellal-Khénifra, auprès de 50 patients lithiasiques dont 30 hommes et 20 femmes, avec une marge d'âge entre 6 et 67 ans.

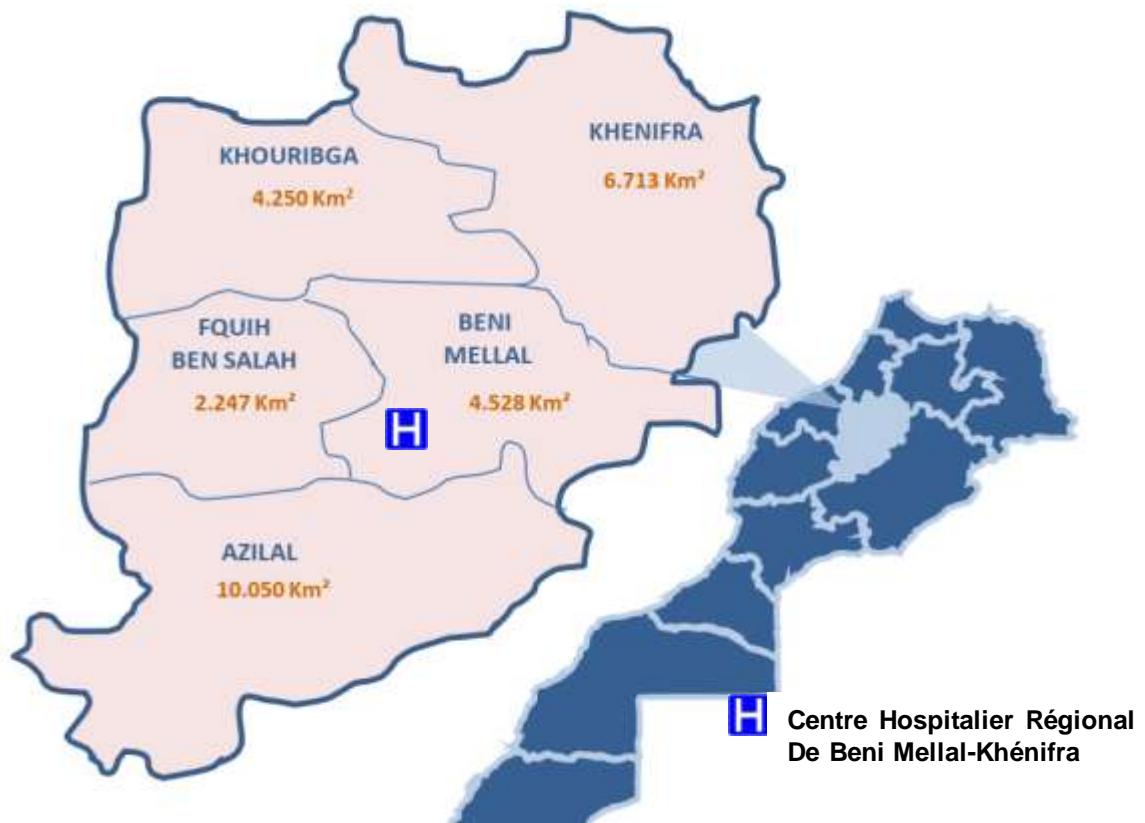


Figure II.1 : Zone de collecte des échantillons : urine et matériel végétal.

II- Microscopie optique à lumière polarisée :

II-1. Principe de la microscopie :

Le microscope est un instrument d'optique qui permet d'examiner des objets ou des éléments invisibles ou difficilement visibles à l'œil nu, grâce à une lentille. Inventé en 1595 par Zacharias Janssen opticien hollandais. Ce dernier aurait été le premier à combiner deux lentilles convexes, l'une ayant un effet grossissant, et l'autre une utilité oculaire. Peu de temps après, en 1609, Galilée conçoit le sien, composé cette fois-

ci d'une lentille convexe et d'une lentille concave, qu'il appela *occholino*. Le terme microscope, quant à lui, ne fut fixé qu'en 1645 par Demisiano.

Parmi les différents types des microscopes il y a le microscope optique en lumière polarisée (figure II.2), qu'est un microscope optique dont la technologie repose sur l'utilisation d'un faisceau de lumière polarisée (des ondes vibrant dans un seul plan). Pour assurer la polarisation de la lumière, un polarisateur est placé après la source de lumière, avant l'échantillon.



Figure II.2: (a) : Optika Microscope trinoculaire B-383POL avec tête ERGO pour lumière polarisée et illuminateur X-LED et (b) : Caméra Numérique USB - OptiKam 5 Mpixels.

La figure II.3 illustre le principe de fonctionnement de la microscopie optique a lumière polarisée :

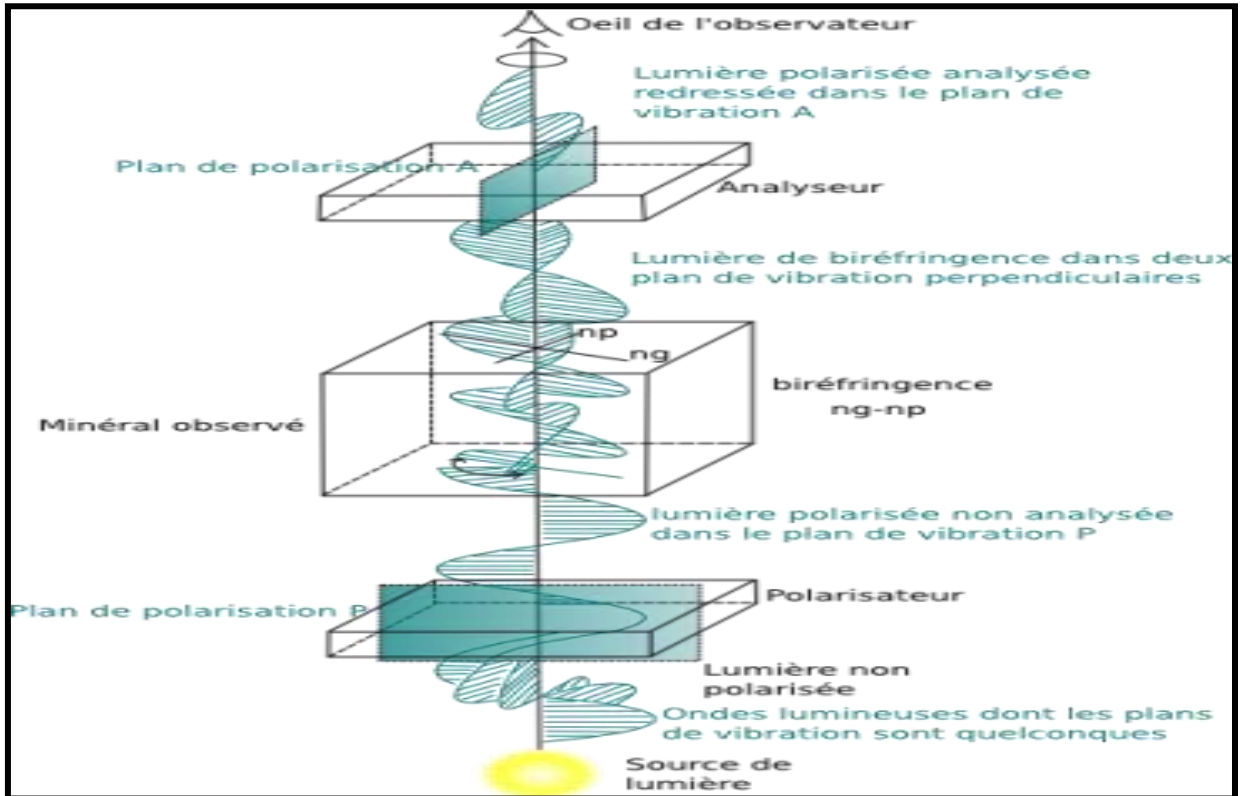


Figure II.3 : Principe du microscope optique a lumière polarisée, (Trajets des rayons lumineux et polarisation) (Erwan Le Fol, 2008)

La figure II.4 suivante représente une photographie, du matériel utilisé au laboratoire.



Figure II.4 : Microscope optique à lumière polarisée branchée à un ordinateur, et trois extraits aqueux (de caroube, citron et orange).

Le deuxième polarisateur, appelé l'analyseur, est placé perpendiculairement au premier et ne peut donc pas laisser passer la lumière premièrement polarisée.

Par contre, un échantillon placé entre les deux polarisateurs perturbe le faisceau lumineux qui va adopter de nouvelles vibrations dont certaines vont pouvoir traverser l'analyseur.

Suivant la particularité de la lumière reçue, il est possible d'identifier l'échantillon observé.

Le microscope utilisé dans notre travail est de type optika italy, numéro de série : B-383POL, avec une tête Trinoculaire rotative sur 360°, inclinée à 30°. Système macro et micrométrique coaxial, avec système d'arrêt de sécurité.

II-2. Observation et dénombrement des cristaux :

Pour l'observation des cristaux formés nous avons utilisé le microscope optique à lumière polarisée (Olympus BX41). Les photos ont été prises pour chaque dose et pour l'essai à blanc.

Le comptage des cristaux monohydratés et dihydratés est fait sur la grille de la cellule de Malassez, illustre sur la figure II.5 suivante :

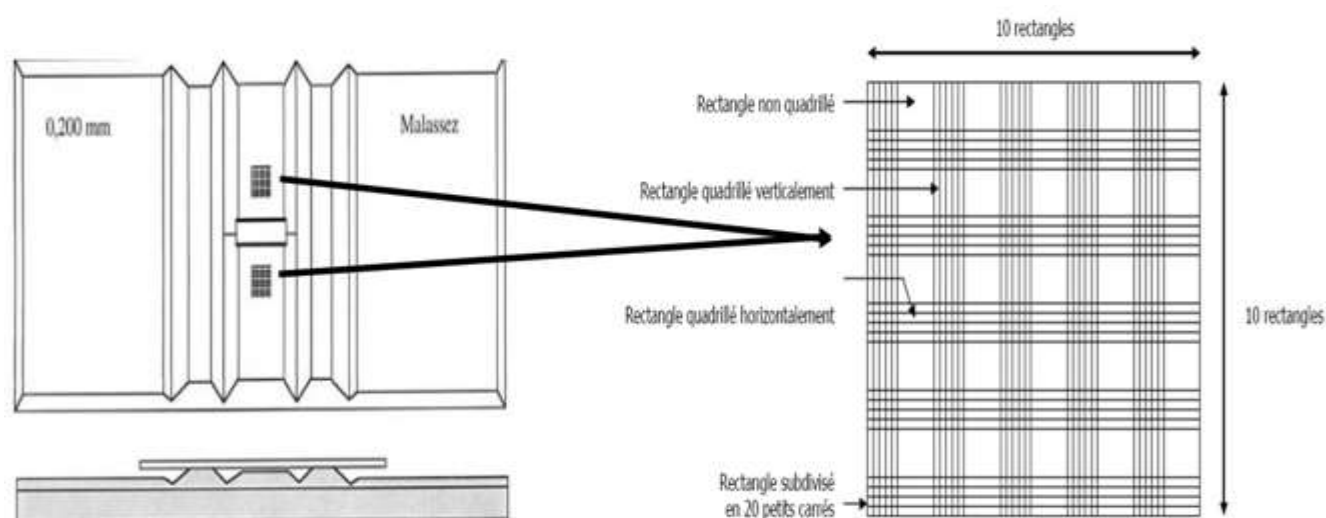


Figure II.5 : Schéma de la cellule de Malassez.

III- Extraits de pulpe de jujube :

La plante utilisée dans le présent travail est le jujubier dans les fruits ont été collectés dans la région de Béni Mellal-Khénifra, qui sont séchés puis décortiqués pour obtenir des tranches de la pulpe.

III-1. Préparation des extraits :

Nous avons effectué 3 décoctions aqueuses à 5 % : 15 g des tranches de la pulpe ont été mis dans 300 ml d'eau distillée.

La première décoction portée à 100 °C, la deuxième à 80 °C et la troisième à 60 °C, les trois décoctions faites pendant une heure. Les décoctés refroidis ont été filtrés par papier absorbant, les filtrats obtenus sont conservés dans une température de 4 °C.

III-2. Préparation des cristaux d'oxalates de calcium :

Pour obtenir des cristaux d'OxCa on mélange 5 ml d'oxalate de sodium à une concentration de 0,005 mol/l et 5 ml chlorure de calcium à une concentration de 0,005 mol/l.

III-3. Protocole expérimental :

Pour chaque filtrat nous avons pris 3 doses, 0,5 ml, 1 ml et 2ml, après nous avons testé sur les cristaux comme suit :

Chaque dose a été mise dans 5 ml d'oxalate de sodium à une concentration de 0,005 mol/l. On ajoute sur le mélange précédant 5 ml de chlorure de calcium à une concentration de 0,005 mol/l. L'essai à blanc est le mélange de l'oxalate de sodium et le chlorure de calcium sans filtrat.

IV- Extraits de pulpe de caroube, citron et orange :

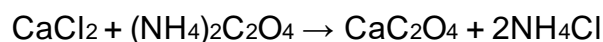
IV-1. Matériel et méthodes :

Cette partie du présent travail a été consacrée à l'effet des solutions d'extraits des pulpes de citron, caroube et orange produites dans la région de Beni Mellal-Khénifra au Maroc sur solutions d'oxalate et sur les cristalluries dans des urines de patients lithiasiques. Pour cela nous avons procédé en deux étapes.

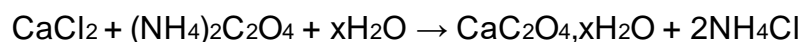
IV-2. Préparation des solutions :

Préparation des solutions d'oxalate :

- ✓ Dans l'erlen de 200ml on fait former une quantité de $4 \cdot 10^{-4}$ g de CaC_2O_4 ($3 \cdot 10^{-6}$ mol) dans 50 ml d'eau distillée :



- ✓ Dans l'eau distillée à 37°C (température proche de celle du rein) on aura :



Si $x=1$: Oxalate de Calcium Monohydraté (OCM : Whewellite) : plus fréquent en calculs urinaires

Si $x=2$: Oxalate de Calcium Dihydraté (OCD : Weddellite) : plus fréquent en cristallurie

Si $x=3$: Oxalate de Calcium Trihydraté (OCT) : instable, d'où sa rareté.

✓ Donc dans l'erenmeyer on prépare une solution saturée d'oxalate de calcium.

Pour cela, on y mélange :

☒ $3 \cdot 10^{-4}$ g de CaCl_2

☒ $4 \cdot 10^{-4}$ g de $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$

☒ On y met un barreau magnétique pour agitation

☒ On y fixe un thermomètre pour contrôler la température à 37°C

☒ On fixe le pH à une valeur du pH urinaire ordinaire (entre 6,5 et 7,5)

☒ Une fois la température à 37°C , on laisse la solution s'agiter 2h

☒ En gardant l'agitation, on prend par micropipette une prise au milieu de la solution et on la dépose entre lame et lamelle pour observation sous microscope optique à lumière polarisée.

Après avoir effectué des essais d'observation de l'éventuel effet inhibiteur d'extraits des pulpes à des concentrations croissantes sur la cristallisation de l'oxalate de calcium nous avons déterminé la concentration minimale de l'extrait assurant la disparition de presque 50% des cristaux. L'examen de la cristallurie a été réalisé par microscopie optique à polarisation sur une lame de type cellule de Malassez.

V- Chimométrie :

V-1. Généralités :

Le terme chimométrie a été proposé il y a déjà plus de 30 ans pour décrire les opérations mathématiques associées à l'interprétation des données chimiques (Adams M.J., 2004).

La chimométrie est la discipline de la chimie analytique qui utilise les méthodes mathématiques, statistiques et les outils informatiques pour extraire de l'information utile contenue dans les données de mesures expérimentales (Massart D. et al, 1997).

Il est basé sur le calcul statistique, aussi bien pour les traitements les plus simples, dits uni-variés car mettant en jeu une seule variable, que pour les traitements multi-variés qui, eux, mettent en jeu plusieurs variables et qui nécessitent des moyens de calcul adaptés. Par définition, une variable est une grandeur physique ou chimique qui sera mesurée pour chaque échantillon dit objet ou individu.

La chimométrie est aujourd'hui appliquée à de nombreux domaines de la chimie analytique, notamment aux méthodes séparatives telles que la chromatographie (Wang C.-C. et al, 2013 ; Ruiz-Castelar S. et al, 2012) et l'électrophorèse (Hanrahan G. et al, 2009) et aux méthodes spectroscopiques telles que la spectroscopie Raman (Gerbino E. et al, 2012) :

Dans le cadre de l'analyse uni-variée, on établit une relation entre une variable d'entrée unique (x) et une variable de sortie unique (y). La courbe qui permet de visualiser la variation de la variable de sortie (y) en fonction de la variable d'entrée (x) est tout simplement la courbe d'étalonnage. C'est la méthode d'analyse la plus simple et aussi la plus couramment utilisée. Idéalement, on souhaite obtenir une relation linéaire entre la variable d'entrée (x) et la variable de sortie (y) mais ce n'est pas toujours le cas et certaines courbes d'étalonnages sont polynomiales (Andrzej A.W. et al, 2006).

Lorsqu'on passe en revue les méthodes multi-variées les plus couramment utilisées en chimométrie, il est intéressant de les classer en trois catégories :

- ✓ Les techniques exploratoires : ACP, ICA (Forni O. et al, 2013)
- ✓ Les méthodes de classification supervisées : SIMCA (Myakalwar A.K. et al, 2011), LDA (Balakrishnama S. et al, 1998), PLS-DA (Multari R.A. et al, 2010), KNN (Godoi Q. et al, 2011), SVM (Pan R. et al, 2010 ; Dingari N.C. et al, 2012), ANN (Pao Y., 1989).
- ✓ Les méthodes de régression ou d'analyse quantitative : PCR (Yaroshchuk P. et al, 2012), PLS (Ma Y. et al, 2010), LS-SVM (Hua Y. et al, 2010), ANN (El Haddad J. et al, 2013).

L'ACP est effectivement sans doute la technique exploratoire la plus répandue pour décrire les données d'entrée, rechercher d'éventuels échantillons aberrants et connaître les corrélations entre les variables d'entrée et les ressemblances entre les individus.

V-2. Statistique descriptive :

La Statistique, c'est l'étude des variations observables. C'est une méthode qui consiste à réunir des données chiffrées sur des ensembles nombreux, puis à les analyser et à les interpréter.

L'objectif de la statistique descriptive est de présenter et de décrire, c'est-à-dire de résumer numériquement et/ou de représenter graphiquement, les données disponibles quand elles sont nombreuses. Ce sont des calculs mathématiques qui permettent de dégager des données une réelle tendance des résultats.

Parmi les indicateurs donnés par la statistique descriptive sur une série de données numériques on trouve la moyenne et la médiane, deux indicateurs très importants et surtout différents. La médiane est un indicateur qui « ne tient pas compte des valeurs extrêmes parfois rares » contrairement à la moyenne, qui elle, est très influencée par ces valeurs extrêmes.

La moyenne arithmétique d'une distribution statistique discrète $(x_i ; f_i)_{i=1, \dots, p}$ est le nombre réel μ défini par l'équation suivante :

$$\mu(x) = \sum_{i=1}^p x_i f_i = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^p x_i n_i,$$

Où N est l'effectif total de la population.

En fait, la statistique descriptive renseigne sur aussi bien les paramètres de position tels que les quartiles (Q_1 et Q_3) et la médiane (Q_2) que les paramètres de dispersion tel que l'écart-type et la variance. L'écart-type (est défini comme étant une mesure de dispersion des données autour de la Moyenne.), notée $\sigma(x)$ est la racine carrée de la variance. Il s'exprime dans la même unité que la moyenne de manière telle que :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \mu)^2}{N}}$$

\sum : signifie qu'il faut effectuer une somme successive de plusieurs éléments.

x_i : représente la i^{e} valeur de la distribution.

μ : la moyenne de la population.

N : la taille de la population.

Les barres d'erreur (déviations standards) sur un graphique peuvent servir à indiquer soit la gamme des données, soit l'écart type. La barre d'erreur représente sur un graphique l'intervalle dans lequel la « vraie » valeur devrait se trouver. Il est parfois impossible d'avoir des incertitudes.

V-3. Analyse en composantes principales :

3-1. Introduction :

L'analyse en composantes principales (ACP ou PCA en anglais) est la méthode de classification la plus courante. Elle est non supervisée, c'est-à-dire sans phase d'apprentissage et elle vise simplement à décrire les données d'entrée, à savoir la matrice X discutée ci-avant de dimension (N, K) où N est le nombre de mesures et k le nombre de variables considérées. Cette technique exploratoire permet de constater si les échantillons forment des groupes distincts, si un échantillon est anormalement éloigné des autres et peut donc être considéré comme aberrant.

L'ACP est entièrement basée sur le calcul de la matrice des covariances qui s'écrit simplement comme le produit de la matrice X des variables d'entrée par sa matrice transposée X^T . La matrice de covariances de X est donc une matrice carrée de

dimension (k,k), symétrique et les valeurs situées sur la diagonale de la matrice sont les valeurs des variances de chaque variable. Enfin, le signe des termes non diagonaux informe sur la nature de la corrélation : un signe plus indique que les deux variables évoluent dans le même sens, alors qu'un signe moins indique que lorsqu'une variable croît, l'autre décroît. Nous devons ensuite calculer les valeurs propres et les vecteurs propres de cette matrice de covariances, en prenant soin de normaliser à 1 la norme des vecteurs propres. Ce calcul complet de diagonalisation de la matrice de covariance ne peut malheureusement pas être mis en œuvre dans le cas de matrices de grandes dimensions et l'on a alors recours à un calcul itératif couramment utilisé et connu sous le nom de NIPALS, pour « non linear iterative partial least squares » (Wold H., 1966) et décrit ci-après.

Les matrice des données initiales est sous la forme suivante :

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & \dots & x_{1k} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{N1} & \dots & x_{Nk} \end{bmatrix}$$

Les x_{ij} sont les coefficients de corrélation entre les variable i et la variable j .

Notons qu'un prétraitement des données est nécessaire. Il faut en effet que les données soient centrées (la valeur moyenne est soustraite à toutes les données) ou bien centrées et réduites, ce qui revient à normaliser les données centrées par rapport à leur variance.

Dans tous les cas, elle offre une approche exploratoire très efficace qui permet de comprendre des similitudes et des corrélations et de rejeter des données aberrantes.

3-2. Principe de l'ACP :

Pour illustrer d'une manière simplifiée le principe de l'ACP nous donnons l'exemple de données du tableau II.1 suivant :

En observant pour les 30 individus (dans notre étude : échantillon de cristallurie) les six colonnes correspondant aux six variables (dans notre étude : facteurs intervenants dans la cristallurie) A il très difficile de détecter toute l'information qui existe dans ce tableau A, à titre d'exemple :

- Y a-t- il des ressemblances entre les individus (échantillons de cristallurie) ?
- Y a-t- il des corrélations entre les variables (facteurs intervenants dans la cristallurie) ? Peut-on confirmer les corrélations suivantes :
 - Corrélation positive très forte entre C et D ;
 - Anticorrélation très forte entre A et B ;
 - Anticorrélation entre B d'une part et C et D d'autre part.

Tableau II.1: Exemple de données initiales

Individu	A	B	C	D	E	F
1	20	-20	100	100	-20	2
2	2	-2	10	3	2	5
3	6	-6	30	30	6	-3
4	4	-4	20	3	4	-11
5	5	-5	25	25	5	4
6	30	-30	150	150	-30	-7
7	7	-7	35	35	-7	12
8	10	-10	50	50	-10	23
9	3	-3	15	15	-3	9
10	11	-11	55	55	-11	-5
11	1	-1	5	5	-1	4
12	19	-19	95	95	-19	4
13	5	-5	25	25	5	3
14	8	-8	40	40	-8	-7
15	4	-4	20	20	4	8
16	13	-13	65	65	-13	29
17	12	-12	60	60	-12	-15
18	22	-22	110	100	-22	12
19	19	-19	95	95	-19	11
20	2	-2	10	3	2	-8
21	7	-7	35	35	-7	13
22	9	-9	45	45	-9	14
23	2	-2	10	3	3	10
24	4	-4	20	3	4	7
25	5	-5	25	25	-5	8
26	12	-12	60	60	-12	24
27	19	-19	95	100	-19	2
28	11	-11	55	55	-11	-20
29	24	-24	120	100	-24	15
30	9	-9	45	45	-9	1

L'ACP est connue être une méthode, de classification de données, simple et susceptible de résoudre de telles questions d'une manière pratique. Elle est basée sur un changement des 6 variables dépendantes (A, B...F) pour arriver à nouvelles 6 variables des variables indépendantes (PC1, PC2,PC6) qui sont des combinaisons linéaires des premières. Les dernières variables sont dites les composantes principales.

