

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA –Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Spécialité Biochimie appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation des activités anti lithiasiques et
antimicrobiennes des extraits d'*Asplenium
ceterach L.***

Benhamouche Wissam et Khima Kamelia

Soutenu le : **03 Juillet 2025**

Devant le jury composé de :

Mr. Tacherfiout M.

Président

Mme Abderrahim S

Promotrice

Mme Mezahem T.

Co- promotrice

Mme Debbache-Benaida N.

Examinatrice

Année universitaire : 2024 / 2025

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à **Mme Khamtache-Abderrahim Sabiha**, merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; nous ne pouvons, madame, que sincèrement vous exprimer notre gratitude.*

*Nos remerciements les plus cordiaux et toutes nos pensées de gratitude à notre Co-promotrice **Mme Mezahem Tassadit** pour sa collaboration à ce travail.*

*Nous aimerions également remercier les membres du jury **Mr. Tacherfiout M. et Mme Debbache-Benaida N.** qui ont bien voulu nous honorer par leur présence, afin d'évaluer notre travail.*

Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles, amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

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

A mon cher père, ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être

Je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mon cher frère et ma chère sœur

A mes chers grands parents

A mes chères tantes

A toute ma famille

A ma chère copine, je n'oublierai jamais ton soutien et ta gentillesse

A mon binôme avec qui j'ai partagé tous les moments de stress et de fatigue.

Wissam

Dédicaces

*A mes très chers parents qui ont consacré tous leur vie, santé, temps
pour moi*

*A ma mère, ma meilleurs amie, qui a toujours été là, et qui a partagé
tous mes moment des plus faible au plus fort, qui m'a toujours poussé à
faire mieux et à réussir, je t'aime maman que dieu te bénisse, un jour je
te rendrais plus fière plus que tu l'est déjà.*

*A mon père qui a supporté tous mes caprices et qui m'a toujours
soutenu et aidé pour aller de l'avant, je te remercie pour tout.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et
ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon
instruction et mon bien être.*

*A mes deux frères, Lotfi et Nadjim, les plus agréables, compréhensifs,
gentilles, mes piliers, meilleurs amis, merci pour votre soutiens que dieux
vous garde pour moi, et que dieu vous facilite votre chemin comme vous
avez facilité le mien.*

Merci également à mes deux copines qui ont toujours été là pour moi.

Kamelia

Remerciement	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de la plante « <i>Asplenium Ceterach. L</i> ».....	3
I.1.1. Description botanique.....	3
I.1.2. Classification botanique.....	4
I.1.3. Habitat et répartition géographique.....	4
I.1.4. Composition chimique.....	4
I.1.6. Activités biologiques et thérapeutiques.....	5
I.1.7. Utilisations ethno-médicinales et toxicité d' <i>Asplenium ceterach</i>	6
I.2. Lithiase urinaire.....	6
I.2.1. Définition.....	6
I.2.2. Facteurs influençant.....	6
I.2.3. Composition et structure des calculs urinaires.....	7
I.2.4. Lithogenèse.....	8
I.2.5. Diagnostic de la lithiase.....	9
I.2.6. Prise en charge de la lithiase.....	10
I.2.7. Activité anti lithiasique des plantes médicinales.....	11
I.3. Plantes médicinales et activité antimicrobienne.....	12
I.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne d' <i>Asplenium ceterach</i>	13
I.3.2. Relation entre l'infection bactérienne et la lithiase urinaire.....	14

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal.....	15
II.2. Extraction.....	15
II.2.1. Rendement.....	16
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	16
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	16
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	16
II.4. Evaluation de l'activité anti-lithiasique.....	17
II.4.1. Etude de la cinétique de cristallisation de l'oxalate de calcium.....	17
II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	18
II.5.1. Préparation des échantillons.....	19
II.5.2. Préparation de milieu de culture.....	19
II.6. Etude statistique.....	20

