

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA
Faculté des sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie

MEMOIRE DE MAGISTER

En Biologie
Spécialité : Biotechnologie végétale

ÉTUDE D'UNE PLANTE À CARACTÈRE THÉRAPEUTIQUE *Aloe vera* L. EN
VUE DE SON UTILISATION COMME ÉMULSION CICATRISANTE

Par

DAKICHE Hadjira

Devant le jury composé de :

F. SAIDI	Professeur, U.S.D.B.	Présidente
C. CHAOUIA	Maître de conférences, U.S.D.B.	Examineur
M.S. HAMAIDI	Maître de conférences, U.S.D.B.	Examineur
M.S. ABDUL HUSSAIN	Maître de conférences, U.S.D.B.	Rapporteur
A. ROUIBI	Maître assistant, U.S.D.B.	Co-promoteur

Blida, Avril 2011

RESUME

La présente étude est portée sur l'extraction et la lyophilisation du gel d'*Aloe vera* L. ainsi que l'analyse de sa composition chimique et l'évaluation de ses effets pharmacologiques.

L'étude phytochimique a montré que le gel d'*Aloe vera* L. est très riche en eau (99.32%). Elle nous a permis aussi de mettre en évidence quelques métabolites (saponosides, tanins, mucilage, oses et holosides) et de doser : les poly-phénols (4%), les glucides (59%) et les cendres (18 %).

La chromatographie sur couche mince a révélé la présence d'un polysaccharide glucomannane appelé Acémannane. Cependant la chromatographie ionique a permis de caractériser qualitativement et quantitativement la composition du gel d'*Aloe vera* L. en minéraux comme le Calcium (46%), le Magnesium (18%), Potassium et sodium (7%) et sulfate (5%).

L'étude pharmacologique *in vitro* a révélé que le gel possède un pouvoir antibactérien sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

En outre, l'évaluation de la tolérance cutanée testée sur des lapins *in vivo* a dévoilé que le gel d'*Aloe vera* L. est non irritant ; de plus les autres activités biologiques testées *in vivo* ont révélé qu'il est doté d'un bon pouvoir anti-inflammatoire sur l'oreille de souris. Il a un excellent effet cicatrisant sur les plaies et les brûlures provoquées sur la peau des lapins.

Mots clés : Plante médicinale, *Aloe vera* L., gel, glucides, minéraux, poly phénols, effet antibactérien, effet anti-inflammatoire, effet cicatrisant, plaie, brûlure.

SUMMARY

This study is focused on the extraction and the freeze-drying of the gel of *Aloe vera* L. and analyzing its chemical composition and evaluation of its pharmacological effects.

The phytochemical study showed that the gel of *Aloe vera* L. is very rich in water (99.32%). It also allowed us to highlight some metabolites (saponins, tannins, mucilage, sugars and holosides) and determines: polyphenols (4%), carbohydrates (59%) and ash (18%).

Thin layer chromatography revealed the presence of a polysaccharide called glucomannan or acemannan.

However, ion chromatography was used to characterize qualitatively and quantitatively the minerals composition of the gel of *Aloe vera* L. such as calcium (46%), Magnesium (18%), potassium and sodium (7%) and sulfate (5%).

The pharmacological study *in vitro* showed that the gel has antibacterial in *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*.

In addition, assessment of skin tolerance tested on rabbits *in vivo* revealed that the gel of *Aloe vera* L. is classified as non-irritating; over the other tested biological activity *in vivo* have revealed that he has a good anti-inflammatory effect on mouse ear and an excellent healing effect on wounds and burns on rabbits.

Keywords: Medicinal plants, *Aloe vera* L. gel, carbohydrates, minerals, polyphenols, antibacterial, anti-inflammatory, healing effect, wounds, burns.

ملخص

هذه الدراسة ركزت على استخراج و تجفيد و تجفيف هلام لب اوراق *Aloe vera L* ودراسة بعض التأثيرات الدوائية.

الفحص الكيميائي النباتي كشف عن كمية كبيرة من الماء في هلام *Aloe vera L* بنسبة 99.32 % ، وأتاحت لنا التعرف على بعض المركبات (مادة الصابونين والدباغ والصمغ) وقياس كمية : مادة البوليفينول (4 %) ، الكربوهيدرات (60 %) والرماد (18 %).
كشفت الطبقة رقيقة اللوني وجود سكريد يدعا *acemannan* او *glucomannan* .
تقنيات الكروماتوجرافية سمحت التعرف كميا ونوعيا على تكوين هلام *Aloe vera L* من المعادن مثل الكالسيوم (46 %) والمغنيسيوم (18 %) والبوتاسيوم والصوديوم (7 %) وكبريتات (5 %).

الدراسة المخبرية أظهرت أن للهلام نشاط المضاد للبكتيريا على *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*.

بالإضافة إلى هذا ، تم تقييم التأثير الهلام على جلد الأرنب و الكشف على أنه مصنف غير مهيج للبشرة؛ اما الاختبارات الحية للنشاط البيولوجي لهلام *Aloe vera L* قد كشفت على أن لديه مفعول جيد مضاد للالتهابات على أذن الفأر وتأثير ممتاز في شفاء الجروح والحروق على أرنب.

الكلمات المفتاح: النباتات الطبية، *Aloe vera L* ، هلام ، الكربوهيدرات ، المعادن ، مادة البوليفينول، المضادة للبكتيريا ، مضاد للالتهابات، تأثير الشفاء ، الجروح ، الحروق.

Remerciements

J'adresse mes Remerciements les plus sincères :

A ALLAH le tout puissant, le souverain, le premier et le dernier, le miséricorde DIEU, pour m'avoir donné la chance, la volonté, la santé, le courage et la patience nécessaire pour mener ce travail à bout.

Je tiens aussi à remercier M^{me} ABDUL HUSSAIN Maria stela, pour avoir accepté de diriger cette thèse, ainsi que M^r ROUBI pour avoir co-dirigé ce travail.

Mes remerciements s'adressent au Professeur SAIDI qui m'a fait l'honneur de présider ce jury et à M^{me} CHOUJA et M^r HAMADI qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail.

De la même manière que je remercie le Directeur et l'ensemble du personnel des laboratoires de l'Annexe n°1 (C.R.E.A.) et de la police scientifique, ainsi que la Directrice de la station expérimentale, pour m'avoir accueilli et pour la confiance et l'aide qu'ils m'ont accordé.

Je tien à exprimer mes reconnaissance a tous ceux qui m'ont encouragé et aidé de près ou de loin à la concrétisation et la réalisation de ce travail, en particulier :

- Le directeur et l'ensemble des ingénieurs du jardin botanique d'El Hamma pour leurs aides précieuses.

- Le chef de département de biologie et M^{me} Mimoune chargé de cours – Université de Boumerdès- ainsi que la technicienne du laboratoire de fin d'étude pour m'avoir soutenu et facilité l'accès aux laboratoires.

- M^r KACMI, Docteur vétérinaire pour l'orientation et l'aide qui m'a apportées, et pour son plaisir à partager ses connaissances.

J'adresse mes remerciements les plus sincères et les plus profondes à M^r BOUSUMI, chargé de cours - Département de Chimie industrielle- pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils avisés. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

Je remercie également mes camarades de promotion, mes enseignants et tout le personnel des laboratoires du département de Biologie avec qui j'ai travaillé, pour la contribution qu'ils ont apportée à mon travail de magistère.

A la fin, Je trouve ici l'occasion de remercier les personnes sans lesquelles ce travail n'aurait pas pu être réalisé: Mes Parents et mon époux qui ont toujours été là pour moi et qui ont su m'encourager dans mes choix. Sans oublier mes sœurs et frères qui ont su me soutenir dans mon travail.

Hadjira

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
SUMMARY	3
ملخص	4
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	6
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	7
INTRODUCTION	8
1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE : ETUDE GENERALE DE L'ESPECE <i>Aloe vera</i> L.	
1.1. Historique de l' <i>Aloe vera</i> L.	10
1.2. Etude systématique d' <i>Aloe vera</i> L.	12
1.3. Description botanique	13
1.4. Origine et habitat d' <i>Aloe vera</i> L.	15
1.5. Récolte et parties utilisées	15
1.6. Vertus thérapeutiques et domaine d'utilisation du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	16
1.7. La composition chimique du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	17
2. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE : EXTRACTION ET CONSERVATION DU GEL D' <i>Aloe vera</i> L.	
2.1. Méthodes d'extraction du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	21
2.2. Techniques de conservation du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	22
3. MATERIEL ET METHODES	
3.1. Matériel	24
3.1.1. Matériel biologique	24

3.1.2. Matériel non biologique	29
3.2. Méthodes	30
3.2.1. Etude botanique	30
3.2.2. Extraction du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	31
3.2.3. Lyophilisation du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	32
3.2.4. Etudes phytochimiques	34
3.2.4.1. Tests phytochimiques et mise en évidence de quelques métabolites	34
3.2.4.2. Détermination de la teneur en eau par la méthode pondérale	36
3.2.4.3. Dosage des poly phénols	36
3.2.4.4. Dosage des glucides totaux par la méthode colorimétrique à l'antrone	38
3.2.4.5. Détermination du taux des cendres totales	39
3.2.4.6. Dosage des minéraux par la méthode de chromatographie ionique	40
3.2.4.7. Extraction des polysaccharides et sucres simples	41
3.2.4.8. Caractérisation des glucides par chromatographie sur couche mince	42
3.2.5. Etudes des activités biologiques	44
3.2.5.1. Les tests biologiques <i>in vitro</i>	44
3.2.5.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne	44
3.2.5.1.2. Activité hémostatique	48
3.2.5.2. Les tests biologiques <i>in vivo</i>	49
3.2.5.2.1. Détermination de l'activité anti-inflammatoire	49
3.2.5.2.2. Evaluation de la tolérance cutanée	51
3.2.5.2.3. Détermination de l'activité cicatrisante	53
4. RESULTATS ET DISCUSSION	
4.1. Etude botanique	60
4.2. Extraction et rendement	67
4.3. Identification de la matière première	67
4.4. Etude phytochimique	68
4.4.1. Tests phytochimiques et mise en évidence de quelques métabolites	68
4.4.2. Détermination de la teneur en eau	69
4.4.3. Dosage des poly phénols	70
4.4.4. Dosage des glucides	71
4.4.5. Détermination du taux des cendres totales	72
4.4.6. Dosage des minéraux	73

4.4.7. Extraction et caractérisation des polysaccharides et sucres simples par C.C.M.	77
4.5. Etude des activités biologiques	81
4.5.1. Les tests biologiques <i>in vitro</i>	81
4.5.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne	81
4.5.1.2. Détermination de l'activité hémostatique	87
4.5.2. Les tests biologiques <i>in vivo</i>	88
4.5.2.1. Détermination de l'activité anti-inflammatoire	88
4.5.2.2. Evaluation de la tolérance cutanée	89
4.5.2.3. Détermination de l'activité cicatrisante	90
CONCLUSION	99
APPENDICE	
A. Liste des abréviations	101
B. Matériel non biologique	102
C. Extraction et lyophilisation du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	
D. Courbe d'étalonnage	103
E. Étude statistique	104
F. Glossaire	105
REFERENCES	

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1: <i>Aloe dichotoma</i> L.	13
Figure 1.2 : <i>Aloe aristata</i> L.	13
Figure 1.3 : <i>Aloe saponaria</i> L.	13
Figure 1.4 : <i>Aloe succotrina</i> L.	13
Figure 1.5 : <i>Aloe africana</i> L.	13
Figure 1.6 : <i>Aloe ferox</i> L.	13
Figure 1.7 : <i>Aloe arborescens</i> L.	13
Figure 1.8 : Aspect générale d' <i>Aloe vera</i> L.	14
Figure 1.9 : Feuille d' <i>Aloe vera</i> L.	14
Figure 1.10 : Inflorescence d' <i>Aloe vera</i> L.	14
Figure 1.11 : Fleur d' <i>Aloe vera</i> L.	14
Figure 1.12 : Pulpe d' <i>Aloe vera</i> L.	15
Figure 3.1 : Feuille d' <i>Aloe vera</i> L.	24
Figure 3.2 : Souris NMRI.	25
Figure 3.3 : Lapin race californien.	25
Figure 3.4 : Observation d' <i>Escherichia coli</i> : à gauche au MEB / à droite au MP au G x 40 après coloration de Gram.	26
Figure 3.5 : Observation de <i>Pseudomonas. aeruginosa</i> : à gauche au MEB, à droite au MP G x 40 après coloration de Gram.	27
Figure 3.6 : Observation de <i>Staphylococcus aureus</i> : à gauche au MEB/ à droite au MP G x 100 après coloration de Gram.	28
Figure 3.7 : Observation de <i>Staphylococcus epidermidis</i> au MP G x 40 après coloration de Gram.	29

Figure 3.8 : Principe de la Chromatographie Ionique.	40
Figure 3.9 : Chromatographie sur couche mince	43
Figure 3.10 : Test de l'activité anti-inflammatoire du gel d' <i>Aloe vera</i> L. sur l'oreille de souris.	50
Figure 3.11 : A) Zone non scarifiée, B) zone scarifiée.	52
Figure 3.12 : Plaies superficielles.	54
Figure 3.13 : Incision linéaire.	56
Figure 3.14 : Brûlures : A) avant prélèvement, B) après prélèvement de la peau morte.	59
Figure 4.1 : Plante entière d' <i>Aloe vera</i> L.	60
Figure 4.2 : Tige et racine d' <i>Aloe vera</i> L.	60
Figure 4.3 : Insertion en rosette des feuilles lancéolées d' <i>Aloe vera</i> L.	61
Figure 4.4 : Feuille engainante d' <i>Aloe vera</i> L.	61
Figure 4.5 : Feuille d' <i>Aloe vera</i> L. à bord denté.	61
Figure 4.6 : Inflorescence d' <i>Aloe vera</i> L.	62
Figure 4.7 : Fleurs d' <i>Aloe vera</i> L.	62
Figure 4.8 : Fleur d' <i>Aloe vera</i> L. décortiquée.	62
Figure 4.9 : Observation a la loupe (G X8) de l'anthère à déhiscence longitudinale d' <i>Aloe vera</i> L.	63
Figure 4.10 : Observation a la loupe (G X4) de l'androcée d' <i>Aloe vera</i> L.	63
Figure 4.11: Observation a la loupe (G X4) du pistil d' <i>Aloe vera</i> L.	63
Figure 4.12: Observation a la loupe (G X8) de la placentation axile d' <i>Aloe vera</i> L.	63
Figure 4.13 : Coupe transversale au niveau de la feuille d' <i>Aloe vera</i> L. Vue au microscope photonique (G X100) après double coloration.	64
Figure 4.14: Vue d'ensemble d'une Coupe transversale au niveau de la racine d' <i>Aloe vera</i> L. Vue au microscope photonique (G X100) après double coloration.	65
Figure 4.15 : Coupe transversale au niveau de la racine d' <i>Aloe vera</i> L. Vue au microscope photonique (G X100) après double coloration. Zone périphérique.	66

Figure 4.16 : Coupe transversale au niveau de la racine d' <i>Aloe vera</i> L après double coloration. Vue au microscope photonique : A) (G X100), B) (G X400). Zone centrale.	66
Figure 4.17 : Pulpe d' <i>Aloe vera</i> L.	67
Figure 4.18 : Gel d' <i>Aloe vera</i> L.	67
Figure 4.19 : Lyophilisat du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	68
Figure 4.20: Teneur d' <i>Aloe vera</i> L. en eau et en matière sèche.	69
Figure 4.21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	70
Figure 4.22 : Courbe d'étalonnage des glucides.	71
Figure 4.23 : Chromatogramme du dosage des minéraux cationiques chez <i>Aloe vera</i> L.	74
Figure 4.24: Chromatogramme du dosage des minéraux anioniques chez <i>Aloe vera</i> L.	75
Figure 4.25 : Chromatogramme des résidus insolubles en alcool.	78
Figure 4.26 : Chromatogramme des résidus solubles en alcool.	80
Figure 4.27 : Antibiogramme sur milieu solide ; Absence de zones d'inhibition. A) <i>Escherichia coli</i> ; B) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; C) <i>Staphylococcus aureus</i> ; D) <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	81
Figure 4.28 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du control pour la souche <i>Escherichia coli</i> .	84
Figure 4.29 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du control pour la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	84
Figure 4.30 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du control pour la souche <i>Staphylococcus aureus</i> .	85
Figure 4.31 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du control pour la souche <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	85
Figure 4.32 : Scores d'évolution du processus de cicatrisation selon l'échelle de cotation de POURRAT.	91
Figure 4.33 : Évolution du processus de cicatrisation des plaies superficielles (scarifications).	91
Figure 4.34 : Scores de l'évolution de la cicatrisation selon l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen (BWAT, Bates–Jensen Wound Assessment Tool).	93
Figure 4.35 : Évolution du processus de cicatrisation des plaies profondes (incisions).	94
Figure 4.36 : Surfaces des zones brûlées (mm ²).	96

Figure 4.37 : Évolution du processus de cicatrisation des brûlures.	96
Figure 4.38 : Pourcentage de contraction des zones brûlées.	97
Tableau 1.1 : Acides aminés essentiels et secondaire présents dans le gel d' <i>Aloe vera</i> L.	19
Tableau 3.1: Conditions opératoire de la chromatographie ionique.	41
Tableau 3.2 : Échelle numérique utilisée pour le calcule du l'I.P.C.	52
Tableau 3.3 : Classification de DRAIZE des produits selon leur I.P.C.	53
Tableau 3.4 : Échelle de cotation de POURRAT, utilisée pour évaluer le dispositif de la cicatrisation.	55
Tableau 3.5 : Paramètres de description utilisés pour évaluer le dispositif de cicatrisation de blessure, selon l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen (BWAT).	57
Tableau 4.1 : Résultats de l'extraction du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	67
Tableau 4.2 : Résultats des tests phytochimique.	68
Tableau 4.3: Teneur du gel d' <i>Aloe vera</i> L. en eau.	69
Tableau 4.4 : Taux des cendres dans le gel d' <i>Aloe vera</i> L.	72
Tableau 4.5 : Concentrations et taux des cations dans le gel d' <i>Aloe vera</i> L.	73
Tableau 4.6 : Concentrations et taux des anions dans le gel d' <i>Aloe vera</i> L.	74
Tableau 4.7 : Teneur en anions et cations dans les cendres et dans la matière sèche totale du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	76
Tableau 4.8 : Taux des fractions glucidiques présents dans le gel d' <i>Aloe vera</i> L.	77
Tableau 4.9 : Rapport frontal du mannose, glucose et galactose.	79
Tableau 4.10 : Activité antimicrobienne de l'extrait 1 (gel d' <i>Aloe vera</i> L.) et l'extrait 2 (concentré à base de lyophilisat) sur milieu solide.	81
Tableau 4.11: Résultats des tests antibactériens sur milieu liquide.	83
Tableau 4.12 : Résultats de l'activité hémostatique du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	87
Tableau 4.13 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire du gel d' <i>Aloe vera</i> L.	88
Tableau 4.14 : Valeurs numériques des lésions provoquées sur les lapins.	89
Tableau 4.15 : Scores de l'évolution du processus de cicatrisation des scarifications chez les lapins.	90

Tableau 4.16: Scores de l'évolution du processus de cicatrisation des incisions chez les lapins.	93
Tableau 4.17 : Surface des zones brûlées (mm ²) le 1er 2ème et 8ème jour.	95
Tableau 4.18 : Taux de contraction des plaies traitées par le gel d' <i>Aloe vera</i> L., Sulfadiazine argentique et l'eau physiologique.	97

INTRODUCTION

A travers les siècles, les hommes ont su développer la connaissance des plantes et leurs propriétés thérapeutiques. Les premiers textes écrits sur la médecine par les plantes sont gravés sur des tablettes en argile en caractère cunéiforme, date de la civilisation sumérienne, 3000 ans avant Jésus-Christ [1]. La phytothérapie a constitué donc la principale source des remèdes contre de nombreuses maladies.

Aujourd'hui, l'efficacité prouvée et les bienfaits des plantes medicinale pour la santé de l'homme est incontestable.

Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de molécules et métabolites différents, on peut se rendre compte de la richesse naturelle du règne végétal. La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle s'investit de plus en plus dans la recherche de nouveaux métabolites et principes actifs pour la mise au point de nouveaux médicaments à base de plantes [2].

Dans certains pays d'Afrique les plantes médicinales représentent l'unique source medicale utilisée par la population à faible coût.

Selon l'OMS, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont médicinales. Elles constituent 90% de la médecine traditionnelle [2].

Parmi ces plantes, une des plus populaires dont la réputation légendaire est acquise sur les cinq continents est l'*Aloe vera* Linné ou *Aloe barbadensis* Miller.

La réputation séculaire de cette espèce, et la renommée de ses vertus légendaires a évidemment incité les scientifiques à étudier ses propriétés médicinales et ses effets thérapeutiques. Or, malgré leur prévention devant ce remède traditionnel, ils durent admettre, non sans surprise, que beaucoup de ses vertus légendaires n'étaient pas imaginaires.

Notre travail s'inscrit dans une perspective de valorisation et de développement de la recherche sur les plantes médicinales. Il a été motivé par:

- ✓ La volonté de promouvoir les plantes médicinales.
- ✓ La revalorisation de la plante médicinale *Aloe vera* L. utilisées en médecine traditionnelle en vue de la formulation de médicaments biologiques sans effets secondaires.
- ✓ L'inexistence sur le plan national de travaux phytochimiques et pharmacologiques sur l'espèce *Aloe vera* L.
- ✓ La volonté d'encourager la culture de cette espèce originaire de l'Afrique du nord, qui est en voie de disparition en Algérie.

L'objectif de notre travail est de réaliser pour la première fois à l'échelle nationale une :

- ✓ Identification botanique de la plante récoltée.
- ✓ Mise en évidence des différents groupes chimiques présents dans le gel d'*Aloe vera* L.
- ✓ Evaluation de l'efficacité du gel d'*Aloe vera* L. comme : antibactérien, hémostatique, anti-inflammatoire et cicatrisant.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR L'Aloès

1.1. Historique de l'*Aloe vera* L. :

Depuis au moins 5000 ans, à des époques différentes et dans des régions du monde éloignées les unes des autres, l'homme a toujours connu et utilisé l'Aloès pour ses multiples vertus curatives :

Chez les anciens Egyptiens l'Aloès était considéré comme un élixir de longue vie. La tradition voulait que l'on apportât un plant d'Aloès, symbole du renouvellement de la vie, comme cadeau, lors des cérémonies funéraires. Les prêtres associaient d'ailleurs la plante à leurs rites funéraires en l'incorporant à la composition de la formule de l'embaumement sous le nom de *Plante de l'immortalité* [3, 4].

L'Aloès possédait aussi aux yeux des anciens des vertus cosmétiques. On dit que les yeux de *Cléopâtre* devaient beaucoup de leurs éclats à un collyre à base d'Aloès, et que la beauté de *Néfertiti* venait de ses bains de lait d'ânesse et la pulpe d'Aloès [5].

L'Aloès était également mentionné parmi les formules de guérison dans le livre égyptien des remèdes de *Papyrus Elbers* (XVe siècle avant J.C.) [5, 6, 7, 8].

Pour les Grecs, l'Aloès symbolisait la beauté, la patience, la fortune et la santé. Dans un de ses livres, *Hippocrate* décrit quelques propriétés curatives de l'Aloès : repousse des cheveux, guérison des tumeurs, soulagement des dysenteries et des maux d'estomac [5, 9].

Pour les Romains les vertus de l'Aloès ont été découvertes avec étonnement au cours des guerres puniques, grâce à leurs prisonniers carthaginois qui font grande consommation pour soigner leurs blessures [4].

Discoride, médecin grec décrivait dans son livre *De materia medica* les propriétés de l'Aloès dont les vertus de faire, coaguler le sang des blessures, de cicatriser les écorchures et les plaies ouvertes, de guérir des furoncles et les hémorroïdes. Il prétendait aussi que la pulpe fraîche d'Aloès arrêtait la chute des cheveux et enrayait les ophtalmies [4, 7, 10].

En Orient et en Afrique, les Bédouins de la péninsule arabique et les guerriers Touaregs du Sahara connaissaient les vertus de l'*Aloès*, qu'ils appellent *Lys du désert*. Ils ornaient leurs portes de feuilles d'*Aloès*, et avaient coutume de se nourrir de ses feuilles en cas d'épidémies [5, 10].

La médecine traditionnelle Hindou *Ayurvédique* tient de tout temps l'*Aloès* en haute estime, en tant que partie intégrante de la pharmacopée Hindoue. Certaines de ses espèces étaient rigoureusement protégées [5, 7, 11].

En Europe, l'*Aloès* a été introduite et utilisée assez tardivement (seulement à l'époque de la Renaissance), après les croisades des guerriers chrétiens d'Occident et leurs adversaires musulmans qui considéraient l'*Aloès* comme remède par excellence. Au cours de leurs conquêtes les Arabes cultivaient l'*Aloès* en Andalousie [4]. C'est grâce à la pulpe de l'*Aloès* que les marins espagnols de *La santa Maria*, décimés par la maladie et la malnutrition seront partiellement sauvés, incitant *Christophe Colomb* à l'appeler le *Docteur en pot* [5].

Chez les Indiens d'Amérique, l'*Aloès* était l'une des 16 plantes sacrées. Ils cuisaient ses feuilles sous la cendre pour les manger, arrêtaient les hémorragies et cicatrisaient les blessures avec sa pulpe. Fermenté, le gel amer était réputé pour calmer les douleurs de ventre, nettoyer les reins et la vessie, dissoudre les calculs, arrêter la toux, soulager les fluxions de poitrines et provoquer les menstruations [5, 7].

Au Japon, l'*Aloès* est une plante reine. Des dizaines d'espèces sont cultivées pour multiples usages. Avant les combats, les Samouraïs enduisaient leur corps de pulpe d'*Aloès* pour chasser les démons et se rendre immortels [4].

Les Chinois considéraient l'*Aloès* comme médicament spécifique contre les brûlures et les affections de la peau. La pharmacopée chinoise de *Lishih-Shen*, cite l'*Aloès* parmi les plantes à vertus thérapeutiques majeures et la nomme *Remède d'harmonie* [4, 12].

L'histoire universelle de l'*Aloès* retient définitivement l'attention des chercheurs, et donne lieu à de nombreux travaux analytiques, pharmacologiques et cliniques qui confirment les usages médicaux de toutes les anciennes traditions et en découvrent même d'autres.

1.2. Etude systématique :

Le nom *Aloe* dérivée du nom arabe *Alloeh* qui signifie substance amère et brillante, alors que *vera* est un mot latin qui veut dire *vrai* [5, 13].

L'Aloe vera ainsi nommée est décrite par Linné et l'*Aloe barbadensis* décrit par Miller, ainsi *Aloe vulgaris* de Lamarck sont une seule et même plante. Toutefois Miller avait lui aussi décrit et appelé *Aloe vera* un *Aloès* différent de celui de Linné, et qui ne semble posséder aucune des propriétés médicinales de la plante décrite par le botaniste suédois (Linné), d'où quelques confusions et disputes d'experts [14].

Aujourd'hui ; La classification botanique officielle a retenue le nom d'*Aloe barbadensis* M. pour cet *Aloès*, le plus cultivé dans le monde, mais l'*Aloe vera* L. reste l'appellation la plus courante [5, 15].

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Spermaphyte*

Sous embranchement : *Angiosperme*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Liliopsida (Monocotylédone)*

Sous-classe : *Liliidae*

Ordre : *Liliale*

Famille : *Liliaceae*

Sous Famille : *Lilioidée*

Tribu : *Aloinée*

Genre : *Aloe*

Espèce : *Aloe barbadensis* (Miller).

Aloe vera (Linné).

Aloe vulgaris (Lamarck).

Noms vernaculaires : [16, 17]

- Arabe : *Mor ou Sba, Sobara*.
- Français : *Aloès*.
- Anglais : *Aloe*.

1.3. Description botanique du genre *Aloe*:

Il existe plus de 300 espèces d'*Aloès* répertoriés dans le monde, cela va de petit *Aloès* sans tige mesurant environ sept centimètres, jusqu'aux *Aloès* arborescents hauts de plus de quinze mètres (Figure : 1.1 ; 1.2 ; 1.3 ; 1.4 ; 1.5 ; 1.6 ; 1.7) [5, 6, 18].

Elles sont phanérogames (à fleurs), angiospermes de la famille des *Liliacées* appartenant à l'espèce des plantes grasses ou succulentes dont font partie des *Cactées*. Les fleurs reparties sur une ou plusieurs hampes florales, ressemblent à de petites trompettes de couleur allant du blanc verdâtre au rouge, en passant par le jaune et l'orange. Les feuilles sont charnues et cassantes ornées de piquants poussant en rosettes basilaires autour de la tige [6, 13, 16, 19, 20].

Ce sont des plantes qui se multiplient soit par voie sexuée (graines) ou par voie asexuée (les rejets) qui poussent autour de leurs pieds.



Figure 1.1: *Aloe dichotoma* [21]



Figure 1.2 : *Aloe aristata* [22]



Figure 1.3 : *Aloe saponaria* [23]



Figure 1.4 : *Aloe succotrina* [24]



Figure 1.5 : *Aloe africana* [25]



Figure 1.6 : *Aloe ferox* [26]



Figure 1.7 : *Aloe arborescens* [27]

1.4. Description botanique de l'espèce *Aloe vera* L.

C'est une plante dotée de propriétés médicinales et thérapeutiques connues [12, 15, 18, 19]. Elle est arborescente d'environ 80cm de haut (Figure 1.8) caractérisée par de courtes racines insérées sur un rhizome [28]. C'est une plante acaule à tige ligneuse, qui peut atteindre 30 cm de long. Elle est de forme cylindrique, solitaire portant une rosette de feuilles lancéolées à bord épineux [14, 16, 18].

Ces feuilles sont charnues, caractérisées par une couleur gris verdâtre, longue et de 30 cm à 59 cm et de 6 à 9 cm de largeur (Figure 1.9) [15, 13, 16, 18, 28, 29].



Figure 1.8 : Aspect générale d'*Aloe vera* (Original). Figure 1.9 : Feuille d'*Aloe vera* (Original).