L'information qui n'est pas facilement détectable dans le tableau des données initiales peut le devenir en observant seulement les deux, voire trois premières composantes principales (PC1, PC2, PC3). Ainsi l'ACP permet une sorte de réduction de dimensions du tableau des données initiales afin d'assurer une bonne visibilité de

l'information sur des graphes dits : carte factorielle des individus (figure II.6), carte factorielle des variables (figure II.7) et bi-plot (figure II.8).

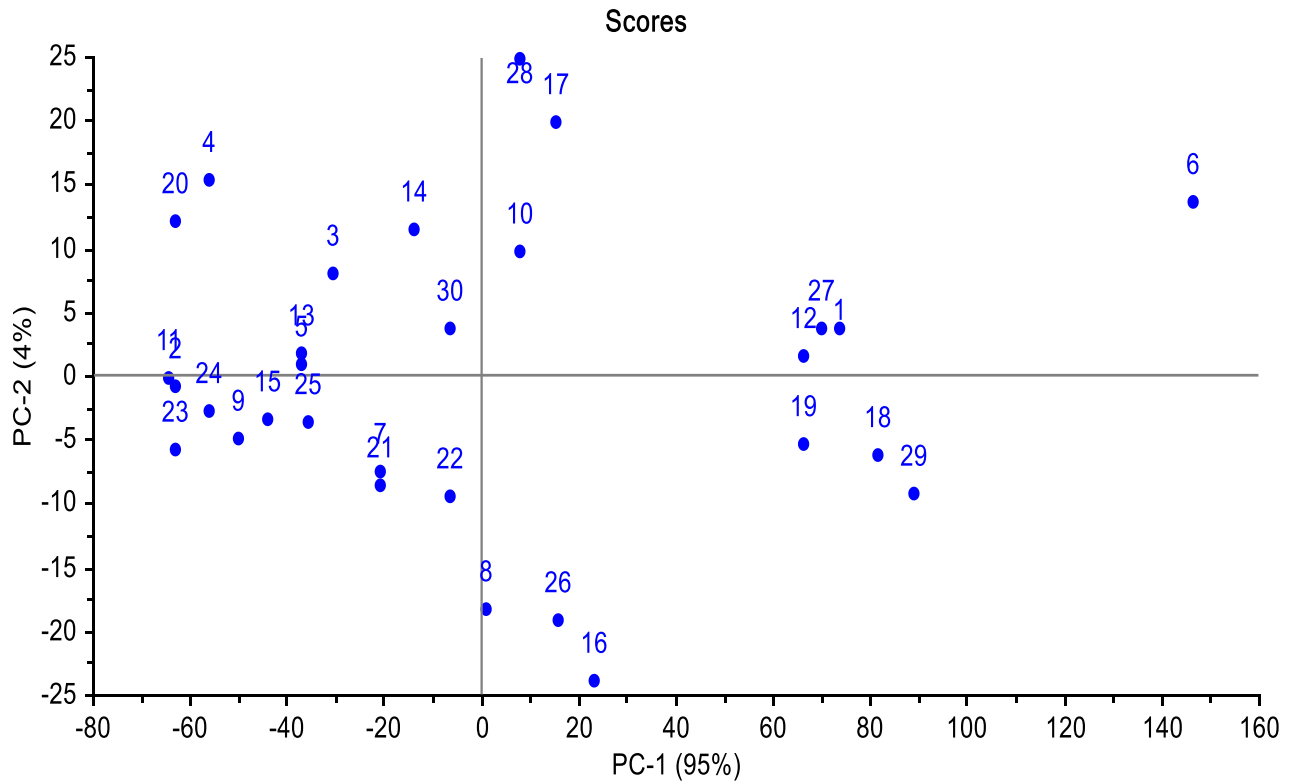


Figure II.6 : Carte factorielle des individus de l'exemple des données initiale.

La carte factorielle nous montre que :

- Il y a ressemblance entre les échantillons suivants qui sont alors appartenir à une même classe : 1, 12, 18, 19, 27 et 29 semble constituer une classe qui ne ressemble pas aux autres échantillons
- L'échantillon 6 ne ressemble à aucun échantillon

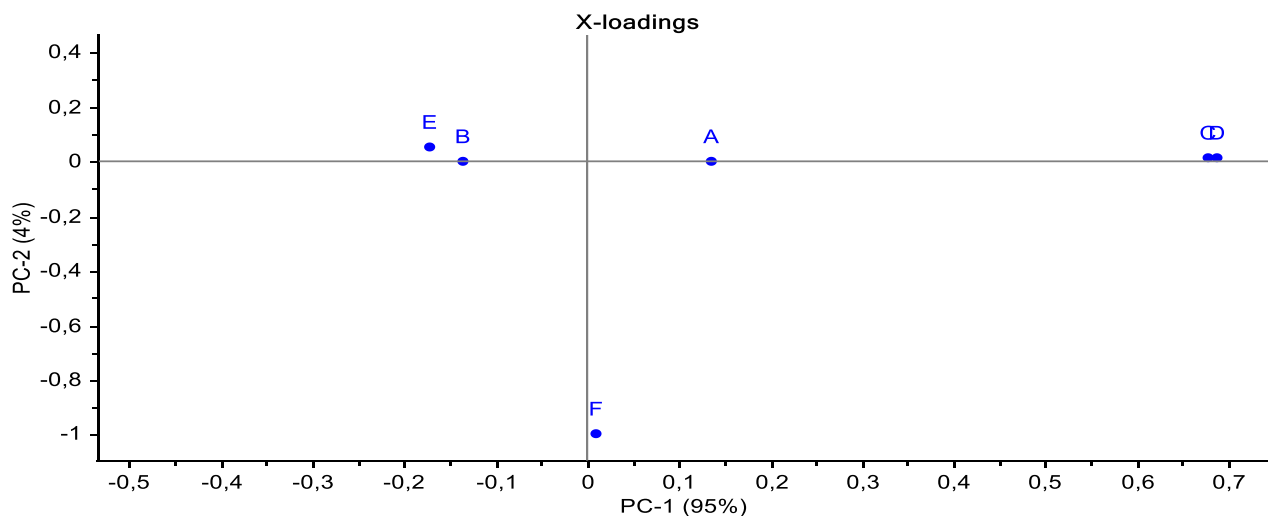


Figure II.7 : Carte factorielle des variables de l'exemple des données initiale.

Rappelons que le coefficient de corrélation entre deux variables correspond au cosinus de l'angle entre elles sachant que l'origine du vecteur est celui du repère (PC1, PC2) et que son extrémité est sur le point correspondant à la variable sur le graphe.

La carte factorielle des variables nous confirme que :

- Corrélation positive très forte entre C et D puisque les deux vecteurs OC et OD sont colinéaires. Donc le coefficient de corrélation est égal à 1, c'est-à-dire qu'il y a corrélation à 100% entre C et D : Si C augmente, D augmente et si C diminue alors D diminue.
- Anticorrélation très forte entre A et B ;
- Anticorrélation entre B d'une part et A, C et D d'autre part ;
- Corrélation nulle de F presque avec toutes les autres variables, notamment A, B, C et D.

L'ACP nous permet de déterminer tous les coefficients de corrélations entre les 6 variables (tableau 2). Il s'agit de la matrice des corrélations.

Tableau II.2 : Matrice des corrélations entre les variables

	A	B	C	D	E	F	
	1	2	3	4	5	6	
A	1	1	-1	1	0,9877	-0,9407	0,051
B	2	-1	1	-1	-0,9877	0,9407	-0,051
C	3	1	-1	1	0,9877	-0,9407	0,051
D	4	0,9877	-0,9877	0,9877	1	-0,9446	0,0497
E	5	-0,9407	0,9407	-0,9407	-0,9446	1	-0,1084
F	6	0,051	-0,051	0,051	0,0497	-0,1084	1

L'ACP nous permet de déterminer, également, les correspondances entre les individus d'une part et les variables d'autre part. Elle peut montrer quelle variable explique au mieux quel individu. On parle de bi-plot qui est une sorte de superposition de la carte factorielle des individus à celle des variables (figure II.8).

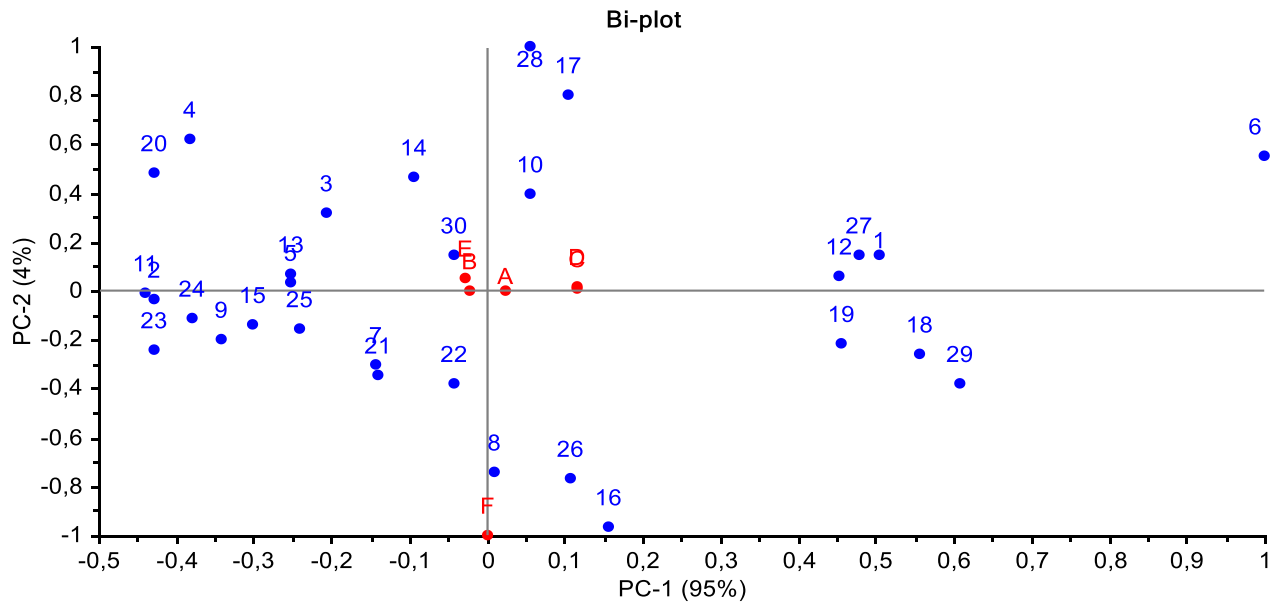


Figure II.8 : Graphique bi-plot de l'exemple des données initiale.

Le graphe dit bi-plot nous donne une information très importante telle que dans ce cas :

- La variable F explique au mieux les individus : 8, voire 22, 26 et 16
- Les variables A et D expliquent au mieux les individus : 12, 27 et 1, voire 19.
- La variable B explique au mieux les individus : 5,13, 2 et 11.

V-4. Classification hiérarchique (CHA) :

La classification hiérarchique ascendante consiste à regrouper les individus en groupes selon un critère de similitude (HIRI A., 2016). Il illustre la dissimilarité des données basée sur la distance euclidienne. Dans un espace à n dimensions, la distance euclidienne entre deux points $X(x_1;x_2...;x_n)$ et $Y(y_1;y_2...;y_n)$ est donnée par l'expression suivante :

$$d(X, Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - x_i)^2}$$

Dans le présent travail on entend par une telle distance euclidienne la dissimilarité entre deux patients.

C'est une méthode qui divise un ensemble d'objets en classes de façon à ce que les objets similaires appartiennent à une même classe (Wold S., 2001 ; HIRI A. 2016).

Comme dans le cas de l'ACP, il est possible d'effectuer l'analyse sur un jeu de données transformées (prétraitées) préalablement (Sjostrom M. et al, 1983 ; HIRI A. 2016).

Puisque ces méthodes hiérarchiques associent les groupes à des degrés décroissants de ressemblance, donc il est normal de représenter les résultats de la classification sous forme d'une structure arborescente que l'on appelle Dendrogramme (Aziz HIRI, 2016)

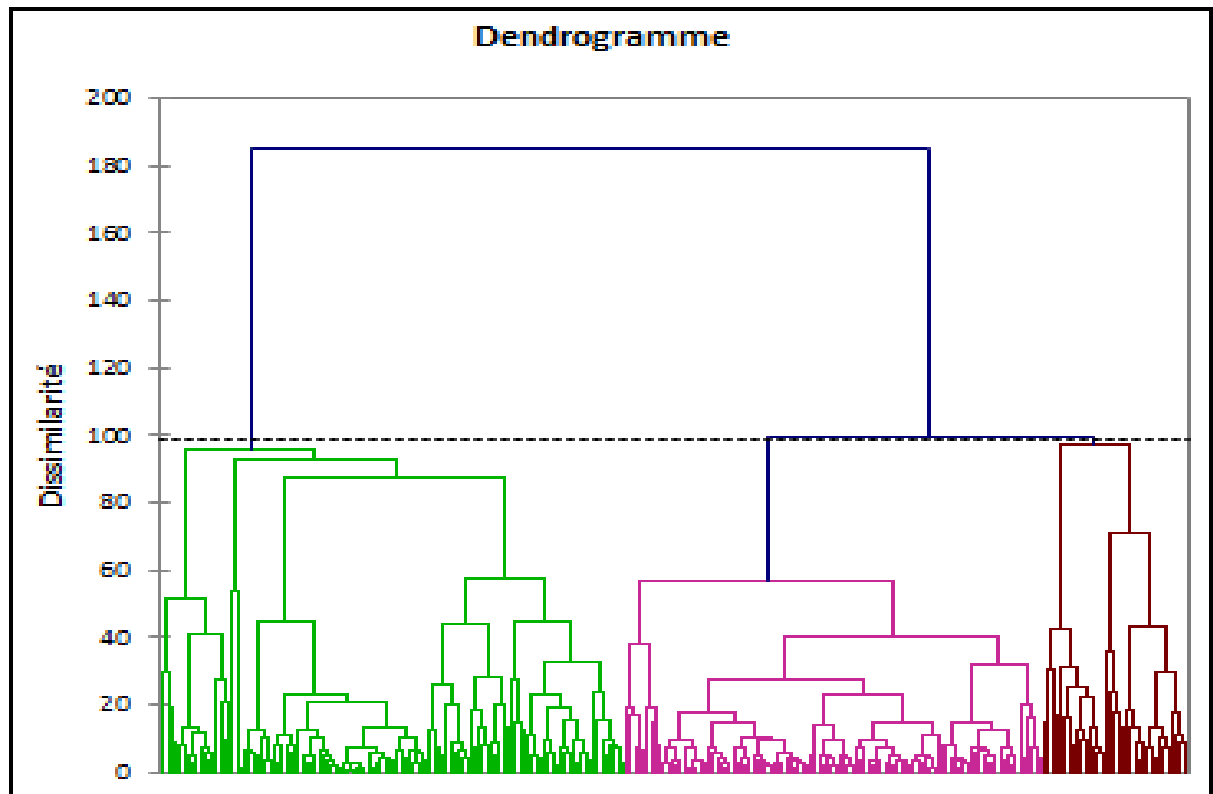


Figure II.9 : Graphique d'un Dendrogramme (Aziz HIRI, 2016).

V-5. Echantillonnage :

L'objectif de notre étude est d'appliquer la statistique descriptive, l'ACP, et CHA sur les données des urines des patients. Ces techniques ont également l'avantage de permettre de transformer les variables quantitatives initiales, toutes plus ou moins corrélées entre elles, en de nouvelles variables quantitatives, non corrélées, appelées composantes principales (PC_1, PC_2, \dots).

Le présent travail a été mené sur 113 patients, dont 67 hommes et 46 femmes, avec une moyenne d'âge chez les hommes est de 41 ans alors que celui des femmes est de 37 ans, l'âge moyen global de 40 ans sur toute la série des urines des patients. Les urines ont été collectées arbitrairement, de juillet à septembre 2017, au sein du Centre Hospitalier Régional à la ville de Béni Mellal.

Pour l'observation des cristaux, ainsi que les facteurs pathogènes, nous avons utilisé le microscope optique à lumière polarisée, après avoir noté le pH par pH-mètre et sur des urines fraîchement émises : premières urines du réveil.

Le comptage des cristaux est fait sur la grille de la cellule de Malassez. (Figure II.5)

Trois analyses des données (statistique descriptive, l'ACP, et CHA) ont été appliquées pour les données de la cristallurie sachant que les urines des patients ont été attribués aux individus et les six paramètres suivants : : l'âge du patient, l'aspect de l'urine, Whewellite en tant qu'espèce lithogène, leucocyte, globules rouges, et cadavre.

Pour l'étude statistique descriptive, l'ACP, et CHA présentées dans ce travail, nous avons utilisé le logiciel commercial *Unscrambler*[®] X.

Références

- **Adams M.J.**, chimie R.S.O. : Chimiométrie en spectroscopie analytique, Royal Society of Chemistry, (2004).
- **Andrzej A.W.**, Palleschi V., Schechter I., Spectroscopie de décomposition induite par laser (Libs) : Principes de base et applications, (2006).
- **Balakrishnama S.**, Ganapathiraju A. : Linear discriminant analysis -A brief tutorial (1998).
- **Dingari N.C.**, Barman I., Myakalwar A.K., Tewari S.P., Kumar Gundawar M.: Incorporation of Support Vector Machines in the LIBS Toolbox for Sensitive and Robust Classification Amidst Unexpected Sample and System Variability, Analytical Chemistry, 84 (2012) 2686-2694.
- **El Haddad J.**, Villot-Kadri M., Ismaël A., Gallou G., Michel K., Bruyère D., Laperche V., Canioni L., Bousquet B.: Artificial neural network for on-site quantitative analysis of soils using laser induced breakdown spectroscopy, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 79-80 (2013) 51-57.
- **Forni O.**, Maurice S., Gasnault O., Wiens R.C., Cousin A.S., Clegg S.M., Sirven J.-B., Lasue J.R.M. : Classification par analyse de composants indépendants des spectres de spectroscopie de dégradation induite par laser, Spectrochimica Acta Partie B : Spectroscopie atomique, (2013).
- **Gerbino E.**, Mobili P., Tymczyszyn E.E., Frausto-Reyes C., Araujo-Andrade C., Gomez-Zavaglia A. : Utilisation de la spectroscopie Raman et de la chimiométrie pour la quantification des ions métalliques fixés au kéfir de Lactobacillus, Journal of applied microbiology, 112 (2012) 363-371.
- **Godoi Q.**, Leme F.O., Trevizan L.C., Pereira Filho E.R., Rufini I.A., Santos Jr D., Krug F.J.: Laser-induced breakdown spectroscopy and chemometrics for classification of toys relying on toxic elements, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 66 (2011) 138-143.
- **Hanrahan G.**, Gomez F.A. : Méthodes chimiométriques en électrophorèse capillaire, Wiley, 2009.
- **HIRI Aziz**, Application de la spectroscopie ft-ir couplée aux outils chimiométriques pour le contrôle qualité des huiles d'olives vierges marocaines : cas béni mellal, rapport de thèse 09 Janvier 2016, N° d'ordre : 89/2016
- **Hua Y.**, Zhang H., Zhou H.: Quantitative determination of cyfluthrin in n-hexane by terahertz time-domain spectroscopy with chemometrics methods, Instrumentation and Measurement, IEEE Transactions on, 59 (2010) 1414-1423.

- **Ma Y.**, Wang Q., Li L.: PLS model investigation of thiabendazole based on THz spectrum, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 117 (2012) 7-14.
- **Massart D.**, Vandeginste B and Buydens L. *Handbook of chemometrics and Qualimetrics: Part A*. Elsevier science Ed; Amsterdam, (1997),20.
- **Multari R.A.**, Cremers D.A., Dupre J.M., Gustafson J.E.: The Use of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Distinguishing Between Bacterial Pathogen Species and Strains, *Appl. Spectrosc.*, 64 (2010) 750-759.
- **Myakalwar A.K.**, Sreedhar S., Barman I., Dingari N.C., Venugopal Rao S., Prem Kiran P., Tewari S.P., Manoj Kumar G. : Investigation par spectroscopie de dégradation induite par laser et classification de comprimés pharmaceutiques par analyse chimiométrique multivariable, *Talanta*, 87, (2011) 53-59.
- **Pan R.**, Zhao S., Shen J.: Terahertz spectra applications in identification of illicit drugs using support vector machines, *Procedia Engineering*, 7 (2010) 15-21.
- **Pao Y.**: *Adaptive pattern recognition and neural networks*, (1989).
- **Ruiz-Castelar S.**, Checa A., Gargallo R., Jaumot J. : Combinaison de méthodes chromatographiques et chimiométriques pour étudier les interactions entre les brins d'ADN, *Analytica chimica acta*, 722 (2012) 34-42.
- **Sjostrom M.**, Wold S., Lindberg W., Person J., Martens H. A multivariate calibration problem in analytical chemistry solved by partial least-squares models in latent variables. *Anal chim Acta*, (1983), vol 150, p 61-70.
- **Wold H.**: Estimation of principal components and related models by iterative least squares, *Journal of Multivariate Analysis*, (1966).
- **Wold H.**: *Multivariate Analysis*. New York, Academic press, 1966, pp 391-420
- **Wold S.**: Personal memories of the early PLS development. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (2001) 58, p 83–84.
- **Wang C.-C.**, Lu C.-C., Chen Y.-L., Cheng H.-L., Wu S.-M. : Optimisation chimiométrique de la chromatographie électrocinétique micellaire par balayage par injection exhaustive sélective cationique pour la quantification de la ractopamine dans la viande porcine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2013) 5914-5920.
- **Yaroshchyk P.**, Death D.L., Spencer S.J.: Comparison of principal components regression, partial least squares regression, multi-block partial least squares regression, and serial partial least squares regression algorithms for the analysis of Fe in iron ore using LIBS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 27 (2012) 92-98.

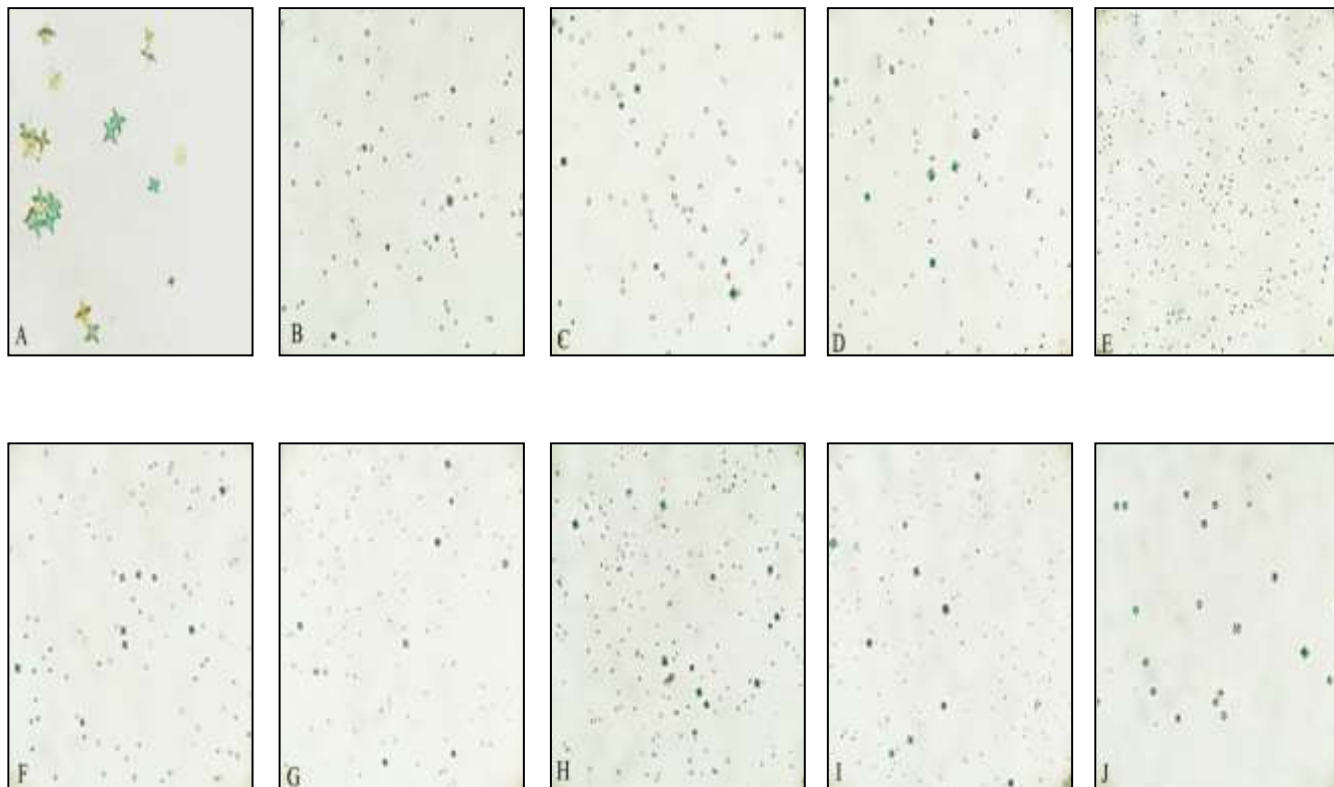
Chapitre III :

Résultats et Discussions

I- Extrait aqueux de jujube :

I-1. Comparaison des micrographies des différents extraits :

La figure III.1, illustre quelques exemples des micrographies au MOLP obtenues de dénombrement en présence de l'extrait aqueux de pulpe de jujube préparé aux différentes températures de décoction :



Figures III.1 : Micrographies des cristaux formés avant et après l'ajout des échantillons :

A: essai à blanc

B : 0,5 ml d'échantillon préparé à 60°C

C : 1 ml d'échantillon préparé à 60°C

D : 2 ml d'échantillon préparé à 60°C

E : 0,5 ml d'échantillon préparé à 80°C

F : 1 ml d'échantillon préparé à 80°C

G : 2 ml d'échantillon préparé à 80°C

H : 0,5 ml d'échantillon préparé à 100°C

I : 1 ml d'échantillon préparé à 100°C

J : 2 ml d'échantillon préparé à 100°C

I-2. Discussion :

Nous avons observé que la taille et le nombre des cristaux d'oxalate de calcium dihydratés diminuaient en présence de l'extrait aqueux de la pulpe de jujube. La forme dihydratée est transformée en forme monohydratée.