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction.....	21
III.2. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes.....	21
III.3. Evaluation de l'activité anti lithiasique.....	23
III.3.1. En présence et en absence de l'extrait de la plante.....	23
III.3.2. Control positif (Acide citrique).....	23
III.4. Activité antibactérienne.....	27
Conclusion.....	30
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Plantes médicinales à effet antimicrobien	12
Tableau II	Les concentrations d'inhibition de la cristallisation à 50%	26
Tableau III	Diamètres d'inhibition obtenus avec l'extrait d' <i>Asplénium cétérach</i> à différentes concentrations	27

Liste des figures

Figures	Titre	Page
Figure 1	La plante <i>Asplenium ceterach</i> L. (Photo originale)	3
Figure 2	Structure de différents calculs ; (A) pierre de calcium, (B) pierre d'acide urique, (C) pierre de struvite, (D) pierre cystine, (E) pierre de médicament	8
Figure 3	La pathogénicité d'un calcul infectieux	14
Figure 4	Carte géographique du lieu de la récolte d' <i>Asplenium ceterach</i>	15
Figure 5	Photos de macération ; (A) macération pendant 24h, (B) filtration sur papier Wattman, (C) Evaporateur rotatif	15
Figure 6	Allure générale de la courbe turbidimétrique sans inhibiteur	17
Figure 7	Evaluation de l'activité antimicrobienne ; (A) Milieu muller hinton agar, (B) et (C) Disques en papiers stériles imprégnés d'échantillon, (D) et (E) Des souches bactériennes préparées et ensemencées, (F) Disques placés sur les surfaces d'agar	20
Figure 8	Courbe de cristallisation oxalocalcique en absence et en présence d'extrait à différentes concentrations.	23
Figure 9	Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'acide citrique à différentes concentrations.	23
Figure 10	Pourcentages d'inhibition de la cristallisation oxalo-calcique avec l'extrait et l'acide citrique à différentes concentrations	25
Figure 11	Activité antibactérienne de l'extrait d' <i>Asplénium ceterach</i> contre <i>E. coli</i>	28

Liste des abréviations

AC: *Asplenium Ceterach*.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.

Al Cl₃ : Trichlorure d'aluminium.

ASP: Abdomen sans préparation.

CaCl₂: Chlorure de calcium.

CaOx : Oxalate de calcium.

Cap: phosphate de calcium

CLSI : Clinicat et Laboratory Standards Institute.

CO₂: Dioxyde de carbone.

CoD: Oxalate de calcium dihydraté.

CoM: Oxalate de calcium monohydraté.

ECBU: Examen cytobactériologique des urines.

H₂O: Oxyde de dihydrogène.

HPLC/DAD: High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array.

HPLC/MS: High Performance Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometry.

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%.

GC-MS : Gaz Chromatography-Mass Spectrometry.

MAA : Muller Hinton Agar.

Mg EAG/g E: Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

Mg EQ/g E: Milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait.

NaCl: Chlorure de sodium.

Na₂CO₃: Carbonate de sodium.

NH₃: Ammoniaque.

PH: Potentiel d'hydrogène.

RMN : Résonance magnétique nucléaire

ROS: Espèces réactives d'oxygène.

TDM: Tomodensitométrie.

UFC/ml : Unité formant colonies par millilitre.

UIV: Urographie intraveineuse.

UV : Ultraviolet.

Introduction

Introduction

La lithiase urinaire, une maladie courante affectant environ 20% de la population mondiale, se manifeste par la formation de calculs dans les voies urinaires. Les calculs d'oxalate de calcium sont les plus fréquents, en raison de la sursaturation de l'urine, une étape clé de leur formation. L'étiologie de la lithiase urinaire est multifactorielle, avec des facteurs comme les infections bactériennes produisant l'urée et la rétention de cristaux jouant un rôle important (**Bichler et al., 2002 ; chaudhary et al., 2022 ; Raj et al., 2024**).