La floraison de l'*Aloe vera* L. commence en mois de février – mars donnant des grappes dressées atteignant 1 m de longueur (Figure 1.10). Elle comporte de nombreuses fleurs hermaphrodites entourées de bractées rougeâtres [12, 15, 16, 18, 29] (Figure 1.10).

Les fleurs d'*Aloe vera* L. sont caractérisées par une couleur jaune vif (Figure 1.11), dans le quel le perianthe peut atteindre 3cm de long [14, 15, 28, 30].



Figure 1.10 : Inflorescence d'*Aloe vera* (Original). Figure 1.11 : Fleur d'*Aloe vera* (Original)

1.5. Origine et habitat :

Originnaire de l'Afrique du nord, l'*Aloe vera* L. pousse librement dans les régions arides et semi-arides [10, 13]. Elle aime les terrains rocheux, sec, calcaire et sableux ou limoneux, car il s'agit d'une plante xérophile [15, 20]. Elle supporte les conditions de sécheresse grâce à : son métabolisme spéciale dit métabolisme acide crassulacée CAM réduisant le maximum de perte en eau, la succulence de ses feuilles et à la présence d'épaisse cuticule [10, 15, 19].

Aujourd'hui L'*Aloe vera* L. est largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales [5, 6, 14].

1.6. Récolte et parties utilisées :

La récolte est réalisée à partir de plants âgés de 3 à 4 ans au moins [31]. La partie la plus utilisée de l'*Aloe vera* L. est la feuille dont on recueille différentes substances selon la partie utilisée [5, 12, 32].

Dans les feuilles coupées à la base, on distingue deux composants en l'occurrence : le suc et le gel.

➤ **Le suc jaunâtre** (sève) appelé aussi le sang de l'*Aloès* qui s'écoule naturellement. Il a des propriétés médicinales connues depuis l'antiquité. Ce liquide jaunâtre, très amer, épais, visqueux est utilisé après condensation soit par chauffage ou séchage lent au soleil [33, 15].

➤ **Le gel** est extrait du tissu central des feuilles décortiquées (Figure 1.12). Ce liquide translucide mucilagineux et amer est très instable. Laissez à l'air libre ou même dans un contenant, il change de couleur dans les 24 heures qui suivent, c'est le phénomène d'oxydation. Ce processus naturel détruit la plupart de ces propriétés thérapeutiques, donc le véritable problème posé par son utilisation est sa stabilisation [33, 31]

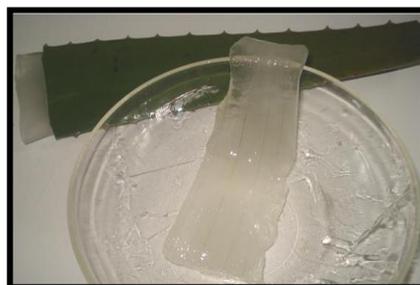


Figure 1.12 : Pulpe d'*Aloe vera* L. (Original).

1.7. Vertus thérapeutiques et domaine d'utilisation du gel d'*Aloe vera* L. :

Le gel ou la pulpe fraîche d'*Aloe vera* L. peut être utilisé en usage interne ou externe :

➤ En usage interne : Le gel d'*Aloe vera* L. buvable est :

- Un bon régulateur du transit intestinal, il élimine les difficultés digestives, protège l'organisme contre les ulcères gastriques [31, 34, 35, 36, 37, 38].

- Un stimulateur des défenses immunitaires, et activateur des macrophages [5, 7, 15, 29, 31, 35, 36, 39, 40].

- Un excellent complément alimentaire qui contribue à rééquilibrer et réduire le taux du cholestérol et des triglycérides dans le sang [7, 34, 35, 36, 37].

- Un excellent remède contre les affections du foie, recommandé dans la prévention de la Cirrhose du foie [5, 31, 35].

- Un traitement de choix pour les difficultés respiratoires et la toux (bronchite et asthme). Il aide à résorber l'excès de mucus encombrant les bronches. Il soulage les asthmatiques et guérit les bronchites chroniques sans provoquer des effets secondaires [34, 35, 41].

- Un stabilisateur du taux du sucre dans le sang chez les diabétiques (associé à un bon régime, il régénère et rééquilibre l'organisme déficient) [16, 35, 36].

➤ En usage externe :

- Les bains d'*Aloe vera* L. (décoctée ou infusion que l'on ajoute à l'eau du bain) soulagent les douleurs arthritiques ou rhumatismales. Certains thérapeutes recommandent de masser légèrement les régions douloureuses avec le gel stabilisé ou une crème à base d'*Aloe vera* L. [42, 35, 36, 40].

- Les collyres à base d'*Aloe vera* L. donnent de très bons résultats dans le traitement de graves affections oculaires [7, 11, 35].

- L'un des champs d'action privilégié du gel d'*Aloe vera* L. est la dermatologie : Il a un excellent pouvoir de réhydratation [42, 43].
- Il guérit l'Herpès, la Rosacée, les Psoriasis, les Eczémas, les Mycose et les Boutons de fièvres [16, 34, 35, 44].
- C'est le traitement des premiers soins en cas de coups de soleil, brûlures ou blessures diverses, il combat les démangeaisons d'origine allergique, les piqûres d'insectes et leurs séquelles [5, 6, 7, 9, 45, 44].
- Le gel d'*Aloe vera* L. est un bon cicatrisant, hémostatique, anti-inflammatoire et analgésique et un excellent désinfectant (bactéricide et fongicide) [15, 29, 31, 35, 36, 43, 46, 47].

1.8. La composition chimique du gel d'*Aloe vera* L. :

La teneur en eau est très élevée (98 à 99%) [7, 15, 29]. La fraction solide obtenue par la déshydratation du gel extrait à partir de la pulpe de ses feuilles, représente uniquement environ 0,5 à 1,5% de la masse totale. Il renferme plus de soixante-dix principes actifs connus, divisés en différents groupes [7, 42].

1.8.1. Les Saponosides :

Appelés également saponines, ils sont très fréquents chez les végétaux; Ils constituent un vaste groupe d'hétérosides.

Les oses qui constituent ces substances sont : le glucose, le galactose, le rhamnose et l'arabinose. Ces oses sont souvent associés à l'acide glucuronique.

Les saponines peuvent être classées selon la nature de leur partie aglycone en 2 types structuraux :

- Saponines à génine stéroïdique : à 27 atomes de carbone.
- Saponines à génine triterpénique : à 30 atomes de carbone.

Les saponines se dissolvent dans l'eau formant des solutions moussantes. Leur nom Sapo, onis dérive du mot savon. Les saponosides sont connues pour leurs propriétés : hémolytique antifongiques, antibactériennes et antivirale, ce qui fait d'elles des agents protecteurs des plantes contre les germes [49, 50].

Les saponosides possèdent des propriétés : dermatologique, anti-oedémateuse, anti-inflammatoire et cicatrisante [5, 7, 15]. Connues aussi comme antalgiques et immuno-régulatrices [51].

1.3.1. Les Tanins :

Ce sont des substances polyphénoliques hydrosolubles qui se caractérisent par une masse moléculaire élevée. Leur principale propriété consiste à tanner la peau c'est à dire à la rendre imputrescible. Cette propriété est due aux tanins qui possèdent une aptitude naturelle à se combiner aux macromolécules ex : les protéines et les polysaccharides.

Les tanins dérivent de l'acide gallique et d'autres acides polyphénoliques. Leur structure chimique comporte toujours une partie polyphénolique [51]. Chez les plantes supérieures, on distingue en général deux groupes de tanins qui diffèrent entre eux par leur structure: les tanins hydrolysables et les tanins condensés [52].

Grâce à leur capacité de former des complexes avec les macromolécules. Les tanins utilisés par voie externe possèdent la propriété d'imperméabiliser les couches sous jacentes, ils possèdent aussi un effet vasoconstricteur sur les vaisseaux superficiels en limitant la perte en fluide et en empêchant les agressions externes favorisant ainsi la régénération des tissus en cas de blessures ou brûlures.

Par voie interne, les tannins sont des anti-diarrhéiques. Quelque soit la voie d'administration, l'effet antiseptique est démontré [51].

1.8.2. Les mono et polysaccharides :

Le gel d'*Aloe vera* L. représente une source très riche en carbohydrates sous ses différentes formes (monosaccharides et polysaccharides) dont les plus importants sont :

1.8.2.1. Les monosaccharides :

Le glucose et le mannose-6P représentent les monosaccharides les plus abondants dans le gel d'*Aloe vera* L., qui possèdent la propriété d'accélérer la cicatrisation [5, 32].

1.8.2.2. Les polysaccharides:

Les polysaccharides sont arbitrairement définis comme des polymères de haut poids moléculaire. Ils résultent de la condensation d'un grand nombre de molécules d'oses [51].

Le gel d'*Aloe vera* L. renferme un polysaccharide appelé Acemannan : qui est formé de chaîne de β (1-4) mannane acétylé ou β (1-4) glucomannane acétylé [45, 53]. Bien que le

degré de polymérisation soit élevé, l'ensemble demeure soluble en raison des acétylations latérales. Ce qui empêche la formation de liaisons hydrogènes inter-chaines et leurs agglomérations [54].

Ce polysaccharide possède les propriétés immunostimulante (active les macrophages), antimicrobienne, antivirale et cicatrisante [5, 7, 15, 31, 35, 36, 39, 42, 55].

1.8.3. Les acides aminés :

Le gel d'*Aloe vera* L. renferme 17 acides aminés. 7 acides aminés sont dits essentiels et 10 dits acides aminés secondaires [7, 35, 38, 41, 55, 56].

Tableau 1.1 : Acides aminés essentiels et secondaire présents dans le gel d'*Aloe vera* L.

Les acides aminés essentiels	Les acides aminés secondaires
Isoleucine- Leucine- Lysine Méthionine- Phénylalanine - Thréonine- Valine	acide aspartique- acide glutamique- alanine- arginine- cystine- histidine- hydroxiprolin- proline- sérine- tyrosine.

1.8.4. Les minéraux :

C'est la fraction inorganique du gel d'*Aloe vera* L., qui contient plus de 20 sels minéraux, tous essentiels à l'organisme humain [5, 15, 38, 41, 57].

- Calcium (Ca^{2+}): Favorise la croissance osseuse et la coagulation.
- Fer (Fe^{3+}): Favorise la synthèse de l'hémoglobine.
- Sodium (Na^+): Maintient l'équilibre acido-basique des liquides organiques et favorise le métabolisme de l'eau au sein des tissus et des cellules.
- Chlore (Cl^-): Antiseptique désinfectant.
- Magnésium (Mg^{2+}): Maintient le bon fonctionnement des muscles et du système nerveux.
- Cuivre (Cu^{2+}): Indispensable au maintien de l'équilibre de l'organisme.
- Zinc (Zn^{2+}): Stimule l'activité des protéines dans la cicatrisation.

1.8.5. Les vitamines :

Le gel d'*Aloe vera* L. renferme plusieurs vitamines indispensables au corps humain [5, 7, 38, 43, 56]:

- Vitamine A (carotène) et Vitamine E (tocophérol): Améliore la vision, favorise la santé de la peau et protège les cellules des radicaux libres.
- Vitamine C (acide ascorbique): Combat l'infection, favorise la cicatrisation et maintient la santé de la peau.
- Vitamine B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B6 (pyridoxine): Nécessaire à la croissance des tissus, la formation du sang et la production de l'énergie.

1.8.6. Les enzymes :

Le gel d'*Aloe vera* L. contient :

- Cellulase, Lipase, Amylase et Protéase : Des enzymes qui facilitent la digestion [15, 32].
- Catalase : Une enzyme qui empêche toute accumulation d'eau oxygénée dans les tissus [41, 55].
- Bradykinase : Une enzyme présentant une action analgésique, anti-inflammatoire et stimulante des défenses immunitaires [15, 32].

CHAPITRE 2

EXTRACTION ET CONSERVATION DU GEL D'*Aloe vera* L.

L'*Aloe vera* L. a été longtemps utilisée sous forme de poudre fabriquée soit à partir de la feuille entière ou à partir de la sève secrétée par la partie superficielle de la feuille. Celle-ci présente des propriétés curatives qui sont surtout digestives (stomachique, laxative et purgative) [11, 18, 40]; Cette méthode a été presque abandonnée à l'exception de certains pays du tiers monde, où l'on utilise dans la médecine traditionnelle [5].

Aujourd'hui et après la stabilisation du gel mucilagineux extrait à partir de la pulpe des feuilles d'*Aloe vera* L., c'est cette partie (gel) que l'on utilise, car elle représente la partie la plus active de l'*Aloe vera* L. grâce à ces multiples vertus [5, 7, 15, 31, 57].

2.1. Méthodes d'extraction du gel d'*Aloe vera* L. :

Il existe quatre principaux procédés d'extraction utilisés dans l'industrie moderne:

2.1.1. La mise en filet à la main :

Elle consiste à décortiquer manuellement une feuille d'*Aloe vera* L., en l'ouvrant dans sa longueur puis en raclant par le côté émoussé du couteau tout en évitant de mêler la sève au gel [5, 31].

2.1.2. Le pressage :

Cette méthode consiste à faire passer la feuille entière à travers une série de rouleaux compresseurs. C'est la première tentative d'automatiser l'industrie de l'*Aloès*. Cette méthode a l'inconvénient de mélanger la sève au gel. On ne peut donc utiliser ce gel pour usage interne ou pour application sur les zones susceptibles d'être irritées ou infectées [11, 40].

2.1.3. Le broyage de la feuille entière :

Cette méthode consiste à broyer toute la feuille pour en filtrer la partie liquide. Le produit obtenu a l'inconvénient de ne pas pouvoir servir pour usage interne et même dans certains cas pour usage externe [41].

2.1.4. La séparation mécanique de pulpe et de l'écorce :

Après avoir été coupées les feuilles sont rincées à l'eau claire pour ôter les impurités. Elles passent ensuite par une lave feuille automatique qui nettoie les feuilles avec une brosse et les rince avec un agent sanitaire [3].

Les feuilles passent ensuite dans une machine qui sépare la pulpe de l'écorce. Ainsi, la pulpe est récupérée dans un grand entonnoir, est passée à travers un extracteur de gel qui décompose la structure cellulosique de la pulpe [40].

C'est la méthode la plus récente et la plus utilisée, elle a l'avantage d'être plus rapide (400 à 480 litres de gel par heure) et empêche la réaction d'oxydation [3, 40].

2.2. Techniques de conservation :

Plusieurs procédés de stabilisation plus ou moins efficaces ont été essayés, dont les plus connus sont [3, 5, 15, 57]:

2.2.1. Exposition au rayon ultraviolet en présence de catalyseurs chimiques :

Cette technique donne un produit à faible concentration en *Aloe vera* L., elle modifie partiellement sa composition chimique.

2.2.2. Oxydation avec le peroxyde d'hydrogène :

Consiste à l'exposition du gel à des températures de 60°C et plus après y avoir ajouté une petite quantité de peroxyde d'hydrogène. Cette méthode a les mêmes désavantages que la précédente.

2.2.3. Exposition à de hautes températures pendant de longues ou de courtes périodes :

Pour les expositions prolongées (1 heure à 1 heure et ½), les températures s'échelonnent de 75 à 80°C. Pour les expositions courtes (environ 3 minutes), la température varie de 90 à 120°C. Les deux méthodes modifient la composition chimique du gel. Mais la seconde est préférable puisqu'elle minimise la destruction des enzymes. La première détruit tous les enzymes et modifie radicalement la structure chimique de la plante.

2.2.4. Séchage avec vaporisation sous vide en présence de chaleur (spray drying) :

Elle consiste à déshydrater le gel en le chauffant, puis en extrayant la partie liquide par vaporisation sous un vide partiel. Mais la température élevée, conduit à l'obtention d'un produit qui représente une perte significative par rapport au gel pur d'*Aloe vera* L.

2.2.5. Séchage à froid (Freeze drying) :

Le séchage à froid consiste à éliminer l'eau du gel mucilagineux quand il est congelé. Cette méthode donne d'assez bon résultat et permet de conserver assez bien les propriétés du gel une fois qu'il est reconstitué avec de l'eau.

Le séchage à froid permet de fabriquer à partir de la poudre une solution 200 fois plus concentrée que le gel naturel d'*Aloe vera* L.

2.2.6. Stabilisation avec des anti-oxydants et des variations de chaleur :

Ce procédé consiste à laisser incuber le gel pendant trois jours dans d'immenses cuves. Pour éviter l'oxydation qui détruit très vite les propriétés du gel, on ajoute de la vitamine C (acide ascorbique) et du sorbitol (une substance naturelle).

CHAPITRE 3 MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel végétal :

Les feuilles de la plante d'*Aloe vera* L. ont été récoltées durant la période allant de mois de mars jusqu'au mois de mai 2008, du jardin botanique d'EL HAMMA (jardin d'essais).

L'authentification de l'espèce a été confirmée au niveau du département de botanique de l'institut national d'agronomie I.N.A. d'El Harrach.

Notre étude est portée sur le gel extrait à partir des feuilles de plants d'*Aloe vera* L. âgées de 3 à 4 ans (Figure 3.1).



Figure 3.1 : Feuille d'*Aloe vera* L. (Original, 2008).

3.2. Matériel animal :

L'étude des effets du gel d'*Aloe vera* L. ont été testée sur les animaux suivants :

- 10 souris albinos blanche de souche MNRI (Naval Médical Research Institute, Bethesda, Maryland, USA) mâle et femelle, elles pèsent environ 20 à 25 g (Figure 3.2).

Les souris choisies ont été placés dans un local à une température de 20 à 24°C, une humidité de 50 à 60 % et un éclairage de 10 h.

- 24 Lapins mâle et femelle de race californienne d'environ 2.5 à 3 kg (Figure 3.3), ces derniers ont été placés dans un local dans les conditions suivantes : température de 20 à 24°C, humidité entre 50 à 60 % et éclairage pendant 10 h.



Figure 3.2 : Souris NMRI (original)



Figure 3.3 : Lapin race californienne (original)

3.3. Matériel bactériologique :

L'étude bactériologique a porté sur 4 souches, provenant du laboratoire de contrôle de stérilité du complexe Antibiotical Saidal Médéa et qui sont :

Escherichia coli ATTC 25922

Pseudomonas aeruginosa ATTC 27853

Staphylococcus aureus ATTC 25923

Staphylococcus epidermidis ATTC 1228

***Escherichia coli* :**

C'est l'espèce la plus fréquemment isolée en bactériologie médicale. C'est un bacille à Gram négatif aéro – anaérobie facultatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il peut être mobile ou immobile et parfois capsulé (Figure 3.4) [58, 59].

Les facteurs de virulences d'*Escherichia coli* sont des flagelles et des pili qui permettent l'adhésion à la surface de la muqueuse ainsi qu'une capsule qui prévient la phagocytose [60, 61].

Appelé communément COLIBACILLE pour rappeler que ce bacille du côlon est un commensal du tube digestif de l'homme. Sa présence dans l'eau et les aliments est un signe de contamination fécale [62, 59].

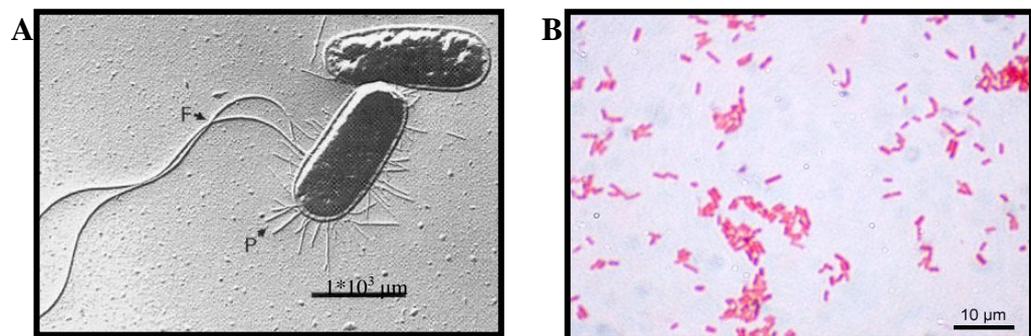


Figure 3.4 : Observation d'*Escherichia coli* : A au MEB [63] / B au MP au G x 40 après coloration de Gram [64].

Ce colibacille a un pouvoir pathogène lorsqu'il est présent dans les parties du corps normalement stériles. Il peut causer différents types d'infections plus ou moins graves :

- Infections urinaires.
- Méningite néonatale.
- Gastroentérites.
- Péritonites et cholécystites.
- Infections des plaies post-opératoires.

[65].

Pseudomonas aeruginosa

C'est un bacille à Gram négatif aérobie strict mobile par un flagelle polaire. Il appartient à la famille des *Pseudomonaceae* (Figure 3.5) [58].

Pseudomonas aeruginosa appelé aussi bacille pyocyanique. Il doit son nom à sa pigmentation, qui est liée à la production de deux pigments atoxiques hydrosolubles colorés en bleu (pyocyanine), en vert (pyoverdine). Ces derniers sont responsables de la coloration bleue - verdâtre du pus [59] [66].

Le bacille pyocyanique produit trois exotoxines : l'hémolysine, la cytotoxine et la leucocytotoxine [66].

Largement répandu dans la nature *Pseudomonas aeruginosa* est un saprophyte de l'eau, il se multiplie même dans de l'eau distillée. Il est résistant aux désinfectants. On le trouve sur la peau, au niveau des voies aériennes supérieures et dans le tractus intestinal chez 10% de la population saine [67] [61].

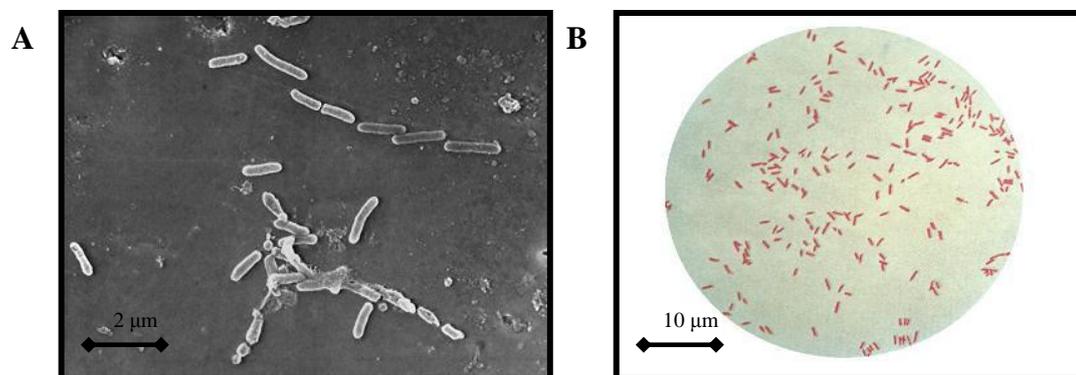


Figure 3.5 : Observation de *Pseudomonas aeruginosa* : A au MEB, B au MP G x 40 après coloration de Gram [68].

Le bacille pyocyanique est un pathogène de l'hôpital. La transmission se fait par les instruments médicaux [bactérie nosocomiale], il provoque diverses infections chez les immunodéprimés :

- infections urinaires.
- Infections cutanées, infections de plaies et infections de plaies par brûlures.
- Otites internes et externes.
- Infections des voies aériennes et bronchites.
- Entérites.

[66, 60].

Staphylococcus aureus

Appelé également Staphylocoque doré, c'est une cocci à Gram positif qui appartient à la famille des *Micrococcaceae* (Figure 3.6). Ce germe est habituellement non capsulé, immobile, aéro anaérobie facultatif ; Il est très résistant en milieu extérieur [58, 60]. Il produit différents types de toxines tel que : Hémolysines, Leucocidines, Exfoliatines et Entérotoxine [59].

Cette bactérie est très répandue chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains. Ils hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (fosses nasales) et des zones cutanées humides (aisselles) [69].

Connue pour être la bactérie de la peau, c'est la plus fréquente dans les infections et les suppurations cutanée. Elle peut provoquer aussi des endocardites, des septicémies et des intoxications [70].

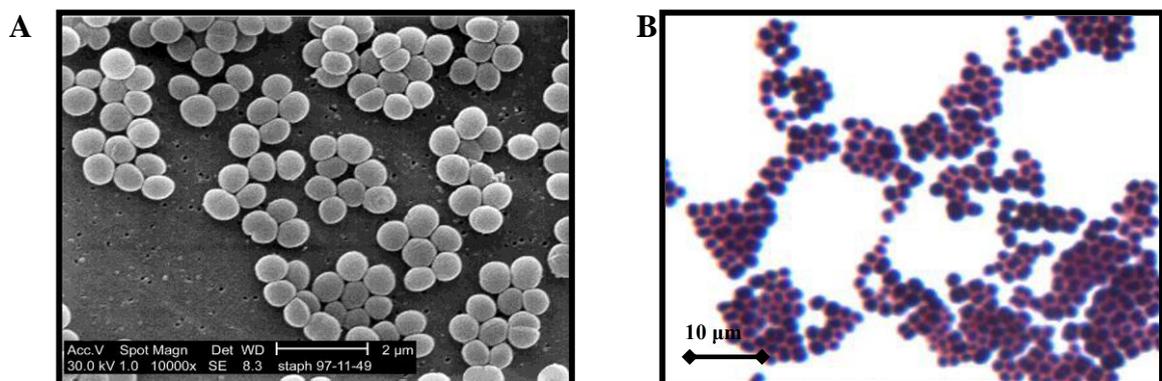


Figure 3.6 : Observation de *Staphylococcus aureus*: A au MEB [71]/ B au MP G x 100 après coloration de Gram [72].

Staphylococcus epidermidis

C'est une cocci à Gram positif, qui appartient à la famille des *Micrococcaceae*. Il est immobile aéro anaérobie facultatif (Figure 3.7) [58].

Cette bactérie est largement répartie sur toute la surface du corps et particulièrement au niveau de la surface antérieure des narines, des creux axillaires et des plantes du pied [59].

C'est un commensale de la peau mais se comporte comme une bactérie opportuniste et provoque différentes infections :

- Péritonites, infections cutanées, infections des plaies et infections locales qui peuvent se développer en septicémies [70].

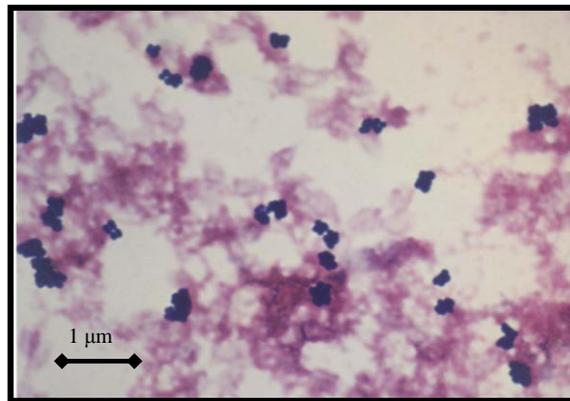


Figure 3.7: Observation de *Staphylococcus epidermidis* au MP G x 40 après coloration de Gram [73].

3.4. Matériel non biologique :

- Cf. Appendice B.

3.5. Méthodes :

Notre étude expérimentale a été réalisée sur une période allant de Mai 2008 à Octobre 2009 au niveau :

- Du laboratoire de recherche de biologie végétale du département de biologie de l'université Saad Dahleb de Blida.
- Du laboratoire de fin d'étude du département de biologie de l'université Saad Dahleb Blida.
- Des laboratoires de l'annexe N°1 (EX : C.R.I.A.) de l'université Saad Dahleb de Blida.
- Du laboratoire de fin d'étude du département de biologie de l'université de Boumerdès.
- Du laboratoire de la police scientifique, [Chevalley] Alger.
- De la station expérimentale du département d'agronomie de l'université Saad Dahleb Blida.

3.5.1. Etude botanique :

Après identification de la plante au niveau de l'institut national d'Agronomie d'Alger. Nous avons réalisé quelques observations plus approfondies afin de mieux identifier cette espèce, et chercher des spécificités morphologiques ou anatomiques de l'espèce *Aloe vera* L. locale.

- L'aspect macroscopique :

- ✓ Observation de l'ensemble de la plante : (feuille, tige, racine et fleur).
- ✓ Observation à la loupe binoculaire G X4 et G X8 de la fleur : androcée, carpelle (coupe transversale au niveau de l'ovaire).

- L'aspect microscopique :

- ✓ Observation au microscope G X100 des coupes histologiques : réalisées au niveau des feuilles colorées par la technique de la double coloration selon les étapes suivantes :
 - Réaliser des coupes transversales très fines au niveau de la feuille à l'aide d'une lame,
 - Plonger les coupes dans l'eau de Javel à 12° pendant 10 à 15 min pour vider les cellules,
 - Laver à l'eau courante pendant 5 à 10 min,

- Plonger les coupes dans de l'acide acétique (10%) pendant 1 à 2 min pour faciliter la diffusion et la fixation des colorants,
- Rincer à nouveau à l'eau courante 5 à 10 min,
- Plonger à nouveau les coupes dans le vert de méthyle pendant 15 à 20 min,
- Laver les coupes à l'eau courante 5 à 10 min puis plonger les dans le rouge Congo 15 à 20 min,
- Rincer abondamment à l'eau courante,
- Monter la coupe colorée entre lame et lamelle puis observer au microscope photonique (Olympus) G X100 et GX400.

3.2.2. Extraction du gel d'*Aloe vera* L. :

L'extraction du gel d'*Aloe vera* L. a été réalisée, selon les étapes suivantes [3] :

- Choisir des feuilles saines, situées à la périphérie du bouquet (les plus âgées),
- Nettoyer soigneusement les feuilles avec de l'eau distillée,
- Décortiquer les feuilles, en enlevant la couche externe verte à l'aide d'un couteau,
- Recueillir la pulpe translucide gélatineuse (la partie interne de la feuille) dans un récipient (Appendice C),
- Laver soigneusement la pulpe avec de l'eau distillée pour enlever toutes traces des exsudats (suc) libérés par les cellules péricycliques,
- Broyer la pulpe à l'aide d'un polytron (Moulinex), jusqu'à l'obtention d'un liquide très gélatineux (gel frais d'*Aloe vera* L.),
- Centrifuger le gel à 3000 tours/minute pendant 15 minutes,
- Récupérer le surnageant et centrifuger une deuxième fois à 5000 tours/minute pendant 30 minutes pour enlever tous les débris et les fibres,
- Récupérer le surnageant uniquement.