I-3. Comptage des cristaux d'OxCa monohydratés et dihydratés :

Les résultats du comptage des deux types des cristaux sous les conditions citées avant sont donnés par le tableau III.1 suivant :

Tableau III.1 : Nombre des cristaux d'oxalate de calcium, des deux types des cristaux, en présence de différents volumes d'extrait aqueux de la pulpe de jujube en décoction 100 °C, 80 °C et 60 °C.

	essai à blanc	0,5 ml			1 ml			2 ml		
		100 °C	80 °C	60 °C	100 °C	80 °C	60 °C	100 °C	80 °C	60 °C
cristaux dihydrate	2260	1280	1760	1680	960	1740	1140	740	1820	1520
cristaux monohydrate	0	2740	1200	1780	2460	1700	1100	1000	1380	760

La figure III.2 suivante illustre les résultats obtenus sur le nombre des cristaux d'oxalate de calcium, dihydraté, dans les conditions citées avant :

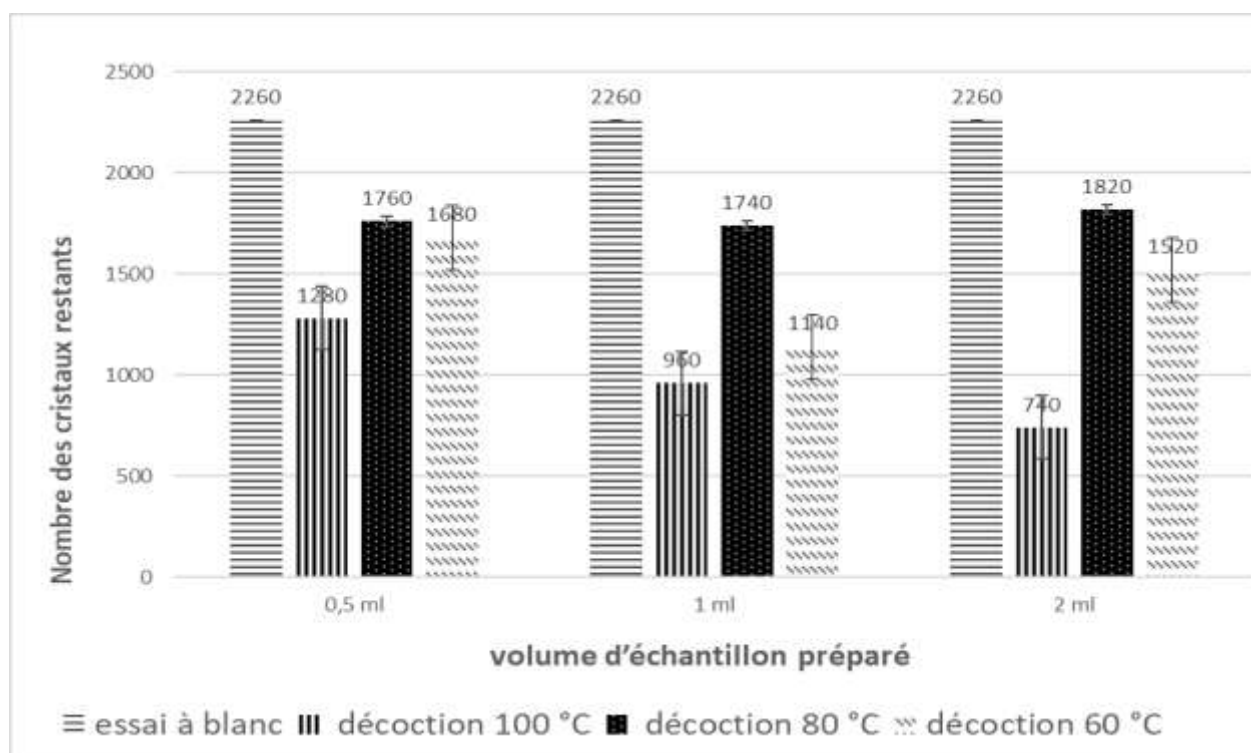


Figure III.2 : Evolution du nombre des cristaux d'oxalate de calcium, dihydraté, en présence de différents volumes d'extrait aqueux de la pulpe de jujube.

La figure III.3 montre les résultats obtenus sur le nombre de cristaux d'oxalate de calcium, monohydraté, dans les conditions citées :

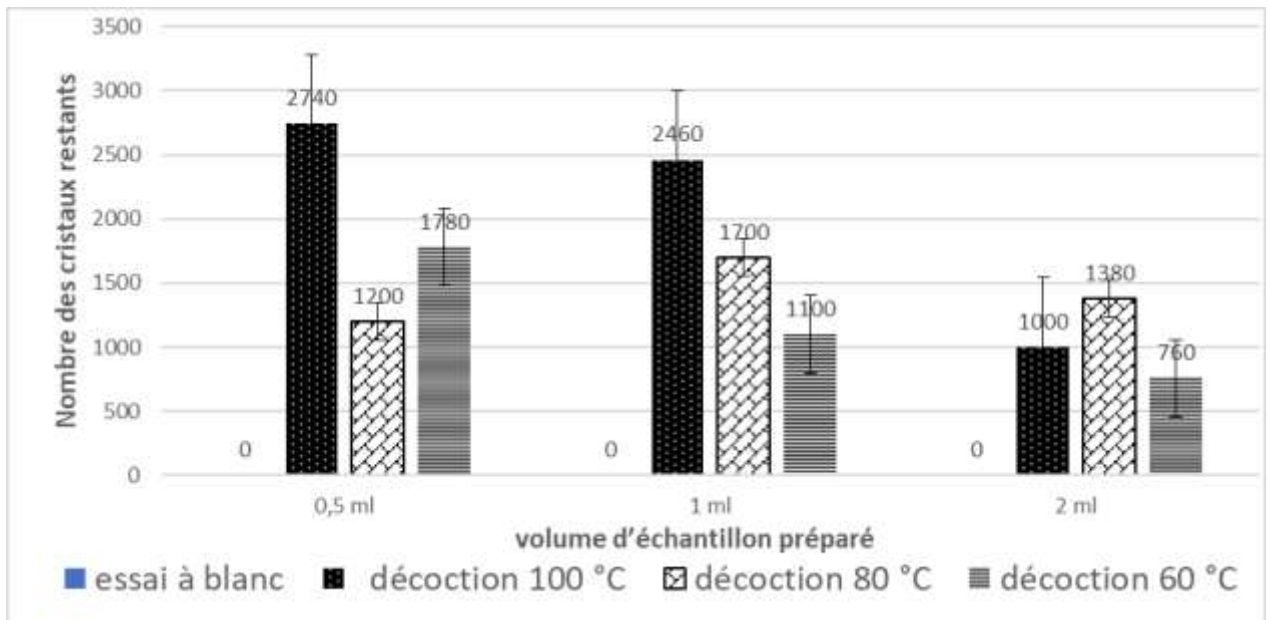


Figure III.3 : Evolution du nombre des cristaux d'oxalate de calcium, monohydraté, en présence de différents volumes d'extrait aqueux de la pulpe de jujube.

I-4. Discussion :

On remarque que le nombre des cristaux dihydratés formés diminue avec l'augmentation des doses de la décoction à 100 °C, par contre les deux autres décoctions ne représente pas de forte diminution.

Concernant le nombre des cristaux monohydratés, après leur apparition il a diminué avec l'augmentation des doses de la décoction à 100 °C et à 80 °C.

On constate, également, que la décoction à 100 °C du jujube présente un meilleur effet de diminution du nombre des cristaux dihydratés et monohydratés d'oxalate de calcium avec l'augmentation des doses par rapport aux autres décoctions.

II- Extrait aqueux de pulpe de caroube, citron et orange :

II-1. Solution aqueuse d'oxalate de calcium :

Les résultats obtenus, en termes de pourcentage de disparition du nombre des cristaux d'oxalate de calcium en présence de l'extrait aqueux de caroube, citron et orange, sont rapportés par le tableau III.2 suivant :

Tableau III.2 : Pourcentage de disparition du nombre des cristaux d'oxalate de calcium, en solution aqueuse, en présence de l'extrait aqueux de caroube, citron et orange.

Concentration de l'extrait aqueux (g/l)		0,0625	0,125	0,25	0,5	1
Pourcentage de disparition du nombre des cristaux (%)	Caroube	32	43	56	64	75
	Citron	32	42	49	67	78
	Orange	30	38	45	65	77

La figure III.4, illustre l'Evolution du pourcentage de disparition des cristaux d'oxalate de calcium selon la concentration de l'extrait aqueux des pulpes de caroube, citron et orange.

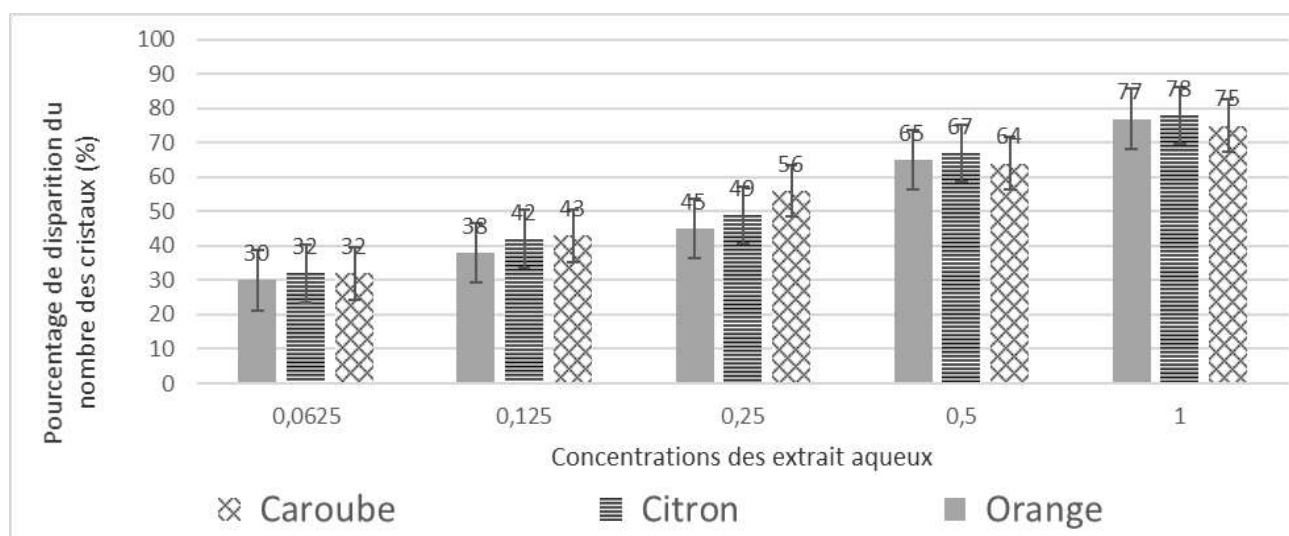


Figure III.4 : Evolution du pourcentage de disparition des cristaux d'oxalate de calcium selon la concentration de l'extrait aqueux des pulpes de caroube, citron et orange.

II-2. Urine des patients lithiasiques :

La répartition de l'âge des 50 patients lithiasique selon leur genre est telle que 20 patients sont des femmes avec une marge d'âge entre 15 ans et 45 ans et que 30 patients sont des hommes avec une marge d'âge entre 6 et 67 ans.

Après des essais effectués sur l'urine de ces patients en présence d'extraits des pulpes de caroube, de citron et d'orange les résultats obtenus sont donnés par le tableau III ci-après. Pour une question de commodité dans ce tableau seules trois concentrations des extraits aqueux ont été considérées.

Pour une crédibilité des résultats du dénombrement des cristaux nous avons adoptés la moyenne arithmétique des nombres des cristaux existant dans l'urine que le pourcentage de disparition de ces cristaux.

Les résultats obtenus, en termes de pourcentage de disparition du nombre des cristaux dans les urines des patients lithiasiques en présence de l'extrait aqueux de caroube, citron et orange, sont rapportés par le tableau III.3 suivant :

Tableau III.3 : Pourcentage de disparition du nombre des cristaux chez des patients lithiasiques, dans l'urine des patients lithiasiques, en présence de l'extrait aqueux de caroube, citron et orange.

Concentration de l'extrait aqueux (g/l)		0,0625	0,125	0, 25
Pourcentage de disparition du nombre des cristaux (%)	<i>Caroube</i>	35	48	52
	<i>Citron</i>	42	58	66
	<i>Orange</i>	40	55	62

La figure III.5, suivant, représente les résultats obtenus en termes de pourcentage de disparition du nombre des cristaux dans les urines des patients lithiasiques en présence de l'extrait aqueux de caroube, citron et orange :

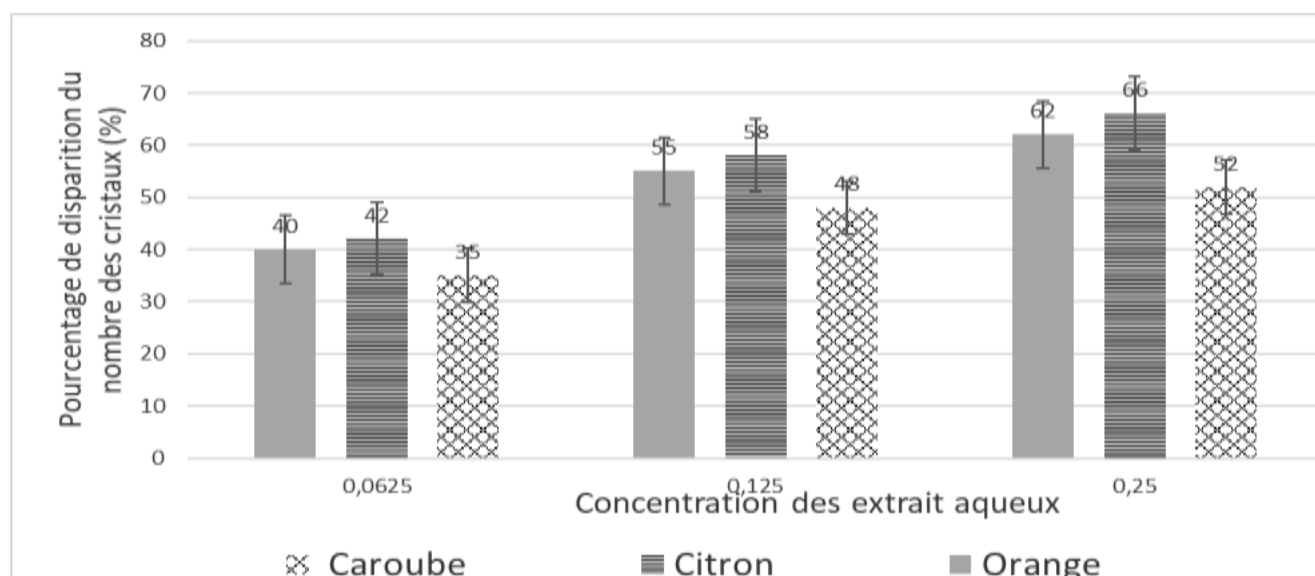


Figure III.5 : Evolution du pourcentage de disparition des cristaux dans des urines de patients lithiasiques, selon la concentration de l'extrait aqueux des pulpes de caroube, citron et orange.

II-3. Discussion :

D'après les résultats de première partie de ce travail on remarque que :

- ✓ Quand l'extrait des pulpes des trois sous-produits étudiés caroube, citron, et orange est plus concentré, le pourcentage des cristaux disparus augmente.
- ✓ La différence au niveau des pourcentages de disparition des cristaux pour les trois sous-produits est presque négligeable, avec une très légère priorité de disparition des cristaux pour le citron, puis l'orange.

✓ Disparition de plus de 50% des cristaux à partir de la concentration 0,25 g/l.

La conclusion qu'on peut tirer de ces remarques est que la pulpe de ces trois sous-produits (caroube, citron et orange) aurait un effet inhibiteur pour la formation des cristaux, notamment dans le cas du citron.

D'après les résultats de la deuxième partie concernant les essais sur les urines des patients lithiasiques on observe que :

- ✓ En augmentant la concentration des solutions des pulpe des trois sous-produits, on observe une augmentation du pourcentage des cristaux disparus.
- ✓ Il n'y a pas de grande différence en pourcentage de disparition des cristaux entre les trois sous-produits.

La figure II.6 suivante présente les résultats de l'évolution du pourcentage de disparition des cristaux dans des urine des patients lithiasiques et des solutions oxalate, selon la concentration de l'extrait aqueux des pulpes de caroube, citron et orange :

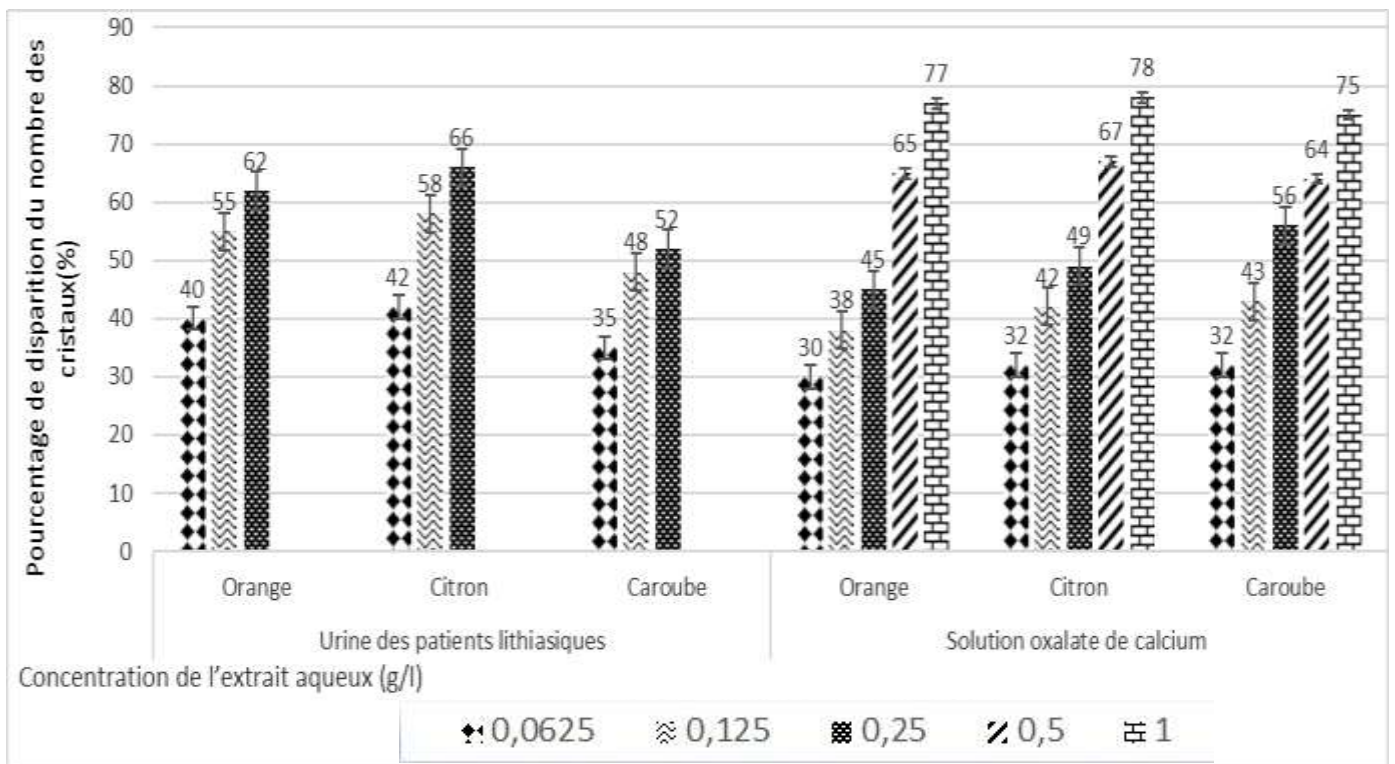


Figure III.6 : Evolution du pourcentage de disparition des cristaux dans des urines de patients lithiasiques et des solutions d'oxalate, selon la concentration de l'extrait aqueux des pulpes de caroube, citron et orange.

On peut formuler les constatations suivantes :

- ✓ On remarque que les résultats sont similaires,
- ✓ A la concentration de 0,25g /l de l'extrait aqueux, pour chacun des trois types pulpes : de caroube, de citron et d'orange, environs 50% du nombre des cristaux de l'oxalate de calcium disparaît.

- ✓ Selon les résultats sur la solution aqueuse d'oxalate de calcium et l'urine du patient lithiasique, l'extrait aqueux des pulpes de caroube aux trois concentrations 0,25, 0,125 et 0,0625 g/l, ne présente pas d'effet inhibiteur net.
- ✓ Cela prouve que l'apparition de la cristallurie dans les urines est beaucoup plus liée au facteur de la cristallogénèse qu'au d'autres facteurs tel que biologique.

III- Corrélations entre patients et facteurs influençant la cristallurie :

III-1. Analyses urinaires des patients :

D'après les analyses urinaires, effectuées au niveau du laboratoire de l'hôpital régional de Beni Mellal-Khénifra, à l'aide du microscope à lumière polarisée, nous avons obtenu les résultats illustrés sur les tableaux III.4 et III.5 :

Tableau III.4: Codification des paramètres des patients (a) et des urine (b et c)

Genre	Code
Masculin	1
Féminin	0

(a)

Aspect	Code
Limpide (L)	0
Légèrement Trouble (LT)	1
Trouble (T)	2
Hématique	3

(b)

Leucocyte ou hématie ou Cadavre	Code
entre 0 et 50000	1
entre 50000 et 100000	2
entre 100000 et 150000	3
entre 150000 et 200000	4
supérieur à 200000	5

(c)

Tableau III.5: Résultats des analyses urinaires des patients effectuées au niveau du laboratoire de l'hôpital régional de Beni Mellal-Khénifra : (les codes des échantillons commencent par une lettre M pour le patient masculin ou F pour le patient féminin).

Date	Code	Genre	Age (ans)	Aspect	Wh	Wd	Wh+Wd	Leu.	Hem.	Cad.
21/06/2017	M01	1	42	0	0	0	0	0	0	0
	F01	0	37	0	1	0	0	1	0	0
	M02	1	42	0	0	0	0	0	0	0
	M03	1	76	2	0	0	0	1	0	0
	M04	1	34	0	0	0	0	0	0	0
	M05	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	F02	0	47	2	0	0	0	5	3	0
	M06	1	37	0	0	0	0	1	0	0
	M07	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	F03	0	37	0	0	0	0	1	0	0
	M08	1	37	0	0	0	0	1	1	0
	F04	0	37	1	0	0	0	1	1	0
	F05	0	24	1	0	0	0	1	1	0
	F06	0	47	2	0	0	0	0	1	0
	F07	0	34	2	0	0	0	1	0	0
M09	1	37	2	0	0	0	5	1	0	

Tableau III.5(suite): Résultats des analyses urinaires des patients effectuer au niveau du laboratoire de l'hôpital régional de Béni Mellal-Khénifra : (les codes des échantillons commencent par une lettre M pour le patient masculin ou F pour le patient féminin).