Le mécanisme de formation des calculs rénaux n'étant pas entièrement compris, et face aux limites des traitements conventionnels (chirurgie, fragmentation) et à leurs effets secondaires, l'utilisation de plantes médicinales connaît un regain d'intérêt. Plus de 40 espèces végétales, réparties en 27 familles botaniques, sont utilisées, notamment les Apiaceae, Lamiaceae, Leguminosae, et Poaceae (**Idm'hand et al., 2019 ; Marrelli, 2021**).

Ces plantes, utilisées pour traiter les troubles urinaires et les calculs rénaux, ont montré leurs efficacités à différentes étapes de la formation des calculs, à savoir la nucléation, l'agrégation et la croissance des cristaux de calcium oxalate (CaOx), favorisant leurs dissolutions en bloquant leur cristallisation et en facilitant leur élimination (**El Khasmi et al., 2022 ; Raj et al., 2024**).

La plante médicinale *Asplenium ceterach*, connue en Kabylie sous le nom "Tijrarahin", est utilisée traditionnellement pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, et potentiellement anticancéreuses (grâce à ses effets pré-apoptotiques). Elle est également réputée pour son action diurétique et anti-lithiasique, justifiant son utilisation dans le traitement des calculs rénaux (**Meddour et al., 2020 ; Žiković et al., 2023**).

Ce travail s'inscrit dans une démarche de valorisation de la flore médicinale algérienne ciblant spécifiquement *Asplenium ceterach*.

L'objectif principal de cette étude est d'identifier et de caractériser les composés phénoliques présents dans cette plante, ainsi que d'évaluer son activité potentielle contre les calculs rénaux (antilithiasique) et les infections (antimicrobienne).

La présente étude comporte deux parties :

-La première partie est consacrée à une revue bibliographique de la plante étudiée. Cette revue englobe les informations disponibles sur ses caractéristiques botaniques, sa composition chimique, et surtout, ses activités biologiques connues.

- La deuxième partie de ce travail est axée sur la méthode d'extraction des composés phénoliques d'*Asplénium ceterach*, ainsi que l'évaluation de leurs activités antilithiasique et antibactérienne. Elle présentera également les résultats obtenus et leur discussion, pour ensuite conclure avec les principaux résultats de l'étude.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de la plante « *Asplenium Ceterach. L* » :

L'*Asplenium ceterach*, anciennement connue sous le nom de *Ceterach officinarum*, est une fougère vivace (**Figure 1**) largement répandue dans les régions méditerranéennes, tempérées et tropicales. Utilisée en médecine traditionnelle comme expectorant, diurétique et pour traiter divers maux, notamment les hémorroïdes, elle fait l'objet de recherches croissantes sur sa composition phytochimique et ses activités biologiques (**Žiković et al., 2017; Žiković et al., 2023**).