Selon le test ou l'analyse réalisée, on a utilisé soit le surnageant (gel frais) ou un concentré préparé à base de lyophilisat (poudre obtenue par la lyophilisation du gel frais).

3.2.3. Lyophilisation du gel d'*Aloe vera* L. :

La lyophilisation ou Cryodessiccation est une technique de dessiccation à froid sous vide (pour un vide de 0.1 mmHg, la température doit être maintenue au dessous de -40°C) de solutions, de suspensions, de tissus animaux ou végétaux etc. préalablement solidifiés par congélation [74].

Les conditions du procédé : basse température, pression réduite, absence de phase liquide intermédiaire éliminant en grande partie les facteurs d'altération et de dénaturation (réaction enzymatique, croissance bactérienne) intervenant dans les autres méthodes de dessiccation ; Le produit sec obtenu possède une avidité pour l'eau qui permet une reconstitution rapide et intégrale de la solution ou du pseudo solution initiale [75].

La lyophilisation est utilisée comme moyen de stabilisation et de conservation de corps ou de mélanges fragiles et de produits biologiques [74, 75].

Principe :

La lyophilisation est une dessiccation par sublimation. C'est le procédé par lequel l'eau du produit à dessécher préalablement transformée en glace est vaporisée directement sans passage intermédiaire par l'état liquide [76, 75].

Appareillage :

Le principe comporte (Appendice C) [74, 75] :

- 1- Un évaporateur : C'est l'enceinte dans laquelle se trouve le produit à lyophiliser. Il est équipé de robinets sur lesquels les flacons contenant le produit vont être placés.
- 2- Un condenseur : En communication avec l'évaporateur, il permet de recueillir la vapeur provenant de la sublimation sous forme condensée solide. Il est constitué d'un serpent. Sa température doit être gardée inférieure à la température d'équilibre pour la valeur de pression régnant dans l'enceinte. Ainsi, la vapeur d'eau issue de l'évaporateur sera totalement captée au niveau du piège et n'ira pas vers la pompe à vide.
- 3- Une pompe à vide : Elle permet de maintenir la pression régnant à l'intérieur du lyophilisateur suffisamment basse pour provoquer la sublimation rapide de la glace par élimination des gaz incondensables.

Cycle de lyophilisation :

La lyophilisation s'effectue en deux étapes successives [74, 75]:

-Une dessiccation primaire :

C'est la sublimation de la glace. La quantité d'eau éliminée sous forme de vapeur représente jusqu'à 90% de la quantité d'eau présente dans le produit.

- Une dessiccation secondaire :

Lorsque la sublimation de la glace libre est achevée, la pression dans l'enceinte commence à baisser et la température du produit s'élève : c'est la fin de la dessiccation primaire. La dessiccation secondaire correspond à la désorption des molécules d'eau fixées à la surface de la matière sèche.

3.2.4. Etudes phytochimiques :

3.2.4.1. Tests phytochimiques et mise en évidence de quelques métabolites :

Ce sont des tests basés sur des colorations caractéristiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques [77, 78, 79, 80] :

Les tests sont effectués en utilisant soit :

- Le lyophilisat : C'est la poudre obtenue par la lyophilisation du gel frais d'*Aloe vera* L.

- La solution à base du lyophilisat: La solution a été préparée en mélangeant le lyophilisat dans 100ml d'eau distillée ; Puis on agite le mélange à l'aide d'un agitateur pendant 2 heures.

Solution à 1% : 1g de la poudre dans 100ml d'eau distillée.

Solution à 5% : 5g de la poudre dans 100ml d'eau distillée.

Solution à 10% : 10g de la poudre dans 100ml d'eau distillée.

➤ Mise en évidence des Alcaloïdes :

A 20 g de poudre est additionné de l'acide sulfurique dilué au 1/20 ; L'ensemble est laissé en macération pendant 24 heures puis filtré.

Dans 2 tubes à essai, introduire 1 ml de filtrat et ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff dans le second tube. S'il y a apparition d'un précipité, la présence d'alcaloïdes est confirmée par leur extraction.

➤ Mise en évidence de l'Amidon :

A 0.25 g de poudre on ajoute quelques gouttes d'iode ; L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence de l'amidon.

➤ Mise en évidence des poly phénols :

Les tests sont effectués sur la solution à base de lyophilisat.

- Tanins : Dans un tube à essai contenant 1 ml de la solution à base de lyophilisat 5%, ajouter 1 ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- Flavonoïdes : Introduire dans un tube à essai 5ml de la solution à base de lyophilisat à 5%, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes); puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool iso amylique.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans le surnageant d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides

➤ Mise en évidence des Saponosides :

100ml de la solution à base de lyophilisat à 1% sont répartis dans 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 successivement 1, 2,...10 ml. Le volume de chaque tube est ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laissé au repos pendant 15 minutes. Puis la hauteur de la mousse est mesurée.

Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse :

$$\text{Indice de mousse} = 1000 / \text{Numéro du tube.}$$

➤ Mise en évidence des Composés réducteurs :

5 ml de la solution à base de lyophilisat à 10% sont évaporés au bain-marie jusqu'à sec ; Ajouter au résidu 1ml de réactif de Fehling.

L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

➤ Mise en évidence des Oses et Holosides :

A 5 ml de la solution à 10% évaporé à sec ajouter 2 à 3 gouttes d'acide sulfurique concentré, puis après 5 minutes 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

➤ Mise en évidence des Mucilages :

A 1 ml de la solution à base de lyophilisat à 10% ajouter 5 ml d'éthanol absolu. L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

3.2.4.2. Détermination de la teneur en eau par la méthode pondérale :

Principe :

C'est la détermination de la perte en masse par cryodessiccation au lyophilisateur.

Mode opératoire :

- Introduire 100g de gel d'*Aloe vera* L., dans un ballon préalablement taré.
- Placer le ballon dans un congélateur jusqu'à congélation totale de son contenu.
- Placer le ballon contenant le gel congelé sur le robinet du lyophilisateur.
- Arrêter la lyophilisation une fois que le gel congelé s'est entièrement transformé en matière sèche (poudre).
- Peser l'échantillon immédiatement après la fin de la lyophilisation.

Calcul :

- Les résultats sont exprimés en pourcentage de la masse d'eau par rapport à la masse initiale selon la formule suivante :

$$\% \text{ Eau} = (m - m_1 / m) 100$$

m : masse du ballon avant lyophilisation - La tare.

m₁ : masse du ballon après lyophilisation - La tare.

3.2.4.3. Dosage des polyphénols :

Les polyphénols totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de Slinkard et Singleton (1977).

Principe :

Le réactif de Folin Ciocalteu (FCR) est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho molybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [81].

Mode opératoire : [82]

▪ Préparation de l'échantillon :

- Peser 1mg du lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L.
- Ajouter 1 ml de méthanol.
- Introduire la solution obtenue dans un tube à essai.

▪ Courbe d'étalonnage :

- Préparer 8 tubes à essais numérotés de 1 à 8.
- Préparer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique avec des concentrations de : 0.1mg, 0.075mg, 0.06mg, 0.05mg, 0.025mg, 0.0125mg, 0.00625mg, 0.03125mg par ml de méthanol
- Ajouter pour tous les tubes 46 ml d'eau distillée et 1 ml de FCR.
- Agiter pendant 3 minutes puis ajouter 3 ml de carbonate de sodium (2%).
- Agiter pendant 2 heures à température ambiante.
- La lecture de l'absorbance se fait à 760 nm.
- Le blanc est préparé avec 1ml de méthanol, 46ml d'eau distillée et 3 ml de carbonate de sodium (2%).

Calcul :

- Calculer la concentration des composés phénoliques selon l'équation de la droite linéaire ; $Y = ax + b$ obtenue par le tracé de la courbe d'étalonnage. D'après la loi de Beer Lambert, l'absorbance est proportionnelle à la concentration, dont :

Y : représente l'absorbance

X : représente la concentration en phénols

Absorbance = a (concentration d'acide gallique en μg) + b
--

3.2.4.4. Dosage des glucides totaux par la méthode colorimétrique à l'anthrone:

Les glucides totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de DREYOOD (1946).

Principe :

Consiste à la coloration des produits de dégradation des oses neutres par l'acide sulfurique concentré, ce dernier transforme les glucides en dérivés sulfuriques qui se colorent en bleu-vert par l'anthrone.

Mode opératoire : [83]

▪ Préparation de réactif d'anthrone :

- Dissoudre 1g d'anthrone dans 500 ml d'acide sulfurique 95%.
- Le réactif doit être fraîchement préparé maximum 4 heures avant le dosage.

▪ Préparation de l'échantillon :

- Peser 1mg du lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L.
- Ajouter 1 ml d'eau distillée.
- Introduire la solution obtenue dans un tube à essai.

▪ Courbe d'étalonnage :

- Préparer 7 tubes à essais numérotés de 1 à 7.
- Introduire respectivement dans chaque tube : 1 mg, 0.8mg, 0.6mg, 0.4mg, 0.3mg, 0.2mg, 0.1mg de mannose.
- Ajuster chaque tube jusqu'à 1ml avec de l'eau distillée. Nous obtiendrons ainsi 7 tubes avec différentes concentrations.
- Ajouter pour tous les tubes 2 ml du réactif d'anthrone.
- Après agitation tournante des tubes pour homogénéisation, ces derniers sont placés au moins 10 mn dans un portoir à température ambiante. Une coloration bleu-vert se développe au cours de l'échauffement du mélange.
- La lecture de la **D.O (Absorbance)** se fait à une longueur d'onde égale 630 nm.
- Le blanc est préparé avec 1ml d'eau distillée et 2ml de réactif d'anthrone.

Calcul :

- Calculer la concentration des glucides selon l'équation de la droite linéaire :

$Y = ax + b$ obtenue par le tracé de la courbe d'étalonnage. D'après la loi de Beer Lambert, l'absorbance est proportionnelle à la concentration, dont :

Y : représente l'absorbance

X : représente la concentration en glucides.

Absorbance = a (concentration des glucides μg) + b

3.2.4.5. Détermination du taux de cendres totales:

Principe :

Consiste à incinérer la poudre du gel d'*Aloe vera* L. jusqu'à l'obtention des cendres blanches. Le but est d'éliminer les constituants carboniques et de garder les éléments minéraux uniquement [79].

Mode opératoire : [78, 79]

- Chauffer au rouge un creuset vide de platine.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur puis taré.
- Introduire dans le creuset 1g de lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L.
- Incinérer au four à moufle à une température de 400°C pendant 5 heures.
- Laisser refroidir pendant 24 h
- Placer le creuset dans un dessiccateur pendant 15 minutes puis peser.

Calcul :

- Cette quantité est rapportée à 100g de substance par la formule suivante :

% cendres totales = [Masse des cendres / Masse de la prise d'essai] x100

Masse de la prise d'essai = Masse totale du creuset avant calcination - Tare

Masse cendres = Masse totale du creuset après calcination – Tare

3.2.4.6. Dosage des minéraux par la méthode de chromatographie ionique :

Le dosage des minéraux a été réalisé selon le protocole adopté par le laboratoire central de la police scientifique et technique d'Alger ; En utilisant la méthode de chromatographie ionique DIONEX ICG 3000 (C.I.).

Principe de la chromatographie ionique : (Figure 3.8)

Fondé sur les propriétés des résines échangeuses d'ions qui permettent une fixation sélective des anions (-) ou des cations (+) présents dans une solution sur la résine échangeuse d'ions conditionnée sous forme d'une colonne chromatographique [84]. L'éluant circulant en permanence sur la colonne, les ions sont ensuite progressivement décrochés en fonction de l'interaction électrostatique entre la résine de la colonne et les ions [85]. Chaque espèce ionique est ainsi séparée et détectée par un détecteur conductimètre à la sortie de la colonne. La concentration de l'espèce ionique dans la solution est directement proportionnelle à la conductivité [86].

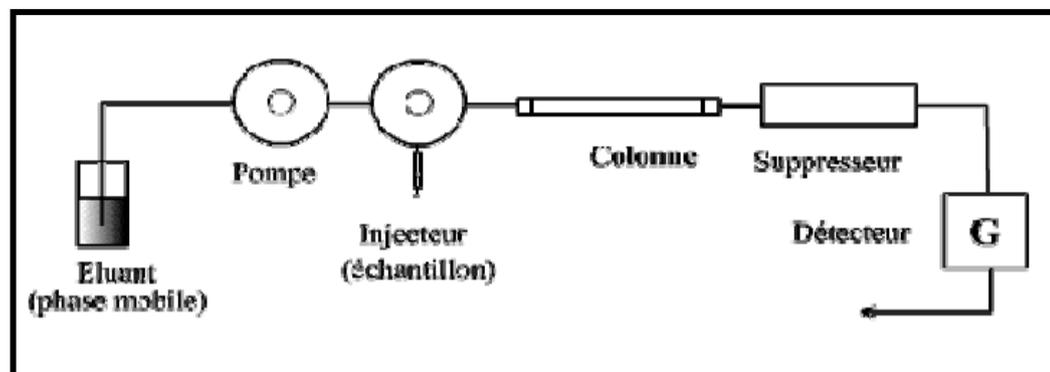


Figure 3.8 : Principe de la Chromatographie Ionique [87].

Mode opératoire : [88, 89]

Les cendres obtenues par incinération de la poudre du gel d'*Aloe vera* L. ont été utilisées pour le dosage des minéraux selon les étapes suivantes :

- Humecter les cendres par 5 ml d'acide chlorhydrique concentré.
- Chauffer jusqu'à l'apparition des premières vapeurs.
- Ajouter 50 ml d'eau déminéralisée.
- Filtrer dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter avec de l'eau déminéralisée à 100ml.

Condition opératoire de la C.I. :

Les conditions opératoires dans lesquels le dosage des minéraux a été réalisé sont récapitulées dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1: Conditions opératoires de la chromatographie ionique :

	Cations	Anions
Colonne	Ion Pac CS 12 A 4x250nm	Ion Pac AS 11 HC 4x250nm
Eluant	H ₂ SO ₄	NaOH
Débit	1.5 ml/min	1 ml/min
Température	30°C	30°C
Détecteur	Conductimètre CD25	Conductimètre CD25

3.2.4.7. Extraction des polysaccharides et sucres simples :

La séparation des deux composés a été réalisée par l'introduction du lyophilisat dans un alcool ; Ce dernier permet la récupération des sucres simples parmi les résidus solubles dans l'alcool (R.S.A.) et les polysaccharides parmi les résidus insolubles dans l'alcool (R.I.A.).

Mode opératoire : [83]

L'extraction a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Introduire dans un bécher 1g de lyophilisat.
- Ajouter 20ml d'éthanol absolu.
- Agiter pendant 30 minutes.
- Centrifuger la solution à 1500 tours/minute pendant 15 minutes.
- Séparer le culot (résidus insolubles dans l'alcool) du surnageant.
- Sécher résidus insolubles dans l'alcool (R.I.A.) à l'air libre et peser.
- Récupérer les résidus secs (R.S.A.) obtenus par évaporation de l'alcool du surnageant grâce à un évaporateur rotatif et peser.

3.2.4.8. Caractérisation des glucides par chromatographie sur couche mince :

Cette méthode a été utilisée pour la caractérisation des monomères formant les polysaccharides et les sucres simples présents dans le gel d'*Aloe vera* L.

Principe de la C.C.M. :

Repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide d'aluminium [90].

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, l'éluant monte à travers cette phase, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire, et d'autre part de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile [91].

Mode opératoire :

- Caractérisation des monosaccharides des R.I.A. : [83]

L'identification par CCM des monosaccharides des R.I.A. a été réalisée après une hydrolyse acide :

- Introduire 0.5g de R.I.A. dans un becher.
- Ajouter 5 ml de H₂SO₄ à 12M.
- Placer le bécher dans l'étuve à 60°C pendant 1 heure.
- Retirer le bécher, diluer le milieu à 1M et continuer l'hydrolyse à 100°C pendant 2 heures.
- Récupérer l'hydrolat et neutraliser le milieu avec NaOH au PH mètre.

- Caractérisation des monosaccharides des R.S.A. :

L'identification par CCM (Figure 3.9) des sucres simples a été réalisée directement sur les R.S.A :

- Introduire 0.5g de R.S.A. dans un becher.
- Ajouter 50 ml d'eau distillée.
- Préparer la solution de chaque étalon (glucose, galactose, mannose) à une concentration de 5 g/l.
- Déposer 10 µl de chaque solution (étalons, R.I.A. et R.S.A.) à environ 1 cm de la base de la plaque de gel de silice.
- Introduire la plaque dans la cuve de CCM contenant la phase mobile : butanol - acide acétique – éther - eau 9-5-4-1 (v/v) (Figure 3.9).
- Après migration, les plaques sont séchées à température ambiante du laboratoire puis révélées par une solution de permanganate de potassium 2% - carbonate de sodium 4% 1-1 (v/v).
- Placer les plaques à l'étuve à 100°C pendant quelques minutes.
- Analyser le chromatogramme obtenu, identifier les constituants de la solution à analyser et calculer le rapport frontal Rf de chaque tache de migration.

$$\text{Rf} = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant.}}$$



Figure 3.9 : Chromatographie couche mince (Original).

3.2.5. Etudes des activités biologiques :

3.2.5.1. Les tests biologiques *in vitro* :

3.2.5.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne:

Les tests antibactériens ont été portés sur les quatre souches les plus rencontrées dans les infections cutanées en milieu hospitalier et externe, pour deux extraits différents.

✓ Bactéries testées :

Escherichia coli ATTC 25922 (Gram -).

Staphylococcus aureus ATTC 25923 (Gram+).

Staphylococcus epidermidis ATTC 1228 (Gram+).

Pseudomonas aeruginosa ATTC 27853 (Gram-).

✓ Préparation des extraits a testés:

Les extraits ont été préparés selon les étapes suivantes :

Extrait 1 : (à base du gel frais d'*Aloe vera* L.)

- Récupérer le gel frais d'*Aloe vera* L.
- Filtrer le gel, puis conserver le dans des boites opaques à l'abri de la lumière à 4°C jusqu'à utilisation.

Extrait 2 : (à base du lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L.)

- Récupérer le lyophilisat (la poudre).
- Mélanger 100 mg de lyophilisat dans 10ml d'eau distillée.
- Agiter le mélange par un agitateur pendant 30 minutes puis filtrer.

3.2.5.1.1.1. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne sur milieu solide par méthode de diffusion :

Principe :

Cette méthode permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne, qui se traduit par la formation de zone d'inhibition autour du disque contenant la substance à testée [92].

Mode opératoire : [92]

Milieu de culture :

- Gélose Mueller Hinton (MH).
- La gélose est fondue puis coulée dans les boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625nm.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit la culture s'il est trop faible, ou bien l'eau physiologique s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

Ensemencement :

- Tromper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi interne du tube, à fin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° chaque fois, sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la boîte.

Imprégnation des disques :

- Les disques blancs de 9 mm de diamètre sont imprégnés de 25µl de l'extrait à tester.

Application des disques :

- A l'aide d'une pince stérile déposer et presser le disque chargé par l'extrait à tester sur la surface gélosée.

Incubation :

- 18 h à 35°C.

Lecture :

- Mesurer les diamètres des zones d'inhibitions à l'aide d'un pied à coulisse, à l'extérieure de la boîte fermée.

- Classer les bactéries dans l'une des catégories : sensibles ou résistante.

Présence de zone d'inhibition : Bactérie sensible.

Absence de zone d'inhibition : Bactérie résistante.

Limites de la méthode :

Tous les produits peuvent être testés mais ils doivent diffuser parfaitement dans l'agar. En plus de cette condition plusieurs facteurs peuvent influencer sur le résultat : la composition du milieu gélosé, la densité de l'inoculum, les caractéristiques de croissance des souches, la température d'incubation, le temps d'application des produits à tester et la concentration des produits sur disques (Leclerc, 1975 ; Alcamo, 1984 ; Rios *et al.* 1988) [78].

Bien que cette méthode soit simple, rapide et applicable à tout type de substance et tout organisme, certains auteurs mentionnent que les résultats des tests d'huiles essentielles ne sont pas toujours comparables d'un groupe à l'autre puisque certaines diffusent mal dans la gélose solide ou ne peuvent pas agir à faible concentration (puisque le disque ne peut être chargé que de 25 à 30µL) [92].

3.2.5.1.1.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne sur milieu liquide par mesure spectrophotométrique :Principe :

Cette méthode consiste à diluer directement le produit à tester dans le milieu de culture liquide et à inoculer ce milieu avec les microorganismes par la suite. Elle permet donc d'évaluer qualitativement (visuellement) et surtout quantitativement (mesure de la turbidité DO) l'activité d'une substance [92].

Mode opératoire : [92, 93]

Milieu de culture:

- Bouillon nutritif (BN).

Dilution de l'extrait a testé dans le milieu de culture:

- Préparer deux tubes à essais stériles contenant chacun: 5ml de bouillon nutritif (BN).
- Ajouter au : Tube _{Test} 5ml de l'extrait 2 (à base de lyophilisat).
- Tube _{Contrôle} 5ml d'eau distillée.

Inoculum :

- Voir méthode de diffusion.

Ensemencement :

- Inoculer chaque tube avec 10µl de la suspension bactérienne.

Incubation :

- A 35°C.

Préparation des blancs :

- Blanc tubes _{Test} : 5ml de bouillon nutritif + 5ml de l'extrait testé.
- Blanc tubes _{Contrôle} : 5ml de bouillon nutritif + 5 ml d'eau distillée.

Lecture :

- Mesurer la densité optique (DO) au spectrophotomètre à 625nm, après 0h 2h, 4h et 6h.
- Calculer le pourcentage de l'inhibition de la croissance par l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{625} \text{ contrôle} - A_{625} \text{ test}) / A_{625} \text{ contrôle}] \times 100$$

A₆₂₅ contrôle : La densité optique à 625nm du témoin sans extrait.

A₆₂₅ test : La densité optique à 625nm de l'échantillon a testé.

- Les tests antibactériens sur milieu liquide et solide ont été réalisés en duplicata.
- Toutes les étapes des tests antimicrobiens sont déroulées dans des conditions stériles

3.2.5.1.2. Activité hémostatique :

Principe :

Repose sur la mesure du temps de coagulation par la méthode de Lee et White (1913) [79].

Mode opératoire : [79, 94]

Le test d'évaluation *in vitro* de l'activité hémostatique a été réalisé sur le sang total, selon les étapes suivantes :

- Préparer l'extrait à base d'*Aloe vera* L. en mélangeant 50 mg de lyophilisat dissout dans 1 ml d'eau distillée.
- Répartir cette solution dans 6 tubes à essai à raison de 100, 200, 300 µl pour deux tubes.
- Répartir l'eau distillée dans 6 tubes à essai à raison de 100, 200, 300 µl pour deux tubes.
- Prendre un tube à essai vide servant de contrôle.
- Prélevé 6.5 ml de sang humain.
- Répartir le sang dans les 13 tubes à raison de 0.5 ml par tube.
- Boucher les tubes avec du coton et placer les au bain-marie à 37°C.
- Déclenché le chronomètre dès la pénétration du sang dans la seringue.
- Commencer l'observation au bout de 3 minutes et poursuivre toutes les 30 secondes.

Lecture :

- Evaluer la coagulation en penchant le tube d'un angle de 45° afin de constater la présence ou non d'un coagula, la lecture a été arrêtée après 30 min.

3.2.5.2. Les tests biologiques *in vivo* :

3.2.5.2.1. Détermination de l'activité anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire a été testée, en provoquant une inflammation locale au niveau de l'oreille de souris.

Principe :

Cette technique repose sur la détermination de l'action inhibitrice du gel d'*Aloe vera* L. sur une inflammation provoquée par l'application locale sur l'oreille d'une souris d'un produit à base d'huile de croton.

Mode opératoire : [95]

Ce test a été réalisé sur 10 souris maintenues à jeun pendant 18h avant le début de l'expérience.

- Préparer la solution irritante à 5% d'huile de croton (produit commercialisé) :

Huile de croton	1 ml.
Acétone	19 ml.

- Préparer le produit de référence (témoin positif) à base d'Indométacine[®] à une concentration de 0.5 mg/ ml d'acétone.

- Répartis les 10 souris en 2 lots :

- ✓ Un lot essais (E) : Traité par le gel frais d'*Aloe vera* L.
- ✓ Un lot témoin positif (T+) : Traité par le produit de référence (Indométacine[®]).

Au temps T_0 :

Appliquer la solution irritante de façon suivante :

- Prélever 10 μ l de la solution irritante à l'aide d'une micropipette.
- Appliquer sur l'oreille droite et gauche de chaque souris, frotter de bas en haut à l'aide d'un coton.
- Appliquer respectivement 0.5 mg du gel d'*Aloe vera* L. et 20 μ l du produit de référence sur l'oreille droite de chaque souris du lot E, T+.

N.B. : L'oreille gauche de chaque souris sert de contrôle.

Au temps T_{Ah} : (Figure 3.10)

- Sacrifier les souris (à l'aide de l'éther), puis sectionner l'oreille droite et gauche de chaque souris suivant l'arête cartilagineuse.
- Couper à l'aide d'un perforateur de papier de 6 mm de diamètre un disque de chaque oreille.
- Peser les disques.

Lecture :

- Calculer les moyennes arithmétiques massiques des disques des oreilles droites O_D et gauches O_G pour chaque lot.
- Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème de l'oreille traité O_D par rapport au contrôle O_G .

$$\% \text{ Réduction de l'œdème} = [(O_G - O_D)/O_G] \times 100$$

O_D : Poids de l'oreille droite

O_G : Poids de l'oreille gauche

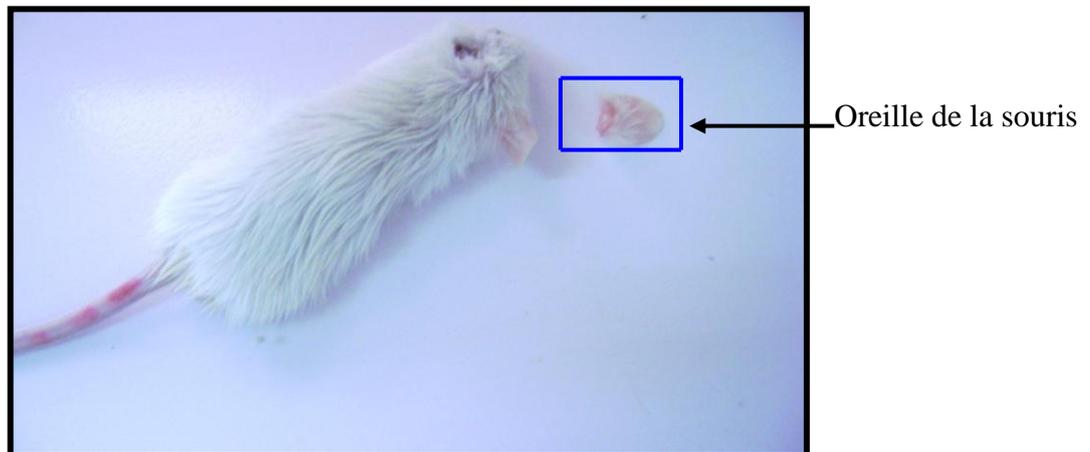


Figure 3.10 : Test de l'activité anti-inflammatoire du gel d'*Aloe vera* L. sur l'oreille de souris
(Original, 2009)

3.2.5.2.2. Evaluation de la tolérance cutanée :

La tolérance cutanée a été déterminée par le calcul de l'indice d'irritation primaire cutanée I.P.C.

Principe :

Les médicaments destinés à un usage topique doivent subir un test de tolérance cutanée par une technique inspirée de la méthode de **DRAIZE**. Cette méthode est fondée sur l'observation des réactions cutanées provoquées par l'application quotidienne du produit à tester pendant 3 jours [53].

Animaux :

Ce test a été réalisé sur 6 lapins mâle et femelle.

Mode opératoire :

- La veille de l'application du produit à tester, les lapins sont tondus par une tondeuse électrique munie d'un peigne de hauteur de coupe de 0,05 mm pour dégager une surface d'environ 5 x 5 cm sur chacun des deux membres postérieurs.

- Avant de commencer le test nous nous assurons que les animaux présentent une peau saine et glabre.

- Lors de l'essai, les lapins sont maintenus dans des boîtes à contention.

- A jour J 0 ; Effectuer sur le flanc droit de chaque lapin à l'aide d'une aiguille stérile, trois scarifications parallèles sur une longueur d'environ 2,5 cm espacées de 0,5 cm environ, sans atteindre le derme, c'est-à-dire sans saignement (Figure 3.11).

- Déposer à l'aide d'une seringue stérile, 1 ml du gel d'*Aloe vera* L. sur deux pièces de gaze hydrophile.

- Appliquer immédiatement sur la peau du flanc droit (scarifié) et gauche (non scarifié).

- Maintenir les pièces de gaze en contact avec la peau sur chacune des deux zones par une bande de fixation.

- Appliquer le gel d'*Aloe vera* L. une fois par jour pendant 3 jours.

- Après 24h de la première application, évaluer l'irritation primaire cutanée **I.P.C.** (30 minutes après enlèvement des compresses) et de nouveau 48h, c'est-à-dire 72h h après la première application.

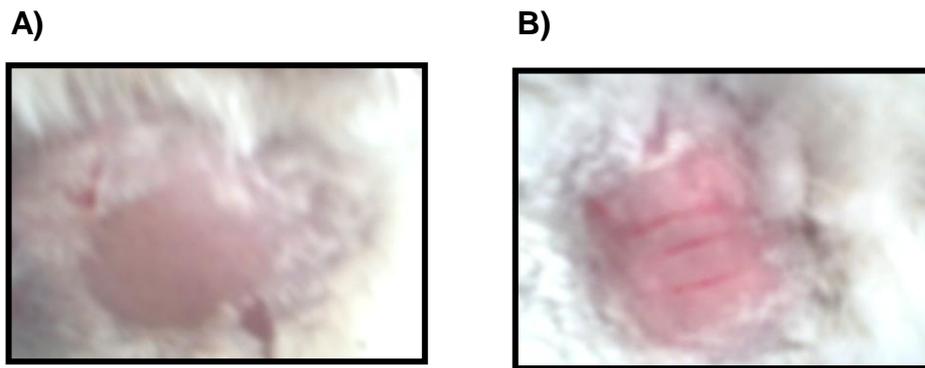


Figure 3.11 : A) Zone non scarifiée, B) zone scarifiée (Original, 2009).