Date	Code	Genre	Age (ans)	Aspect	Wh	Wd	Wh+Wd	Leu.	Hem.	Cad.
21/06/2017	F08	0	37	2	1	0	0	1	0	0
	F09	0	37	1	0	0	0	1	1	0
	M10	1	45	0	0	0	0	0	0	0
	F10	0	5	2	0	0	0	1	1	0
	F11	0	37	0	0	0	0	1	0	0
10/07/2017	F12	0	37	1	0	0	0	1	5	0
	M11	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	M12	1	37	0	0	0	0	1	0	0
	M13	1	37	1	0	0	0	4	0	0
12/07/2017	F13	0	47	2	0	0	0	3	0	0
	F14	0	37	0	0	0	0	1	0	0
	M14	1	20	0	0	0	0	0	0	0
	F15	0	37	0	0	0	0	0	0	0
	F16	0	37	2	0	0	0	1	0	0
	M15	1	37	2	0	0	0	1	0	0
	M16	1	61	0	0	0	0	0	0	0
	M17	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	M18	1	37	1	0	0	0	1	0	0
	M19	1	37	3	0	0	0	5	5	0
	M20	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	M21	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	M22	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	F17	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	F18	0	37	0	0	0	0	1	0	0
	M23	1	64	0	0	0	0	1	0	0
	M24	1	72	0	0	0	0	0	0	0
	M25	1	37	0	0	0	0	1	0	0
	M26	1	37	2	0	0	0	5	0	0
	M27	1	22	1	1	0	0	1	0	0
	M28	1	37	2	0	0	0	3	1	0
	F19	0	36	0	0	0	0	0	0	0
	F20	0	37	0	0	0	0	0	0	0
F21	0	40	0	0	0	0	1	1	0	
F22	0	17	2	0	0	0	0	0	0	
F23	0	37	1	1	0	0	1	0	0	
03/08/2017	M29	1	37	0	0	0	0	1	0	0
	M30	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	F24	0	37	1	0	0	0	1	0	0
	M31	1	58	0	0	0	0	0	0	0
	M32	1	85	2	0	0	0	1	0	0
	M33	1	37	0	0	0	0	1	0	0
M34	1	36	2	0	0	0	0	0	5	

Tableau III.5 (suite): Résultats des analyses urinaires des patients effectués au niveau du laboratoire de l'hôpital régional de Béni Mellal-Khénifra : (les codes des échantillons commencent par une lettre M pour le patient masculin ou F pour le patient féminin).

Date	Code	Genre	Age (ans)	Aspect	Wh	Wd	Wh+Wd	Leu.	Hem.	Cad.
03/08/2017	M35	1	37	2	0	0	0	5	0	5
	F25	0	37	0	0	0	0	0	0	5
22/08/2017	M36	1	70	1	0	0	0	1	0	0
	F26	0	66	2	0	0	0	5	0	5
	M37	1	37	1	1	0	0	0	0	0
	M38	1	19	0	0	0	0	0	0	0
	M39	1	19	0	1	0	0	0	0	0
	M40	1	37	0	0	0	0	0	0	0
28/08/2017	M41	1	62	0	1	0	0	0	0	0
	F27	0	16	0	0	0	0	0	0	0
	M42	1	37	2	0	0	0	1	1	5
	M43	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	F28	0	37	2	0	0	0	1	0	5
	F29	0	50	0	0	0	0	0	0	0
	F30	0	55	0	0	0	0	0	0	0
	M44	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	F31	0	37	0	0	0	0	0	0	0
	M45	1	59	0	0	0	0	1	0	0
	M46	1	37	0	1	0	0	1	0	0
	M47	1	31	0	0	0	0	1	0	0
	F32	0	37	0	1	0	0	1	0	0
	F33	0	37	2	0	0	0	5	0	5
M48	1	37	1	1	0	0	1	0	0	
11/09/2017	F34	0	37	2	0	0	0	1	0	0
	M49	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	F35	0	37	1	0	0	0	1	0	0
	F36	0	37	0	0	0	0	1	0	0
	M50	1	37	0	0	0	0	1	0	0
12/09/2017	F37	0	37	0	0	0	0	1	0	0
	F38	0	36	0	0	0	0	1	1	5
	F39	0	37	1	0	0	0	1	0	0
	F40	0	47	0	0	0	0	1	0	0
	M51	1	40	0	0	0	0	1	0	0
	F41	0	43	1	0	0	0	1	0	0
18/09/2017	M52	1	37	1	1	0	0	3	1	5
	M53	1	37	0	0	0	0	1	1	0
19/09/2017	M54	1	37	0	0	0	0	0	0	0
	F42	0	37	1	0	0	0	1	0	0
	M55	1	32	0	0	0	0	1	0	0
	F43	0	31	0	0	0	0	1	1	0

Tableau III.5 (suite): Résultats des analyses urinaires des patients effectués au niveau du laboratoire de l'hôpital régionale de Béni mellal-Khénifra.

Date	Code	Genre	Age (ans)	Aspect	Wh	Wd	Wh+Wd	Leu.	Hem.	Cad.
19/09/2017	M56	1	37	2	0	0	0	2	1	0
	M57	1	17	1	0	0	0	1	2	0
	F44	0	109	0	0	0	0	1	0	5
25/09/2017	M58	1	37	0	0	0	0	0	1	0
26/09/2017	M59	1	81	1	0	0	0	1	0	0
27/09/2017	F45	0	37	0	0	0	0	1	0	0
	M60	1	37	0	0	0	0	1	0	0
28/09/2017	M61	1	37	1	1	0	0	1	1	0
	M62	1	37	2	0	0	0	1	1	0
29/09/2017	M63	1	37	0	0	0	0	1	1	0
02/10/2017	M64	1	81	0	0	0	0	1	1	0
	M65	1	57	1	1	0	0	1	1	5
03/10/2017	M66	1	66	0	0	0	0	1	0	0
	M67	1	37	1	1	0	0	1	1	0
	F46	0	37	0	0	0	0	0	0	0

III-2. Analyse des données de cristallurie :

L'analyse des données concernant la cristallurie de 113 urines des patients, dont 67 hommes et 46 femmes, chez lesquels nous avons observé par microscopie à lumière polarisée (MLOP) les urines du réveil du matin, à jeûne. Les urines ont été collectées, du juillet à septembre 2017, chez les 113 patients au sein du Centre Hospitalier Régional à la ville de Beni Mellal. L'âge moyen des hommes est de 41 ans alors que celui des femmes est de 37 ans. D'où un âge moyen global de 40 sur toute la série des patients, et une marge d'âge entre 1 an à 109 ans.

Nous avons recherché aussi bien la classification des patients que les corrélations qui peuvent exister entre six différents facteurs. En fait, ces facteurs peuvent aussi bien permettre de classer les patients qui présentent une relation ou corrélation avec l'apparition de cristaux dans les urines des patients. Les six facteurs concernés sont : l'âge du patient (noté "Age"), l'aspect de l'urine (noté "Aspect"), Whewellite en tant qu'espèce lithogène (noté "Wh"), leucocyte (noté "Leuko"), globules rouges (noté "Red Cell"), cadavre (noté "Corp").

2-1. Cristallurie chez l'homme :

2-1-1. Statistique descriptive :

La statistique descriptive sur des données brutes de cristallurie des 67 patients hommes (tableau III.5 précédent) nous a donné les quartiles (figure III.7 suivante).

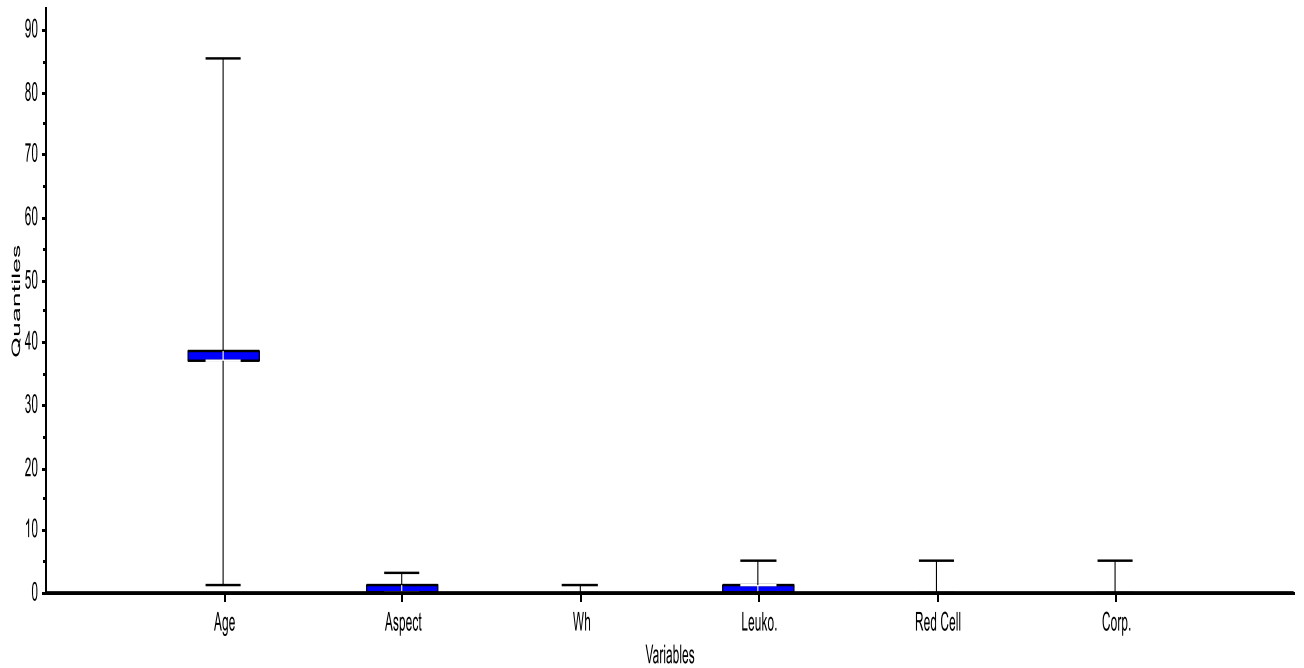


Figure III.7: Graphe des quantiles chez l'homme.

On remarque que, sur les six facteurs de cristallurie, les gammes des valeurs diffèrent en passant d'un facteur de cristallurie notamment du facteur âge à un autre. D'où le fait que l'étape du centrage des données est utile en cas d'analyse en composantes principales (ACP).

La statistique descriptive nous a donné, également, les moyennes et les déviations standards (figure III.8 suivante). On retrouve que les moyennes sont différentes entre les facteurs notamment entre le facteur âge du patient d'une part et les autres cinq facteurs d'autre part. D'où le fait que l'étape de la réduction des données est, également, soit utile en cas d'analyse en composantes principales (ACP).

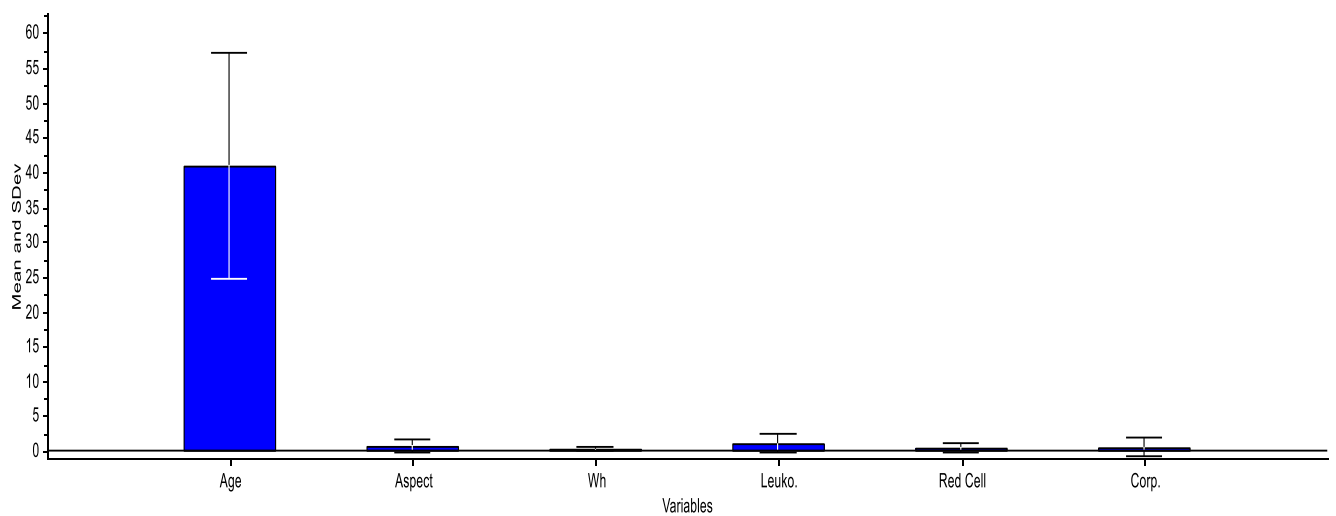


Figure III.8: Graphe des moyennes et déviations standards chez l'homme.

2-1-2. Analyse en composantes principales :

L'analyse en composantes principales (ACP) des données de cristallurie des patients a montré que la première composante principale (PC1) explique la quasi-totalité de la variance totale issue de ces données (figure III.9 suivante).

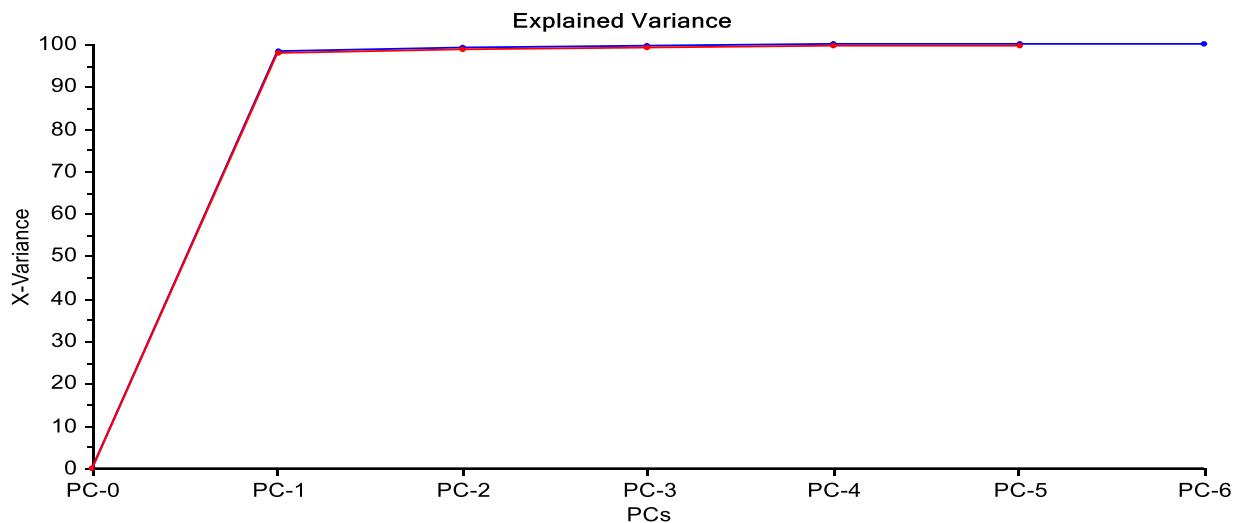


Figure III.9: Courbe de variance totale expliquée selon le nombre des composantes principales chez l'homme.

Cela signifie qu'il y a une grande dépendance entre les six facteurs étudiés dits variables naturelles ou dépendantes de telle manière que déjà la première variable dite synthétique indépendante (PC1) peut les remplacer.

Nous observons qu'il y a des patients qui ont mieux influencé cette classification grâce à la première composante principale PC1 (figure III.10 suivante) : à ce niveau nous citons à titre d'exemple le patient 32.

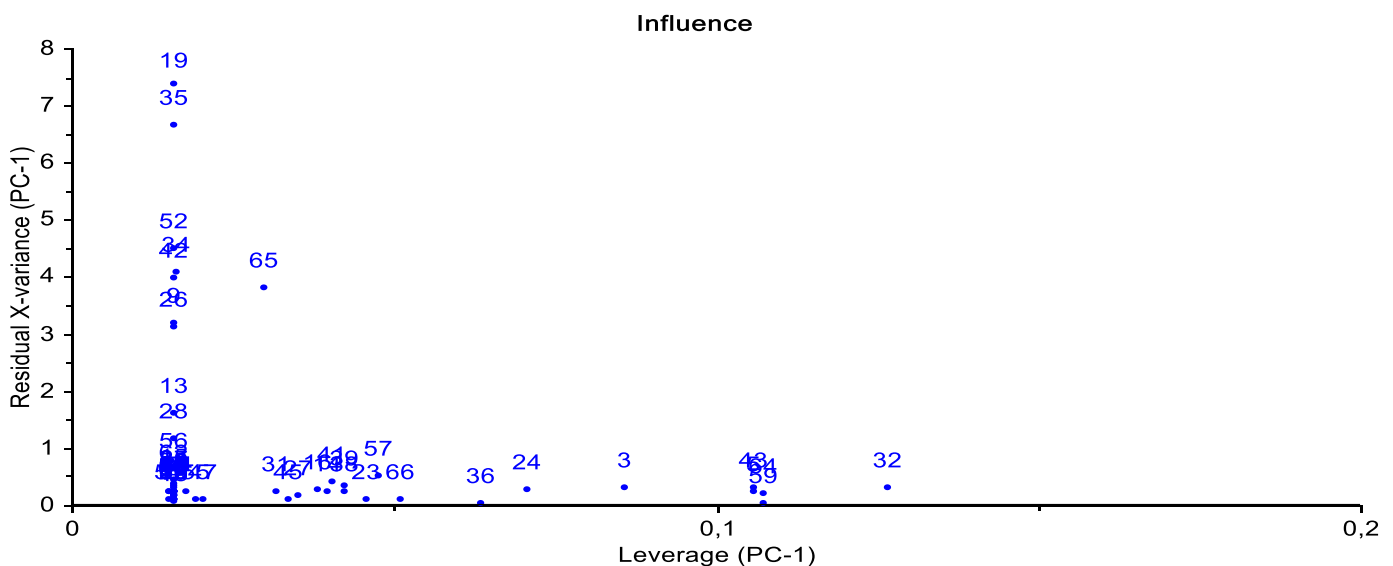


Figure III.10: Graphe de l'influence chez l'homme.

En fait, la classification par ACP a permis d'obtenir la carte factorielle des patients de genre masculin illustrée par la figure II.11 suivante.

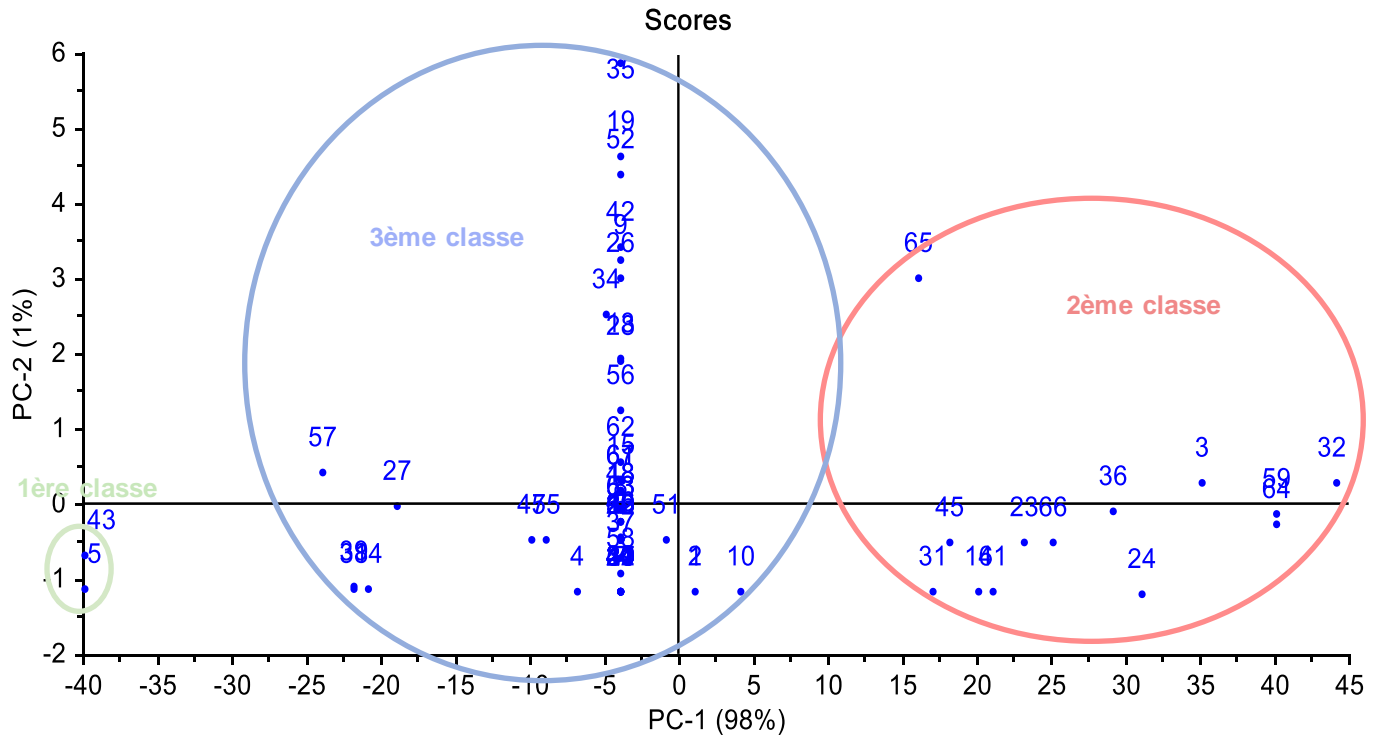


Figure III.11: ACP Score plot dans le plan (PC1,PC2) chez l'homme.

On remarque qu'il n'a pas une nette classification entre les patients. Cependant, on peut classer les patients en au moins trois classes :

- ✓ Une 1^{ère} classe en corrélation forte négative avec PC1 contenant les patients : 5 et 43.
- ✓ Une 2^{ème} classe en corrélation forte positive avec PC1 contenant à titre d'exemples les patients : 32, 3 et 36.
- ✓ Une 3^{ème} classe en corrélation forte positive avec PC2 contenant à titre d'exemples les patients : 35, 19, 52 et 42

L'information assurée par le deux premières composantes principales PC1 et PC2 représente 99% de l'information issue des données initiale concernant les hommes. Si on observe les résultats dans le plan (PC1, PC3), illustre dans la figure III.12, assurant également 99% de l'information initiale on peut classer les patients en trois ou quatre classes :

- ✓ Une 1^{ère} éventuelle classe en corrélation forte négative avec PC2 contenant à titre d'exemples les patients : 5 et 43.

- ✓ Une 2^{ème} classe en corrélation forte positive avec PC1 contenant à titre d'exemples les patients : 32, 3 et 24.
- ✓ Une 3^{ème} classe contenant à titre d'exemples les patients : 34, 42 et 52 en corrélation forte positive avec PC2 et les patients : 19 et 9 en corrélation forte négative.
- ✓ Une 4^{ème} classe en corrélation forte négative avec PC2 contenant à titre d'exemples les patients : 19, 9 et 26

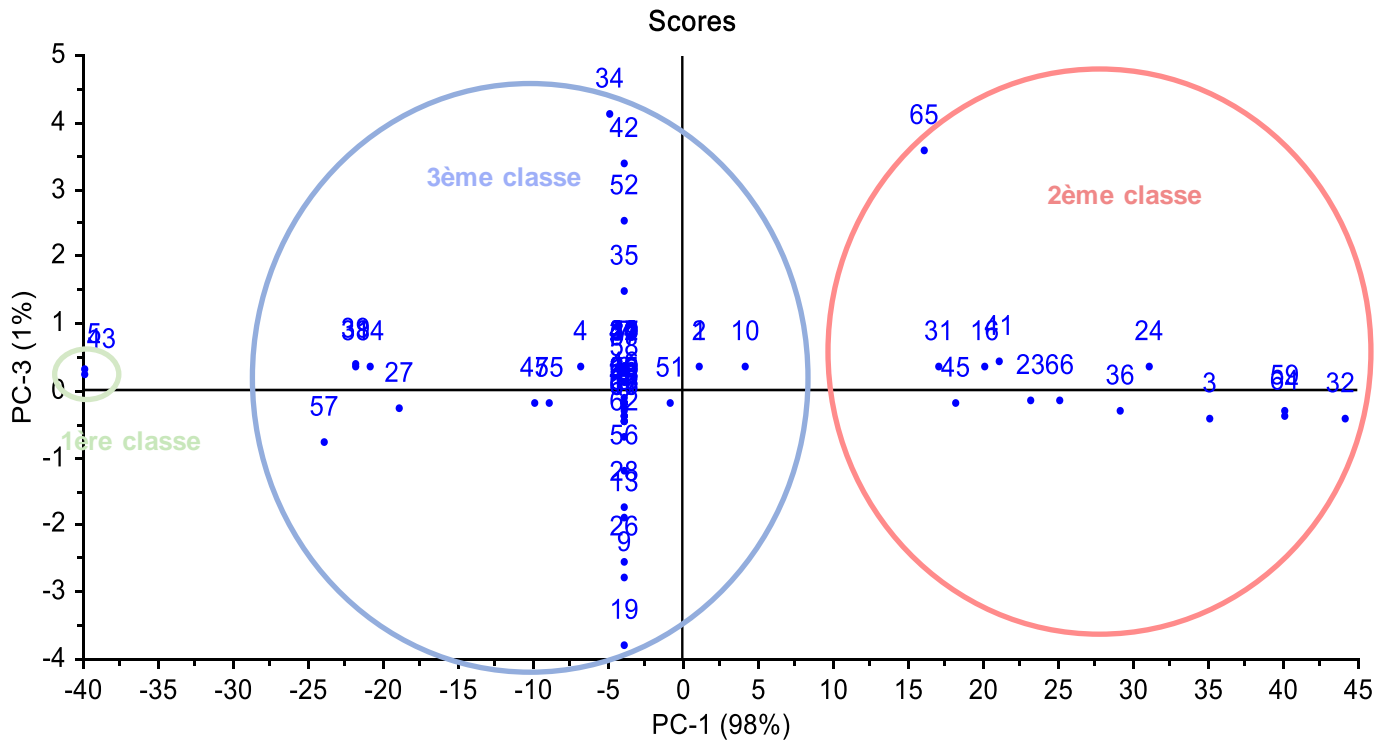


Figure III.12: ACP Score plot dans le plan (PC1,PC3) chez l'homme.