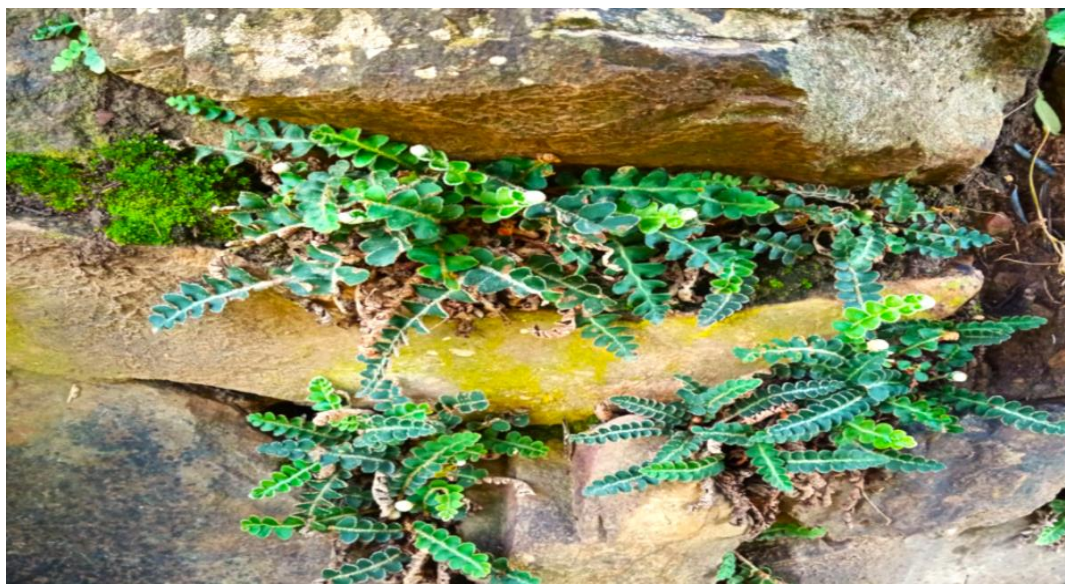


Figure 1 : La plante *Asplenium ceterach L.* (Photo originale)

I.1.1. Description botanique

L'*Asplenium ceterach* est caractérisée par une longueur de 5 à 15 cm et de (**Bonet et al., 2001 ; Bey et al., 2020**) :

- Rhizome court, épais et touffu ;
- Feuilles frondes, d'environ 2 cm de large, possédant 6 à 12 paires de broche disposées alternativement ;
- Surface des feuilles adaxiales est verte foncé sans échelle tandis que la surface abaxiale matures est recouverte de balances densément réparties et brunes orange (**Žiković et al., 2023**).

I.1.2. Classification botanique

La famille des *Aspleniaceae* appartient à l'ordre des Polypodiales et comprend environ 700 espèces réparties en deux genres : *Asplenium* et *Hymenasplenium*. La classification botanique d'*Asplénium ceterach* est comme suit : (**Žiković et al., 2023**) :

Règne : *Plantae* ;

Ordre : *Polypodiales* ;

Famille : *Aspleniaceae* ;

Genre : *Asplénium* L;

Espèce : *Asplénium ceterach*. L., 1753.

I.1.3. Habitat et répartition géographique

L'*Asplenium ceterach*. L est distribuée en Europe et en Afrique du nord notamment au Maroc, en Tunisie et en Algérie (**Lowe et al., 1867**). Elle était assez courante sur les falaises rocheuses ensoleillées, les régions montagneuses, les rochers calcaires et les murs de toutes les zones non désertiques, du niveau de la mer jusqu'à environ 2700 mètres d'altitude (**Debeaux, 1894 ; Haou et al., 2011**).

En générale cette espèce se trouve dans la côte méditerranéenne qui est caractérisée par ses températures modérées et ses fortes humides mais elle pourrait supporter les conditions relativement sèche et accepter l'ombre autour de la jante méditerranéenne, elle est thermophile (**Bélair et Haou, 2020 ; Farràs et al., 2022**).

I.1.4. Composition chimique

Des analyses phytochimiques ont démontré la richesse d'*Asplenium ceterach* en métabolites bioactifs, tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les acides phénoliques, en parallèle, cette plante contienne une forte teneur en acides gras essentiels (**Obistioiu et al., 2021**).

Une analyse par une HPLC/MS, réalisées par **Žiković en 2017 et Farràs en 2022** et leurs collaborateurs, a montré la richesse d'*Asplénium Ceterach* en acides phénoliques tels que l'acide gallique, acide vanilique, acide chlorogénique, acide caféique et acide coumarique.

De nouvelles molécules ont été identifiées par **Bey et ses collaborateurs en 2020** à l'aide d'une HPLC/DAD comme l'acide tannique et l'acide benzoïque. Ils marquent ainsi la présence des flavonoïdes tels que la quercétine, Kaempferol-3-glucoside, kaempferol, naringine ainsi que les xanthones.

Une analyse par GC-MS/RMN réalisée par **Toumou et Skaltsa en 2018** a montré la présence remarquable des acides gras au niveau de l'espèce *A. Ceterach* tels que l'acide palmitique et l'acide linoléique.