Lecture : [59]

Les observations sont faites sur les deux zones, scarifiée (flanc droit) et non scarifiée (flanc gauche), selon l'échelle numérique récapitulée dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Échelle numérique utilisée pour le calcul du l'I.P.C. [53].

Erythème	Score	Œdème	Score
- Absent	0	- Absent	0
- Léger	1	-Très léger	1
- Bien visible	2	- Léger (Contours bien définis, gonflement apparent)	2
- Important	3	- Moyen (épaisseur environ 1 mm)	3
- Grave (rouge pourpre, lésions profondes)	4	- Grave (épaisseur supérieure à 1 mm et surface supérieure à celle de la zone d'application)	4

- Additionner les chiffres obtenus pour l'érythème et pour l'oedème après vingt quatre heures et soixante douze heures, d'une part sur les six zones non scarifiées, d'autre part sur les six zones scarifiées.

- Calculer la moyenne en divisant le total par 24. Cette moyenne représente l'indice d'irritation primaire cutanée (**I.P.C.**).

$$\text{I.P.C.} = [(\sum \text{Scores 24h} + \sum \text{Scores 72h}) \text{ZS} + (\sum \text{Scores 24h} + \sum \text{Scores 72h}) \text{ZNS}] / 24$$

ZS : Zones scarifiées ; **ZNS** : Zones non scarifiées.

- Classer la valeur d'**I.P.C** du gel d'*Aloe vera* L. selon la classification de **DRAIZE** comme suit :

Tableau 3.3 : Classification de **DRAIZE** des produits selon leur **I.P.C.** [53] :

Non irritants	I.P.C ≤ 0,5
Légèrement irritants	0,5 < I.P.C. < 2
Irritants	2 < I.P.C. < 5
Sévèrement irritants	5 < I.P.C < 8

3.2.5.2.3. Détermination de l'activité cicatrisante:

Principe :

Consiste à la recherche de propriétés cicatrisantes du gel d'*Aloe vera* L.

La mise en évidence de l'activité cicatrisante du gel d'*Aloe vera* L. a été testée sur des lapins préalablement anesthésiés en trois étapes :

- Tout d'abord, nous avons testé le gel sur des scarifications (plaies superficielles) ; Pour avoir une première idée, si le gel d'*Aloe vera* L. possède vraiment un caractère thérapeutique vis-à-vis les plaies.

- En suite, nous avons testé le gel sur des plaies plus profondes (incisions) avec des points de sutures et nous avons comparé son efficacité avec celle d'un produit cicatrisant commercialisé.

- Enfin, nous avons testé le gel sur des plaies plus grave provoquées par des brûlures et nous avons fait une comparaison avec les résultats obtenus par un produit commercialisé destiné pour la cicatrisation des brûlures.

Animaux :

- Le test de cicatrisation des plaies superficielles (scarifications) : a été réalisé sur six lapins (mâle et femelle), répartis en deux lots.

- Le test de cicatrisation des incisions : Ce test a été réalisé sur 9 lapins (mâle et femelle), répartis en trois lots.

- Le test de cicatrisation des brûlures : a été réalisé sur 9 lapins (mâle et femelle), répartis en trois lots

Mode opératoire :

La veille de l'application du produit à tester, tous les lapins ont été tondus au niveau de leurs membres postérieurs (droit) par une tondeuse électrique pour dégager une surface d'environ 10 x 10 cm.

3.2.5.2.3.1. Test de cicatrisation des scarifications (plaies superficielles) :

Ce test a été effectué sur 6 lapins répartis en deux lots (1 et 2) de trois lapins.

- Effectuer pour chaque lapin à l'aide d'une lame de scalpel, 3 scarifications peu profondes parallèles à l'axe vertébral, espacées de 0.5 cm et longue de 3 cm (Figure 3.12).

- Appliquer par voie externe quotidiennement pendant 8 jours :
 - ✓ Le lot essai (E) : 2 ml de gel d'*Aloe vera* L. deux fois par jour.
 - ✓ Le lot placebo (P) : 2 ml d'eau physiologique deux fois par jour.

- L'observation macroscopique est réalisée avant chaque nouvelle application.



Figure 3.12 : Plaies superficielles (Original, 2009)

Lecture :

- Réaliser une observation macroscopique : le 1^{er}, 4^{ème} et le 8^{ème} jour, en utilisant l'échelle de cotation de POURRAT [53] (Tableau 3.4), en tenant compte de quatre paramètres, chaque paramètre a une valeur numérique de 0 à 4 définis de la façon suivante :

Tableau 3.4 : Échelle de cotation de POURRAT [53], utilisée pour évaluer le dispositif de la cicatrisation.

Paramètre :	Valeur numérique :	
Profondeur de la plaie	- Profondeur nulle	0
	- Légèrement profonde	1
	- Peu profonde	2
	- Assez profonde	3
	- Très profonde	4
Apparition de l'œdème	- Pas d'œdème	0
	- Œdème très léger	1
	- Œdème visible	2
	- Œdème moyen	3
	- Œdème grave	4
Présence d'un bourgeon	- Absence de bourgeon	0
	- Petit bourgeon	1
	- Gros bourgeon	2
	- Bourgeonnement massif	3
	- Excès de bourgeonnement	4
Épaisseur de la croûte	- Pas de croûte	0
	- Début de croûte	1
	- Croûte en voie d'épaississement	2
	- Croûte assez épaisse	3
	- Croûte très épaisse granuleuse	4

3.2.5.2.3.2. Test de cicatrisation des incisions (plaies profondes):

Ce test a été réalisé sur 9 lapins répartis en trois lots (1, 2 et 3). Chacun d'entre eux a été anesthésié par injection intramusculaire de Calmivet® (Acepromazine 0.5% ; 0.5 mg / kg I.M.).

- Effectuer dans des conditions stériles, sur le flanc droit rasé de chaque lapin une incision linéaire, parallèle à l'axe vertébrale, profonde de 0.5 cm et longue de 5 cm à l'aide d'une lame de scalpel.

- Fermer l'incision par 4 points de suture (Figure 3.13).

- Appliquer par voie externe quotidiennement pendant 8 jours, deux fois par jour :

✓ Le lot essai (E) : 2 ml de gel d'*Aloe vera* L.

✓ Le lot témoin positif (T+) : une émulsion cicatrisante commercialisée Madécassol® (à base de l'extrait sec d'une plante médicinale *Centella asiatica*, Hydrocotyle 1%).

✓ Le lot placebo (P): 2 ml d'eau physiologique.

- Le 8^{ème} jour de l'application, enlever les points de sutures.



Figure 3.13 : Incision linéaire (Original, 2009)

Lecture :

- Réaliser une observation macroscopique le 1^{er}, 4^{ème} et le 8^{ème} jour post-incision pour suivre l'évolution de la cicatrisation en utilisant l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen (BWAT, Bates–Jensen Wound Assessment Tool) [93].

Les huit paramètres de BWAT employés pour suivre le dispositif de cicatrisation sont récapitulés dans le tableau 3.5 :

Tableau 3.5 : Paramètres de description utilisés pour évaluer le dispositif de cicatrisation de blessure, selon l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen (BWAT) [93] :

Paramètres de description	1	2	3	4	5
Bordures de la plaie	Indistinct, diffus, les contours ne sont pas clairement visibles.	Distinct, contour clairement visible, attaché, même avec la base de la plaie.	Bien défini, non attaché à la base de la plaie.	Bien défini, non attaché à la base, enroulée dessous, épaissie.	Bien défini, cicatrice fibrotique marqué, ou hyperkeratosique.
Sillon de la plaie	Absence	sillon < 2 cm dans toute la plaie	Sillon de 2-4 cm participations de < 50% du siège de la plaie	Sillon de 2-4 cm participations de > 50% du siège de la plaie	Sillon > 4 cm ou perçage d'un tunnel dans tout le siège de la plaie
Type d'exsudat	Absence	Sanglant	Séro-sanguin, queux rouge pâle/rose	Sérotique, aqueux, claire.	Purulent, aqueux ou épais, beige/ jaune avec ou sans odeur.
Quantité d'exsudat	Absence, blessure sèche	Faible, la plaie humide mais pas d'exsudat observé	Faible	Modérée	Grande
Couleur de la peau qui entour la plaie	Rose ou normale	Rouge brillant et/ou blanche au touché	blanche ou grise pale ou hypo pigmenté	Rouge foncé ou pourpre	Noire ou hyper pigmenté
Œdème périphérique de tissu	Absence de gonflement ou œdème	Pas d'œdème qui se prolonge à < 4 cm autour de la blessure	Pas d'œdème qui se prolonge à > 4 cm autour de la blessure	L'œdème se prolonge à < 4 cm autour de la blessure	Œdème crépité se prolonge à > 4 cm
Induration du tissu périphérique de la plaie	Absence	Induration < 2 cm autour de la blessure	Induration 2-4cm s'étend sur < 50% autour de la plaie	Induration 2-4cm s'étend sur > 50% autour de la plaie	d'induration > 4 cm dans toute la zone autour de plaie
Épithélialisation	La plaie est recouverte à 100%, surface intacte.	La plaie est recouverte à 75-100%	La plaie est recouverte à 50-70%	La plaie est recouverte à 25-50%	La plaie est recouverte à < 25%

Chaque paramètre a été marqué sur une échelle de cinq points. 5 représente les résultats les plus graves et 1 représente les moins graves.

3.2.5.2.3.3. Test de cicatrisation des brûlures :

Ce test est réalisé selon les étapes suivantes : [96]

- Répartir les 9 lapins en trois lots (1, 2 et 3), chacun d'entre eux a été anesthésié par injection intramusculaire de Calmivet® (Acepromazine 0.5% ; 0.5 mg / kg, I.M.).

- Nettoyer la surface rasée avec de l'éthanol 70%.

- Provoquer des brûlures sur les surfaces rasées à l'aide d'une tige métallique à base circulaire (2,5 cm de diamètre).

- Chauffer la tige de métal pendant 5 minutes pour atteindre une température d'environ 100°C. La température de la tige de métal a été suivie à l'aide d'un thermomètre numérique.

- Exposer la tige de métal au flanc rasé pendant 20 secondes pour provoquer une brûlure 3^{ème} degré.

- Créer Une brûlure similaire sur le membre postérieur de chaque lapin. Toutes les brûlures ont été provoquées par un seul manipulateur qui exerce par sa main la même pression sur la tige de métal (Figure 3.14).

- Après 24 heures, anesthésier localement par une injection sous cutanée de Xylocaïne et supprimer les tissus morts résultant des brûlures à l'aide d'une lame chirurgicale stérile (Figure 3.14).

- Loger individuellement les lapins dans des cages stériles.

- Appliquer quotidiennement deux fois par jour pendant 8 jours :

✓ Le lot essai (E) : 3 ml de gel d'*Aloe vera* L.

✓ Le lot témoin positif (T+) : une émulsion commercialisée destinée pour la cicatrisation des brûlures Flammazine® (Sulfadiazine argentique).

✓ Le lot placebo (P) : 3 ml d'eau physiologique.

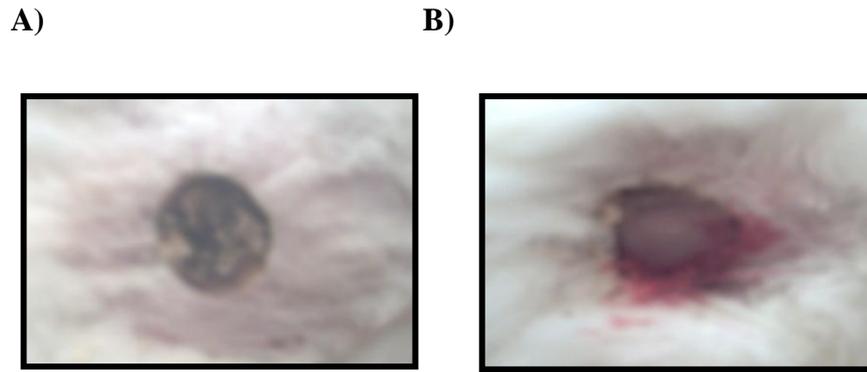


Figure 3.14: Brûlures : A) avant prélèvement, B) après prélèvement de la peau morte (Original, 2009)

Lecture :

- Mesurer la surface de la plaie en traçant ses contours sur un papier calque afin de déterminer le pourcentage de contraction le 1^{er}, 4^{ème} et le 8^{ème} jour.
- Calculer en (mm²) la surface de la zone intérieure délimitée par les bordures de la plaie par planimétrie selon l'équation suivante :

$$S = \pi r^2$$

S : Surface de la plaie.

$\pi = 3.14$

r : Rayon du cercle.

- Calculer le pourcentage de contraction des plaies selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de contraction de la plaie} = (S_{j1} - S_{jn}) \times 100 / S_{j1}$$

S_{j1} : Surface de la plaie au jour 1.

S_{jn} : Surface de la plaie au jour n= 4 et 8.

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Description de la plante :

4.1.1. L'aspect macroscopique :

L'observation macroscopique de la plante, nous a permis de distinguer :

- ✓ Racines : Elles sont plus ou moins longues insérées sur un rhizome épais et peu profond, elles se ramifient en racines secondaires (Figures : 4.1 ; 4.2).
- ✓ Tige : Elle se présente en stipe. Elle est formée des restes des feuilles coupées. Elle est courte de 15 cm de longueur, épaisse et ligneuse (Figure 4.2).

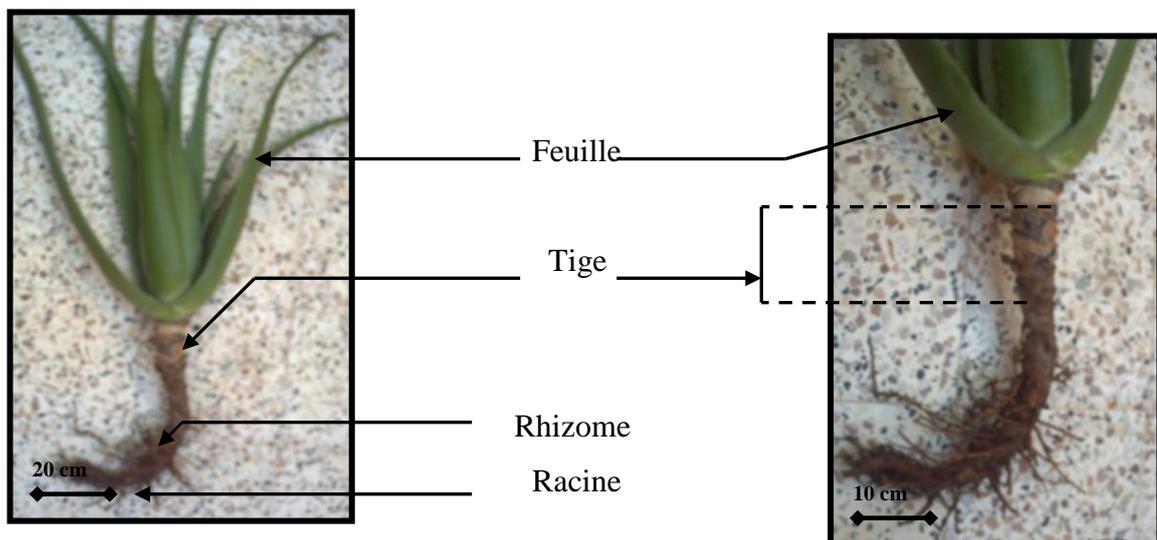


Figure 4.1 : Plante entière d'*Aloe vera* L.
(Original, 2008)

Figure 4.2 : Tige et racine d'*Aloe vera* L.
(Original, 2008)

✓ Feuilles : Elles sont charnues de couleur vert pâle, Elles sont insérées sur le sommet de la tige en rosette (Figure 4.3). Elles sont de forme lancéolée allongée de 60 à 70 cm de longueur et de 5 à 6 cm de largeur. La face supérieure est plus ou moins plane et la face inférieure est convexe. Chaque feuille porte sur ses bords des épines. Ce sont des feuilles engainantes dépourvues de pétiole, et sont parcourues par des nervations parallèles (Figures : 4.4 ; 4.5).



Figure 4.3 : Insertion en rosette des feuilles lancéolées d'*Aloe vera* L.

(Original, 2008)



Figure 4.4 : Feuille engainante d'*Aloe vera* L.

(Original, 2008)



Figure 4.5 : Feuille d'*Aloe vera* L. à bords dentés

(Original, 2008)

✓ Fleurs : Elles sont regroupées en un bouquet au sommet d'une hampe qui atteint 90 cm de longueur. C'est une inflorescence de type indéfinie appelée aussi grappe. Les fleurs situées à la base de la hampe apparaissent et s'ouvrent en premier (Figure : 4.6).

Les fleurs sont portées par des pédicelles d'environ 0.5 cm de long. Elles sont caractérisées par un péricarpe de couleur jaune vif mesurant environ 2.6 cm, composé de six tépales organisés en deux verticilles soudés à la base. Ce sont des fleurs hermaphrodites (bisexuées) renfermant l'appareil reproducteur mâle et femelle (Figure 4.7).

L'androcée est dialystémone plus long que le péricarpe, et composé de six étamines libres de type didyname (trois grandes et trois petites) entourant un pistil situé au centre de la fleur (Figure 4.8).



Figure 4.6 : Inflorescence d'*Aloe vera* L.

(Original, 2008)

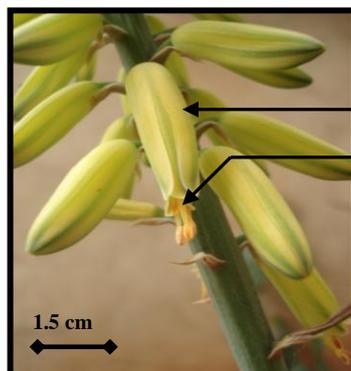


Figure 4.7 : Fleurs d'*Aloe vera* L.

(Original, 2008)

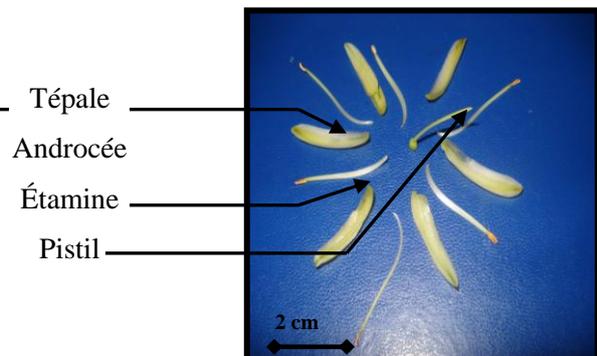


Figure 4.8 : Fleur d'*Aloe vera* L. décortiquée

(Original, 2008)

L'observation à la loupe biloculaire (G X4) et (G X8) de la fleur montre:

✓ Étamines : Elles sont midi- fixe, dans lequel le filet est inséré au milieu d'une anthère formée par deux poches polliniques de forme allongée à déhiscence longitudinale (Figure : 4.9 ; 4.10).

✓ Pistil : Il est gamocarpellé composé de trois carpelles soudés. L'ovaire est supère et trilobique (renfermant trois loges). Les ovules sont fixés sur l'axe central de l'ovaire par une placentation de type axile (Figure : 4.11 ; 4.12).

La formule florale : **3T+ 3T'+ 6E+ 3C.**

T : Tépale (1er verticille), T' : Tépale (2ème verticille), E : Etamine, C : Carpelle.



Figure 4.10: Observation à la loupe (G X4) de l'androcée d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)



Figure 4.9 : Observation à la loupe (G X8) de l'anthère à déhiscence longitudinale d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)



Figure 4.11: Observation à la loupe (G X4) du pistil d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)



Figure 4.12 : Observation à la loupe (G X8) de la placentation axile d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)

4.1.2. L'aspect microscopique :

✓ La feuille :

L'observation au microscope photonique (G X 100) des coupes histologiques transversales réalisées au niveau des feuilles (Figure : 4.13), révèle la présence de la périphérie vers le centre des tissus suivants :

- Une cuticule striée épaisse entourant un épiderme formé d'une assise de cellules épidermiques de petite taille. Elles sont liées étroitement les unes aux autres.

- Un parenchyme chlorophyllien palissadique formé par 5 assises de cellules allongées de forme rectangulaire. Ce dernier enveloppe l'ensemble de la feuille et tapisse la face supérieure et inférieure, avec une absence totale du parenchyme lacuneux sur la face inférieure de la feuille.

- Un péricycle formé de deux assises de cellules de petite taille étroitement liées. Ce dernier entoure l'ensemble des faisceaux conducteurs (xylème situé vers le centre et le phloème vers la périphérie).

- Un parenchyme de réserve aquifère à méats, formé de grandes cellules arrondies, occupant la partie centrale et qui représente la majeure partie de la feuille.

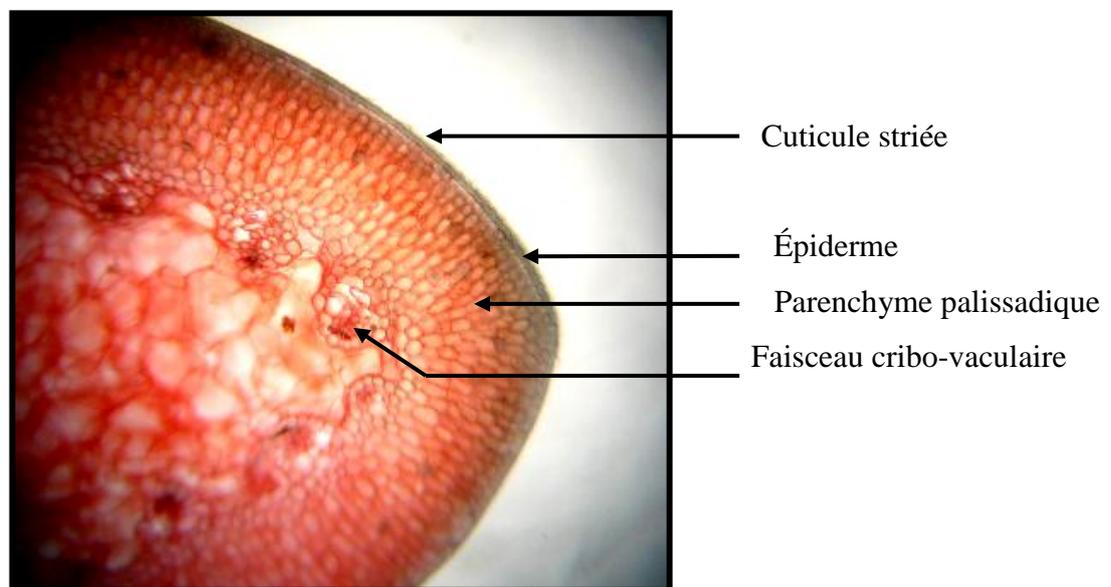


Figure 4.13 : Coupe transversale au niveau de la feuille d'*Aloe vera* L. Vue au microscope photonique (G X100) après double coloration, (Original, 2008).

✓ La racine :

L'observation au microscope photonique (G X100) des coupes transversales réalisées au niveau de la racine d'*Aloe vera* L. (Figure : 4.14 ; 4.15 ; 4.16) révèle la présence d'une structure anatomique caractéristique aux monocotylédones, composée de l'extérieur vers l'intérieur de :

- Deux couches protectrices :

Assise pilifère: formée de petites cellules et de poils absorbants (Figure : 4.15).

Suberoïde : formé de trois assises de cellules à parois subérifiées fortement liées les unes aux autres.

- Parenchyme cortical : Il occupe la majeure partie de la racine, formé de grandes cellules arrondies présentant des méats entre elles.

- Péricycle : deux assises de petites cellules péricycliques rectangulaires étroitement liées les unes aux autres entourant l'ensemble des tissus conducteurs et la moelle.

- Tissus conducteurs : Le xylème et le phloème disposés d'une manière alternée ; Le xylème est formé par deux types de vaisseaux : métaxylème vaisseaux à grand calibre situé vers le centre et protoxylème vaisseaux à petit calibre situé vers la périphérie disposé en V (Figure 4.16). La différenciation de ses vaisseaux est centripète.

- Parenchyme médullaire ou la moelle de la racine formée de petites cellules arrondies qui présentent des méats entre elles.

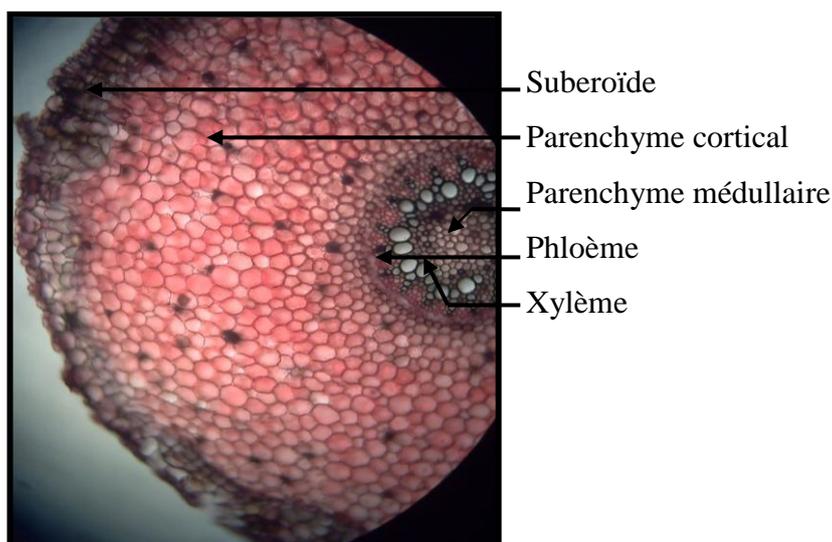


Figure 4.14 : Vue d'ensemble d'une coupe transversale au niveau de la racine d'*Aloe vera* L. Vue au microscope photonique (G X100) après double coloration, (Original, 2008).

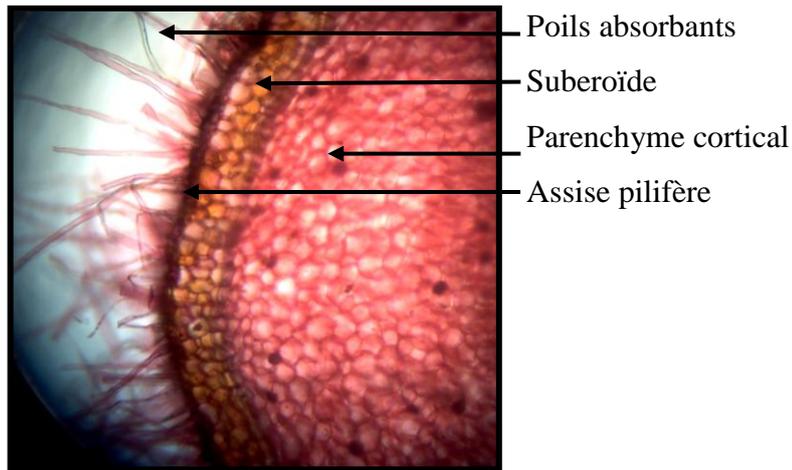
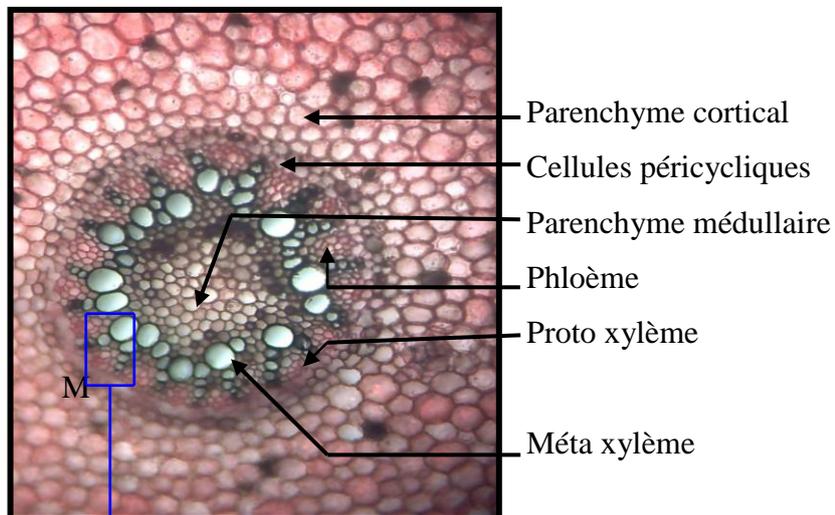


Figure 4.15 : Coupe transversale au niveau de la racine d'*Aloe vera* L. Vue au microscope photonique (G X100) après double coloration. Zone périphérique, (Original, 2008).

A



B

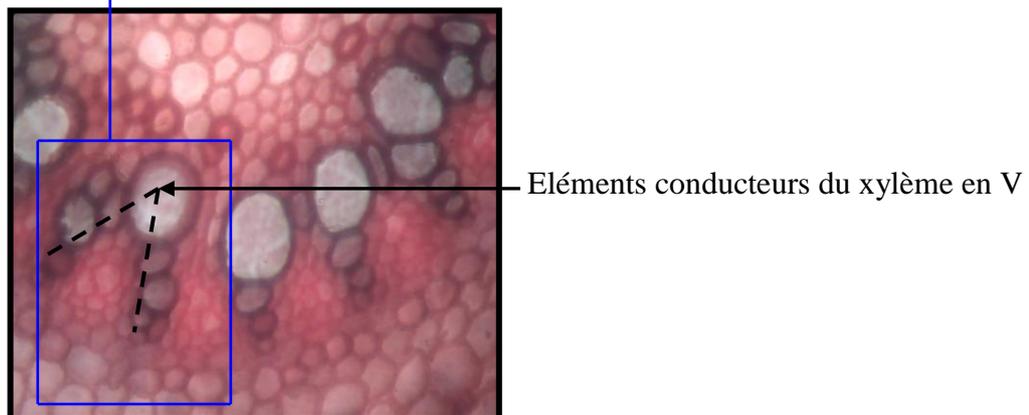


Figure 4.16 : Coupe transversale au niveau de la racine d'*Aloe vera* L après double coloration. Vue au microscope photonique : A) (G X100), B) (G X400). Zone centrale, (Original, 2008).