Si on passe à trois dimensions de l'ACP nous retrouvons qu'il semble s'agir des trois classes.

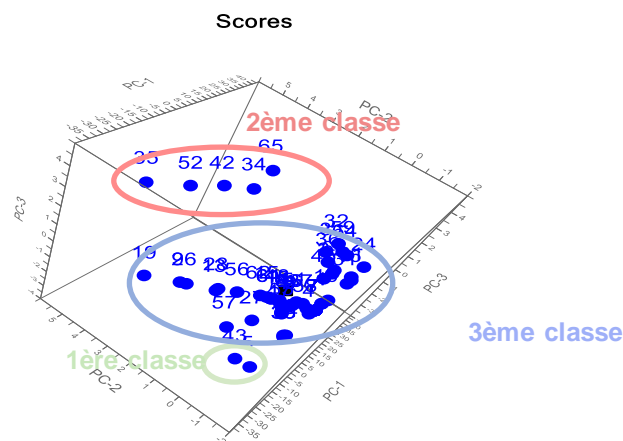


Figure III.13: ACP Score plot en 3D (PC1,PC2,PC3) chez l'homme.

D'après le graphe des corrélations dit graphe des loadings on peut dire que les 3 facteurs "leucocytes", "cadavre" et "aspect de l'urine" sont indépendants de l'âge du patient (figure III,14 suivante). Les deux autres facteurs "whewellite" et "globules rouges" sont tellement proches de l'origine que l'information concernant une éventuelle indépendance de l'âge ne soit pas pertinente.

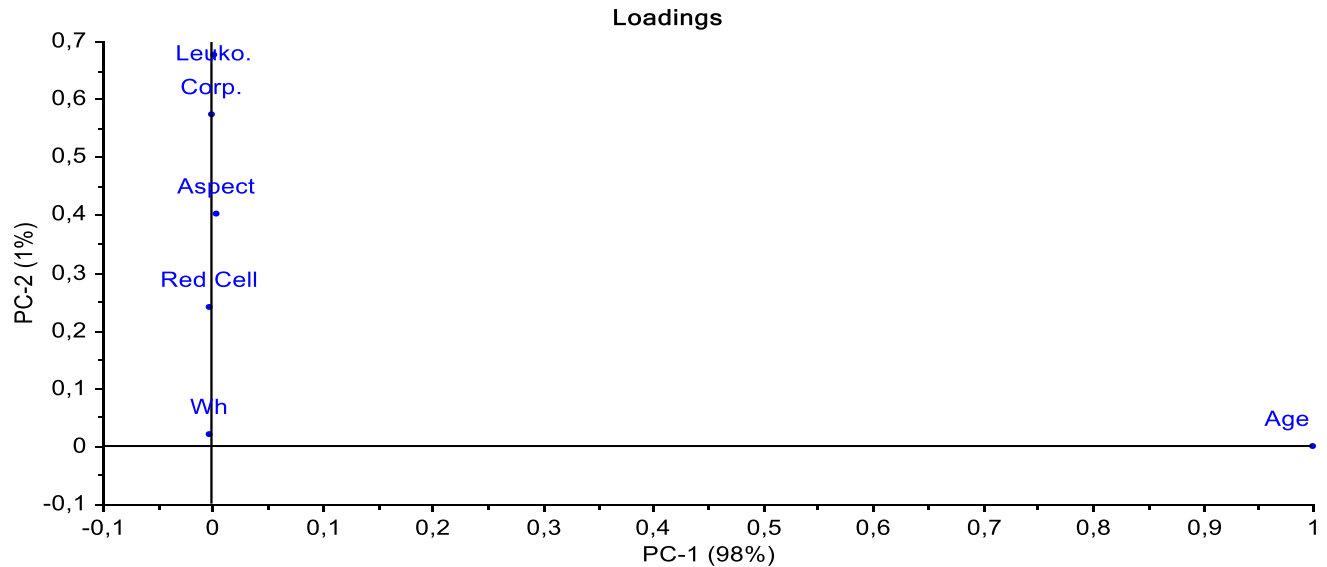


Figure III.14 : ACP loading (PC1,PC2) chez l'homme.

La figure III.15 suivante montre que toute information concernant la corrélation d'aussi bien le facteur "whewellite" que le facteur "globules rouges" ne présentent qu'une pertinence ne dépassant pas 50% puisque les points de leurs vecteurs ne dépassent pas le premier cercle.

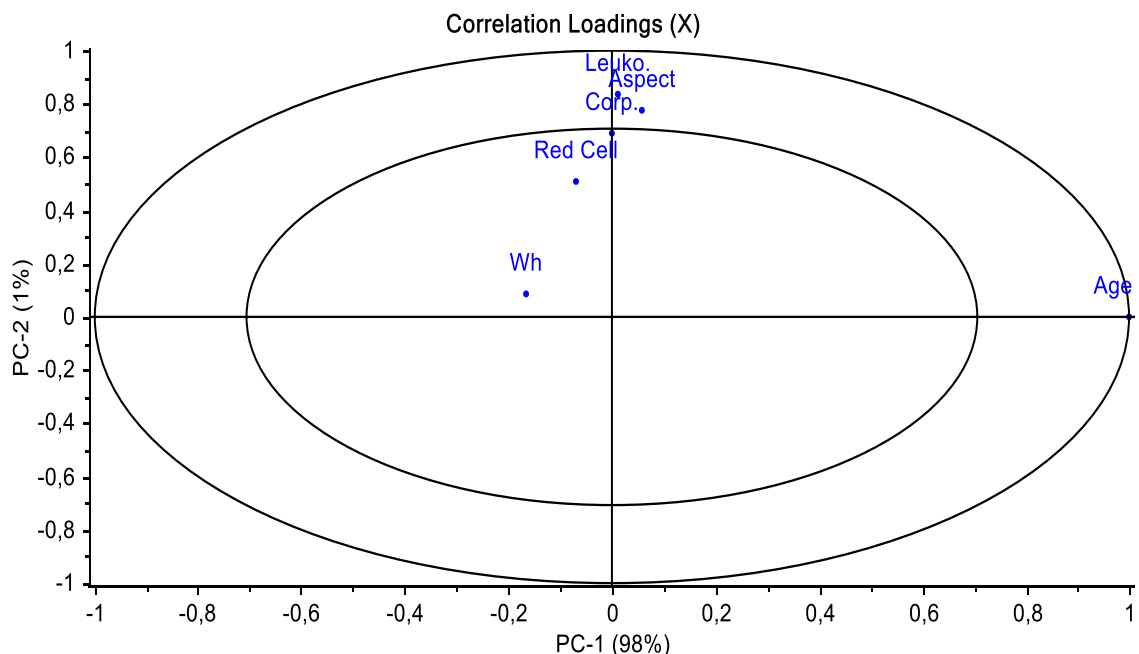


Figure III.15: ACP Cercles des corrélations (PC1,PC2) chez l'homme.

Les résultats des indépendances entre l'âge d'une part et les autres cinq paramètres observés au niveau des loadings dans le plan (PC1,PC2) sont globalement plus ou moins confirmés dans le plan (PC1,PC3) (figure III.16 suivante). En fait, l'information concernant toute corrélation du facteur aspect de l'urine voire le facteur "leucocytes" n'est plus pertinente.

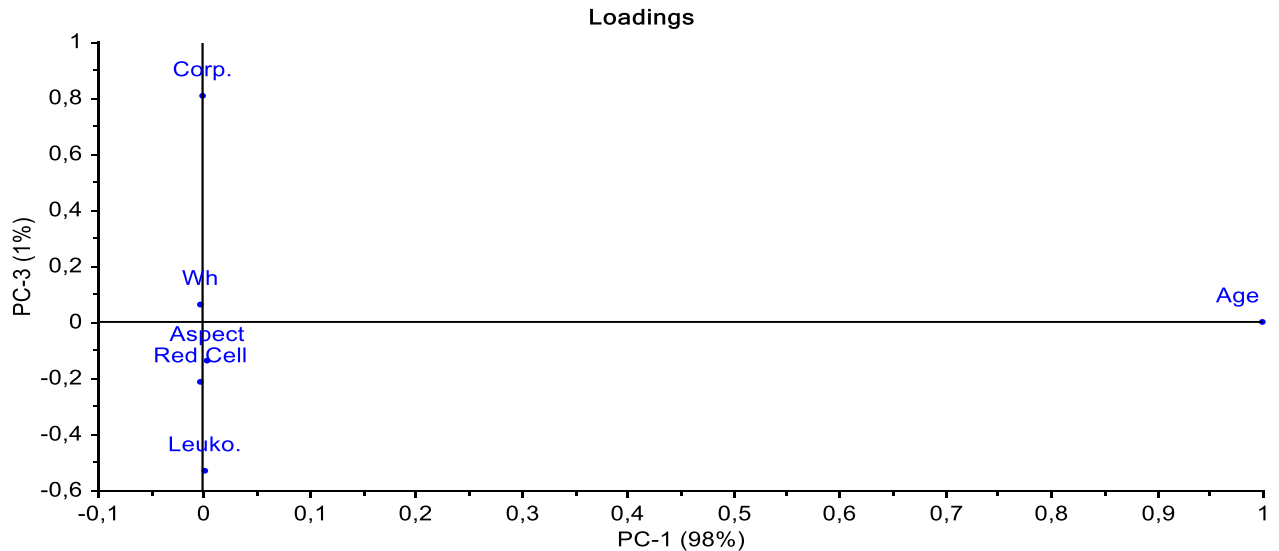


Figure III.16: ACP loading (PC1,PC3) chez l'homme.

Si on passe aux loadings à trois dimensions (PC1,PC2,PC3) les résultats des indépendances vis à vis de l'âge restent concordants avec ceux deux dimensions.

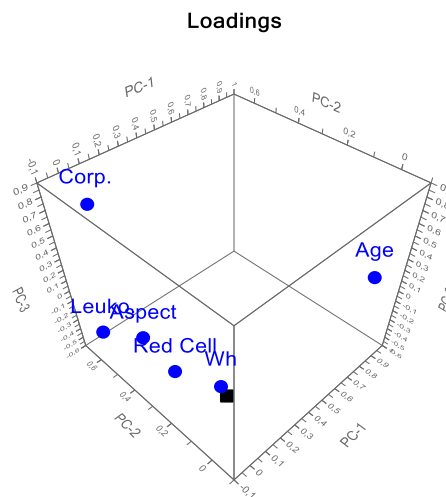


Figure III.17: ACP loading en 3D (PC1,PC2,PC3) chez l'homme.

En observant les pertinences des corrélations, dans la figure suivante, entre l'âge d'une part et les cinq autres facteurs dans le plan (PC1,PC3) nous remarquons que non seulement les deux facteurs "whewellite" et "globules rouges" mais également les

facteurs “aspect des urines” et “leucocytes” présentent des corrélations à information non pertinente. Ce qui confirme les résultats des loadings (PC1, PC2)

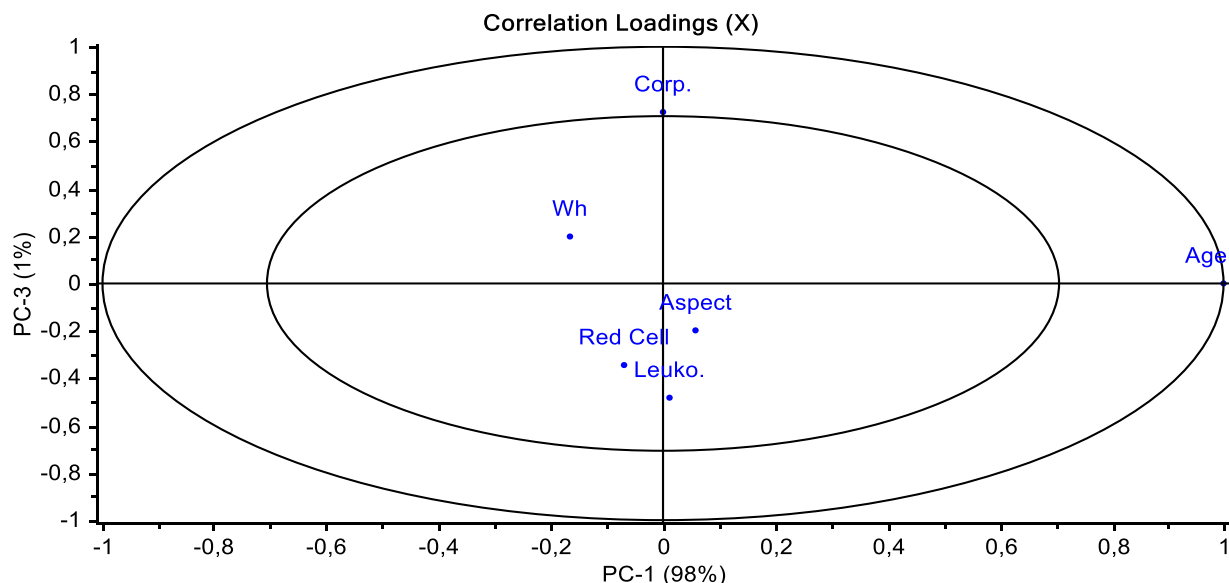


Figure III.18: ACP Cercles des corrélations (PC1,PC3) chez l'homme.

D'après la figure suivante le bi-plot superposant la carte factorielle ou graphe des corrélations (loadings) dans le plan (PC1,PC2) montre, avec une variance expliquée de 98%, que :

- ✓ Le facteur âge du patient explique mieux les urines des patients dont les numéros sont à titre d'exemples : d'une part 32, 59, 64 et 3 et d'autre part : 43 et 5.
- ✓ Les trois facteurs “Leucocytes”, “cadavre” et “aspect de l'urine” semblent expliquer mieux d'autres patients à titre d'exemples : 35, 19, 52, 42, 9 et 26.

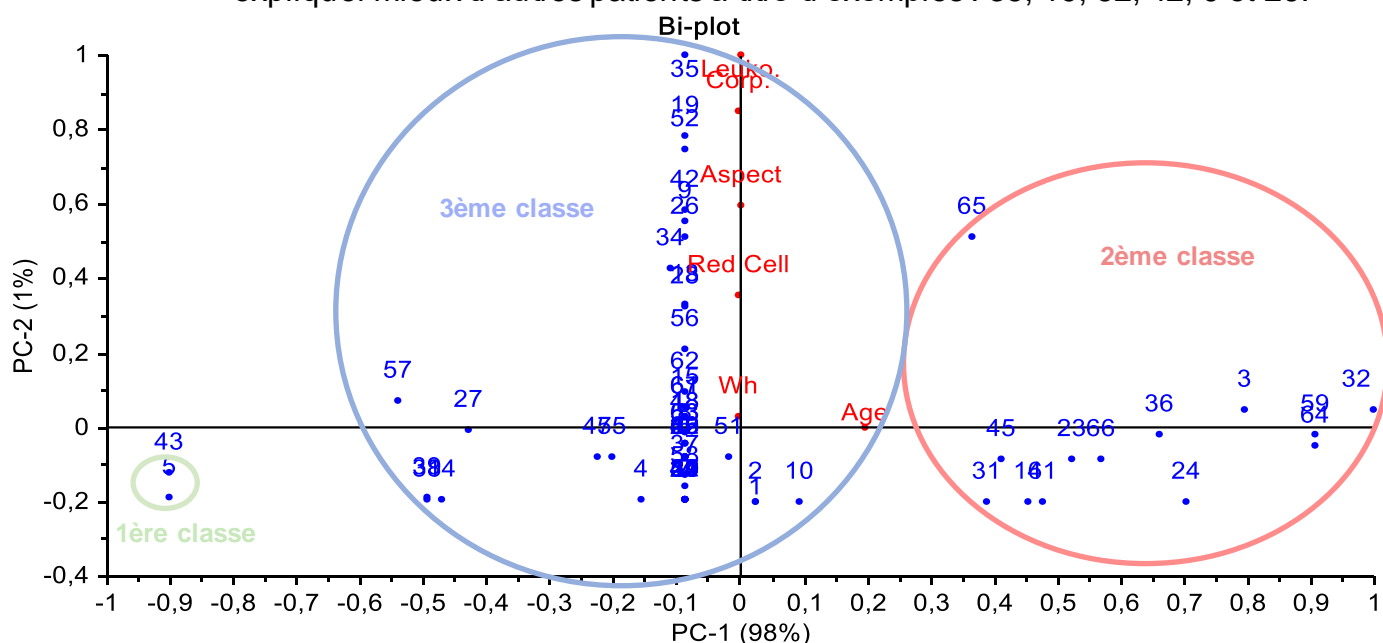


Figure III.19: Bi-plot dans le plan (PC1, PC2) chez l'homme.

Dans le bi-plot du plan (PC1,PC3) (figure III.20 suivante) on retrouve presque des résultats concordants à ceux juste observés dans le plan (PC1,PC2).

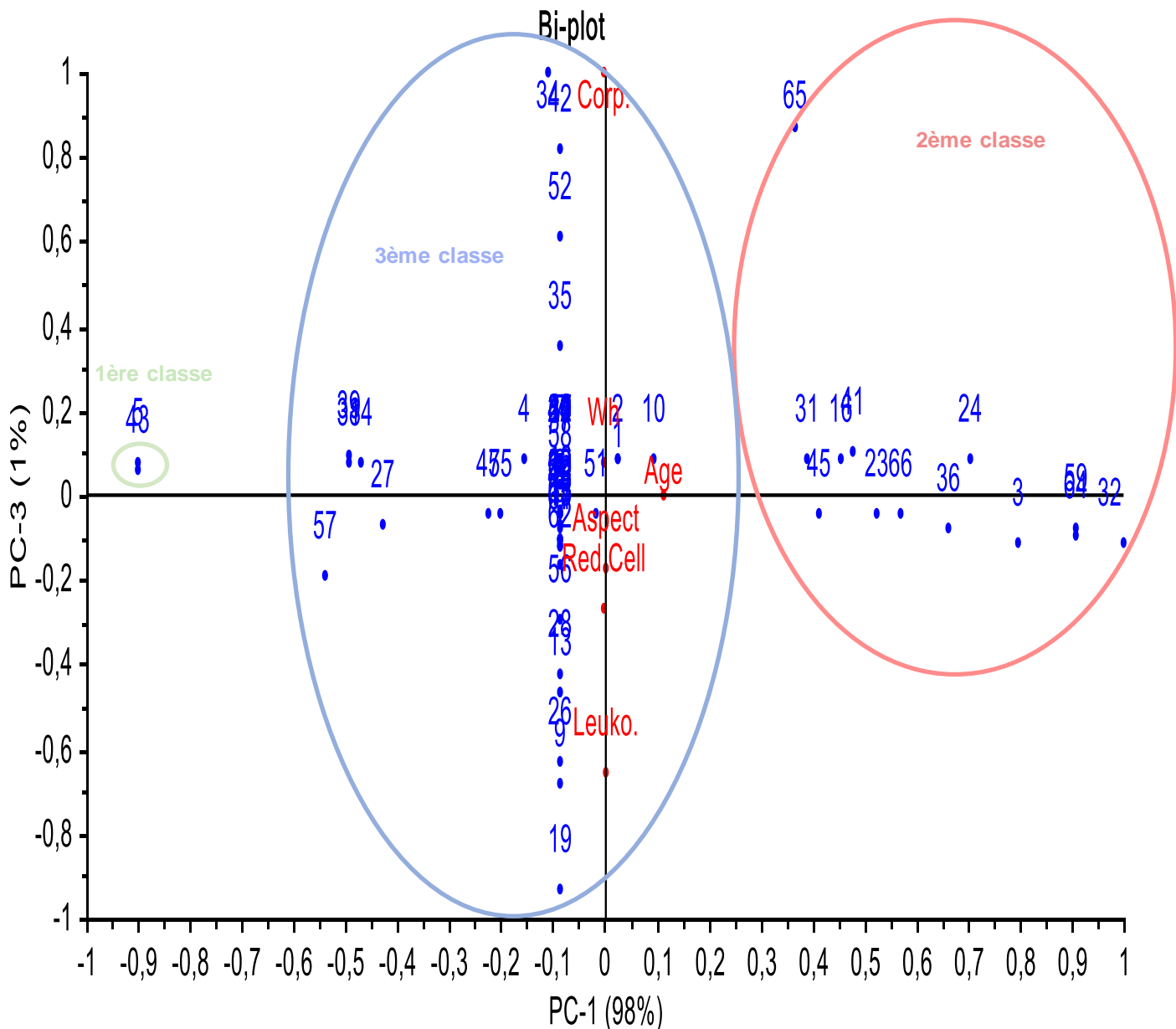


Figure III.20: Bi-plot dans le plan (PC1,PC3) chez l'homme.

2-1-3. Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) :

Les nombre des classes retrouvées par ACP étant 3 ou 4 nous a poussé à réaliser une classification hiérarchique ascendante (CHA). Si on fixe le nombre de clusters (classes) comme étant égal à 3 on obtient le dendrogramme qui illustre la dissimilarité des patients basée sur la distance euclidienne (figure III.21 suivante).

Single linkage clustering using Euclidean distance

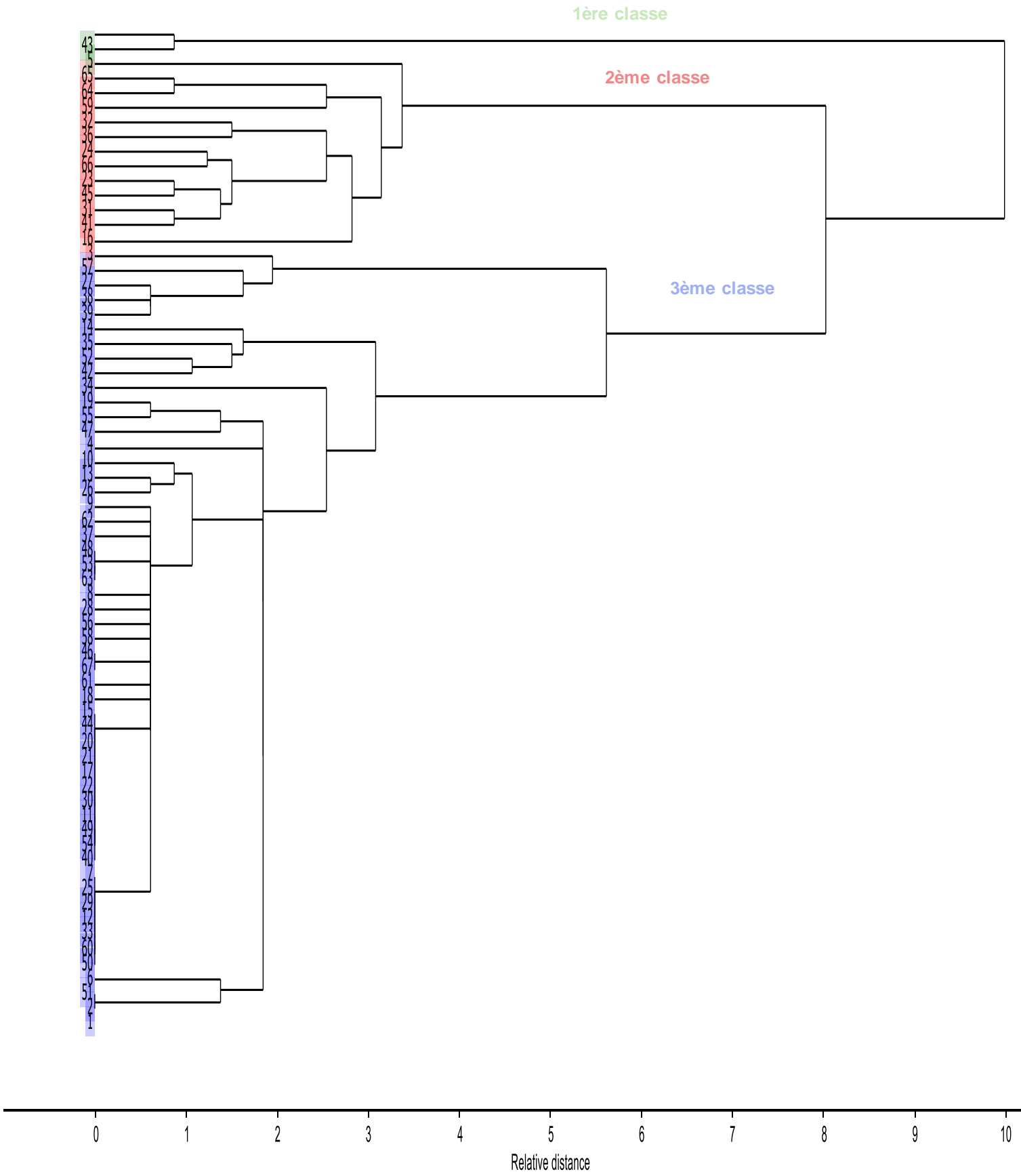


Figure III.21: Dendrogrammes à 3 clusters chez l'homme.

On retrouve les trois classes comme suit :

- Une 1ère classe : **marquée en vert**, vers le haut du dendrogramme, contenant les deux patients : 5 et 43.
- Une 2ème classe : **marquée en rouge**, vers le milieu du dendrogramme, contenant à titre d'exemples les patients : 32, 36, 24 et 3.
- Une 3ème classe : **marquée en bleu**, vers le bas du dendrogramme, contenant à titre d'exemples les patients : 35, 52, 42 et 19.

Si on fixe le nombre de clusters (classes) comme étant égal à 4 (figure III.22 suivante).

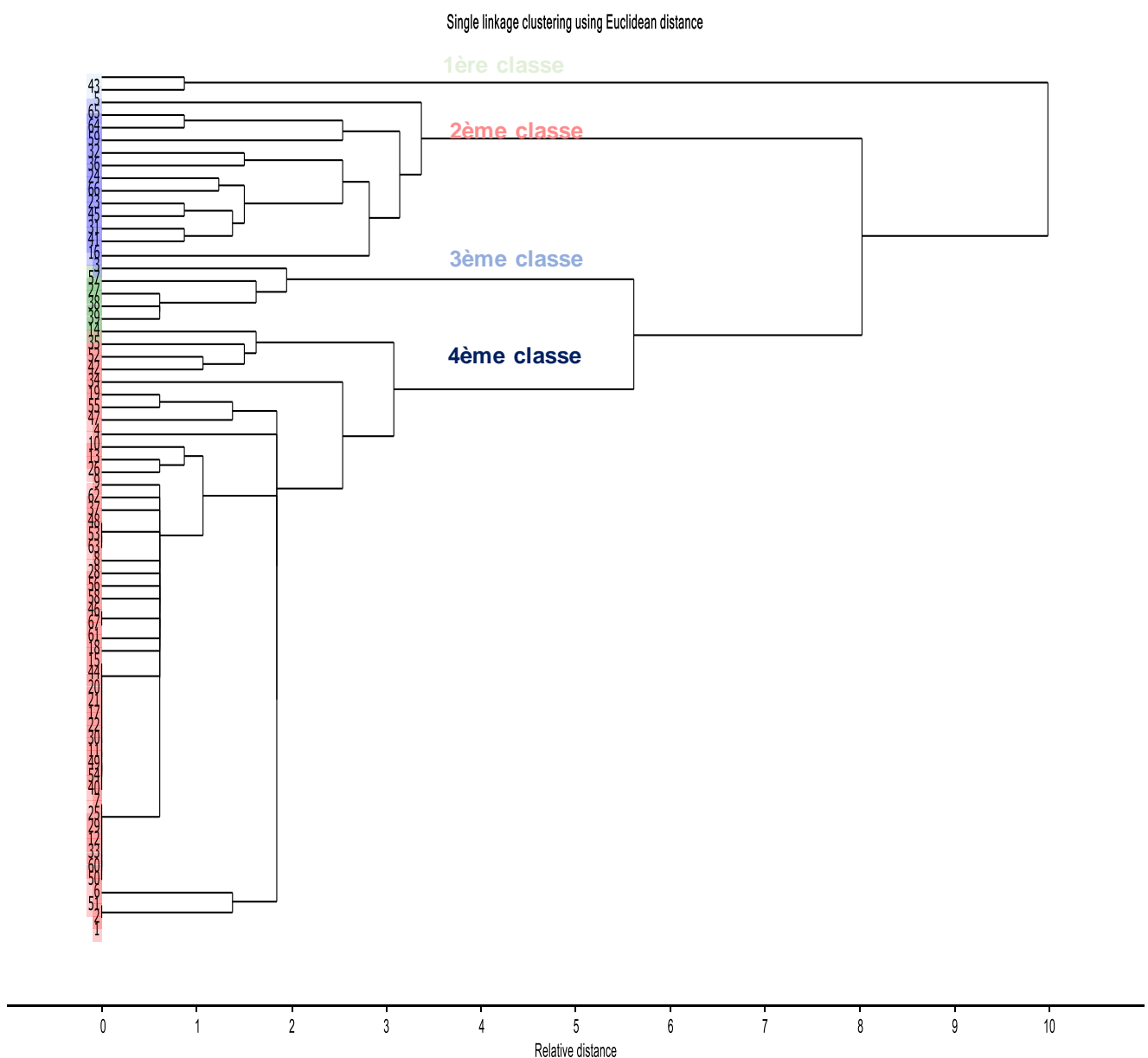


Figure III.22: Dendrogrammes à 4 clusters chez l'homme.

Le dendrogramme obtenu présente les quatre classes comme suit :

- Une 1ère classe en extrême haut du dendrogramme, contenant les deux patients : 43 et 5.
- Une 2ème classe vers le haut du dendrogramme, contenant à titre d'exemples les patients : 32, 24 et 3.
- Une 3ème classe vers le milieu du dendrogramme, contenant les deux patients : 57, 27, 38, 39 et 14.
- Une 4ème classe vers le bas du dendrogramme, contenant à titre d'exemples les patients : 35, 52, 42, 34 et 19.

Ainsi, sur la base des six facteurs étudiés, nous pouvons conclure que les résultats de la classification, des patients de genre masculin aboutissent à des résultats concordants en montrant que ces patients peuvent se répartir en 3 ou 4 classes.

2-2. Cristallurie chez la femme :

2-2-1. Statistique descriptive:

La statistique descriptive des données brutes des 46 urines des patientes du tableau précédent (tableau III.5) nous a donné les quartiles (figure III.23 suivante).

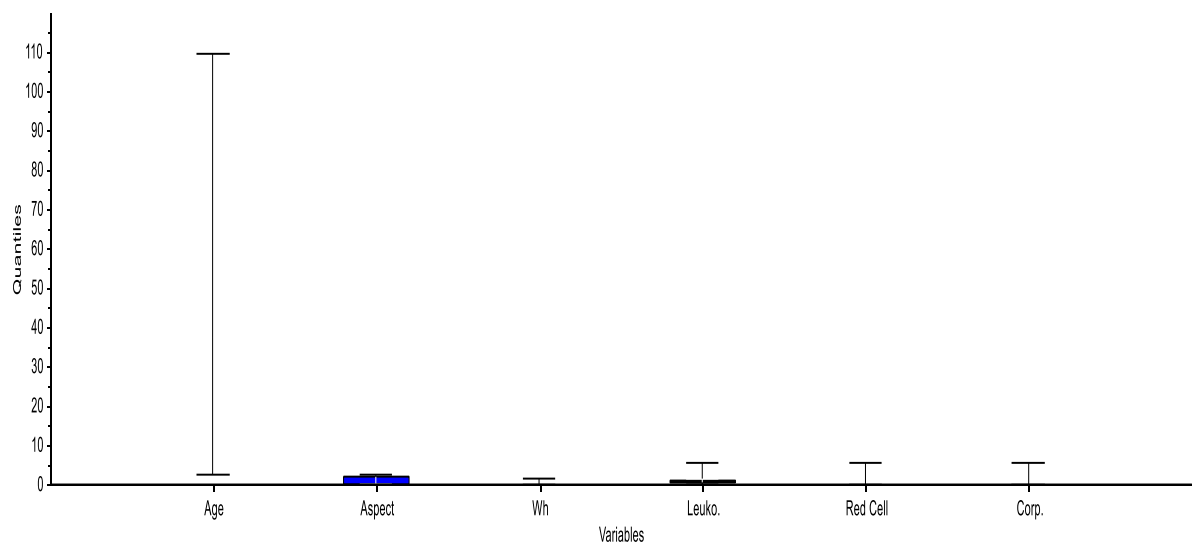


Figure III.23: Graphe de quantiles chez la femme.

On peut remarquer globalement des différences entre les valeurs des facteurs étudiés. De même, si on passe aux moyennes et déviations standards (figure III.24 suivante) les différences deviennent plus nettes. D'où une nécessité, lors de l'analyse en

composantes principales (ACP), du centrage puis réduction des données brutes de cristallurie des 46 patientes.

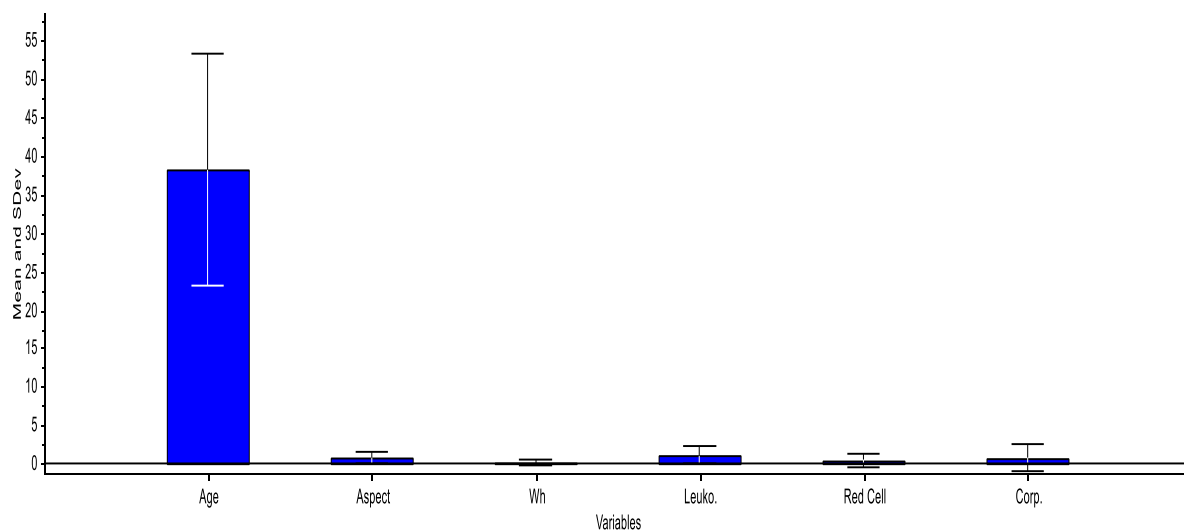


Figure III.24: Graphe de moyennes et déviations standards chez la femme.

2-2-2. Analyse en composantes principales (ACP) :

Comme dans le cas des hommes une seule composante principale (PC1) permet d'assurer la quasi-totalité de la variance totale qui est implicite dans le tableau III.5 des données brutes (figure III.25 suivante). La dépendance entre les six facteurs étudiés se confirme, également, dans le cas des femmes.

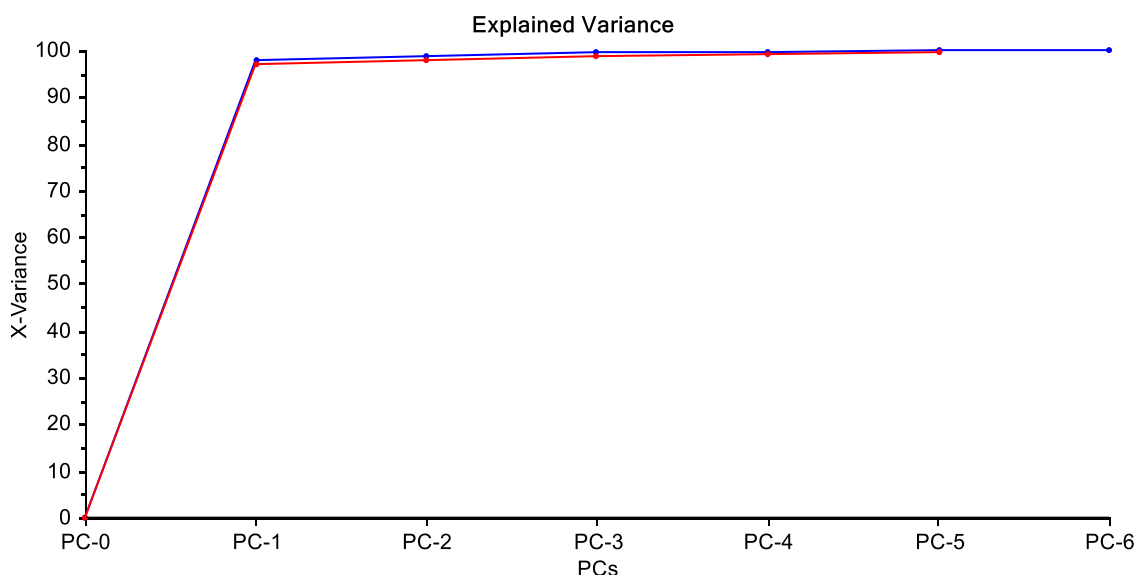


Figure III.25: Courbe de variance totale expliquée selon le nombre des composantes principales chez la femme.

La patiente 44 s'est avérée originale par rapport à toutes les autres patientes. Elle a beaucoup influencé la classification des patientes. Elle est suivie des deux patientes 17 et 10 mais à un degré d'influence beaucoup moindre.

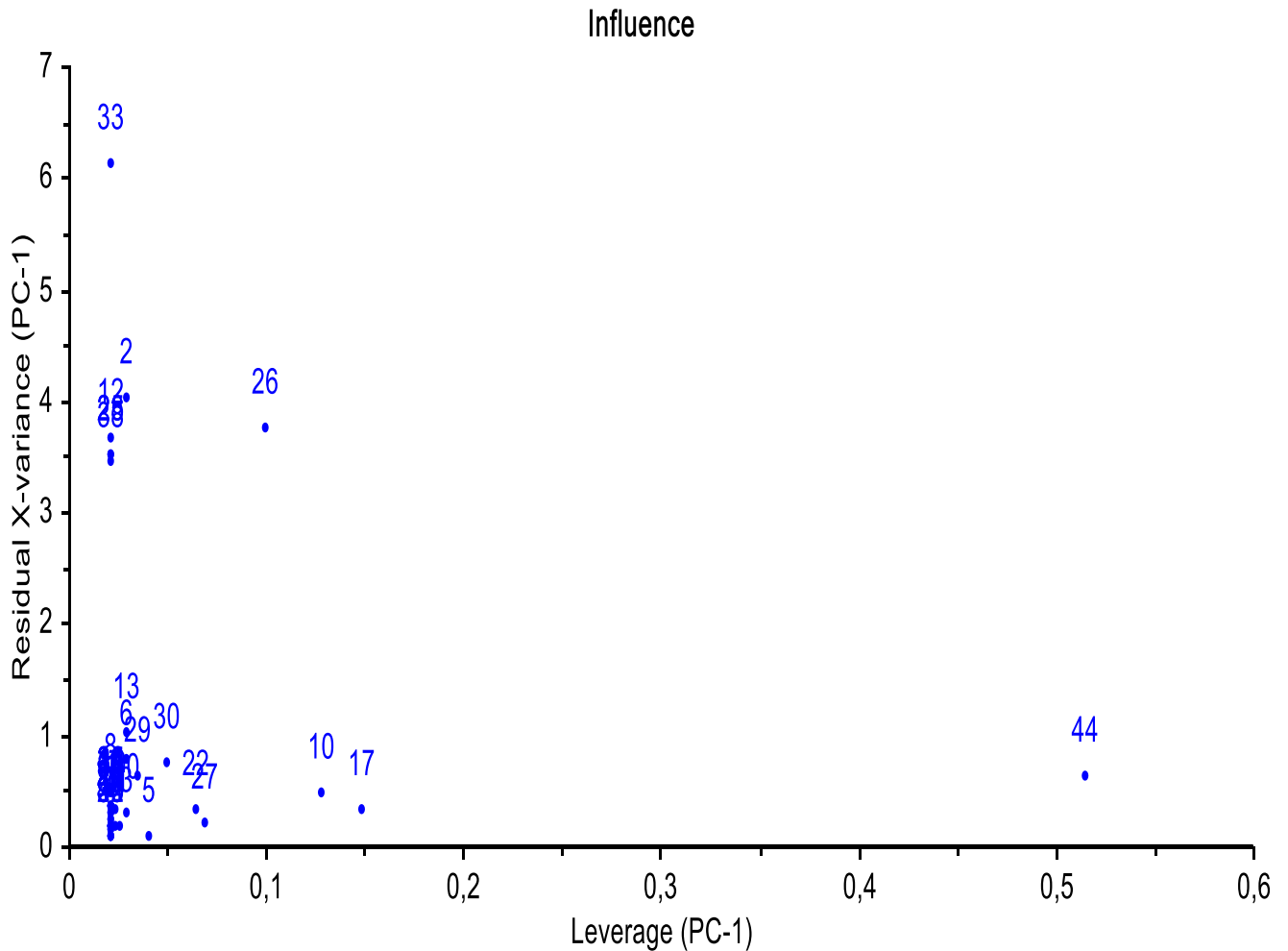


Figure III.26: Graphe d'influences chez la femme.

La classification des patientes montre que dans le plan (PC1,PC2) il semble s'agir de 2 ou 3 classes qui sont comme suit:

- Une 1^{ère} classe en corrélation forte négative avec PC1 contenant à titre d'exemples les patients : 17 et 10.
- Une 2^{ème} classe en corrélation forte positive avec PC2 contenant à titre d'exemples les patients : 33, 28 et 38
- Une 3^{ème} classe vers l'origine et contenant à titre d'exemples les patientes : 21 et 41.

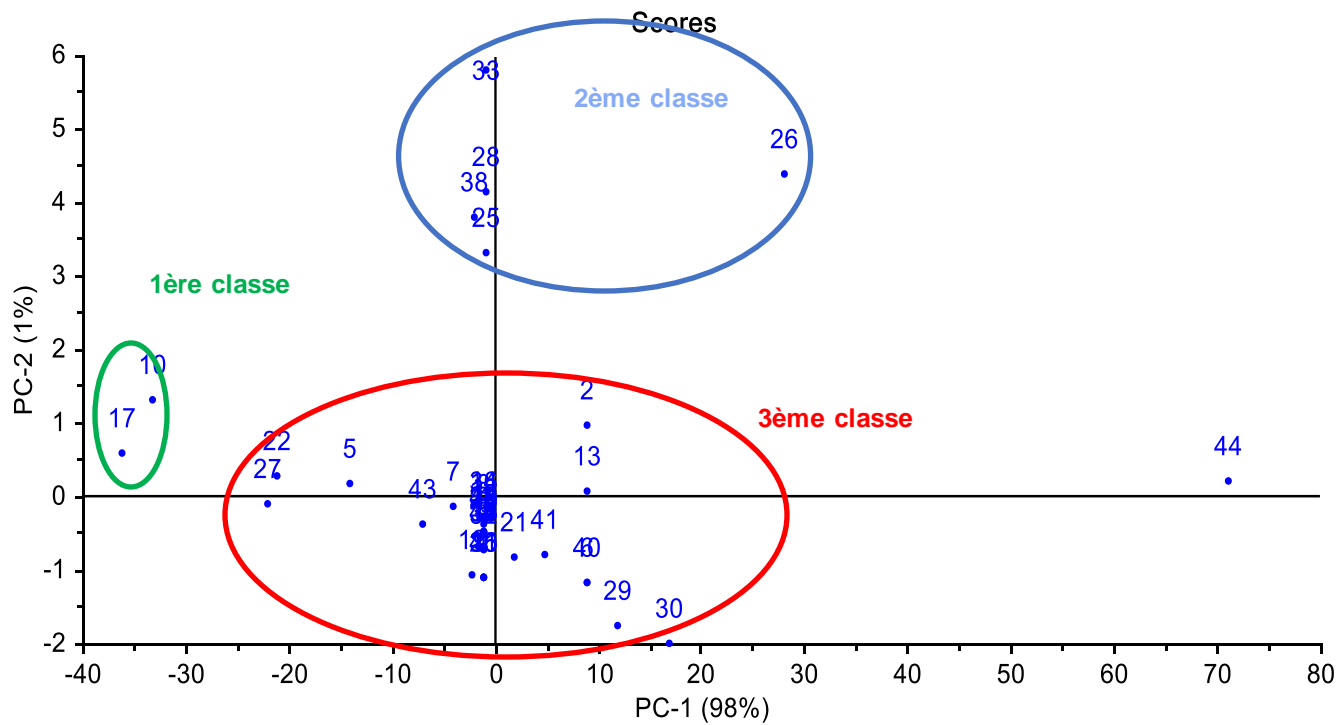


Figure III.27: ACP Score plot dans le plan (PC1,PC2) chez la femme.

Les deux figures suivantes illustrent que la classification des patientes aussi bien dans le plan (PC1,PC3) que dans l'espace à trois dimensions (PC1,PC2,PC3) semble confirmer le fait qu'il s'agit de 2 ou 3 classes.

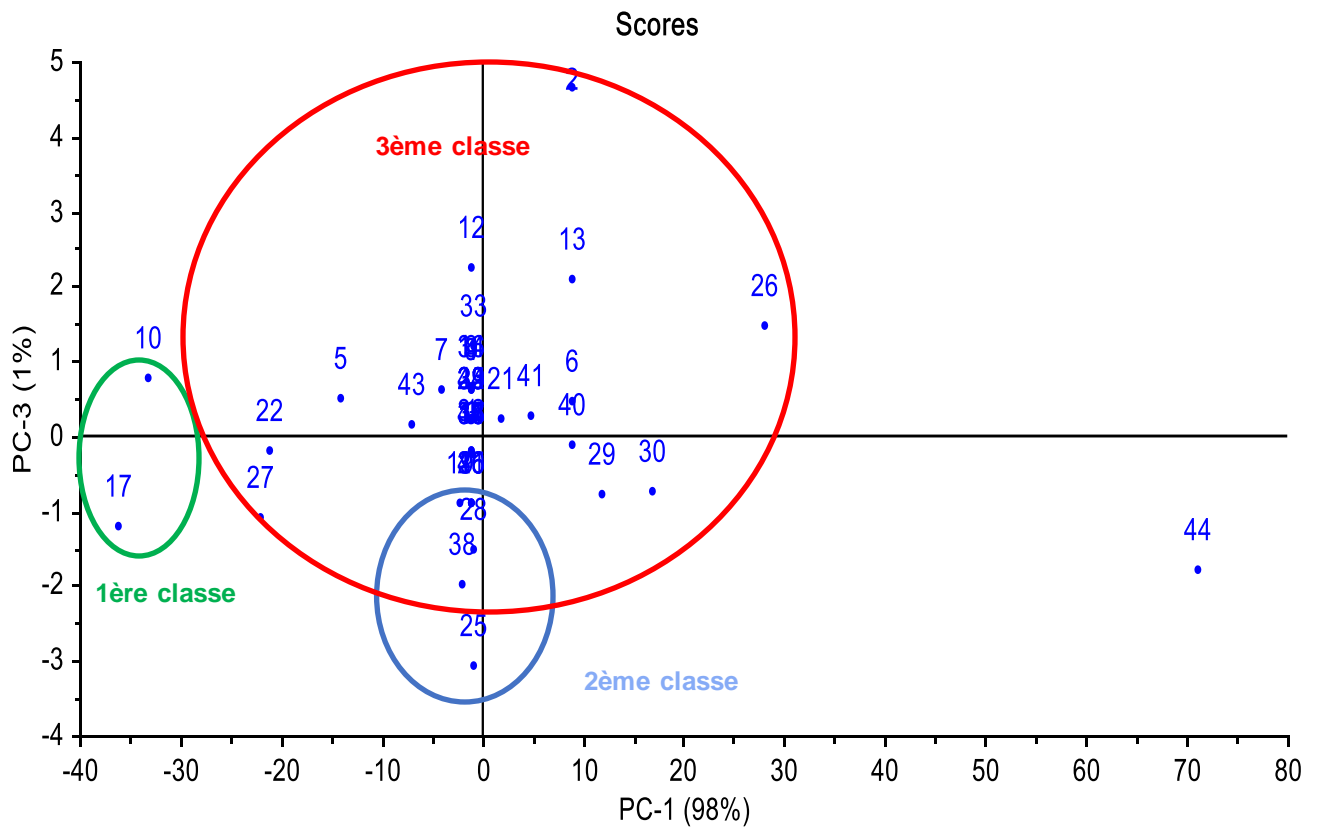


Figure III.28: ACP Score plot dans le plan (PC1,PC3) chez la femme.

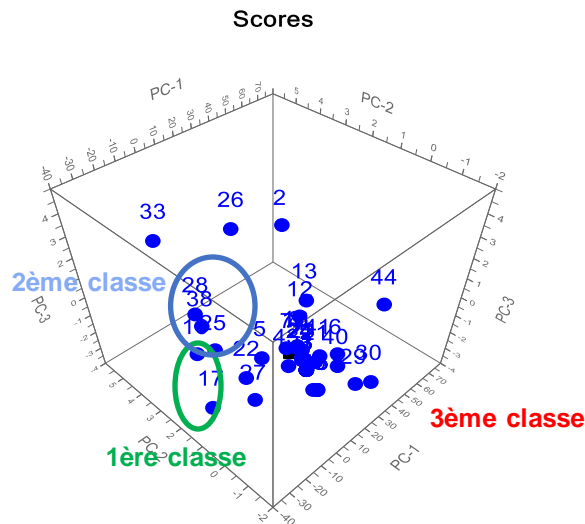


Figure III.29: ACP Score plot en 3D (PC1,PC2,PC3) chez la femme.