4.2. Extraction et rendement :

Après séparation de la pulpe et extraction du gel à partir des feuilles d'*Aloe vera* L., nous avons obtenu les résultats présentés dans le tableau 4.1 :

Tableau 4.1 : Résultats de l'extraction du gel d'*Aloe vera* L.

Feuille entière	Pulpe		Gel	
Poids (g)	Poids (g)	Pourcentage (%)	Poids (g)	Pourcentage (%)
240± 26.45	180±15.27	75±4.04	120± 10	50±4.93

Chaque feuille d'*Aloe vera* L. fraîche de poids approximative 240g, renferme environ 180g de pulpe soit 75% du poids total de la feuille (Figure 4.17). Cette pulpe sera ensuite broyée jusqu'à obtention d'un liquide gélatineux plus ou moins homogène, afin d'en extraire le gel qui pèse environ 120 g soit 50% (P/P) du poids de la feuille entière, on obtient ainsi 70ml de gel environ (Figure 4.18).



Figure 4.17 : Pulpe d'*Aloe vera* L.
(Original, 2008)



Figure 4.18: Gel d'*Aloe vera* L.
(Original, 2008)

4.3. Identification de la matière première :

4.3.1. Caractères morphologiques :

- Le gel frais d'*Aloe vera* L. est translucide et très gélatineux (Figure 4.18). Ce dernier sera transformé par cryodessiccation en poudre.

- La poudre ou le lyophilisat est de couleur blanchâtre (figure 4.19).

4.3.2. Caractères organoleptiques :

- Le gel frais d'*Aloe vera* L. et la poudre sont inodores et de saveur très amère.



Figure 4.19 : Lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)

4.4. Etude phytochimique :

Pour les différents tests et analyses phytochimiques, nous avons utilisé le gel d'*Aloe vera* L. à l'état frais et la poudre obtenue par sa lyophilisation.

4.4.1. Tests phytochimiques et mise en évidence de quelques métabolites :

Les résultats de l'examen phytochimique du gel d'*Aloe vera* L. sont représentés dans le tableau 4.2:

Tableau 4.2 : Résultats des tests phytochimique.

Métabolites :	Résultats :
- Alcaloïdes	-
- Amidon	-
- Tanins	+
- Flavonoïdes	-
- Composés réducteurs	++
- Oses et Holosides	+++
- Mucilages	+++
- Saponosides : Mousse	++
Indice de mousse	166.67

(-) absent ; (+) faiblement présent ; (++) moyennement présent ; (+++) fortement présent.

Ces résultats (Tableau 4.2) montrent que le gel d'*Aloe vera* L. est caractérisé par une forte présence des oses, holosides et mucilage suivi par les composés réducteurs, les saponosides et les tanins. On note également l'absence totale des alcaloïdes, d'amidon et des flavonoïdes. Notre résultat est conforme à celui de Bruneton, 1999 [51] qui indique que

l'*Aloe vera* L. est réputée par sa richesse en holosides et mucilage. Elle ne possède pas une composition chimique très variée comme les plantes aromatiques, mais le peu de composés présents dans son gel agissent en synergie [51].

4.4.2. Détermination de la teneur en eau :

Après obtention d'une matière entièrement sèche nous avons pesé la poudre pour calculer la teneur en eau du gel d'*Aloe vera* L (Tableau 4.3).

Tableau 4.3: Teneur du gel d'*Aloe vera* L. en eau.

Prise d'essai (g)	Poids après lyophilisation (g)	Poids de l'eau (g)	Teneur en eau (%)
100	0.68	99.32	99.32

La teneur en eau est de **99.32 %**

On constate que la teneur en eau dans le gel d'*Aloe vera* L. est très élevée (Figure 4.20). Cette forte teneur en eau peut expliquer la large utilisation du gel d'*Aloe vera* L dans les produits cosmétiques de réhydratations.

Ce résultat est pratiquement identique à celui qui a été obtenu sur l'espèce *Aloe vera* L. Américaine dans la région de Texas par Ni et al, 2004 [83] qui est de 99.20%. Cette légère différence entre la teneur en eau des deux plantes, est liée à la dissimilitude des conditions climatiques dans lesquelles elles évoluent.

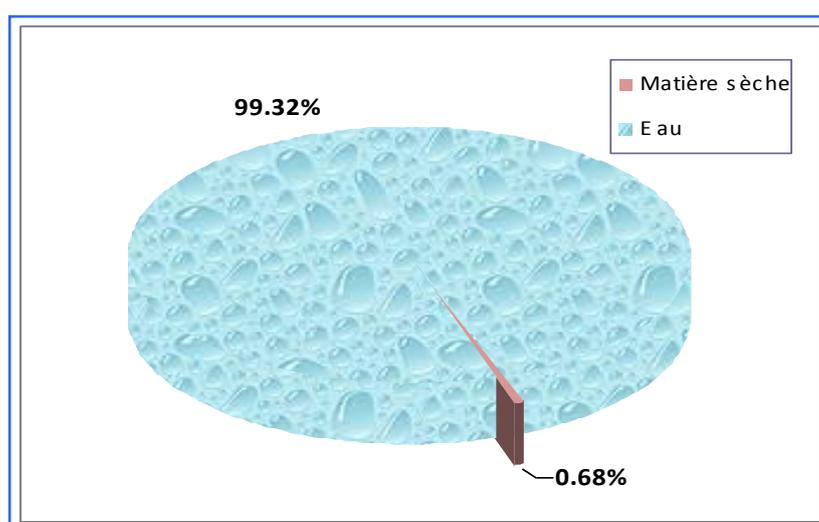


Figure 4.20 : Teneur d'*Aloe vera* L. en eau et en matière sèche.

4.4.3. Dosage des polyphénols:

Le tracé de la courbe d'étalonnage (Appendice D), donne une droite linéaire dans laquelle l'absorbance est proportionnelle à la concentration de l'acide gallique (Figure 4.21), avec un coefficient de corrélation $r = 0.99$, selon l'équation suivante :

$$\text{Absorbance} = 0.0007 (\mu\text{g acide gallique}) + 0.0690$$

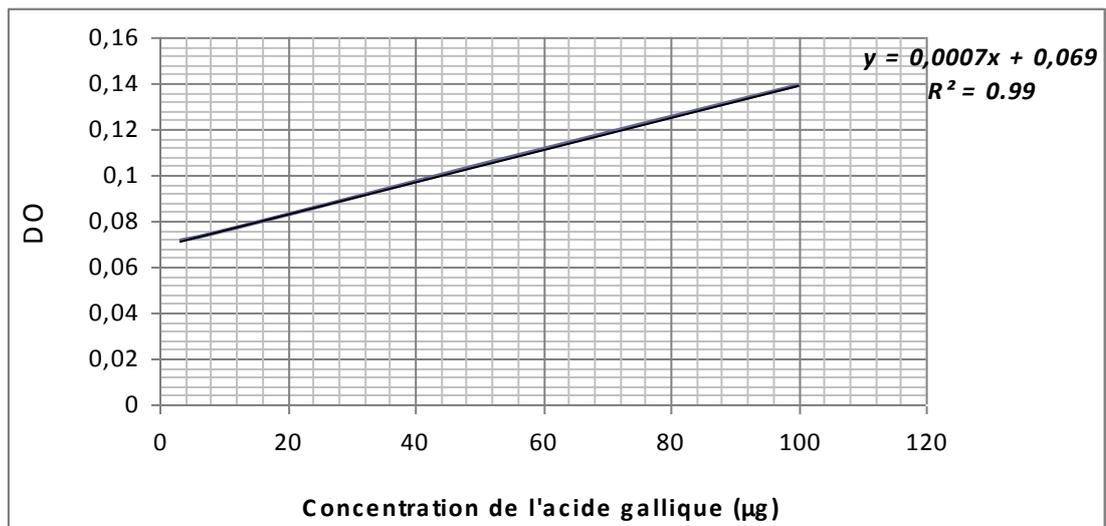


Figure 4.21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

L'extrait préparé à base du lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L. donne une absorbance, **DO= 0.097** correspondant, après extrapolation sur la courbe d'étalonnage à une concentration en acide gallique de **40µg/ mg de matière sèche**.

Selon le résultat obtenu, on déduit que le gel d'*Aloe vera* L. possède une faible teneur en polyphénols ou plus exactement en tanins, puisque c'est le seul composé phénolique présent dans le gel avec un taux de **4 %** de la matière sèche. Celui-ci possède un effet antiseptique et régénérateur sur les tissus en cas de brûlures ou blessures [51].

Le taux obtenu est légèrement inférieur à celui rapporté par Cock et Ruebhart, 2008 [97] sur l'espèce *Aloe vera* L. Australienne qui est de **4.7%** ; Ceci peut être dû à une différence dans les caractères phénotypiques de la plante ou les conditions climatiques dans lesquelles elle évolue.

4.4.4. Dosage des glucides:

Le taux de glucides a été interprété par le tracé de la courbe d'étalonnage (Appendice D). Celle-ci une droite linéaire avec un coefficient de corrélation $r = 0.98$ (Figure 4.22), dans laquelle l'absorbance est proportionnelle à la concentration selon l'équation suivante :

$$\text{Absorbance} = 0.0005 (\mu\text{g glucide}) + 0.3291$$

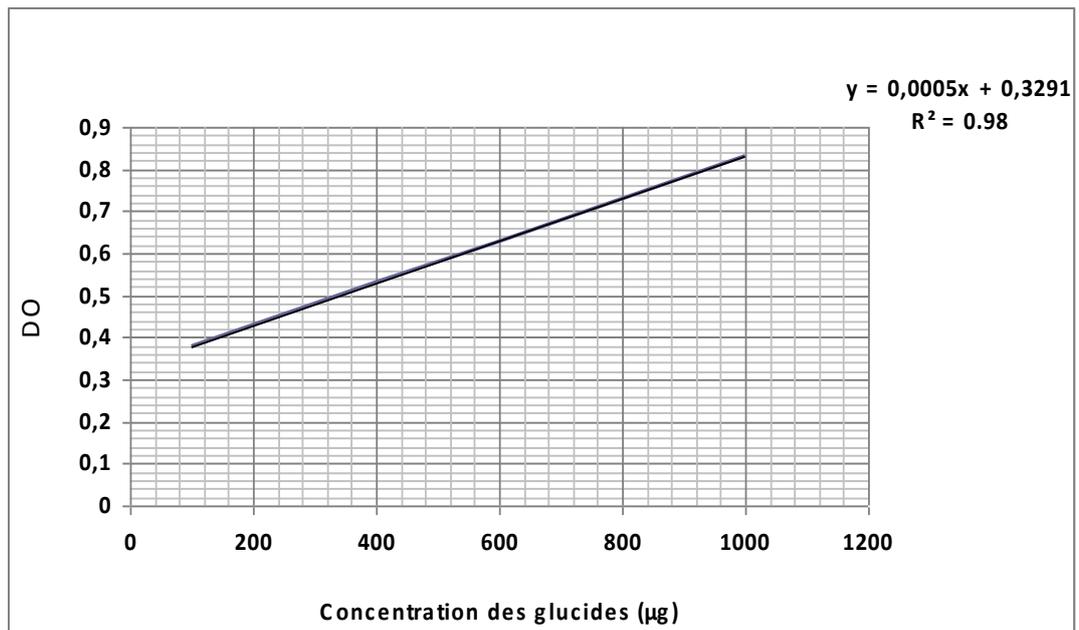


Figure 4.22: Courbe d'étalonnage des glucides.

Après la lecture de la DO de l'extrait préparé à base de lyophilisat du gel d'*Aloe vera* L. Nous avons obtenu une absorbance **DO = 0.628** qui correspond sur la courbe d'étalonnage à une concentration en glucides de **597.80 µg/ mg de matière sèche**.

Le résultat obtenu confirme que le gel d'*Aloe vera* L. est très riche en glucides, cette fraction est majoritaire et représente environ 59.78% de la matière sèche.

Le taux obtenu est conforme avec celui rapporté par Atherton, 1997 [7] qui indique que l'espèce *Aloe vera* L. contient dans son gel un taux de glucides qui vari entre 55 à 60 %. D'après Grindlay et al, 1996 [98], cette variation est en grande partie attribuable à la diversification saisonnière ou la différence dans la localisation géographique.

4.4.5. Détermination du taux de cendres totales:

Le taux de cendres obtenu dans 1g de poudre de gel d'*Aloe vera* L. est représenté dans le tableau 4.4:

Tableau 4.4 : Taux des cendres dans le gel d'*Aloe vera* L.

Prise d'essai (g)	Poids après calcination (g)	Taux des cendres (%)
1	0.1868	18.68

Les cendres obtenues sont de couleur gris clair. Le taux de cendres est de **18.68 %**.

Le résultat obtenu est inférieur à celui rapporté par Femenia, 1999 [99] sur l'espèce *Aloe vera* L. d'Espagne qui est de 23% ; Ceci est peut être dû aux conditions climatiques et à la faible teneur du sol en éléments minéraux, dans lequel notre plante est cultivée.

Malgré cela, cette valeur reste assez importante et indique la richesse du gel d'*Aloe vera* L en matière minérale. Ce ci explique son utilisation comme complément alimentaire et suppléments chez les personnes en convalescence ou asthéniques et qui souffrent de faiblesse physique, afin de remédier les carences légères en minéraux essentiels [7].

4.4.6. Dosage des minéraux :

Les cations et les anions présents dans le gel d'*Aloe vera* L. ont été dosés par chromatographie ionique.

4.4.6.1. Les cations :

Le chromatogramme obtenu par la technique de chromatographie ionique (Figure 4.23), nous a permis d'avoir la concentration et de calculer la teneur de chaque cation présent dans les cendres et dans la matière sèche ; Les résultats sont récapitulés dans le tableau 4.5.

Tableau 4.5 : Concentrations et taux des cations dans le gel d'*Aloe vera* L.

N° Pic	Minéraux	Concentration g/l	Pourcentage %
01	Na	0.1434	09.58
02	K	0.1426	09.52
03	Mg	0.3367	22.49
04	Ca	0.8747	58.41
Total :		1.4974	100

On constate que l'ion de calcium est le prédominant avec une concentration de 0.8747 g/l. Il représente ainsi plus de 58% des cations, suivi par le magnésium avec une concentration de 0.3367 g/l et un taux de 22.49% de la totalité des cations. Le sodium et le potassium viennent en troisième position avec des concentrations respectives de 0.1426 g/l et 0.1426 g/l et des taux de 09.52 % et 09.58 % des cations.

On remarque que le gel d'*Aloe vera* L. est composé essentiellement de métaux alcalino-terreux (Mg^{2+} et Ca^{2+}) avec un taux qui dépasse 80 % des cations. Cependant les métaux alcalins représentent uniquement 20% (Na^+ et K^+).

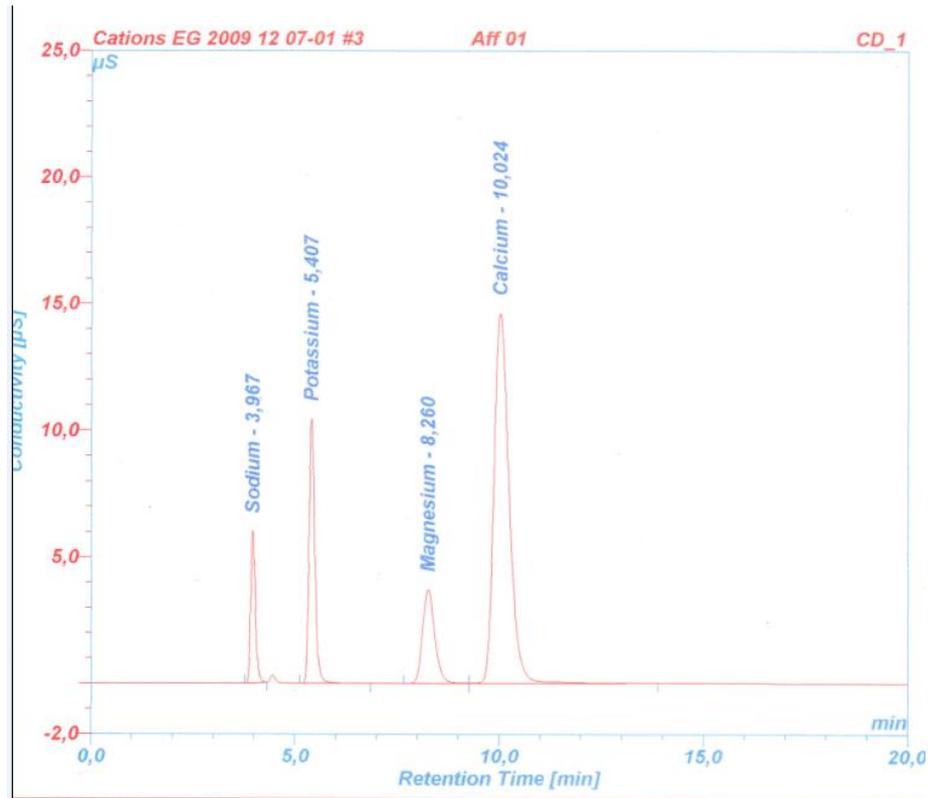


Figure 4.23 : Chromatogramme du dosage des minéraux cationiques chez *Aloe vera* L. (Original, 2009).

4.4.6.2. Les anions :

Les concentrations et les teneurs des anions ont été obtenus par la même méthode que celles des cations ; Le chromatogramme ionique des anions est représenté dans la figure 4.24.

Les résultats des calculs des concentrations et des taux des anions présents dans le gel d'*Aloe vera* L. sont récapitulés dans le tableau 4.6.

Tableau 4.6 : Concentrations et taux des anions dans le gel d'*Aloe vera* L.

N° Pic	Minéraux	Concentration g/l	Pourcentage %
01	Chloride	12.8418	99.20
02	Sulfate	00.0970	00.80
Total		12.9451	100

On remarque la présence d'une forte concentration en chlorure avec une teneur qui dépasse les 99% de la concentration totale en anions ; Cette forte concentration (12.8418 g/l) est due au fait que l'extraction des minéraux a été réalisée par l'utilisation de l'acide chlorhydrique ce qui peut éventuellement faussé nos résultats. Pour cette raison nous ne pouvons estimer la concentration et le taux du chlorure.

On constate également que le sulfate est le seul anion présent dans le gel d'*Aloe vera* L. avec une très faible concentration (0.097 g/l).

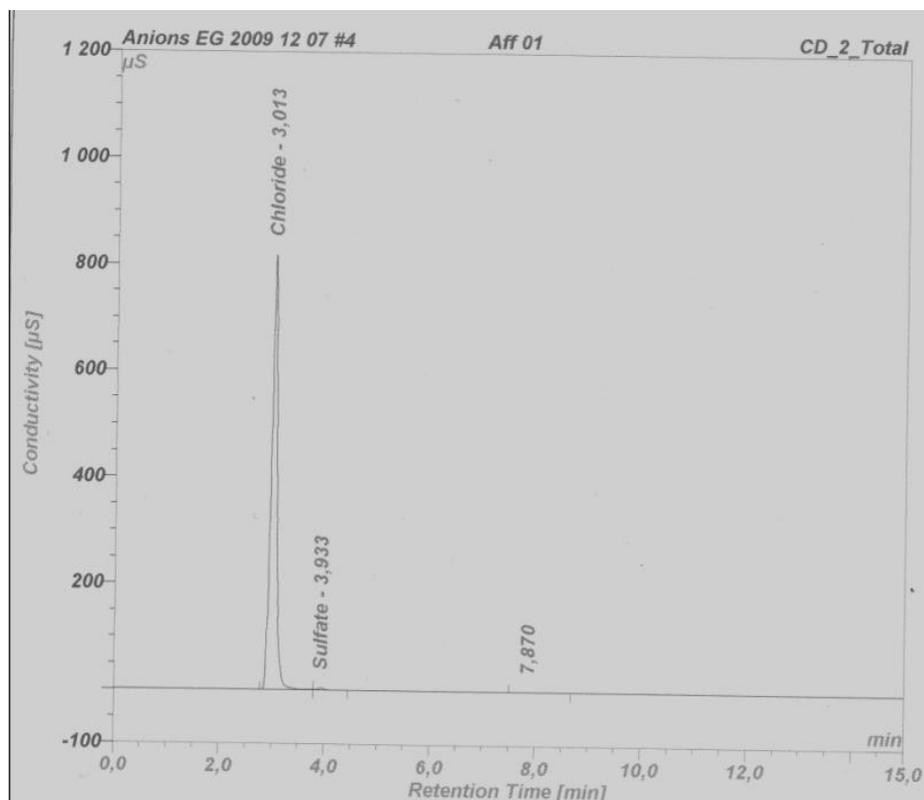


Figure 4.24 : Chromatogramme du dosage des minéraux anioniques chez *Aloe vera* L. (Original, 2009).

Les résultats obtenus par chromatographie ionique nous ont permis de calculer le taux de chaque anion et cation présents dans les cendres et dans la matière sèche du gel d'*Aloe vera* L. (Tableau 4.7) :

Tableau 4.7 : Teneur en anions et cations dans les cendres et dans la matière sèche totale du gel d'*Aloe vera* L.

Minéraux	Concentration g/l	Teneurs dans les cendres %	Teneurs dans la matière sèche %
Sodium	0.1434	07.67	01.43
Potassium	0.1426	07.63	01.43
Magnésium	0.3367	18.02	03.37
Calcium	0.8747	46.82	08.75
Total cations		80.14	14.98
Sulfate	0.0970	05.19	00.97
Chloride et autres		14.67	02.73

La composition en minéraux du gel d'*Aloe vera* L. révèle que les cendres sont composées essentiellement de calcium qui représente plus de 46% des cendres. On constate également que le gel d'*Aloe vera* L. est riche en magnésium (18% des cendres et 3% de la matière sèche) ce qui explique son goût très amer.

Le tableau 4.7 montre aussi la présence du sulfate (5%), sodium (7%), et du potassium (7% des cendres),

La comparaison de nos résultats avec ceux qui sont obtenus par Femenia, 1999 [99] sur l'espèce *Aloe vera* L. d'Espagne, révèle une dissimilitude dans les taux des minéraux dosés entre les deux plantes. L'*Aloe vera* L. Algérienne est beaucoup plus riche en calcium et en magnésium avec des taux qui dépassent respectivement : 8% et 3% par rapport à 3.58% et 1.22% obtenus par Femenia, 1999 [99]. Cependant les taux du potassium et du sodium dans le gel d'*Aloe vera* L. locale (1.43%) sont très faibles par rapport à ceux rapportés par Femenia, 1999 [99], 4.06% et 3.66% respectivement. Cette dissimilitude peut être liée au fait que nous n'avons pas utilisé la même technique de dosage que l'auteur cité précédemment (spectroscopie d'absorption atomique) ou à une différence dans la composition des sols en éléments minéraux.

Les résultats obtenus montrent que la composition chimique en éléments minéraux du gel d'*Aloe vera* L. comme le calcium dont l'action de la coagulation sanguine est démontrée [38] et le potassium qui intervient dans la régulation du phénomène de la cicatrisation [99], concorde avec son utilisation traditionnelle dans le traitement des blessures.

4.4.7. Extraction et caractérisation des polysaccharides et sucres simples par C.C.M.:

Les résultats de l'extraction des différentes fractions des glucides présentes dans le gel d'*Aloe vera* L. sont récapitulés dans le tableau 4.8 :

Tableau 4.8 : Taux des fractions glucidiques présentes dans le gel d'*Aloe vera* L.

Poids (g) Lyophilisat	Poids (g) R.I.A.	Taux (%) R.I.A.	Poids (g) R.S.A	Taux (%) R.S.A.
1	0.74	74	0.26	26

On constate que le gel d'*Aloe vera* L. est très riche en résidus insolubles en alcool (polysaccharides) qui représentent 74% du poids total de la matière sèche qui est un taux très élevé par rapport à celui des résidus solubles (sucres simples) qui est de 26%.

Ces polysaccharides sont à la base du caractère viscoélastique du gel d'*Aloe vera* L. [100, 101]. Mais une fois que ce polymère est dégradé par la chaleur ou une enzyme, le gel devient beaucoup moins visqueux [102].

Le taux des polysaccharides obtenu dans notre étude est supérieur à celui rapporté par Femenia, 1999[99], qui est de 60%. Cette différence s'explique par une perte en polysaccharide lors de l'extraction. Puisque l'auteur n'a pas utilisé dans son expérimentation un alcool absolu pour la séparation des résidus insolubles, ce qui a entraîné la solubilisation du polysaccharide dans l'alcool.

4.4.7.1. Caractérisation des monosaccharides des R.I.A. :

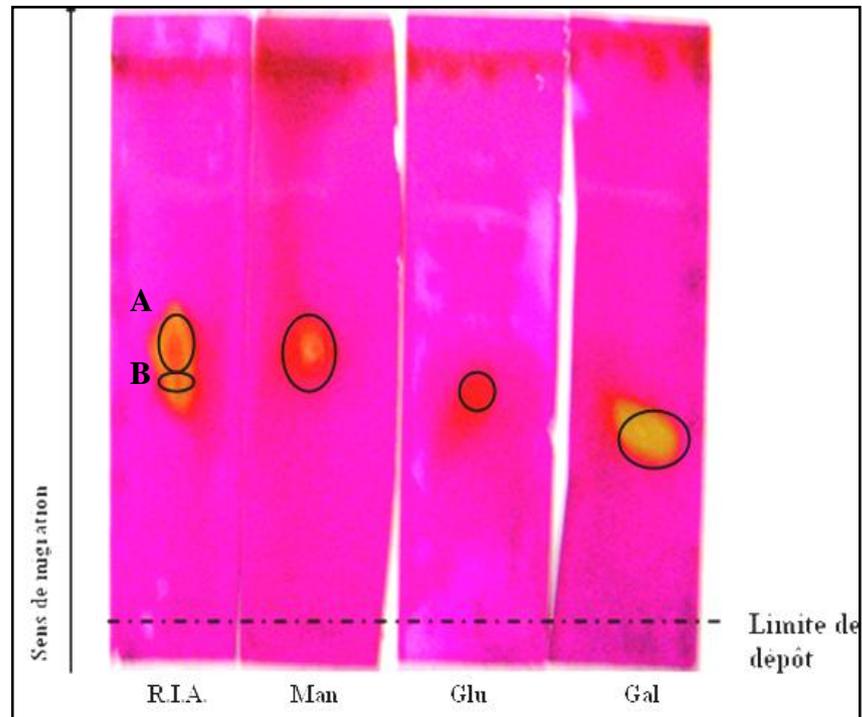


Figure 4.25 : Chromatogramme des résidus insolubles en alcool (Original, 2009).

La CCM de la solution obtenue par hydrolyse acide du polysaccharide extrait à partir du gel d'*Aloe vera* L. nous a permis de faire une séparation et une caractérisation qualitative des monomères des sucres présents dans l'hydrolat.

D'après le chromatogramme (Figure 4.25), on remarque que nous n'avons pas pu avoir une bonne séparation des différents monomères constituant le polysaccharide obtenu. On remarque également que la tache obtenue à la fin de migration et révélation est en forme de flamme. En effet les différents sucres constituant le polysaccharide sont représentés par des taches et des Rf très proches (voir tableau 4.9) ce qui a conduit à leur fusion, donnant ainsi un spot en flamme caractérisé par une base étroite (**B**) avec un Rf égale à 0.47 (voir tableau 4.9). Il correspond à celui de l'étalon du glucose, et un sommet très large (**A**) dont le Rf (voir tableau 4.9) est identique à celui du mannose. Cette mauvaise séparation s'explique par le fait que les sucres formant le polysaccharide analysé, ont des poids moléculaires et des affinités similaires envers les solvants.

D'après la figure 4.25, on constate que le polysaccharide obtenu est formé essentiellement de mannose. Ce dernier est représenté par une grande tache de couleur jaune fluorescent indiquant sa forte présence. Le chromatogramme révèle aussi la présence du glucose avec une faible teneur qui s'affiche par une petite tache.

Mais ce résultat ne peut pas nous conduire à dire que le polysaccharide analysé est formé uniquement de mannose et glucose, car la CCM n'est pas une technique assez sensible pour détecter des composés à faible teneur.

On déduit donc que le polysaccharide obtenu est un mannane (très riche en mannose) associé à des monomères de glucose il s'agit donc d'un glucomannane. Notre résultat est similaire à ceux rapportés par Ni, 2004 [83] sur l'espèce *Aloe vera* L. Américaine, et Femenia, 1999 [99] sur l'*Aloe vera* L. d'Espagne. Qui indiquent que le polysaccharide présent dans le gel d'*Aloe vera* L. est un glucogalctomannane, appelé Acémannane. Il est composé essentiellement de mannose suivi par le glucose et galactose avec des proportions très variables, les proportions rapportées par Ni, 2004 [83] sont (Glu : 13% ; Gal : 2% ; Man : 63%). Tandis que Femenia, 1999[99], a obtenu les proportions suivantes : Glu 26% ; Gla 3% ; Man 52%. Cette variabilité est due à la différence dans la localisation géographique, les conditions climatiques et la période de la récolte des feuilles.

Ce polysaccharide caractéristique du genre *Aloe*. D'après Liu, 2006[103], possède les propriétés immunostimulantes et active les macrophages. Choi, 2003[55], rapporte que le polysaccharide extrait à partir du gel d'*Aloe vera* L. est doté d'un effet cicatrisant, antiviral et antibactérien.