Comme dans le cas des patients de genre masculin, le facteur âge des patientes a, encore une fois, manifestée une indépendance vis-à-vis des autres cinq facteurs étudiés (figure III.30 suivante) notamment “cadavre”, “leucocytes”, voire “aspect des urines”.

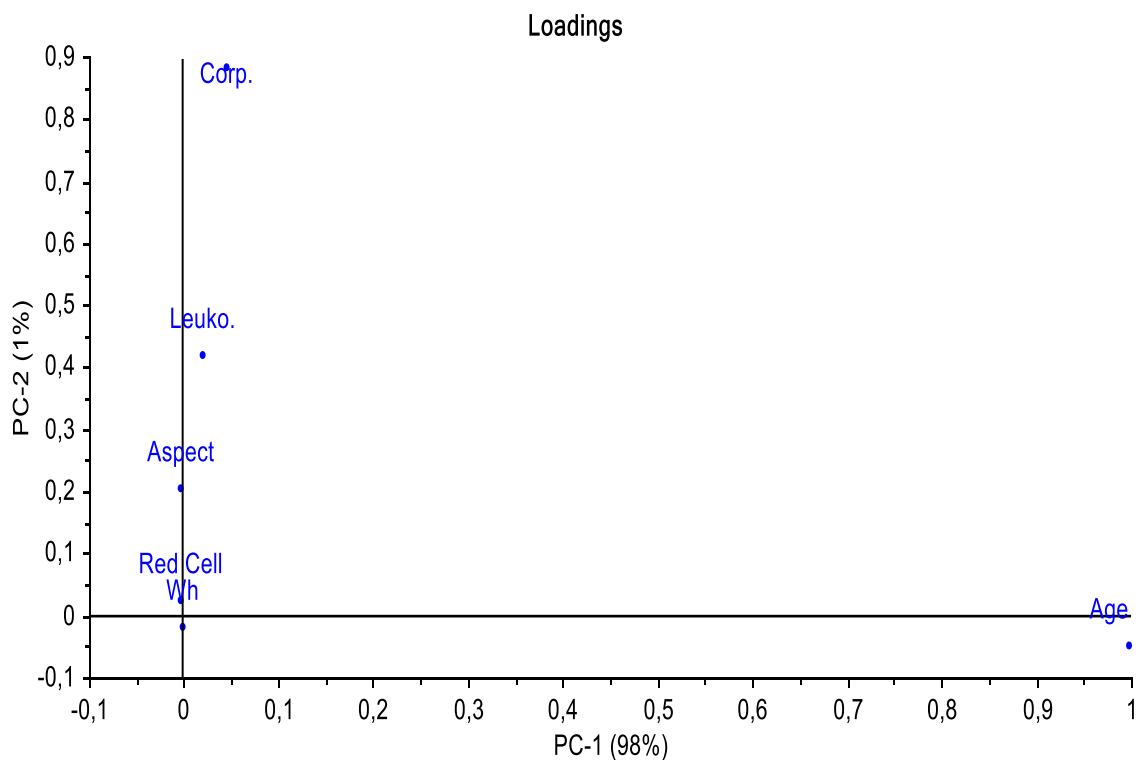


Figure III.30: ACP loading plot dans le plan (PC1,PC2) chez la femme.

D’après la figure III.31 suivante la pertinence de cette information d’indépendance par rapport à l’âge est entre 50 et 75% pour le facteur “cadavre” et ne dépasse pas 50% pour les quatre autres facteurs.

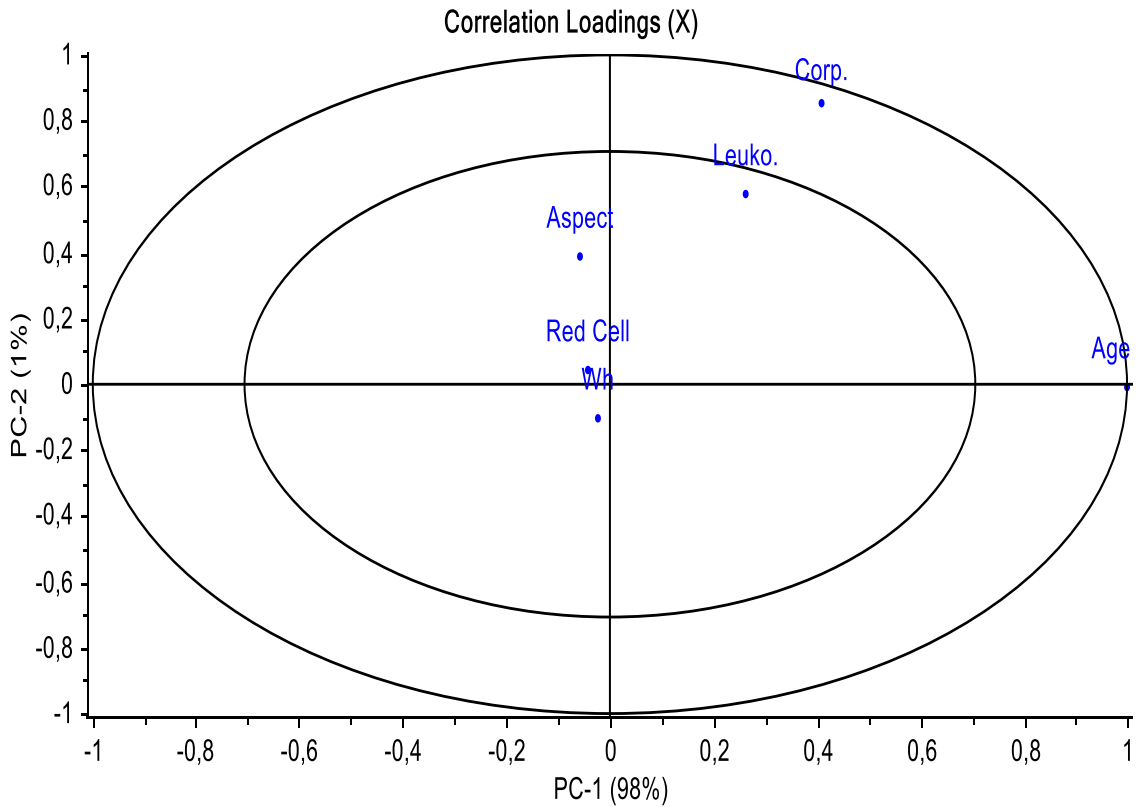


Figure III.31: ACP Cercles des corrélations (PC1,PC2) chez la femme.

Les deux figures III.32 et III.33 suivantes illustrent le fait que les résultats des corrélations entre les facteurs aussi bien dans le plan (PC1,PC3) que dans l'espace à trois dimensions (PC1,PC2,PC3) corroborent avec ceux issus du plan (PC1,PC2).

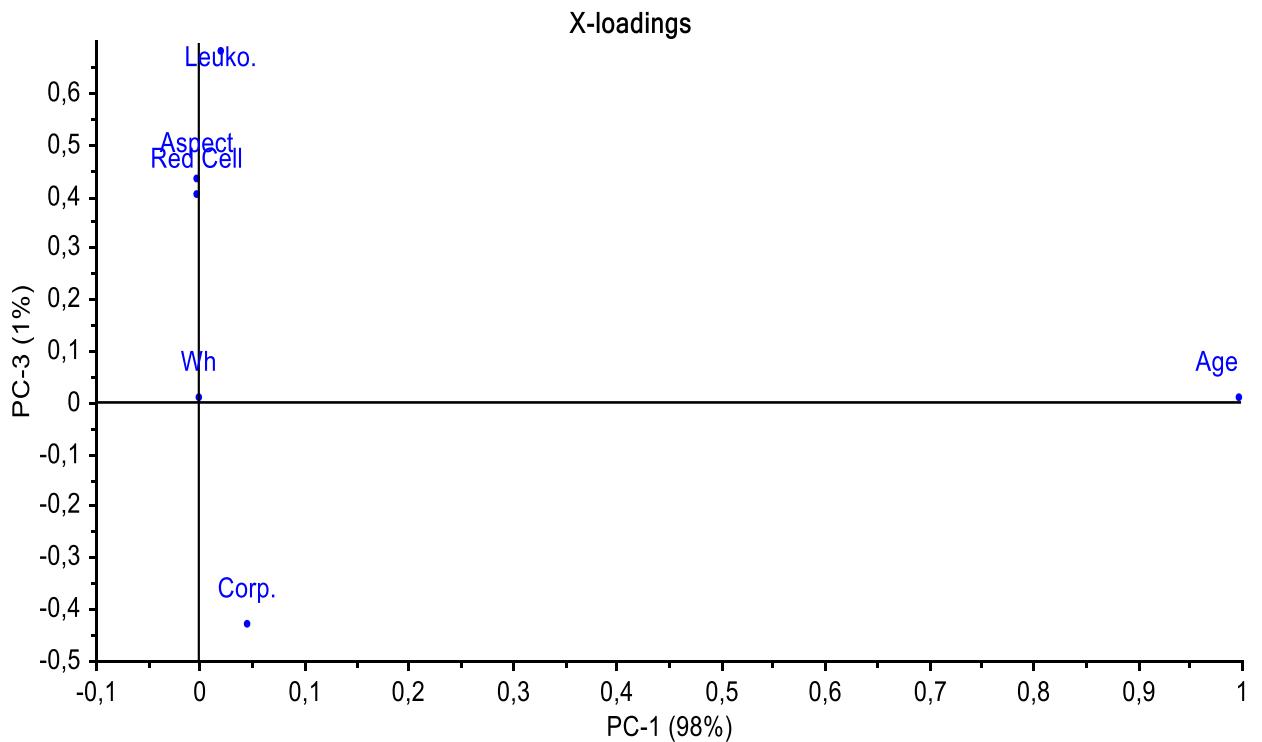


Figure III.32: ACP loading plot dans le plan (PC1,PC3) chez la femme.

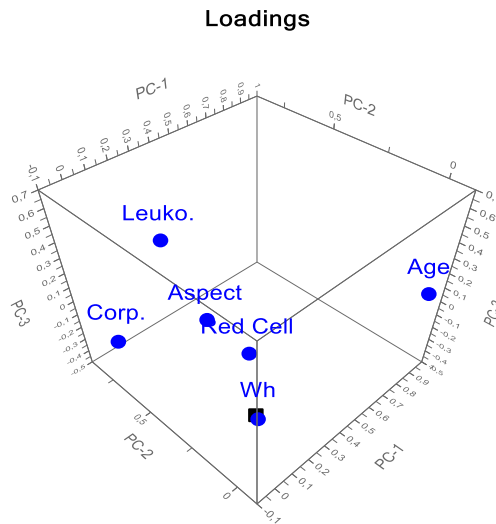


Figure III.33: ACP loading en 3D (PC1,PC2, PC3) chez la femme.

D'après la figure III.34 suivante la pertinence de l'information d'indépendance par rapport à l'âge est entre 50 et 75% seulement pour le facteur "leucocytes" et ne dépasse pas 50% pour les quatre autres facteurs. Ces résultats sont, en réalité, complémentaires a ceux observes au niveau des cercles des corrélations dans la plan (PC1, PC2) de la figure III.31 précédente.

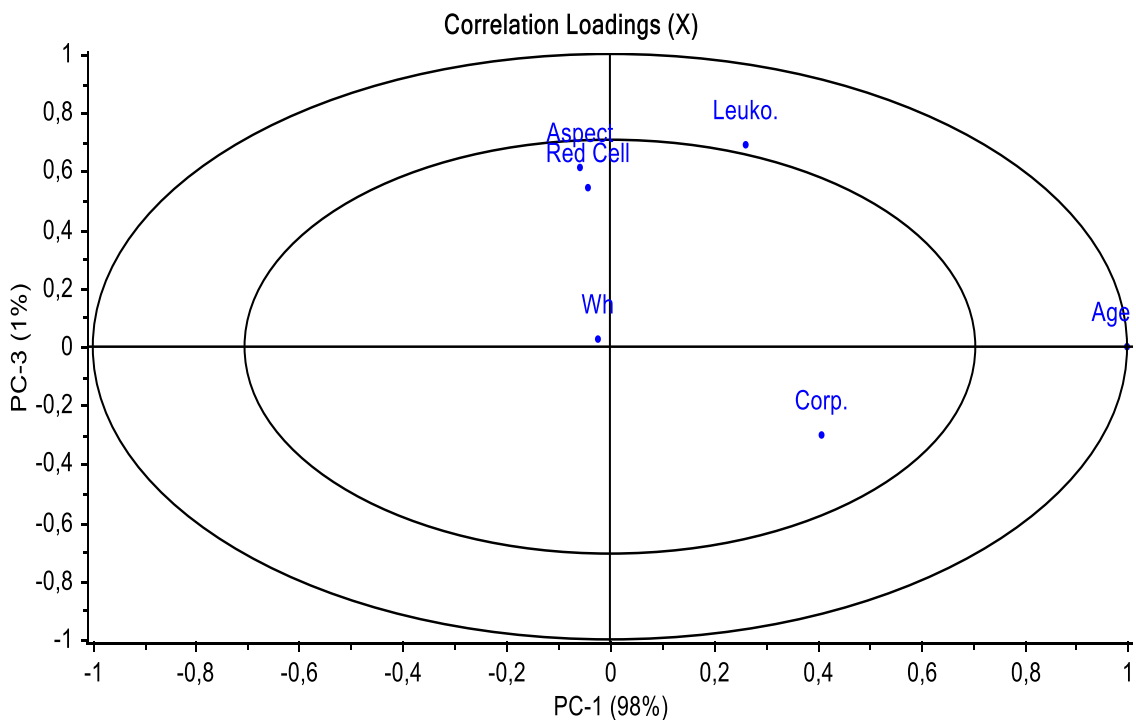


Figure III.34: ACP Cercles des corrélations (PC1,PC3) chez la femme.

Afin de visualiser les facteurs qui expliquent mieux les urines des patients nous avons superposé, dans le plan (PC1,PC2) le graphe des scores et celui des loadings

(figure III.35 suivante). L'âge explique mieux l'urine des patientes : 44, 27 et 17. Les deux facteurs "cadavre" et "leucocytes" explique mieux celle des patientes : 33, 28, 38, et 25.

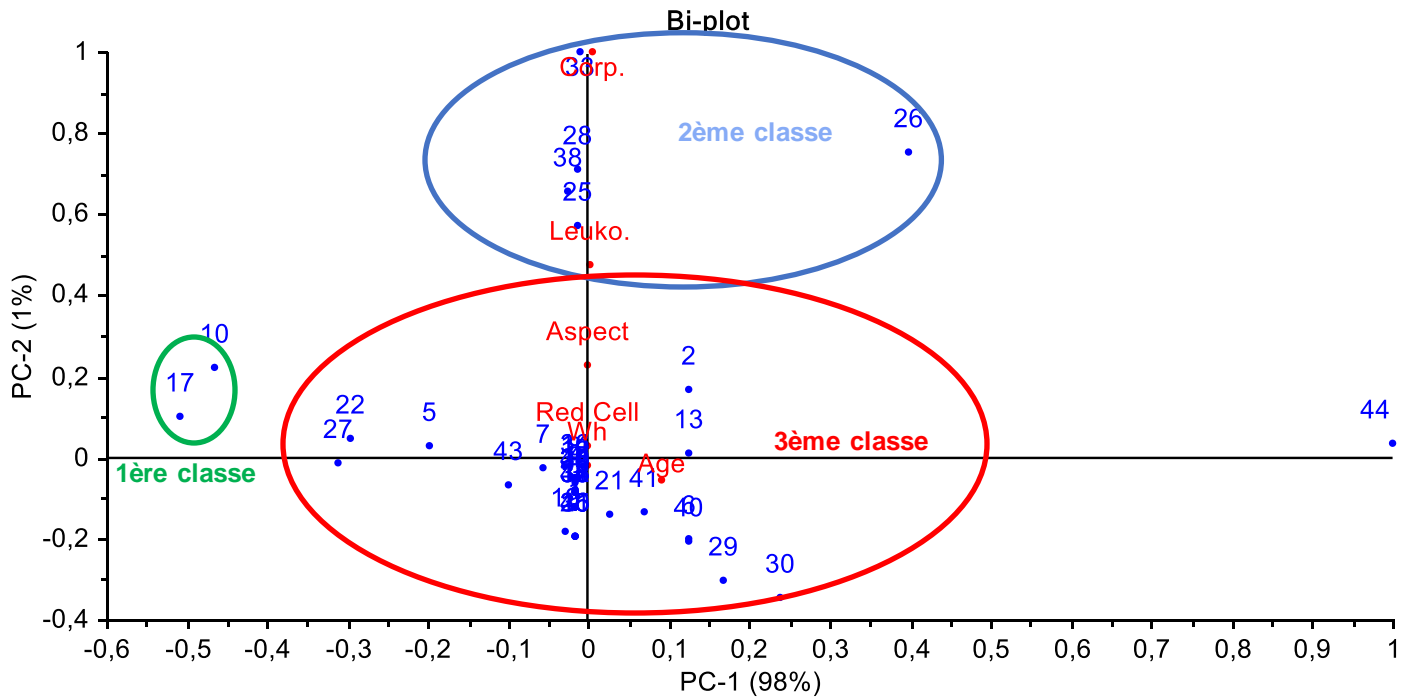


Figure III.35: Bi-plot dans le plan (PC1,C2) chez la femme.

En faisant cette visualisation dans le plan (PC1,PC3) les résultats du plan (PC1,PC2) se confirment (figure III.36 suivante).de manière telle que : les urines des patientes 25, 38, 28, 12 et 33 seraient mieux expliquées par "cadavre" et "leucocytes".

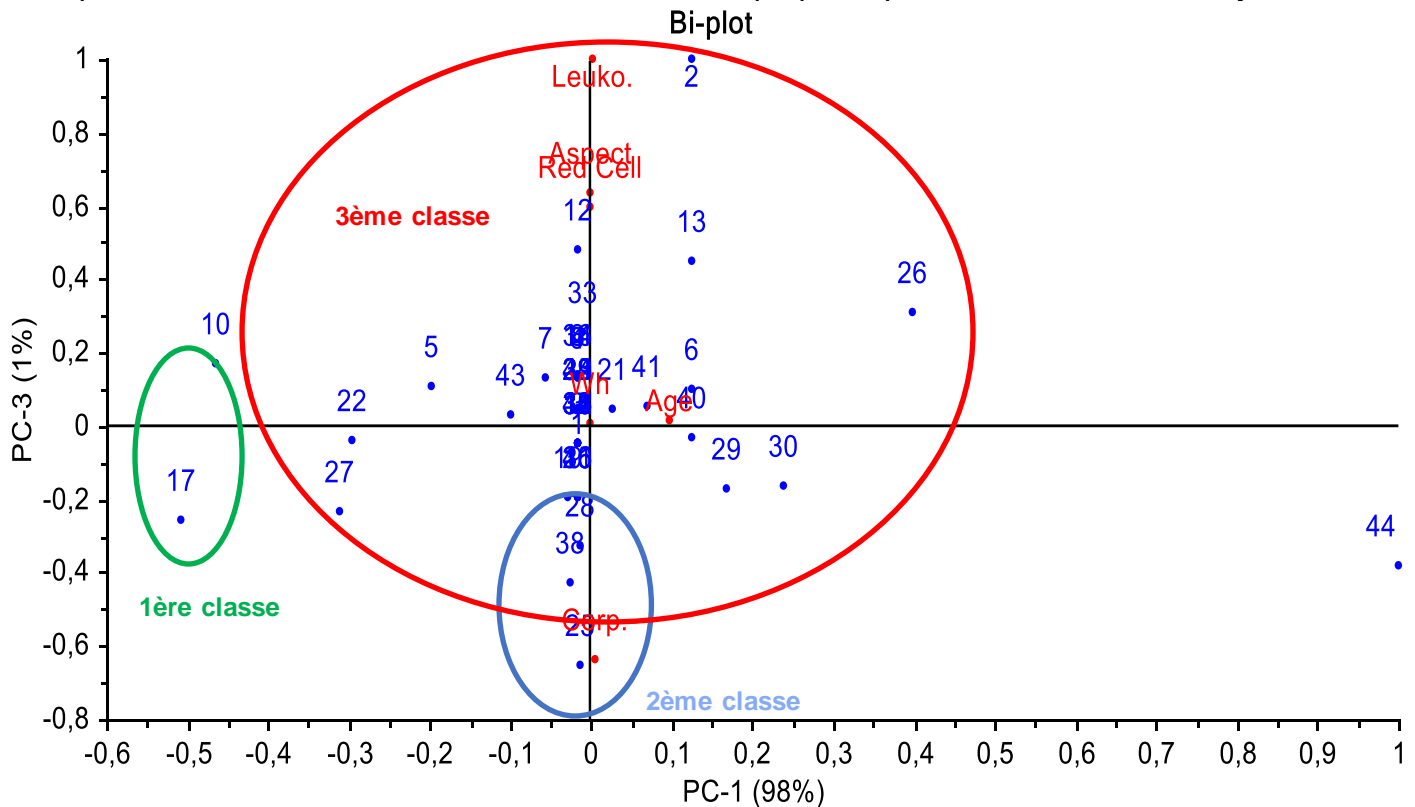


Figure III.36: Bi-plot dans le plan (PC1,C3) chez la femme.

2-2-3. Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) :

La classification des patientes par ACP ayant montré qu'il semble s'agir de 2 ou 3 classes nous avons réalisé une classification hiérarchique ascendante (CHA) en fixant le nombre de clusters (classes) comme étant égal à 3. Nous avons obtenu le dendrogramme illustré par la figure III.37 suivante. On peut observer qu'on retrouve les trois classes suivantes :

- Une 1^{ère} classe représentée par la seule patiente 44.
- Une 2^{ème} classe représentée par la seule patiente 26.
- Une 3^{ème} classe contenant tout le reste des patientes.

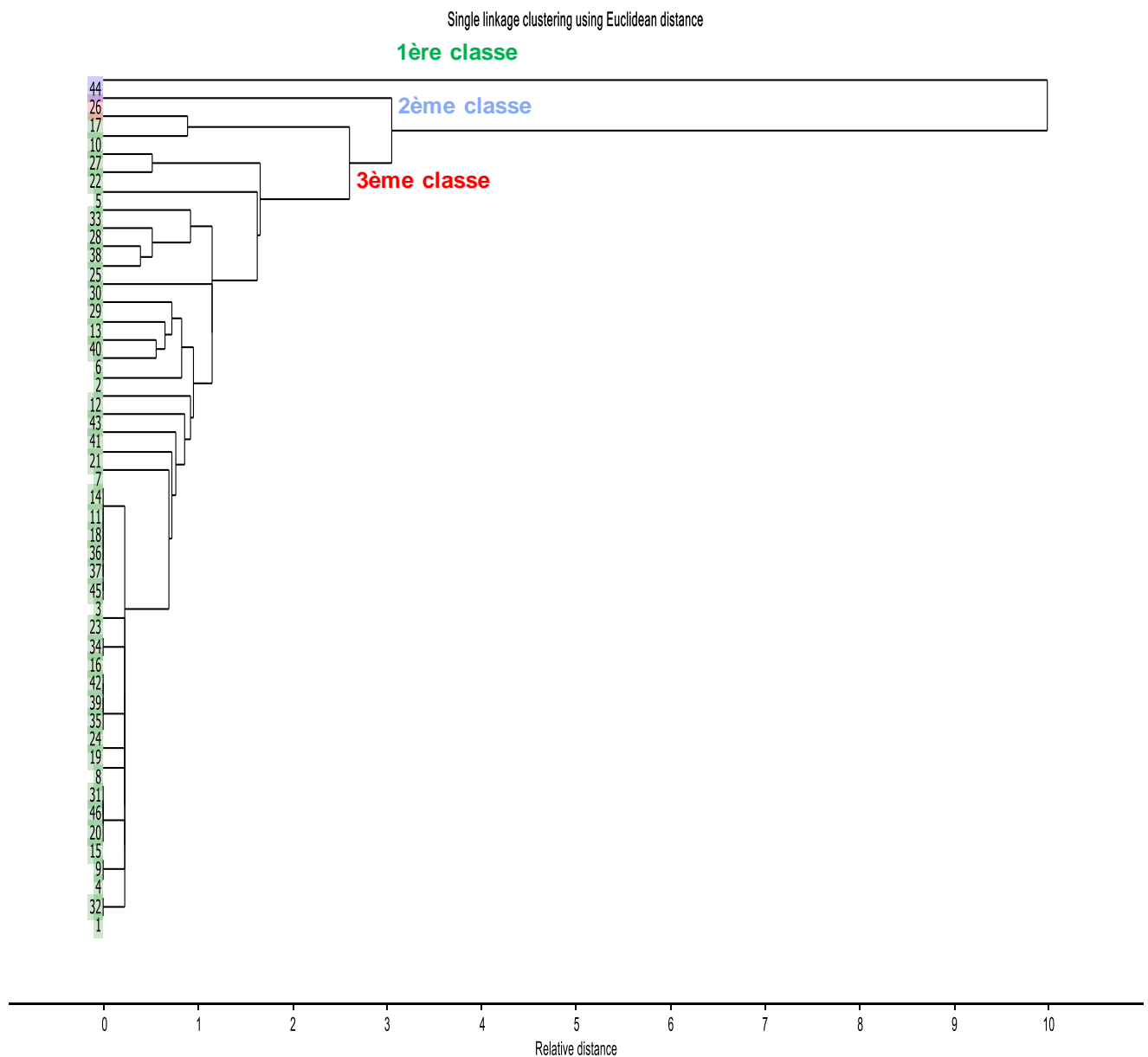


Figure III.37: Dendrogrammes à 3 clusters chez la femme.

Nous remarquons que le fait de fixer le nombre de clusters en CHA à 3 a abouti, à part la troisième classe, à deux premières classes chacune représentée par une urine qui s'est avérée relativement originales dans les graphes des scores en ACP.

En comparant les résultats de l'ACP à ceux de la CHA chez la femme il semble qu'il n'y a pas une grande variabilité aussi bien au niveau des patientes qu'au niveau des six facteurs.

Ainsi, on peut conclure que les trois méthodes, statistique descriptive, ACP et CHA sont complémentaires et ont permis d'avoir des résultats qui corroborent afin de pouvoir aussi bien classer les 113 patients hommes et femmes que de déterminer les corrélations entre les six facteurs qui expliquent plus ou moins ces patients.

Le facteur genre semble ne pas présenter d'influence nette sur les autres facteurs étudiés, ni sur la classification des patients. En fait, c'est le facteur âge qui a relativement contribué à la classification des 113 patients aussi bien de genre masculin que féminin.

Finalement, aux méthodes d'analyse des données nous avons pu réduire les dimensions des espaces des facteurs et une visualisation des correspondances entre urines des patients d'une part et des facteurs pouvant influencer ces urines d'autre part.

Conclusion générale et perspectives

La microscopie optique à lumière polarisée est une méthode physique de routine permettant l'identification de cristaux urinaires liés plus ou moins aux pathologies. Une telle méthode ouvre de nouveaux horizons pour son utilisation rentable dans les études épidémiologiques. Au cours de ces dernières années, la chimie s'est naturellement orientée vers le développement des techniques de plus en plus rapides et qui demandent un minimum de préparation des échantillons. Par conséquent l'utilisation des méthodes sophistiquées de calculs mathématiques et statistiques est nécessaire.

La nature serait une source riche de futurs médicaments pour le traitement de différentes maladies telles que la lithiase urinaire. D'après le présent travail:

- ✓ L'extrait aqueux de jujube présenterait un effet inhibiteur vis-à-vis des cristaux d'oxalate de calcium.
- ✓ Un tel effet reste à confirmer, in vivo, sur la cristallisation oxalocalcique lors de la formation des calculs urinaires.
- ✓ La taille et le nombre des cristaux d'oxalate de calcium sont réduits par la présence d'extraits aqueux des pulpes de citron, d'orange, de caroube et de jujube. De tels résultats sont importants puisqu'ils contribuent à ce que le patient puisse éviter le développement de la lithiase urinaire.

On fait, de plus en plus aussi bien les chercheurs que les industriels font appel à la chimiométrie ou la chimie informatique regroupant des méthodes rapides, robustes et rentables. Ainsi, d'après le présent travail nous avons remarqué que:

- D'après le graphe des corrélations, chez l'homme, que les trois facteurs "leucocytes", "cadavre" et "aspect de l'urine" sont indépendants de l'âge du patient. Les deux autres facteurs "whewellite" et "globules rouges" sont tellement proches de l'origine que l'information concernant une éventuelle indépendance de l'âge ne soit pas pertinente.
- Le facteur âge du patient homme, explique mieux les urines de certains patients que d'autres. Les trois facteurs "Leucocytes", "cadavre" et "aspect de l'urine" semblent expliquer mieux d'autres patients.
- Sur la base des six facteurs étudiés, les résultats de la classification, des patients de genre masculin aboutissent à des résultats concordants en montrant que ces patients peuvent se répartir en trois ou quatre classes.
- Chez les patientes, comme dans le cas des patients de genre masculin, le facteur âge des patientes a manifesté une indépendance vis-à-vis des autres cinq facteurs étudiés notamment "cadavre", "leucocytes" et "aspect des urines".

- Le fait de fixer le nombre de clusters en CHA à trois, chez les femmes, a abouti, à part la troisième classe, à deux premières classes chacune représentée par une urine qui s'est avérée relativement originale.
- En comparant les résultats de l'ACP à ceux de la CHA chez la femme il semble qu'il n'y a pas une grande variabilité aussi bien au niveau des patientes qu'au niveau des six facteurs.
- Ces trois méthodes, statistique descriptive, ACP et CHA sont complémentaires et ont permis d'avoir des résultats qui corroborent afin de pouvoir aussi bien de classer tous les patients de la série étudiée que de déterminer les corrélations entre les six facteurs qui expliquent plus ou moins ces patients.
- Le facteur genre semble ne pas présenter d'influence nette sur les autres facteurs étudiés, ni sur la classification des patients. En fait, c'est le facteur âge qui a relativement contribué à la classification de tous les patients aussi bien de genre masculin que féminin.

En perspectives :

Pour une meilleure évaluation de l'effet antilithiasique d'extraits aqueux nous proposons de nous consacrer aux thèmes suivants :

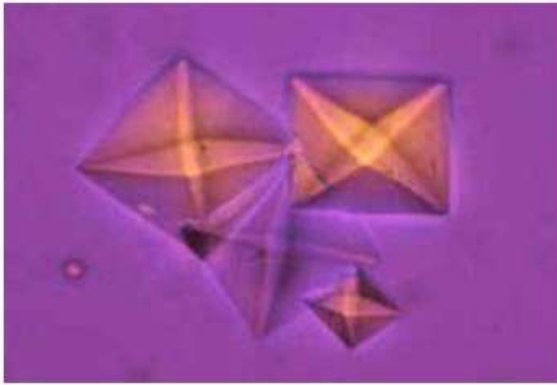
- ✓ Etude similaire, au présent travail, sur les calculs urinaires ;
- ✓ Etude d'autres sous-produits agroalimentaires et d'autres fruits dits oubliés ;
- ✓ Effet d'autres paramètres environnementaux pouvant influencer la lithiase urinaire ;
- ✓ L'application des méthodes développées aux autres types de sous-produits agroalimentaires de la région ;
- ✓ Faire des études sur l'effet antilithiasique, in vitro, d'autres sous-produits et les confirmer par des tests in vivo ;
- ✓ Et qu'elle est souhaitable de déterminer d'autres types d'activités à application thérapeutique de sous-produits agroalimentaires ;

Finalement, il est d'un grand intérêt dans le domaine de la recherche biomédicale de pouvoir identifier des principes actifs dans de telles plantes.

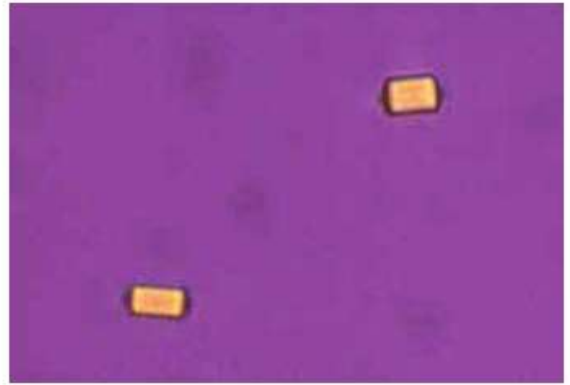
Ainsi, nous envisageons une collaboration entre chimistes, informaticiens, biologistes et pharmacologistes afin de pouvoir mener à bien ces perspectives.

Annexes

Annexe 1 : Deux faciès de la weddellite (Daudon M. et al, 2003)

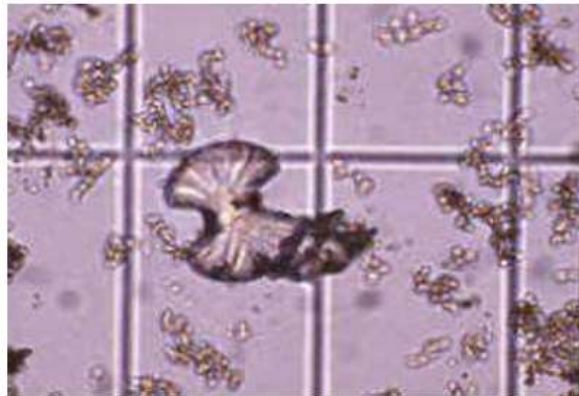


Cristaux caractéristiques de weddellite en forme d'octaèdres aplatis (aspect en enveloppe carrée). Polarisation faible. Dimension : 20-30 microns. pH : 5,2-5,6.

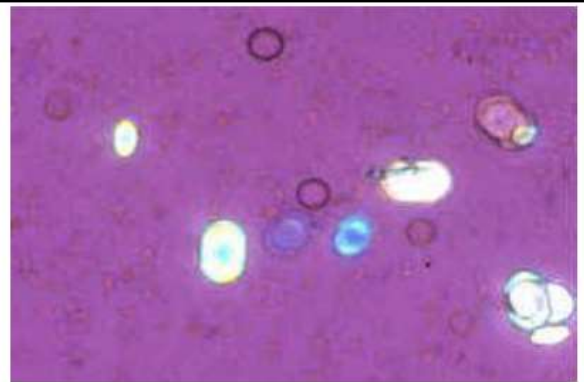


Cristaux de weddellite, de forme hexagonale, symétrique, avec un rectangle clair, inscrit. Dimension : 22 microns. pH : 6,2.

Annexe 2 : Trois faciès de la whewellite (Daudon M. et al,2003).



Cristal caractéristique de whewellite en "sablier". Dimensions : 20 à 40 microns. pH : 5,8.

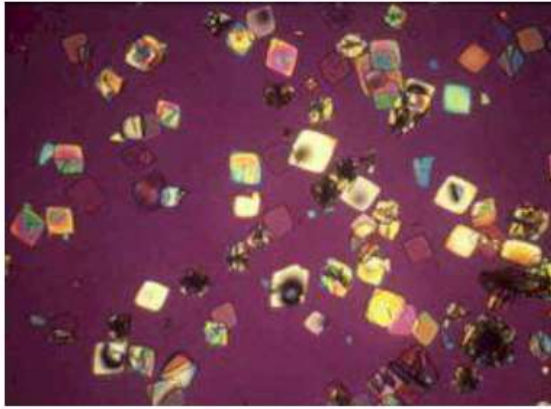


Cristaux ovales de whewellite. Polarisation positive. pH : 5,0. Noter la dépression centrale plus sombre ou colorée différemment.

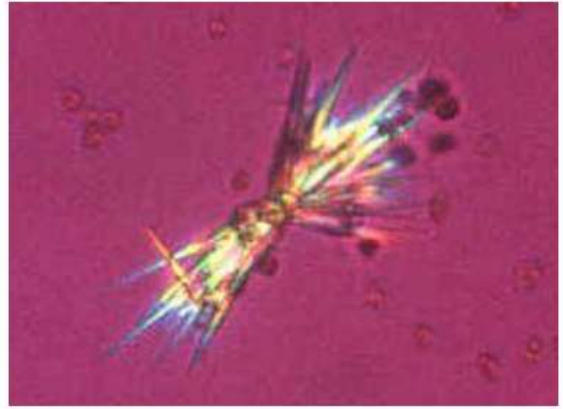


Agrégat de whewellite en "sablier". Dimensions : 20 à 40 microns. pH : 5,8.

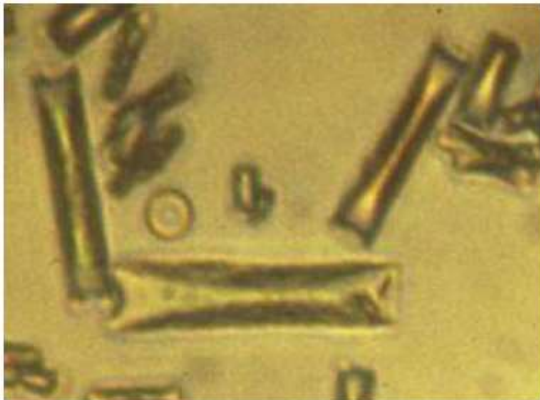
Annexe 3 : Quatre faciès de l'acide urique dihydraté (Daudon M. et al,2003).



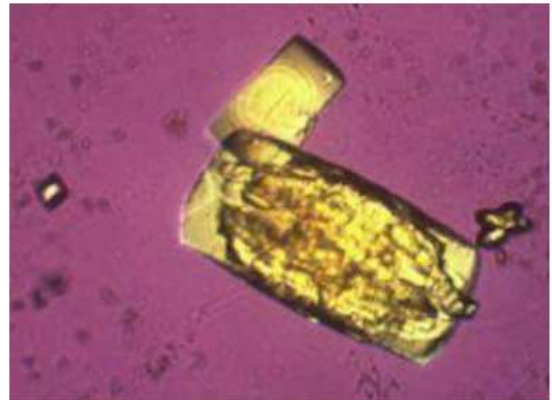
Sédiment orange à rouge-brique. Cristaux polychromes typiques d'acide urique dihydraté, losangiques, aux côtés légèrement incurvés. Polarisation très intense, plus ou moins hétérogène. Dimension moyenne : 45 microns. pH : 5,3.



Aiguilles d'acide urique dihydraté en aiguilles polychromes.

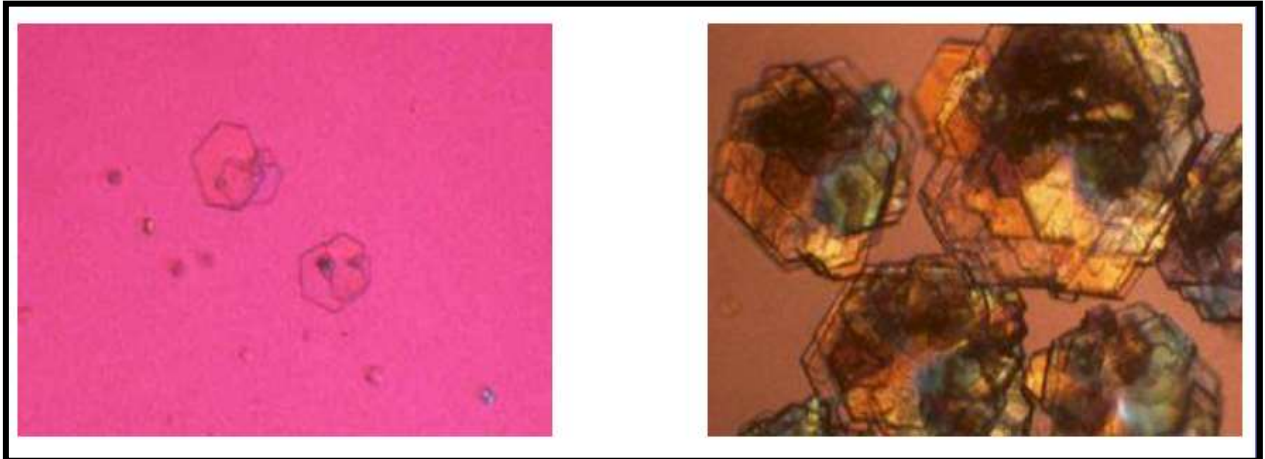


Cristaux d'acide urique dihydraté en bâtonnets aux extrémités souvent amincies, dits en cacahuète.

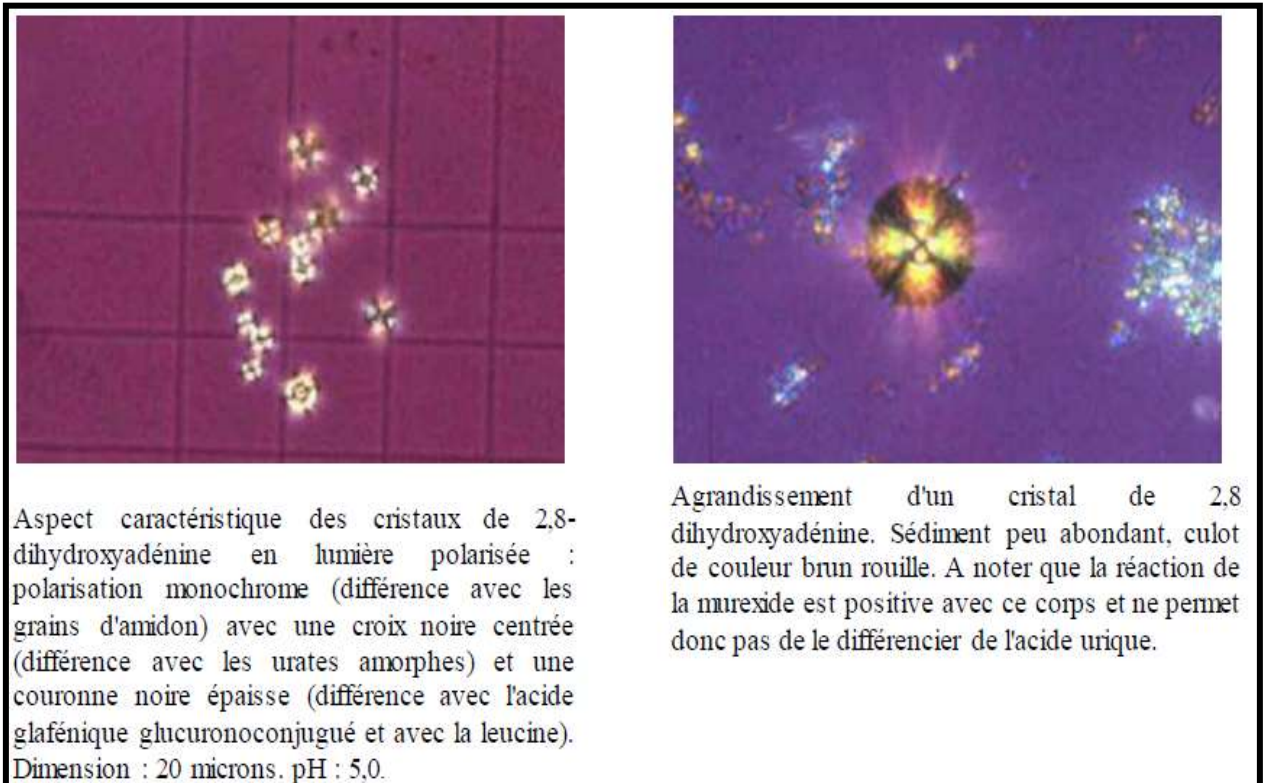


Volumineux cristaux tabulaires d'acide urique dihydraté, de formes diverses, plus ou moins épais, agrégés. Polarisation intense, hétérogène. Noter la forme losangique caractéristique d'une partie des cristaux agrégés. Dimension maximale : 270 microns. pH : 5,2.

Annexe 4 : Cristaux de cystine (Daudon M. et al, 2003).



Annexe 5 : 2,8-dihydroxyadénine (Daudon M. et al, 2003)



Aspect caractéristique des cristaux de 2,8-dihydroxyadénine en lumière polarisée : polarisation monochrome (différence avec les grains d'amidon) avec une croix noire centrée (différence avec les urates amorphes) et une couronne noire épaisse (différence avec l'acide glafénique glucuroconjugué et avec la leucine). Dimension : 20 microns. pH : 5,0.

Agrandissement d'un cristal de 2,8 dihydroxyadénine. Sédiment peu abondant, culot de couleur brun rouille. A noter que la réaction de la murexide est positive avec ce corps et ne permet donc pas de le différencier de l'acide urique.

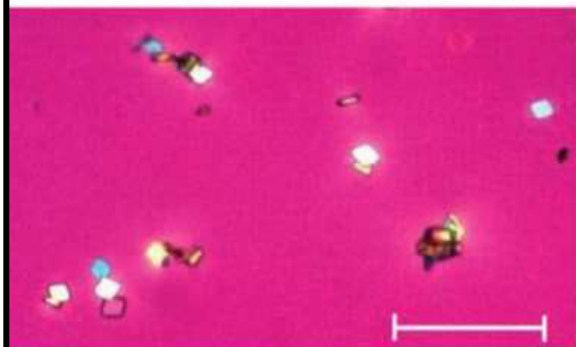
Annexe 6 : Cristaux médicamenteux (Daudon M. et al, 2003)



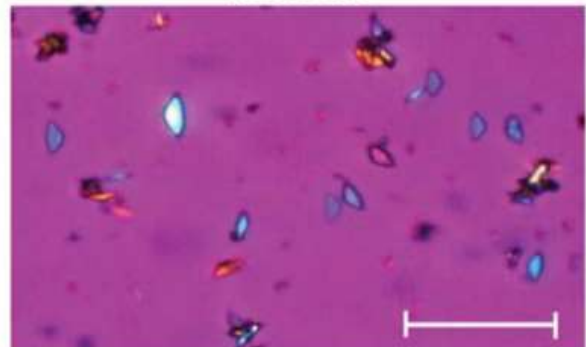
25 - Amoxicilline trihydratée (aiguilles agrégées)
pH 5,2 à 6,5



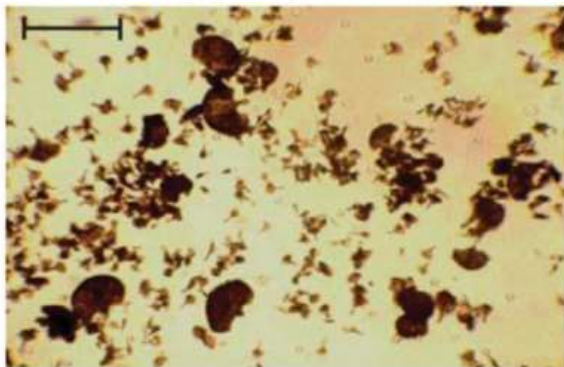
26 - Ceftriaxonate de calcium
(aiguilles agrégées en massues)
pH 6,0 à 7,5



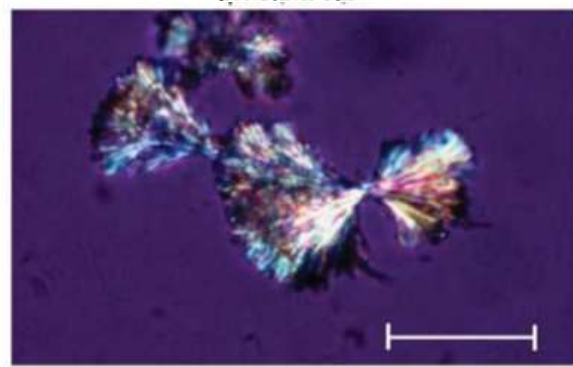
27 - N-acétylsulfaméthoxazole, HCl (losanges)
pH 5,2 à 6,2



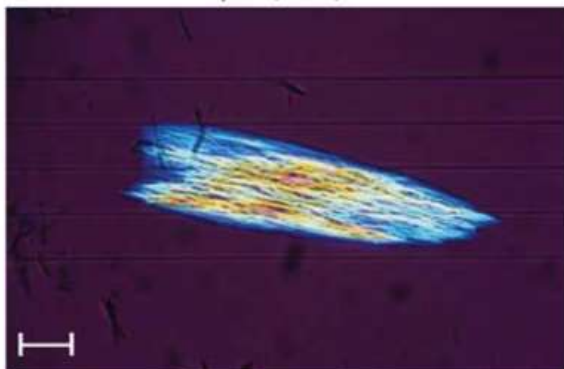
28 - N-acétylsulfaméthoxazole, HCl
(triangles à bords convexes)
pH 5,2 à 6,2



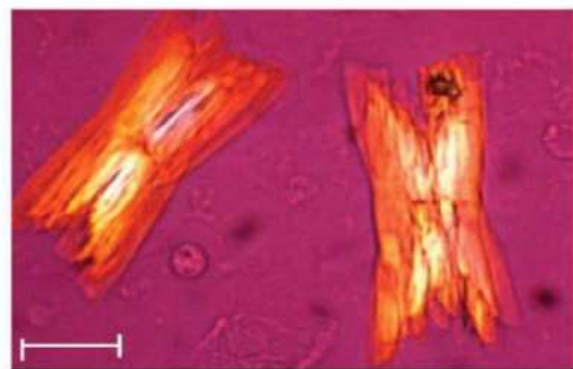
29 - N-acétylsulfadiazine
(aiguilles agrégées en éventails)
pH 5,8 à 6,8



30 - N-acétylsulfadiazine (aiguilles agrégées)
pH 5,8 à 6,8



31 - Indinavir monohydraté
(aiguilles agrégées en plaques striées)
pH 5,5 à 8,0



32 - Indinavir monohydraté
(lamelles agrégées en larges plaques)
pH 5,5 à 8,0