Tableau 4.9 : Rapport frontal du mannose, glucose et galactose :

	Mannose	Glucose	Galactose
Rapport frontal	0.51	0.47	0.40

4.4.7.2. Caractérisation des monosaccharides des R.S.A. :

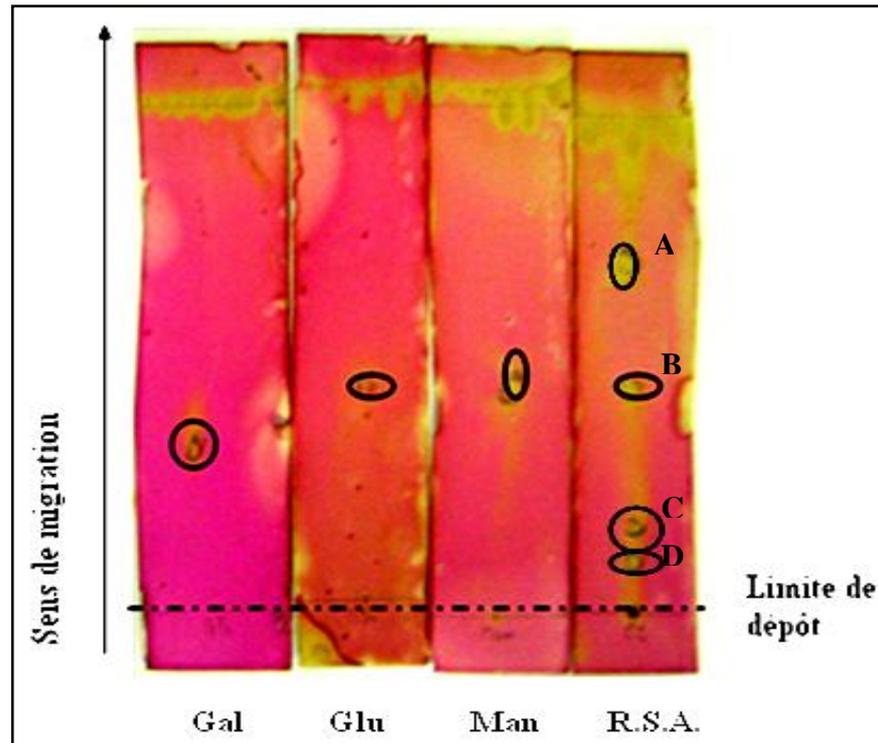


Figure 4.26 : Chromatogramme des résidus solubles en alcool (Original, 2009).

L'analyse chromatographique sur couche mince des résidus solubles en alcool (Figure 4.26) a permis la séparation et la caractérisation des sucres simples présents dans le gel d'*Aloe vera* L. Cette analyse a révélé la présence de quatre composés (quatre taches) dont l'un d'entre eux (**B**) correspond au glucose avec un R_f égale à 0.47. On constate également que les trois autres composés ne peuvent être identifiés car ils présentent des R_f différents à nos étalons (**A** : 0.17, **C** : 0.25, **D** : 0.72). Atherton, 1997[7] rapporte que l'*Aloe vera* L. renferme dans son gel trois sucres simples : glucose, fructose, et mannose.

Ces résultats ne peuvent pas être exploités, en raison de l'absence de travaux scientifiques antérieurs sur ces composés.

4.5. Etude des activités biologiques :

4.5.1. Les tests biologiques *in vitro* :

4.5.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne:

4.5.1.1.1. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par diffusion sur milieu solide :

Les résultats de l'antibiogramme sur milieu solide sont représentés dans le tableau 4.10 :

Tableau 4.10 : Activité antimicrobienne de l'extrait 1 (gel d'*Aloe vera* L.) et l'extrait 2 (concentré à base de lyophilisat) sur milieu solide.

Souche	Extrait 1 Ø cm	Extrait 2 Ø cm
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 1228	-	-

(-) Absence de zone d'inhibition ; (Ø cm) Diamètre des zones d'inhibition en centimètre.

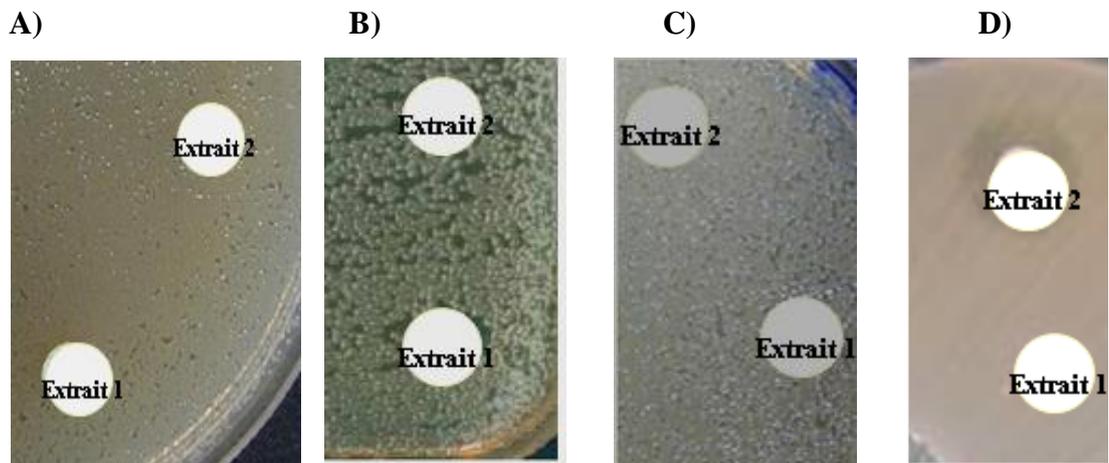


Figure 4.27: AntibioGramme sur milieu solide :
A) *Escherichia coli* ; **B)** *Pseudomonas aeruginosa* ; **C)** *Staphylococcus aureus* ;
D) *Staphylococcus epidermidis* (Original, 2009)

D'après les résultats obtenus (Tableau 4.10), on déduit que le gel frais (extrait 1) ne présente aucun pouvoir antibactérien vis-à-vis les souches testées, cela se traduit par une absence totale de zones d'inhibitions (Figure 4.27) pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

Cela peut être lié à la faible concentration de l'extrait 1 en principes actifs. Sachant que le gel d'*Aloe vera* L. contient plus de 99% d'eau et moins de 1% de matière sèche (principes actifs) ; on déduit qu'il est fortement dilué et ne peut pas avoir une action sur les bactéries à l'état frais et en faible quantité, sachant qu'un disque d'antibiotique ne peut être chargé que de 25 µl.

Après avoir obtenu des résultats négatifs du gel frais sur toutes les bactéries testées, nous avons utilisé un concentré préparé à base du lyophilisat (extrait 2). Après 24 heures d'incubation à 37°C, aucune zone d'inhibition autour des disques chargés de l'extrait 2 n'a été observée.

Des résultats similaires ont été obtenus par Habeeb, 2007[104], qui rapporte que le gel extrait de l'espèce *Aloe vera* L. Américaine ne possède aucun effet antibactérien sur la souche *Shigella flexneri* en milieu solide (gélose). Cela est dû à son aspect très gélatineux qui empêche sa diffusion sur la gélose [104].

Il semble que l'activité antibactérienne du gel d'*Aloe vera* L. ne peut pas être mise en évidence sur milieu solide, puisque à l'état frais (extrait 1) il est fortement dilué et à l'état concentré (extrait 2) il ne possède pas les propriétés qui lui permettent la diffusion sur la gélose (très gélatineux).

Pour cette raison nous avons adopté la méthode d'antibiogramme sur milieu liquide.

4.5.1.1.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne sur milieu liquide par mesure de la turbidité :

La turbidité des tests et des témoins a été mesurée à 0h et après 2h, 4h et après 6h d'incubation à 37°C.

- Test : 5ml BN + 5ml Extrait 2 + 10µl Inoculum.
Blanc_{Test} : 5ml BN + 5ml Extrait 2.
- Contrôle : 5ml BN + 5ml Eau distillée + 10µl Inoculum.
Blanc_{contrôle} : 5ml BN + 5ml Eau distillée.

Les résultats sont présentés dans le tableau 4.11 :

Tableau 4.11: Résultats des tests antibactériens sur milieu liquide.

Souche	Absorbance (DO)							
	0 h		2 h		4h		6 h	
	Test	Contrôle	Test	Contrôle	Test	Contrôle	Test	Contrôle
<i>E. coli</i> ATTC25922	0.19	0.21	0.33	0.52	0.53	0.81	0.78	1.16
<i>P. aeruginosa</i> ATTC27853	0.20	0.17	0.36	0.45	0.49	0.68	0.67	1.03
<i>S. aureus</i> ATTC25923	0.20	0.23	0.26	0.41	0.31	0.58	0.39	0.86
<i>S. epidermidis</i> ATTC1228	0.22	0.25	0.30	0.48	0.36	0.67	0.45	0.92

D'après le tableau 4.11, on constate que la croissance bactérienne (absorbance) est proportionnelle au temps pour les quatre souches testées.

On constate également que la croissance bactérienne a été ralentie dans les cultures où on a ajouté l'extrait d'*Aloe vera* L., cela se traduit par une inhibition de la croissance bactérienne dans les tubes tests ; Cette inhibition diffère d'une souche à une autre. Des résultats semblables sont rapportés par Habeeb, 2007[104] qui indique que le gel d'*Aloe vera* L. freine la croissance de *Shigella flexneri* en milieu liquide.

➤ Pourcentages d'inhibition d'*Escherichia coli* _ATTC25922:

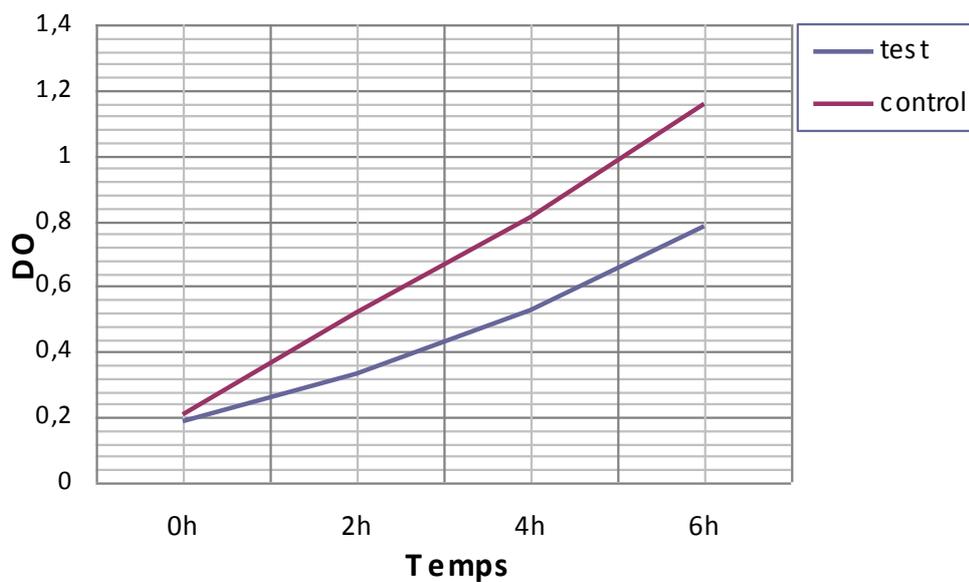


Figure 4.28: Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du contrôle pour la souche *Escherichia coli*.

% Inhibition d'*Escherichia coli* = 32.75 %

➤ Pourcentages d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* _ATTC27853:

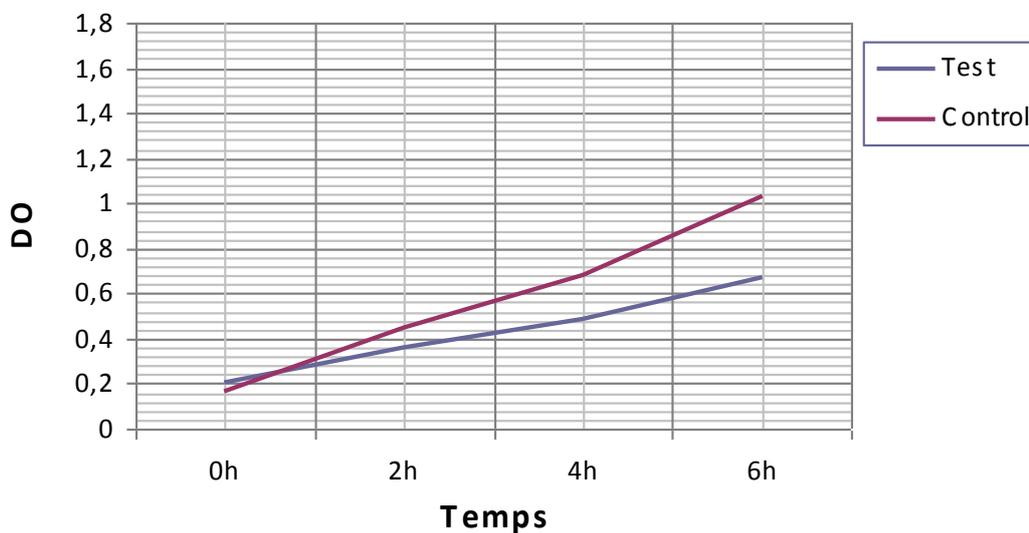


Figure 4.29 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du contrôle pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

% Inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* = 34.95%

➤ Pourcentages d'inhibition de *Staphylococcus aureus* ATTC25923:

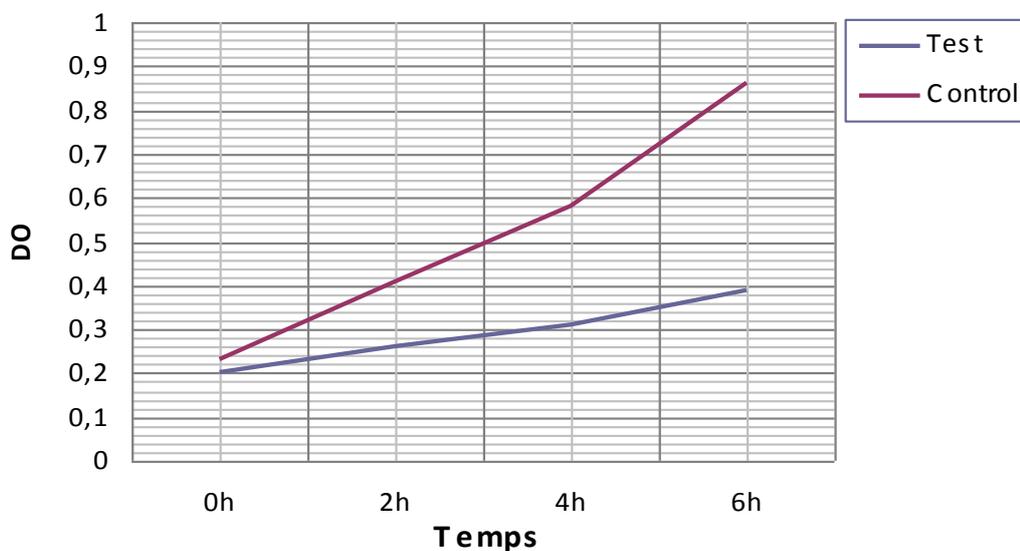


Figure 4.30 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du contrôle pour la souche *Staphylococcus aureus*.

% Inhibition de *Staphylococcus aureus* = 54.46%

➤ Pourcentages d'inhibition de *Staphylococcus epidermidis* ATTC1228:

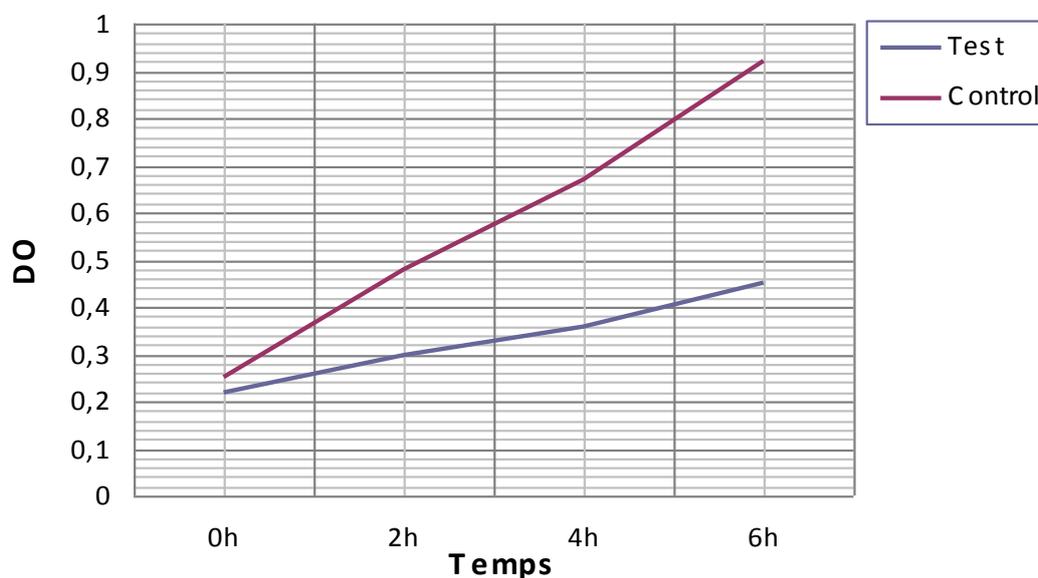


Figure 4.31 : Évolution de la turbidité en fonction du temps du test antibactérien et du contrôle pour la souche *Staphylococcus epidermidis*.

% Inhibition de *Staphylococcus epidermidis* = 51.08%

D'après les figures 4.28 ; 4.29 ; 4.30 ; 4.31. On constate que le gel d'*Aloe vera* L. possède un pouvoir anti-bactérien pour les quatre souches testées en milieu liquide. Cependant les pourcentages d'inhibition sont variables d'une bactérie à une autre, 32.75% pour *Escherichia coli*, 34.95% pour *Pseudomonas aeruginosa*, 54.46% pour *Staphylococcus aureus* et 51.08% pour *Staphylococcus epidermidis*.

On déduit que le gel d'*Aloe vera* L. est doté d'un puissant effet antibactérien vis-à-vis les bactéries Gram +, les plus rencontrées dans les infections cutanées *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* avec des pourcentages d'inhibition supérieurs à 50, tandis que son effet est modéré contre les bactéries Gram -.

L'activité antibactérienne du gel d'*Aloe vera* L. est probablement liée à la présence des différents constituants, notamment les tanins et l'Acemannane (polysaccharide) [51, .

Une étude similaire a été réalisée par Jia, 2008[93], sur l'extrait de la feuille entière l'espèce *Aloe ferox* M. et *Aloe arborescens* M. testés sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*. Cette étude indique que les extraits des feuilles entières des deux espèces ont stoppé complètement la croissance bactérienne après 6 heures d'incubation. Ce ci est lié à la richesse de l'extrait de la feuille entière (pulpe et écorce) par rapport à la pulpe uniquement (gel) du genre *Aloe* en composés phénoliques dont l'action antiseptique est démontrée [93].

4.5.1.2. Détermination de l'activité hémostatique:

Les résultats de l'activité hémostatiques sont récapitulés dans le tableau 4.12:

Tableau 4.12 : Résultats de l'activité hémostatique du gel d'*Aloe vera* L.

	Temps de coagulation (min)					
	100µl		200µl		300µl	
Contrôle	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
Eau distillée	18	17.5	---	---	---	---
Extrait <i>Aloe vera</i> L.	12.5	13	24	24	---	---

Selon les résultats obtenus ; On constate que le temps de coagulation enregistré pour les tubes contenant l'extrait d'*Aloe vera* L. est remarquablement inférieur à celui des tubes dans lesquels on a ajouté l'eau distillée. Pour une dose de 100µl nous avons noté un temps entre 12.5 et 13 min (*Aloe vera* L.) par rapport à 17.5 min et 18 min (Eau distillée).

Cependant, pour une dose de 200 µl. La formation d'un coagulât est enregistrée après 24 min dans le tube qui contient l'extrait d'*Aloe vera* L, contrairement aux tubes (Eau distillée) où la coagulation n'a pas pu être enregistrée dans les 30 min de l'expérience. Ces résultats paraissent satisfaisants, et concordent avec l'effet hémostatique cité dans plusieurs ouvrages [5,15, 31].

Néanmoins, la comparaison des temps de coagulation de l'extrait d'*Aloe vera* L. par rapport au contrôle indique que ce dernier ne réduit pas la durée de formation d'un coagulât (10.5 min). En absence de travaux scientifiques antérieurs sur cet effet, nous n'avons pas pu exploiter ces données.

Nous ne pouvons donc pas conclure que le gel d'*Aloe vera* L. a un effet hémostatique. Pourtant certaines substances comme le calcium et les tanins présents dans ce dernier avec des taux assez importants, possèdent la propriété de coaguler le sang, de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins, d'augmenter leur résistance [41, 52]. Ces propriétés, en faveur du renforcement des vaisseaux et capillaires contribueraient à l'efficacité du gel en cas d'hémorragie.

Cette étude demande à être confirmée par d'autres travaux.

4.5.2. Les tests biologiques *in vivo* :

4.5.2.1. Détermination de l'activité anti-inflammatoire :

Les résultats obtenus par le test de l'activité anti-inflammatoire du gel d'*Aloe vera* L. sont récapitulés dans le tableau 4.13 :

Tableau 4.13 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire du gel d'*Aloe vera* L.

	Oreille droite traitée (g)	Oreille gauche non traitée (g)	% d'inhibition d'œdème
Lot E: gel <i>Aloe vera</i> L.	0.0058	0.0092	36.95
	0.0062	0.0111	44.14
	0.0074	0.0150	50.66
	0.0075	0.0136	44.85
	0.0054	0.0086	37.20
	Moyenne des pourcentages d'inhibition de l'inflammation		42.76
Lot T+ : Indométacine[®]	0.0082	0.0142	42.45
	0.0062	0.0115	45.21
	0.0072	0.0137	47.44
	0.0062	0.0130	52.30
	0.0062	0.0123	49.59
	Moyenne des pourcentages d'inhibition de l'inflammation		47.39

On constate que les deux extraits testés ont provoqué une réduction de l'inflammation, cette réduction se traduit par une inhibition de la formation d'œdème au niveau de l'oreille de souris traitée par rapport au contrôle (non traitée). Le calcul de pourcentage de réduction d'œdème révèle un taux de **42.76%** pour le lot traité par le gel d'*Aloe vera* L., et un taux de **47.39%** pour le lot traité par le produit de référence (Indométacine[®]) dont l'action anti-inflammatoire est déjà prouvée.

D'après ces données, on déduit que le gel d'*Aloe vera* L. possède un effet anti-inflammatoire très prononcé et avec un pourcentage de réduction d'œdème proche de celui de l'Indométacine[®]. Le test de Student (Appendice E) révèle l'absence de différence significative entre l'effet de l'extrait testé et celui du produit de référence. Cela prouve que le gel d'*Aloe vera* L. est un très bon anti-inflammatoire dont l'efficacité est comparable à des produits anti-inflammatoires commercialisés.

Des résultats similaires ont été obtenus par David, (1989) [105]. Il confirme que l'application topique de l'extrait du gel d'*Aloe vera* L. (Américainne) réduit l'inflammation provoquée par l'huile de croton sur l'oreille de souris et avec un taux de 47%. Vázquez, 1996 [106] dans son étude, note également que l'administration par voie orale du gel d'*Aloe vera* L. cultivée au Mexique, provoque un effet anti-inflammatoire sur l'œdème provoqué par la carraghénine sur la pâte de souris.

L'effet anti- inflammatoire du gel d'*Aloe vera* L. est probablement lié à sa composition en saponosides et sa richesse en polysaccharides notamment l'acemannane. De nombreux travaux ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire des polysaccharides [55, 107]. Dans une étude récente, Silva, 2010[108] rapporte qu'un polysaccharide extrait à partir des fruits *Arecastrum romanzoffianum*, possède un excellent pouvoir anti-inflammatoire.

4.5.2.2. Evaluation de la tolérance cutanée :

- Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée I.P.C.:

Les valeurs numériques de cotation des lésions érythémateuses et œdémateuses traitées par le gel d'*Aloe vera* L. sont représentées dans le tableau 4.14.

Tableau 4.14 : Valeurs numériques des lésions provoquées sur les lapins.

Lapin		Jour 1		Jour 3	
		Œdème	Erythème	Œdème	Erythème
1	Z.S.	0	0	0	0
	Z.N.S.	0	0	0	0
2	Z.S.	0	1	0	0
	Z.N.S.	0	0	0	0
3	Z.S.	0	1	0	0
	Z.N.S.	0	0	0	0
4	Z.S.	0	0	0	0
	Z.N.S.	0	0	0	0
5	Z.S.	0	1	0	0
	Z.N.S.	0	0	0	0
6	Z.S.	0	0	0	0
	Z.N.S.	0	0	0	0

Z.S. : Zone scarifiée ; Z.N.S. : Zone non scarifiée.

L'irritation cutanée est l'un des problèmes associés à l'application topique d'un extrait végétal. Pour cette raison nous avons procédé au calcul de l'indice d'irritation primaire du gel d'*Aloe vera* L. avant d'entamer l'étude de son effet cicatrisant.

Après l'application de 1 ml de gel d'*Aloe vera* L. sur la peau saine (non scarifiée) et la peau endommagée (scarifiée), aucun signe grave d'irritation n'est observé, à l'exception d'un léger érythème développé le premier jour d'application sur la peau endommagée de trois lapins. Dans une étude semblable menée par Rayan *et al*, 2007[109]. L'extrait d'*Aloe ferox* M. a provoqué après trois jours d'application, un léger érythème sur la peau scarifiée d'un seul lapin sur six. Nos résultats s'avèrent être similaires. Ils sont confirmés par le calcul de la moyenne générale des valeurs numériques de cotation afin de déterminer la l'indice d'irritation primaire.

L'I.P.C. calculé dans notre étude est égale à 0.125.

D'après la valeur d'I.P.C. obtenue, on déduit que le gel d'*Aloe vera* L. est classé en non irritant selon les normes conventionnelles établies par DRAIZE. En conséquence l'extrait d'*Aloe vera* L. peut être utilisé dans les traitements topiques.

4.5.2.3. Détermination de l'activité cicatrisante:

4.5.2.3.1. Test de cicatrisation des scarifications (plaies superficielles) :

Les résultats du suivi de l'évolution du processus de cicatrisation, selon l'échelle de cotation de POURRAT [53] sont récapitulés dans le tableau 4.15:

Tableau 4.15 : Scores de l'évolution du processus de cicatrisation des scarifications chez les lapins.

Produit testé		Jour 1	Jour 4	Jour 8
Lot E : Gel frais d' <i>Aloe vera</i> L.	Lapin 1	09	05	00
	Lapin 2	11	06	02
	Lapin 3	09	06	02
Lot C : Eau physiologique	Lapin 4	11	07	05
	Lapin 5	09	07	04
	Lapin 6	10	08	06

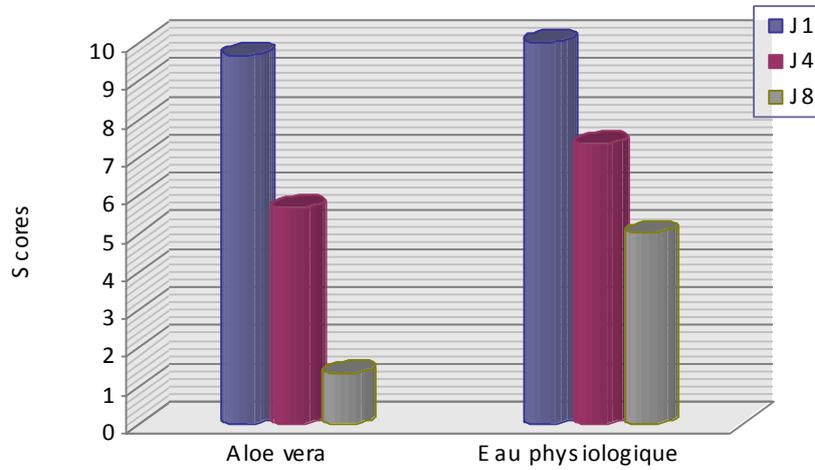


Figure 4.32 : Scores d'évolution du processus de cicatrisation selon l'échelle de cotation de **POURRAT**.

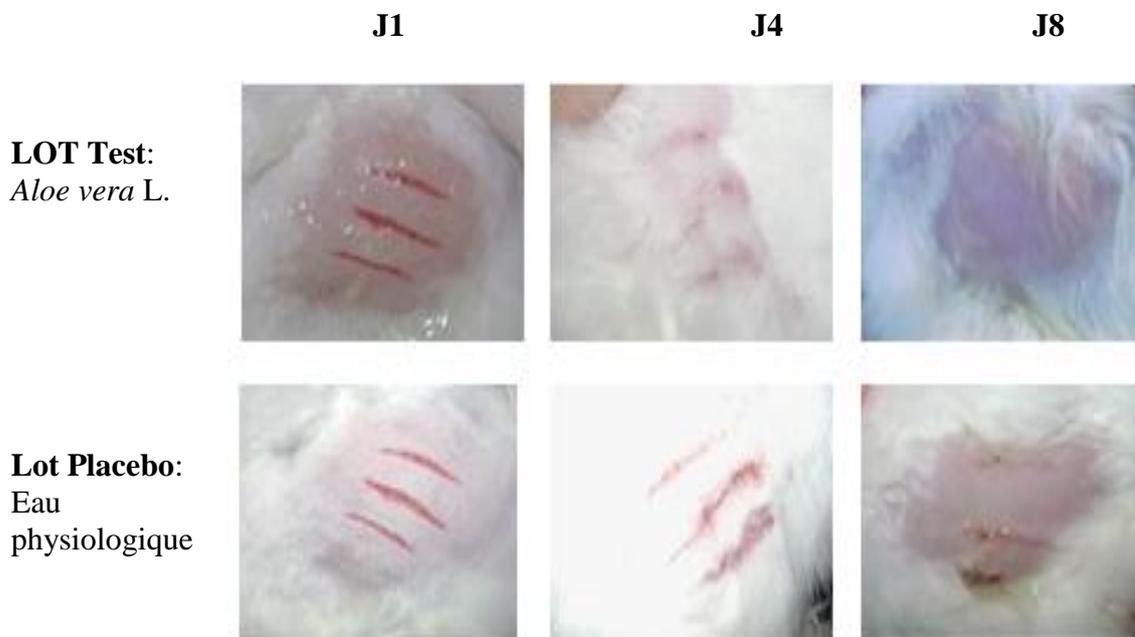


Figure 4.33: Évolution du processus de cicatrisation des plaies superficielles (scarifications) (Original, 2009).

Le suivi de l'évolution du processus de cicatrisation selon l'échelle de cotation de POURRAT (Figure 4.32), montre que les scores obtenus en 1er jour d'application pour le lot traité par l'*Aloe vera* L. ne diffèrent pas de ceux enregistrés pour le lot placebo (eau distillée). Cependant une légère variation commence à partir du 4ème jour et devient très importante le 8ème jour de traitement, où on constate que le lot traité par le gel d'*Aloe vera* L. enregistre des scores presque nuls.

Les premières constatations retirées à partir des figures 4.32 et 4.33 sont :

Le 1^{er} jour : L'examen macroscopique révèle la présence, de plaies profondes avec un début d'apparition d'œdèmes plus ou moins graves pour les deux lots. Le test statistique de Student (Appendice E) prouve l'absence de différence significative entre l'état des plaies dans les deux lots (essai et placebo).

Le 4^{ème} jour : Le test de Student (Appendice E), dévoile l'existence d'une différence significative dans l'évolution de la cicatrisation entre les deux lots. Ce résultat est clairement visible par l'examen macroscopique des plaies. Ainsi nous avons constaté que les plaies traitées par le gel d'*Aloe vera* L. ont développé une légère croûte qui commence à se décoller avec une absence totale d'œdème, contrairement à celles traitées par l'eau physiologique sur lesquelles on remarque l'apparition d'une croûte très épaisse et granuleuse avec un œdème assez grave.

Le 8^{ème} jour : Nous avons remarqué que les flancs traités par l'extrait testé, présentent une peau lisse et nette avec une fermeture totale de la plaie ou une cicatrice peu visible, tandis que le lot placebo présente des plaies avec des contours distincts, clairement visible et une croûte épaisse qui n'est pas encore détachée ; Le test de Student (Appendice E) confirme la différence dans l'évolution de la cicatrice entre les deux lots.

D'après le test ANOVA (Appendice E), les scarifications traitées par le gel d'*Aloe vera* L. présentent une évolution très significative dans le processus de la cicatrisation entre le 1^{er}, 4^{ème} et le 8^{ème} jour, contrairement à l'eau distillée.

On déduit donc que l'extrait testé possède un bon pouvoir cicatrisant sur les plaies superficielles (scarifications).

4.5.2.3.2. Test de cicatrisation des incisions (plaies profondes):

Les résultats obtenus du suivi de l'évolution du processus de cicatrisation des incisions, selon l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen (BWAT) [93], sont récapitulés dans le tableau 4.16 :

Tableau 4.16: Scores de l'évolution du processus de cicatrisation des incisions chez les lapins.

Produit testé		Jour 1	Jour 4	Jour 8
Lot E : Gel frais <i>d'Aloe vera</i>	Lapin 1	24	14	09
	Lapin 2	22	13	09
	Lapin 3	21	11	08
Lot T+ : Madécassol [®]	Lapin 4	23	13	08
	Lapin 5	22	14	11
	Lapin 6	26	15	10
Lot C : Eau physiologique	Lapin 7	30	24	20
	Lapin 8	29	22	19
	Lapin 9	29	20	17

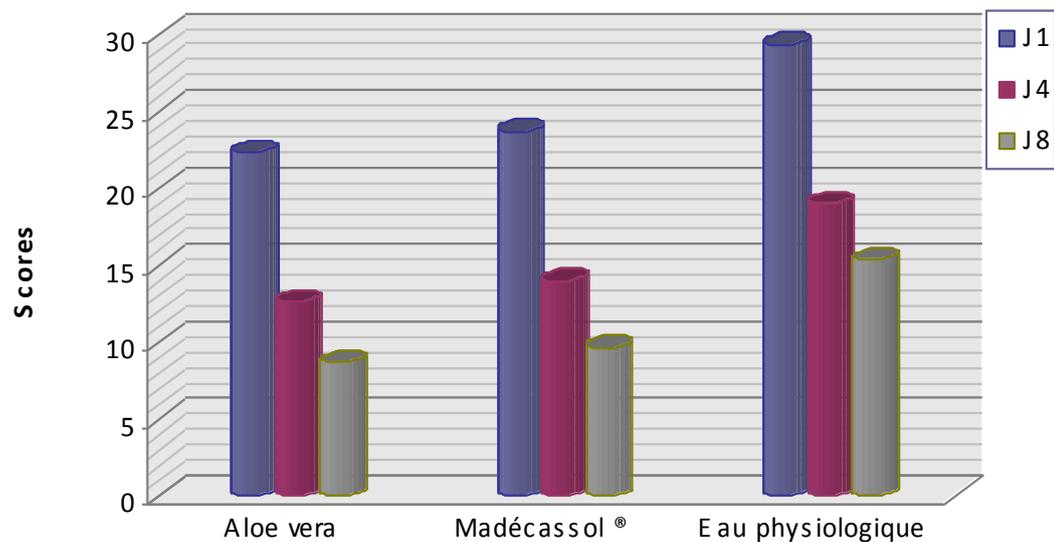


Figure 4.34 : Scores de l'évolution de la cicatrisation selon l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen (BWAT, Bates–Jensen Wound Assessment Tool).

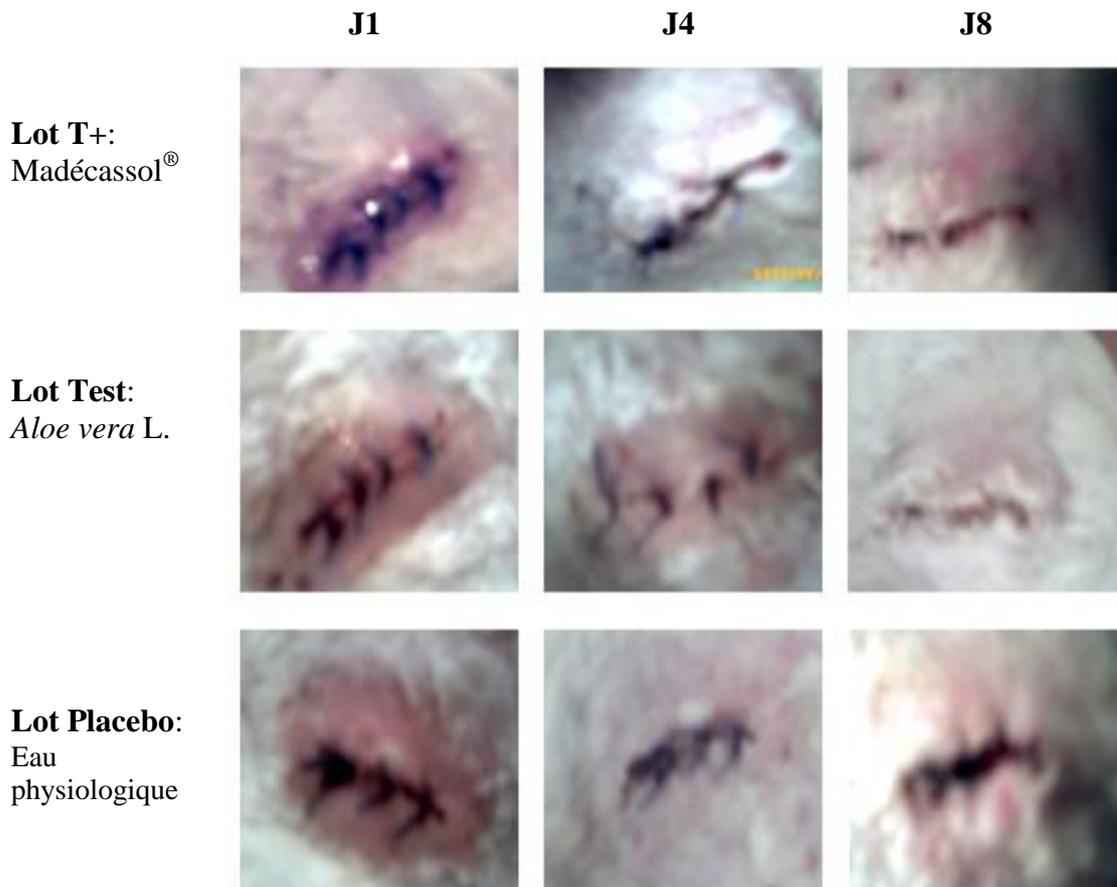


Figure 4.35 : Évolution du processus de cicatrisation des plaies profondes (incisions)
(Original, 2009).

Dans le modèle de lapins sur le quel l'effet cicatrisant a été étudié sur des incisions linéaires ; Le test ANOVA (Appendice E) a révélé la présence d'une différence significative entre les scores obtenus par l'outil d'évaluation de blessure de Bates-Jensen des trois lots pour le 1^{er}, 4^{ème} et le 8^{ème} jour.

Selon les figures 4.34 et 4.35, on constate que l'état de la cicatrice dans les lots traités par le gel d'*Aloe vera* L. et Madécassol®, affiche une très bonne évolution dès le 1er jour post-opératoire et avec une vitesse de guérison très importante le 4ème et le 8ème jour par rapport au lot placebo traité par l'eau physiologique.

L'effet du gel d'*Aloe vera* L. et du Madécassol[®] (Hydrocotyle) présenté sous forme de scores selon l'outil d'évaluation de blessure de Bates -Jensen (BWAT) pour le jour 1, 4 et 8 est presque identique (absence de différence significative selon le test de Student). Il est remarquablement inférieur aux scores du groupe placebo.

En outre, aucun symptôme d'exsudat sanglant ni de gonflement grave n'a été observé sur les incisions avec une évolution de la cicatrisation qui s'affiche clairement meilleure sur les groupes traités par le gel testé et le produit de référence par rapport au groupe placebo dans lequel les plaies sont caractérisées par la présence de signes de retard de guérison (un léger saignement, un œdème important et croûte granuleuse et épaisse).

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Jia, 2008 [93] pour l'espèce *Aloe arborescens* L. cultivée en Chine, indiquant qu'elle est dotée d'un excellent pouvoir cicatrisant vis-à-vis les plaies post-opératoires.

On déduit donc que le gel d'*Aloe vera* L. est un très bon cicatrisant pour les plaies profondes ayant un effet meilleur ou comparable au Madécassol[®].

4.5.2.3.3. Test de cicatrisation des brûlures :

Les résultats du calcul des surfaces obtenus par le suivi de la contraction des zones brûlées sont présentés dans le tableau 4.17 et la figure 4.36:

Tableau 4.17 : Surface des zones brûlées (mm²) le 1er 2ème et 8ème jour.

Produit testé		Jour 1 S (mm ²)	Jour 4 S (mm ²)	Jour 8 S (mm ²)
Lot E : Gel frais d' <i>Aloe vera</i>	Lapin 1	314	78.50	28.26
	Lapin 2	314	113.04	63.58
	Lapin 3	314	94.98	50.24
Lot T+ : Flammazine [®]	Lapin 4	314	153.86	78.50
	Lapin 5	314	113.04	94.98
	Lapin 6	314	176.62	132.66
Lot C : Eau physiologique	Lapin 7	314	200.96	176.62
	Lapin 8	314	226.86	113.04
	Lapin 9	314	254.34	153.86

S (mm²) : surface en millimètre carré.

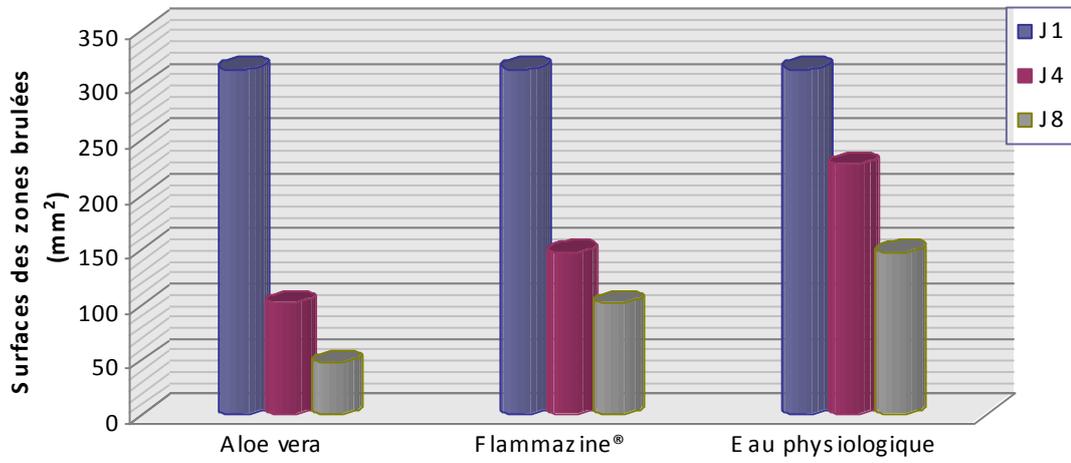


Figure 4.36 : Surfaces des zones brûlées (mm²).

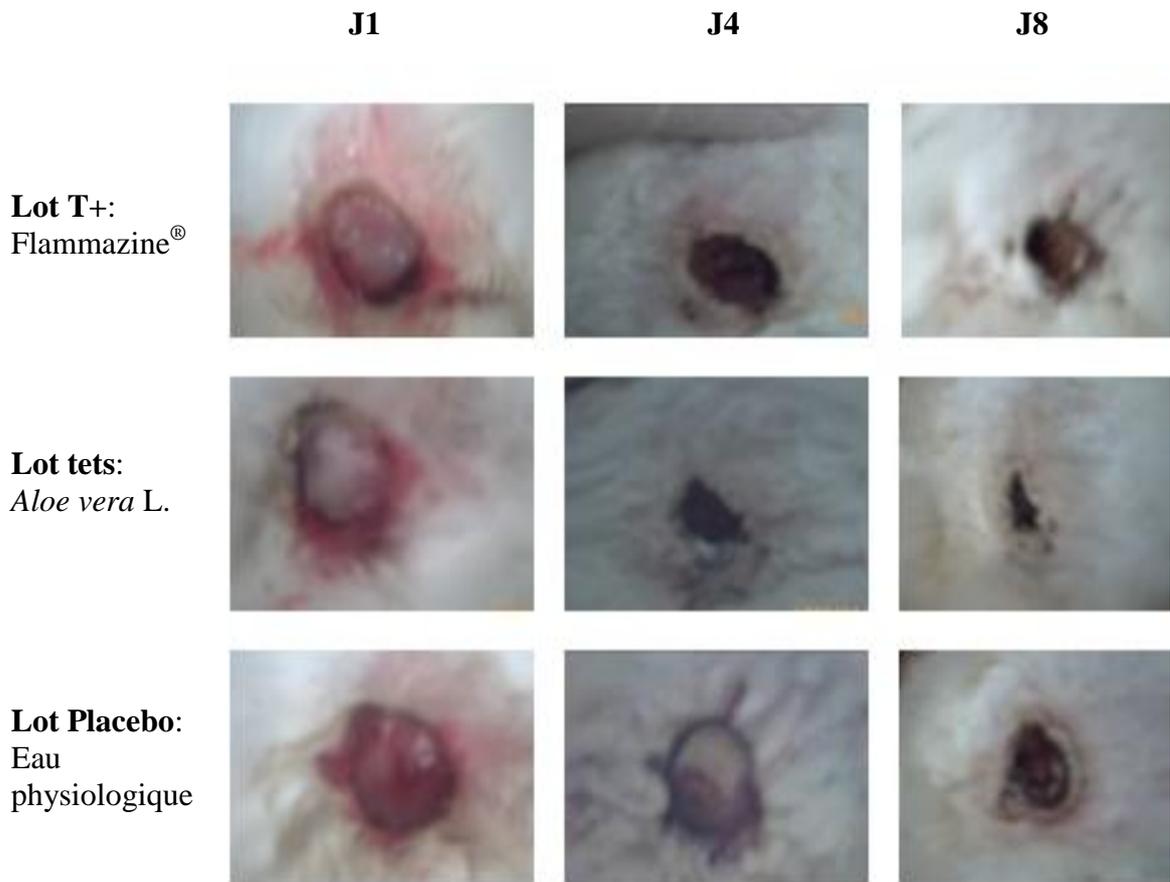


Figure 4.37 : Évolution du processus de cicatrisation des brûlures (Original, 2009).

D'après les figures 4.36 et 4.37, on remarque que la réduction des surfaces des plaies après 4 jours de traitement avec le gel d'*Aloe vera* L. et Flammazine® (le Sulfadiazine argentique) est beaucoup plus importante que celle du lot placebo, on constate également que ce dernier a développé des oedèmes très graves contrairement aux précédentes.

Après 8 jours de traitement, on constate que les plaies traitées par le gel d'*Aloe vera* L. sont presque fermées par rapport à celles qui sont traitées par le Flammazine® et l'eau physiologique.

Les résultats obtenus par le calcul des taux de réduction des surfaces des plaies, pour chaque groupe sont présentés dans le tableau 4.18 et la figure 4.38 suivant :

Tableau 4.18 : Taux de contraction des surfaces des plaies traitées par le gel d'*Aloe vera* L., Sulfadiazine argentique et l'eau physiologique.

Produit testé	% de réduction J4	% de réduction J8
<i>Aloe vera</i> L.	69.59%	84.91%
Flammazine®	52.91%	67.50%
Eau physiologique	27.59%	52.91%

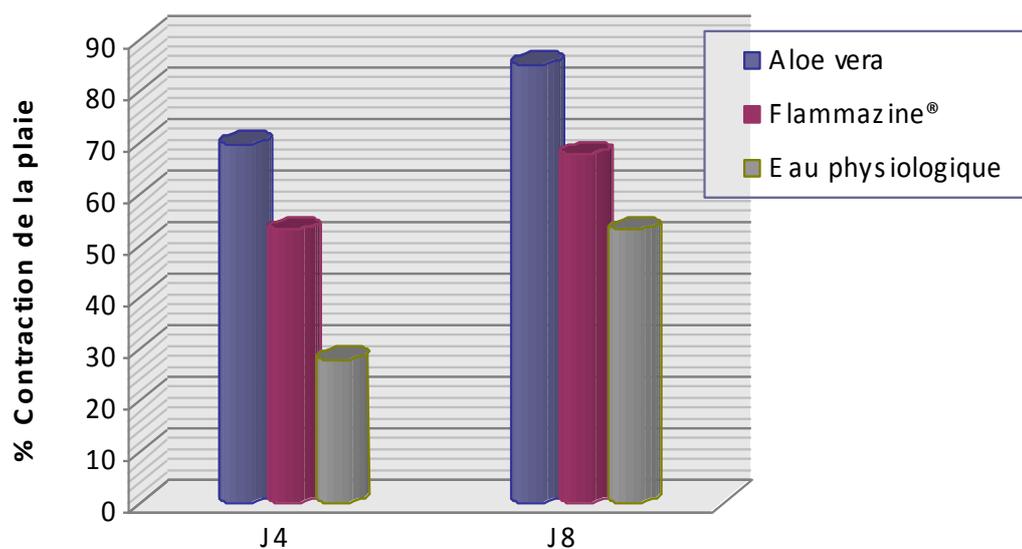


Figure 4.38 : Pourcentage de contraction des zones brûlées.

D'après la figure 4.38 et le tableau 4.18, on constate que le groupe traité par le gel d'*Aloe vera* L. présente une réduction de surface assez élevée pour le 4^{ème} et le 8^{ème} avec des taux de 69.59% et 84.91% respectivement par rapport aux : produit de référence qui se classe en deuxième position avec des taux de 52.91% pour le 4^{ème} jour et 67.50% au 8^{ème} jour et à l'eau physiologique qui présente des taux très réduits (J4 : 27.59%, J8 : 52.91%).

Le test ANOVA (Appendice E) révèle la présence d'une différence significative entre les taux de contraction des plaies des trois lots pour le 4^{ème} et le 8^{ème} jour. Cependant le test de Student (Appendice E) comparatif entre le lot traité par le gel d'*Aloe vera* L. et le lot traité par la sulfadiazine argentine (Flammazine[®]) a prouvé l'effet similaire des deux substances.

On déduit donc que le gel d'*Aloe vera* L. est doté effectivement d'un puissant pouvoir de cicatrisation pour les brûlures dont l'efficacité est meilleure que celle du Flammazine[®].

Les résultats obtenus par l'étude de l'activité cicatrisante indiquent que le gel d'*Aloe vera* L. est capable d'accélérer la progression de la fermeture de la plaie et d'améliorer sa guérison. A ce jour, plus de 70 composés actifs ont été identifiés dans l'espèce *Aloe vera* L. [7]. Parmi ces composés les polysaccharides qui représentent la fraction majoritaire, ces derniers sont connus pour avoir la propriété effective dans la réparation des plaies [36], grâce à leur capacité de promouvoir une cascade d'activités biologiques, y compris la fonction réticuloendothéliale et la modulation des réponses immunitaires [55]. Chacune de ces réponses biologiques a son propre avantage dans la cicatrisation. Néanmoins, il est concevable qu'il puisse y avoir une action synergique entre ces polysaccharides et les autres composés bioactifs présents dans le gel d'*Aloe vera* L. (saponosides, tanins, minéraux) dans certaines des activités observées.

Les données de notre étude montrent que le gel d'*Aloe vera* L. a des effets positifs sur la cicatrisation, l'action antimicrobienne, l'action anti-inflammatoire et la réponse d'irritation cutanée. Ces résultats fournissent la preuve principale de la propriété médicinale de l'*Aloe vera* L. pour le traitement topique des lésions cutanées. Toutefois, d'autres essais cliniques sur de telles demandes sont nécessaires.

CONCLUSION

L'objet de notre travail a porté sur l'étude phytochimique bactériologique et pharmacologique de l'espèce médicinale *Aloe vera* L. ou *Aloe barbadensis* M., utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies et en particulier les dermatoses et les plaies, ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne, anti-inflammatoire, hémostatique et cicatrisante du gel extrait à partir de ces feuilles.

Au cours de nos travaux, nous avons réalisé un screening phytochimique grâce à l'utilisation de différents tests et techniques permettant la mise en évidence et le dosage des différents groupes chimiques présents dans le gel.

Les tests phytochimiques ont mis en évidence la présence des oses, holosides, mucilage, tanins et saponosides avec une absence totale des alcaloïdes, amidon et flavonoïdes.

De plus, le screening phytochimique a dévoilé la richesse du gel d'*Aloe vera* L. en eau qui représente la partie majoritaire avec un taux de 99.32%.

L'étude chimique a permis aussi l'identification qualitative et quantitative de plus de 82% des différents groupes chimiques présents dans la matière sèche ou la poudre obtenue par lyophilisation du gel d'*Aloe vera* L. Cette dernière est composée essentiellement des glucides avec un taux de 59.78 % suivis par les cendres qui représentent 18.68% et les polyphénols représentés dans le gel uniquement par les tanins avec un taux de 4 % de la matière sèche.

L'utilisation de techniques chromatographiques a permis de caractériser les deux composés majoritaires de la matière sèche (glucides et cendres).

La chromatographie ionique a permis de connaître la composition en éléments minéraux tels que le calcium avec un taux de 46%, le magnésium 18%, le sodium 7%, le potassium 7% et le sulfate 5%.

Cependant la chromatographie sur couche mince nous a révélé la composition en monomère des polysaccharides et des sucres libres présents dans le gel d'*Aloe vera* L. En effet, la séparation des monomères du polysaccharide après hydrolyse acide a dévoilé une structure très riche en mannose avec une présence réduite du glucose, il s'agit donc d'un glucomannane appelé également acémannane [83]. En outre la séparation des sucres libres du gel d'*Aloe vera* L. a révélé la présence de quatre composés (sucres) dont l'un d'entre eux correspond au glucose.

Dans la partie biologique de notre travail, nous avons étudié l'activité antibactérienne hémostatique, anti-inflammatoire et cicatrisante du gel d'*Aloe vera* L. avec la détermination de son indice d'irritation primaire.

L'étude de l'activité antibactérienne testée sur les quatre souches les plus rencontrées dans les infections cutanées a montré que le gel d'*Aloe vera* L. est doté d'un bon pouvoir de réduction de croissance bactérienne dans un milieu liquide, avec un taux d'inhibition de 32.75 % pour *Escherichia coli*, 34.95 % pour *Pseudomonas aeruginosa*, 54.46% pour *Staphylococcus aureus* et 51.08% pour *Staphylococcus epidermidis*.

L'effet hémostatique n'a pas été très prononcé dans notre étude ; Cependant le pouvoir anti-inflammatoire s'est révélé très puissant et similaire à l'Indométacine[®]. En outre, l'évaluation de l'effet cicatrisant du gel d'*Aloe vera* L. a présenté un excellent pouvoir cicatrisant sur les plaies superficielles, les incisions et même sur les brûlures, donnant des résultats meilleurs que ceux des produits commercialisés tel que Madécassol[®] et Flammazine[®], et sans aucun effet irritant.

Ainsi les activités anti-bactériennes, anti-inflammatoires et cicatrisantes positives avec le gel d'*Aloe vera* L, apportent des éléments de validation scientifique et justifient son utilisation traditionnelle sur les dermatoses et en particulier sur les plaies et les brûlures.

A la suite de ces résultats, il serait intéressant de mener des études plus approfondies sur les fractions du gel d'*Aloe vera* L. démontrant les activités : antibactérienne, anti-inflammatoire et cicatrisante, en vue d'identifier l'espèce chimique ou les composés responsables de ces activités.

APPENDICE A

Liste des abréviations :

Ca	: Calcium
CCM	: Chromatographie couche mince
CI	: Chromatographie ionique
Cl	: Chlore
CT	: Coupe transversale
Cu	: Cuivre
DO	: Densité optique
Fe	: Fer
FCR	: Réactif de Folin Ciocalteu
G X	: Grossissement
HCl	: Acide Chloridrique
H ₂ SO ₄	: Acide Sulfurique
I.P.C.	: Indice d'irritation primaire cutanée
J	: Jour
K	: Potassium
L.	: Linné
M	: Mètre
M.E.B.	: Microscope électronique à balayage
Mg	: Magnésium
MP	: Microscope photonique
Na	: Sodium
NaOH	: Hydroxyde de sodium
O.M.S.	: Organisation mondiale de la santé
P	: Phosphore
Pb	: Plomb
R.I.A.	: Résidus insolubles dans l'alcool

R.S.A.	: Résidus solubles dans l'alcool
Trpm	: Tours par minute
UV	: Ultraviolet
Z.I	: Zone d'inhibition
Z.N.S	: Zone non scarifiée
Z.S	: Zone scarifiée
cm	: Centimètre
g	: Gramme
h	: Heure
kg	: Kilogramme
l	: Litre
mg	: Milligramme
min	: Minute
ml	: Millilitre
mmHg	: Millimètre de mercure
nm	: Nanomètre
μl	: Microlitre
°	: Degré
°C	: Degré Celsius
%	: Pourcentage

APPENDICE B

Matériel non biologique :

Liste des appareillages :

- Balance de précision
- Etuve ventilée
- Plaque chauffante
- Bain marie
- Congélateur
- Lyophilisateur
- Hotte chimique
- Porte plaque
- Autoclave
- Etuve bactériologique
- Bec benzène
- Loupe binoculaire avec caméra
- Microscope photonique avec caméra
- Chromatographie ionique
- PH mètre
- Plaque CCM
- Spectrophotomètre UV – Vis (SHIMADZU UV- 1601)
- Vortex
- Centrifugeuse de paillasse
- Four à moufle (Muve MF120)
- Tige métallique
- Plaque chaffante
- mixeur
- Tondeuse

Liste de la verrerie :

- Béchers : 100 cc ,400 cc, 500 cc
- Erléne Meyer 100 cc, 250 cc, 500 cc
- Ballons
- Tube à essai
- Pipettes graduées
- Entonnoirs
- Cuve à CCM

Liste du petit matériel et consommable :

- Micropipette
- Pincés
- Scalpels
- Aiguille et fil chirurgical
- Creuset en platine
- Anse De Platine
- Portoirs
- Lames En Verre
- Lamelles
- Ecouvillons Stériles
- Boite De Pétri
- Disques D'antibiogramme Stériles
- Pipettes Pasteurs
- Tubes A Essai
- Tube sec
- Seringue
- Papier filtre
- Pied à coulisse

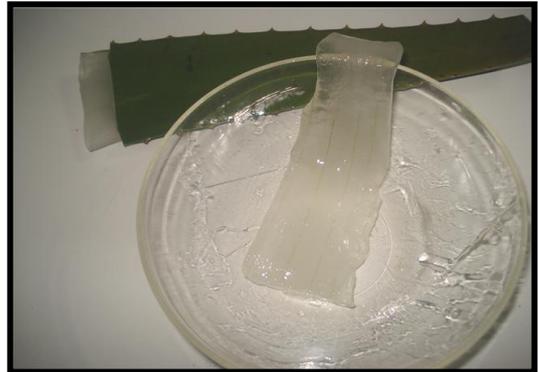
Liste des réactifs :

- Eau de Javel à 12°
- Acide acétique
- Vert de méthyle
- Rouge Congo

- Acide chlorhydrique
- Eau déminéralisée
- Acide sulfurique
- Iode
- Ethanol
- Méthanol
- Eau distillée
- Anthrone
- Solution de chlorure d'aluminium à 2% dans l'alcool à 95°.
- Solution aqueuse de chlorure ferrique aqueux à 1%.
- Solution de potasse alcoolique à 5%.
- Réactif de Dragendorff : ce réactif est composé de deux solutions :
 - Solution A : 2 g de subnitrate de bismuth, 25 ml d'acide acétique glacial et 100ml d'eau distillée.
 - Solution B : 40 g de iodure de potassium et 100ml d'eau.
- Réactif de Fehling
- Réactif de Folin Ciocalteu (FCR)
- Solution de carbonate de sodium
- Solution physiologique à (0,9% Na Cl)
- Gélose nutritive (GN)
- Gélose Mueller Hinton (GMH)
- Gélose de Dextrose de Sabouraud (GDS)
- Bouillon nutritif (BN)
- Acétone
- Huile de croton
- Calmivet[®] (Acepromazine 0.5%)
- Xylocaïne
- Flammazine[®] (Sulfadiazine argentique)
- Madécassol[®] (Hydrocotyle 1%).

APPENDICE C

Extraction et lyophilisation du gel d'*Aloe vera* L.



Extraction de la pulpe d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)



Lyophilisation du gel d'*Aloe vera* L. (Original, 2008)

APPENDICE D

Courbe d'étalonnage

Les résultats des absorbances obtenus pour la courbe d'étalonnage de mannose :

Concentration en mannose ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
1000	0.833
800	0.721
600	0.713
400	0.523
300	0.470
200	0.401
100	0.348

Les résultats des absorbances obtenus pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

Concentration en acide gallique ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
100	0.142
75	0.124
60	0.108
50	0.102
25	0.086
12.5	0.078
06.25	0.073
03.125	0.071

Dosage des cations par chromatographie ionique.

Peak Name	Ret.Time (detected)	Type	Amount	Rel.Area	Height
	min			%	µS
Sodium	3,97	BMB	0,1434	7,83	6,010
Potassium	5,41	BMB	0,1426	17,01	10,445
Magnesium	8,26	BM	0,3367	12,72	3,715
Calcium	10,02	MB	0,8747	62,43	14,619

Dosage des anions par chromatographie ionique.

Peak Name	Ret.Time (detected)	Type	Amount	Rel.Area	Height
	min			%	µS
Chloride	3,01	BM	12,8418	99,27	817,722
Sulfate	3,93	MB	0,0970	0,60	3,869

APPENDICE E

Étude statistique :

1. Activité anti-inflammatoire :

Statistiques descriptives :

	Oreille droite traitée (g)	Oreille gauche non traitée (g)	% d'inhibition d'œdème
Lot n° 1 :	0.0058	0.0092	36.95
	0.0062	0.0111	44.14
gel Aloe vera	0.0074	0.0150	50.66
	0.0075	0.0136	44.85
	0.0054	0.0086	37.20
M ± ES			42.76 ± 2.31
Ecart type			5.77391115
Variance			33,33805
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[36,95, 50,66]
Lot n° 2 :	0.0082	0.0142	42.45
	0.0062	0.0115	45.21
Indométacine	0.0072	0.0137	47.44
	0.0062	0.0130	52.30
	0.0062	0.0123	49.59
M ± ES			47.398 ± 1.52
Ecart type			3.81137377
Variance			14.52657
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[42.45, 52.3]

Test de student d'homogénéité des pourcentages d'inhibition d'œdème pour les lots Aloe vera et Indométacine :

T calculé	ddl	α	T de Student
1.498	8	0.05	2.306

2. Activité cicatrisante :

Plaies superficielles :

Test de student d'homogénéité des scores pour les lots *Aloe vera* et placebo :

	T calculé	Ddl	α	T de Student
Jour 1	0.44	4	0.05	2.776
Jour 4	3.54	4	0.05	2.776
Jour 8	4.21	4	0.05	2.776

Test ANOVA d'homogénéité des scores pour le J1, J4 et J8 du lot traité par *Aloe vera* :

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergroupes	104,222222	2	52,1111111	52,1111111	0,0001613	5,14325285
Intragroupes	6	6	1			
Total	110,222222	8				

2.2. Incisions linéaires :

Test ANOVA d'homogénéité des scores du jour 1 pour les lot *Aloe vera*, hydrocotyle et placebo:

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergroupes	82,8888889	2	41,4444444	17,7619048	0,00301691	5,14325285
Intragroupes	14	6	2,33333333			
Total	96,8888889	8				

Test ANOVA d'homogénéité des scores du jour 4 pour les lot *Aloe vera*, hydrocotyle et placebo:

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergroupes	152,888889	2	76,4444444	31,2727273	0,00067068	5,14325285
Intragroupes	14,6666667	6	2,44444444			
Total	167,555556	8				

Test ANOVA d'homogénéité des scores du jour 8 pour les lot *Aloe vera*, Hydrocotyle et Placebo:

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergroupes	182	2	91	54,6	0,00014129	5,14325285
Intragroupes	10	6	1,66666667			
Total	192	8				

Test de student d'homogénéité des scores pour les lots *Aloe vera* et Hydrocotyle :

	T calculé	Ddl	α	T de Student
Jour 1	0.898	4	0.05	2.776
Jour 4	1.278	4	0.05	2.776
Jour 8	1.066	4	0.05	2.776

2.3. Brûlures :

Statistiques descriptives :

➤ Jour 4 :

	Surface de la plaie J1 (mm²)	Surface de la plaie J4 (mm²)	% de contraction de la plaie J4
Lot Aloe vera	314	78.50	75
	314	133.04	58
	314	94.98	70
M ± ES			67.6666667 ± 4.12
Ecart type			8.73689495
Variance			76.333333
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[58, 75]
Lot Flammazine®	314	153.86	51
	314	113.04	64
	314	176.62	44
M ± ES			53 ± 4.78
Ecart type			10.1488916
Variance			103
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[44, 64]
Lot Eau physiologique	314	200.96	36
	314	226.86	28
	314	254.34	19
M ± ES			27.6666667 ± 4.01
Ecart type			8.50490055
Variance			72,33333333
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[19, 36]

➤ Jour 8 :

	Surface de la plaie J1 (mm²)	Surface de la plaie J8 (mm²)	% de contraction de la plaie J8
Lot Aloe vera	314	28.26	91
	314	63.58	80
	314	50.24	84
M ± ES			85 ± 2.62
Ecart type			5.56776436
Variance			31
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[80, 91]
Lot Flammazine®	314	78.50	75
	314	94.98	70
	314	132.66	58
M ± ES			67.666667 ± 4.12
Ecart type			8.73689495
Variance			76.33333333
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[58, 75]
Lot Eau physiologique	314	176.62	44
	314	113.04	64
	314	153.86	51
M ± ES			53 ± 4.78
Ecart type			10.1488916
Variance			103
Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne			[44, 64]

Test ANOVA d'homogénéité des surfaces des plaies du jour 4 pour les lot *Aloe vera*, Sulfadiazine argentique et Placebo:

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergruppes	24091,4955	2	12045,7477	14,2676517	0,00524402	5,14325285
Intragruppes	5065,61893	6	844,269822			
Total	29157,1144	8				

Test ANOVA d'homogénéité des surfaces des plaies du jour 8 pour les lot *Aloe vera*,
Sulfadiazine argentique et Placebo:

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergruppes	15183,8913	2	7591,94564	10,7096721	0,0104781	5,14325285
Intragruppes	4253,32107	6	708,886844			
Total	19437,2124	8				

Test ANOVA d'homogénéité des surfaces des plaies pour le J1, J4 et J8 du lot traité par
Aloe vera :

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergruppes	118971,928	2	59485,9639	162,15229	5,9939E-06	5,14325285
Intragruppes	2201,11467	6	366,852444			
Total	121173,042	8				

Test ANOVA d'homogénéité des surfaces des plaies pour le J1, J4 et J8 du lot traité par la
Sulfadiazine argentique:

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	Valeur critique pour F
Intergruppes	68136,2006	2	34068,1003	68,9012866	7,2636E-05	5,14325285
Intragruppes	2966,68773	6	494,447956			
Total	71102,8884	8				

Test de student d'homogénéité des surfaces des plaies pour les lots *Aloe vera*
et Sulfadiazine argentique:

	T calculé	Ddl	α	T de Student
Jour 4	1.854	4	0.05	2.776
Jour 8	2.870	4	0.05	2.776

APPENDICE F

Glossaire :

Acaule : Absence de tige apparente, ne présentant au-dessus du sol qu'une rosette de feuilles.

Analgésique/ Antalgique : Substance destiné à supprimer ou à atténuer la douleur.

Anti-inflammatoire : Substance utilisé dans le traitement local de l'inflammation ou le traitement général des maladies inflammatoires.

Antiseptique : Qui lutte contre les germes de la peau et des muqueuses.

Bactéricide : Qui tue les bactéries, qui les détruisent.

Bractée : Feuille située à la base (ou aisselle) d'un pédoncule de fleur ou d'inflorescence.

Capsule : Fruit sec déhiscent formé de carpelles soudés, à une ou plusieurs loges, s'ouvrant par deux ou plusieurs valves, ou par des pores.

Centripète : Dirigé vers le centre.

Cirrhose : Maladie du foie, souvent due à l'alcoolisme, caractérisée par une altération des cellules (hépatocytes), une sclérose et des nodules de régénération.

Eczémas : Dermatose d'origine immunoallergique très fréquente, caractérisée surtout par une rougeur, de fines vésicules, des squames ainsi que des démangeaisons.

Escarre : Nécrose de la peau et des tissus sous-jacents, formant une croûte noire puis un ulcère, survenant surtout chez les personnes alitées.

Étamine : Organe sexuel mâle contenu dans les fleurs. Chaque étamine se compose d'un pédoncule, ou filet, que surmonte une partie fertile, ou anthère, qui produira et répandra le

pollen. L'anthère forme généralement deux loges allongées, souvent jaunes. Les étamines peuvent être soudées entre elles par le filet ou par l'anthère.

Filet : Partie de l'étamine supportant l'anthère. Le filet est fixé au réceptacle ou soudé à la corolle.

Fongicide : Qui tue les champignons, qui les détruits.

Hémostatique : Substance capable d'arrêter les saignements et les hémorragies.

Herpès : Maladie infectieuse de la peau et des muqueuses d'origine virale due au virus *Herpes simplex* appelé aussi bouton de fièvre, contagieuse et récurrente, caractérisée par une éruption de vésicules.

Immunostimulante : Qui déclenche stimule et amplifie une réaction immunitaire qui assure les défenses de l'organisme.

Inflorescence : Disposition des fleurs sur une tige d'une plante.

Inflorescence indéfinie/ Grappe : Axe principal se termine par un bourgeon et s'allonge, en émettant latéralement des fleurs ou des axes secondaires portant des fleurs. Ce sont les fleurs de la base qui s'ouvrent les premières, les autres fleurs s'ouvrent successivement de la base vers le sommet.

Lancéolé : Organe végétal dont la forme rappelle celle d'un fer de lance.

Laxative : Une substance facilitant l'évacuation des selles, sans irritation locale ou générale, employée contre la constipation.

Mucilage : Substance gélatineuse (gel) se trouvant à l'intérieur des feuilles de certains végétaux dont la haute capacité d'absorption favorise la rétention de l'eau nécessaire à la survie de la plante.

Mycose : Infection provoquée par un champignon microscopique.

Œdème : Infiltration de liquide séreux dans le tissu conjonctif.

Ovaire : Partie inférieure creuse et renflée du pistil, contenant les ovules et où se forment les graines; l'ovaire peut être uniloculaire (un seul carpelle ou plusieurs carpelles soudés dont les cloisons internes ont avortées) ou pluriloculaire (plusieurs carpelles soudés par leurs parois) ; l'ovaire est surmonté du ou des styles et du ou des stigmates.

Périanthe : Enveloppe protectrice, constitué de deux verticilles : le calice, externe, aux pièces (sépalés) vertes, la corolle, interne, aux grandes pièces (pétales) diversement colorées. Chez les liliacées, sépalés et pétales se ressemblent beaucoup et prennent le nom de « tépalés ».

Phanérogame : Végétaux ayant les organes de fructification apparents dans la fleur.

Phytothérapie : étymologiquement le traitement par les plantes fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces. C'est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales ; On peut distinguer deux types de phytothérapie : Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes.

Pistil : Le verticille le plus interne de la fleur appelé aussi gynécée ; il est composé d'un ou de plusieurs carpelles contenant les ovules. Les carpelles peuvent être libres entre eux ou, au contraire, avoir leurs divers étages (ovaire, style ou stigmaté) plus ou moins soudés ou concrets.

Placentation axile : Mode de placentation des ovules végétaux où ceux-ci sont groupés autour de l'axe d'un ovaire à plusieurs loges.

Principe actif : Composant d'un médicament ou d'une plante doué d'un pouvoir thérapeutique.

Psoriasis : Maladie cutanée chronique caractérisée par l'éruption de plaques érythémato-squameuses (taches rouges couvertes de squames blanches).

Purgative : Se dit d'une substance à l'action laxative puissante, rapide et qui facilite l'évacuation du contenu de l'intestin.

Rejets : jeunes plantes se développent en plusieurs points de la plante mère par reproduction végétative et se détachent toutes seules deviennent rapidement des plantes indépendantes.

Stigmate : Partie terminale du pistil, souvent élargie et visqueuse, sur laquelle les grains de pollen sont retenus et amenés à germer.

Stipe : Tige ligneuse des plantes monocotylédones arborescentes (tige des palmiers).

Stomachique : Une plante qui favorise le bon fonctionnement de l'estomac.

Suc : Liquide organique susceptible d'être extrait des tissus végétaux.

Succulente : Plante charnue dont les tissus sont riches en eau.

Tépale : Pièce protectrice florale qui n'est ni sépale ni pétale ; Les tépales constituent le périanthe de nombreuses monocotylédones (liliacées et familles voisines).

Transit intestinal : Déplacement du contenu du tube digestif depuis le pylore jusqu'au rectum, sous l'influence des contractions péristaltiques de l'intestin.

Ulcère : Perte de substance d'un revêtement épithélial, cutané ou muqueux, s'étendant plus ou moins aux tissus sous-jacents.

Xérophile : Plantes qui sont adaptées aux milieux chaud et secs

REFERENCES

1. Anonyme, "Larousse Encyclopédie MEMO", 1ère édition Montréal, Québec, (1999), 182.
2. Adjanohoum J.E., Aké Assi L., Floret J J., Guinko S.; Koumaré M, Ahyi A., M.R., Raynal J., "Médecine traditionnelle et Pharmacopée ; Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali", ACCT, Paris, (1979), 291.
3. Dehin R., "Docteur Aloès ; Aloe vera plante médicinale", Les éditions Quebecor, Québec, (1992), 356.
4. Schweizer M., "Aloès la plane qui guérit", 3ème édition, Paris, (2002), 95.
5. Schweizer M., "Aloès la plane qui guérit", Le courrier du livre, Paris, (1995), 89.
6. Cecchini, Tichi. "Encyclopédie des plantes médicinales ; Savoir connaître les plantes médicinales et les utiliser, préparation médicinales spécifiques dictionnaire des maladies et des remèdes", VECCHI, (2004), 351.
7. Atherton P., "The essential Aloe vera", 2nd édition, (1997), UK, 345.
8. Vicar J. Mc., "Le grand livre des herbes", De Borée, (2006), London, 288.
9. Gage D., "Aloe vera ; Nature's soothing healer", Bear and Company, US, (1996),119.
10. Panda H., "Aloe vera ; Hand book cultivation, research finding products, formulations, extraction and processing", APBP, India, (2000), 496.
11. Pole S., "Ayurvedic medecine ; The principales of traditional practice", Elsevier, Paris, (2006), 376.
12. Boullard B., "Plante médicinales du monde ; Croyance et réalité", Estem, Paris (2001), 660.
13. Goetz P., Paris M., "Phytothérapie ; La santé par les plantes", Reader's digest, New York, (2007), 431.
14. Schmelzer G. H., "Plantes médicinales ; Ressource végétale de l'Afrique tropicale", Fondation PROTA, (2008), 869.
15. Reynolds T., "Aloes ; The Genus Aloe", CRC. Press, Florida, (2004), 386.

16. Boukef M. K., "Médecine traditionnelle et pharmacopée ; Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne", Agence de coopération culturelle et technique, (1986), 350.
17. Parti G., Silano V., Anton R., "Plante dans le cosmétique ; Plante et préparation à base des plantes", Council of Europe, Strasbourg, (2002), 218.
18. Perrot E., Paris R., "Plantes médicinales", Presse universitaire, France, (1971), 118.
19. Canevaro S., "Aloe vera", Alapage, (2005), 96.
20. Chopra I. C., Abral B. K., Handa K. L., "Les plantes médicinales des régions arides", Unesco, (1960), 99.
21. http://cactus.free.fr/aloce_dichotoma.html
22. www.be-amazed.co.za/gardening/aloes/aristata.html
23. <http://floriculturapb.blogspot.com>
24. <http://davesgarden.com/guides/articles/view/233>
25. http://www.bidorbuy.co.za/item/12747825/Aloe_africana_Seeds_Succulents.html
26. <http://www.afriquesenza.com/faq.html>
27. <http://fichas.infojardin.com/crasas/aloce-arborescens-aloce-candelabro-planta-pulpo-candelabros.html>
28. Judd W. S., S.C., Campbell, Bouharmont J., Kallogg E. A., Evarad C. M., Stevens P., "Botanique systématique ; Une perspective phylogénétique", De Boeck université, Bruxelles, (2001), 488.
29. Pousset J. L., "Plantes d'Afrique ; Comment les reconnaître et les utiliser", Edi Sud, (2006), 287.
30. Pitton J., "Elément de botanique pour connaître les plantes", De Tourne fort, Paris, (1995), 194.
31. Barcraft A., Myskja A., "Aloe vera ; Nature's silence healer", iuniverse, US, (2003), 134.
32. Surjushe A., Vasani R., Saple D G., "Aloe vera; A short review", Indian journal Dermatol, V. 53, n° 4, (2008), 163 - 166.
33. Ernst E., Pittler M. H., "Médecines alternatives : le guide critique", Elsevier, (2005), 504.

34. Grace O.M., Simmonds M.S.J., Smith G.F., Vanwyk A.E., “Therapeutic uses of *Aloe L.* (Asphodelaceae) in southern Africa”, *Journal of Ethnopharmacology*, V.119, n°4, (July 2008), 604 – 614.
35. Adams M., “The Aloe vera miracle ; A natural medicine for cancer, cholesterol, diabetes, inflammation, IBS and other health conditions”, Truth publishing international, Taiwan, (2007), 309.
36. Reynolds T., Dweck A. C., “Aloe vera leaf gel: a review update”, *Journal of Ethnopharmacology*, V.68, (May, 1999), 3 – 37.
37. Duk J. A., “The green pharmacy herbal handbook ; Your comprehensive reference to the best herbs for healing”, Rodale, US, (2000), 282.
38. Ebadi M., “Pharmacodynamic basis of herbal medicine”, 2nd Edition Taylor and Fransis, New York, (2007), 699.
39. Leung M., Liu C., Koon JCM., Fung KP., « Polysaccharide biological response modifiers”, *Immunology letters*, V.105, n° 2, (June 2006), 101 – 114.
40. Lawless J., Allan J., “Aloe vera ; Natural wonder cure”, Alapage, (2000), 241.
41. Ross I. A., “Medicinal plants of the word; Chemical constituents, traditional and modern medicinal uses”, 2nd Edition Humana Press, New York, (2003), 623.
42. Phyllis A., Balch, “Prescription for herbal healing”, Pinguin, (2002), 545.
43. Davis R. H., “Aloe vera: a scientific approach”, Alapage, (1997), 321.
44. Max B. Skousen, “Aloe Vera Handbook: The Acienc Egyption Medicine Plant”, Alapage, 2004, 31.
45. Fleurentin J., Pelt J.M., “Guérisseurs et plantes médicinales du Yémen: au pays de l'encens, de l'aloès et du café”, Karthala édition, (2004), 203.
46. Coats B. C., Ahola R., “Aloe vera ; The new millennuim : the future of wellness in the 21 st century”, iuniverse, US, (2003), 332.
47. Maenthaisong R., Chaiyakunapruk N., Niruntraporn S., Kongkaew C., “The efficacy of Aloe vera used for burn wound healing, a systemetic review”, *Journal of burns*, V.33, n° 6, (September 2007), 713 – 718.
48. Vogler B. K., “*Aloe vera: a systematic review of its clinical effectiveness*”, *British Journal of General Practice*, V. 49, n° 8, (March, 1999), 823-828.
49. Attele, A.S., Wu J. A, Yuan, C.S., “Ginseng pharmacology; Multiple constituents and multiple actions”, *Biochem. Pharmacol*, V.58, n° 11, (December 1999), 1685 – 1693.
50. Tenney D., Elkins R., “Aloe vera”. Wood Land Publishing, (1997), 32.

51. Bruneton J., "Pharmacognosy ; Phytochemistry and medicinals plants", Technique et Documentation, Paris, (1999), 1119.
52. Bruneton J., "Pharmacognosie ; phytochimie et plantes médicinales", 2ème Edition : Technique et Documentation, Paris, (1993),538.
53. Pourrat A; Arvoue A; Lejeune B; Bastide P; Privat A M; Legret P., " Extrait de propolis: Etude de la cicatrisation de plaies chez le lapin". Journal de pharmacie de Belgique, V. 48, n°3, (1993), 171-178.
54. Potier P., "Biochimie végétale", 2ème Edition Dunod, Paris, (1997), 123.
55. Choi S., Chung M. H., "A review on the relationship between *Aloe vera* components and their biologic effects". Seminars in integrative medicine, V.1, n° 1, (March 2003), 53 -62.
56. Nice J., Davies R., "Aloe vera", Alapage, (2000), 57
57. Park Y., Seung K. L. "New Perspectives on Aloe ", Springer, (2006), 200.
58. Pilet C., Boudon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastrec, Person J. M., "Bactériologie médicale et vétérinaire ; Biologie appliquée", Doin, Paris, (1987), 260.
59. Flendrois J. P., "Bactériologie médicale", Press universitaire de Lyon, (1997), 257.
60. Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G. Vague R., "Bactériologie médicale", Simep A. A, Paris, (1988), 200.
61. Denis F., Poly M. C., "Bactériologie médicale ; Technique usuelles", Elsevier, Paris, (2007), 299.
62. Eyquem A., Alouf J., Montagnier L., "Traité de microbiologie clinique", Piccin. Paris, (1998), 107.
63. http://parts.mit.edu/igem07/index.php/Escherichia_coli.
64. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Escherichia_coli_Gram.jpg.
65. Gompel A. V., Goubau P., Pellegrims E., G. P. "Repères en microbiologie", Garant, Belgique, (2000), 391.
66. Anonyme, "Repères en bactériologie clinique extra hospitalier", Rev. (1994), 52.
67. Schaechter M., Medoff G., L. B., Eisenstein., "Microbiologie et pathologie infectieuse", De Boeck Université, Bruxelles, (2000), 1000.
68. http://microbewiki.kenyon.edu/images/4/4c/P.aerugenosa_photomicrograph.jpg
69. Bégué P., Astruc J., "Pathologie infectieuse de l'enfant", Elsevier, Paris, (1999), 612.

70. Nauciel C., Vildé J. L., “Bactériologie médicale”, Elsevier, Paris, (2005), 257.
71. Wikipedia, encyclopédie en ligne :
http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Staphylococcus_aureus_01.jpg.
72. http://mikroby.blox.pl/resource/Staphylococcus_aureus.jpg.
73. <http://www.buddycom.com/bacteria/gpc/staphepi4.jpg>.
74. Picard C., “Thermochimie”, De Boeck Université, Bruxelles, (1996), 416.
75. Lahir A., “Pharmacie galénique ; Bonnes pratiques de fabrication des médicaments”, Elsevier, Paris, (2001), 382.
76. Mendham J., Vogel A. I., Denney R. C., Toullec J., Barnes J. D., Mottet M., Thomas M. J. K., “Analyse chimique quantitative de Vogel”, De Boeck Université, Bruxelles, (2005), 920.
77. Négué Diarra M., «Etude phytochimique d’une plante antipaludique utilisé en Mali *Spilanthes Oleraceae* Jacq. (*Asteraceae*) », Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Bamako ; Faculté de médecine et pharmacie, (2003), 42 – 50.
78. Judith M. D., “Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl. (*Caesalpinaceae*) utilisée dans le traitement des dermatoses au Tchad”, Université de Bamako. Faculté de médecine et pharmacie, (2005), 135 – 140.
79. Ekoumou C., “Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans les traitements des infections urinaires et de la cystite”, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako ; Faculté de médecine et pharmacie, (2003), 51 – 56.
80. Adiaratou T., “Etude phytochimique et de l’activité antipaludique de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) », Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako ; Faculté de médecine de pharmacie, (2002), 38 – 45.
81. Bessas A., “ Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien”, Thèse de magistère en Biologie, Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbas. (2008), 68.
82. Yesilyurt V., Hlfon B., Ozturk M., Topçu G., “Antioxidant potential and phenolic constituent of *Salvia cedronella*”, Food chemistry, V.108, n°1, (May 2008), 31 – 39.
83. Ni Y., Turner D., Yates K. M., Tizard I., “ Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp”, Journal of international immunopharmacology, V. 4, n°14, (December 2004), 1745 - 1755.
84. Small H., “Ion Chromatography, Ouvrage spécialisé”, Plenum Press, (1989), 163.
85. Gaywe R., “Contribution a l’étude chimique et pharmacologique de *Adansonia digitata* L. (*Baobab*) Dosage du calcium dans les feuilles”, Thèse de doctorat, Université de Dakar, Faculté de médecine et de en pharmacie, (1987), 42- 46.

- 86.** Douglas A. S., Donald M. W., Holler F. J., Buess-Herman C., “Chimie analytique”, De boeck,(1997), 870.
- 87.** Hubert H., Girault, “Électrochimie physique et analytique”, Presses polytechniques, (2007), 572.
- 88.** Pinta, M., “Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux : Azote, phosphore, potassium, sodium, calcium, magnésium. Sevilla”, Etude des Techniques Analytiques du Diagnostic Foliaire, Les Laboratoires membres du Comité hiter-Instituts, (Septiembre, 1968), 20.
- 89.** Fritz J. S., “Revue sur la chromatographie ionique”, Anales of Chemistry, Vol 59. (1987), 335.
- 90.** Gavrilovic M., Maginot M.J., Wallach J., “ Manipulations d'analyse biochimique”, Doin, (1996), 453.
- 91.** Claverie I., Panet M., Barbeau S., “Biochimie”, Editions Propyre, (2008),107.
- 92.** Anonyme, “ Standardisation de l’antibiogramme en médecine humaine à l’échelle nationale”. 4ème Edition. (2005), 94.
- 93.** Jia Y., Zhao G., Jia J., “Preliminary evaluation ; The effects of *Aloe ferox* Miller et *Aloe arborescens* on wound healing”, Journal of Ethnopharmacology, V. 120, (August 2008), 181-189.
- 94.** Ctizone L., Jacobs C., “Guide de dialyse”, Springer, Paris, (1999), 82.
- 95.** Backnouse N., Rosales L., Apablaza C., Goity L., Erazo S., Negrete R., C., Rodriguez J. T., Delporte C. “Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja Globosa, Buddlejaceae*”. Journal of ethnopharmacology, V.116, n°2, (March 2008), 263 – 269.
- 96.** Upadhyay N. K., Kumar R., Mondotra S. K., Meena R. N., Siddiqui M. S., Sawhney R. C., Gupta A., “Safety and healing efficacy of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Seed oil on burn wounds in rats”, Food and chemical toxicology, (February 2009), 1 – 8.
- 97.** Cock I. E., Ruebhart D., “Hight performance liquid chromatographic separation and identification of a toxic fraction from *Aloe barbadensis* Miller leaf gel using the *Artemia nauplii* bioassay”, The internet journal of toxicology, V. 4, n°02. (2008).Pp : 15.
- 98.** Grindlay D., Reynolds T., “The *Aloe vera* phenomenon: a review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel”, J. Ethnopharmacol. V.16, (1986), 117–151.
- 99.** Femenia A., Sa´nchez E. S., Simal S., Rossello C., “ Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera (Aloe barbadensis* Miller) plant tissues”, Carbohydrate polymers, V. 39, (1999), 109 – 117.

- 100.** Radjabi F., Amar C., Vilkas E., “Structural studies of the glucomannan from *Aloe vahombe*”, Carbohydr. Res., V.116 (1983), pp. 166–170.
- 101.** Yaron A., “Aloe vera: chemical and physical properties and stabilization”, J. Botan. V.40 (1991), p. 270.
- 102.** Yaron A., “Characterization of *Aloe vera* gel before and after autodegradation, and stabilization of the natural fresh gel”, Phytother. Res., V.7 (1993), pp. S11–S13.
- 103.** Liu C., Leung M.Y.K., Koon J.C.M., Zhu L.F., Hui Y.Z., Yu B., Fung K.P., “Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from *Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.)”, Berg. International Immunopharmacology Volume 6, Issue 11, (November 2006), 1634-1641.
- 104.** Habeeb F., Shakir E., Bradbury F., Cameron P., Taravati M. R., Drummond A. J., Gray A. I., Ferro V. A., “Screening methods used to determine the anti-microbial properties of *Aloe vera* inner gel”, Methods, V. 42, Issue 4, (August 2007), 315-320.
- 105.** Davis R.H., Rosenthal K.Y., Cesario L.R., “Processed *Aloe vera* administered topically inhibits inflammation”, J Am Pediatr Assoc, V. 79, Issue 9, (August, 1989), 395–397.
- 106.** Vázquez B., Avila G., Segura D., Escalante B., “Antiinflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel”, Journal of Ethnopharmacology, V. 55, Issue 1, (December 1996), 69-75.
- 107.** Czarniecki, Grzybek J., “Antiinflammatory and vasoprotective activities of polysaccharides isolated from fruit bodies of higher fungi P.1. Polysaccharides from *Trametes gibbosa* (Pers.: Fr) Fr. (Polyporaceae)”, Phytother. Res, V.9 (1995), 123–127.
- 108.** Silva B. P., Parente J. P., “Chemical properties and antiinflammatory activity of a galactomannoglucan from *Arecastrum romanzoffianum*”, Phytochemistry Letters, (2010), 1-4.
- 109.** Rayan et al, “Final report on the safety,. Final Report on the Safety Assessment of *Aloe Andongensis* Extract, *Aloe Andongensis* Leaf Juice, *Aloe Arborescens* Leaf Extract, *Aloe Arborescens* Leaf Juice, *Aloe Arborescens* Leaf Protoplasts, *Aloe Barbadensis* Flower Extract, *Aloe Barbadensis* Leaf, *Aloe Barbadensis* Leaf Extract, *Aloe Barbadensis* Leaf Juice, *Aloe Barbadensis* Leaf Polysaccharides, *Aloe Barbadensis* Leaf Water, *Aloe Ferox* Leaf Extract, *Aloe Ferox* Leaf Juice, and *Aloe Ferox* Leaf Juice Extract”, International Journal of Toxicology, V.26, Issue S2, (2007) ,1–50.