Une Analyse par GC/MS effectuée par **Žiković et ses collaborateurs en 2021** a pu identifier des composés volatiles qui jouent un rôle important dans la réhydratation de la plante, les plus abondants sont (2E, 4E)-Decadienal, (2E)-Heptenal et (2E)-Heptadienal.

I.1.6. Activités biologiques et thérapeutiques

Asplenium ceterach, une plante, souvent utilisée à des fins alimentaires et médicinales, contient des composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes, qui lui confèrent des propriétés thérapeutiques (**Bey et al., 2020 ; Žiković et al., 2023**) :

- **Activité antioxydante** : La présence d'antioxydants dans cette plante peut effectivement aider à protéger les cellules humaines contre les dommages causés par le stress oxydatif, qui est lié au vieillissement et au développement de maladies chroniques. Les antioxydants neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS), réduisant ainsi leur impact négatif sur les cellules (**Žiković et al., 2023**).
- **Activité cytotoxique et anticancéreuse** : *Asplenium ceterach* présente une source précieuse de composés anticancéreux toute en réduisant la survie clonogénique des cellules cancéreuses de la prostate. Son efficacité contre le cancer du col de l'utérus est en cours d'études (**Žiković et al., 2023**).
- **Activité anti-inflammatoire** : l'extrait d'*Asplenium ceterach* semble diminuer les symptômes inflammatoires et la formation d'œdèmes plantaires chez des souris. Des études ont montré que cet extrait peut avoir des effets anti-inflammatoires, potentiellement en réduisant l'œdème induit par des agents inflammatoires (**Žiković et al., 2023**).

I.1.7. Utilisations ethno-médicinales et toxicité d'*Asplenium ceterach*

L'*Asplenium ceterach*, également connu sous le nom de cétérach officinal, est utilisé en phytothérapie pour traiter diverses affections. Des études suggèrent que l'infusion de la plante entière est bénéfique pour les troubles rénaux, les hémorroïdes, les problèmes respiratoires et intestinaux. De plus, une décoction de ses feuilles est traditionnellement utilisée pour la constipation, l'hypertension, les douleurs articulaires, le paludisme et les coliques néphrétiques (Žiković *et al.*, 2023).

Par ailleurs, elle est considérée comme non toxique. Les sources anciennes et modernes ne signalent aucun effet toxique associé à cette espèce, et son utilisation traditionnelle depuis des siècles confirme son innocuité (Wavrin, 2003).

I.2. Lithiase urinaire

I.2.1. Définition

Le mot lithiase vient de grec lithos « pierre » et celui de calcul du latin « calculus », la lithiase urinaire, également connue sous le nom de "maladie de la pierre", est la formation de calculs dans les voies urinaires, principalement les reins. Ces calculs sont des dépôts solides qui se forment à partir de substances normalement présentes dans l'urine (Daudon *et al.*, 2012 ; Idm'hand *et al.*, 2019).

I.2.2. Facteurs influençant

La lithiase rénale résulte de l'influence de plusieurs facteurs :

- **Facteurs nutritionnels** : Un apport excessif en sels, sucres raffinés,... combiné à un faible apport en aliments végétaux peut effectivement entraîner une acidité accrue de l'urine conduisant à la formation de calculs rénaux (Daudon *et al.*, 2012).
- **Facteurs environnementaux** : Les conditions climatiques peuvent entraîner une transpiration excessive et une déshydratation qui peut concentrer les substances dans les urines, augmentant le risque de formation de calculs (Daudon *et al.*, 2012).
- **Facteurs génétiques** : Des anomalies génétiques peuvent affecter l'absorption intestinale des nutriments, entraînant des déséquilibres dans la concentration des substances dans les urines, ce qui peut favoriser la formation de calculs rénaux. (Daudon *et al.*, 2012)

- **Sexe et l'âge** : La prévalence de cette pathologie, plus fréquente entre 20 et 40 ans, et plus courante chez les hommes que chez les femmes, peut s'expliquer par des différences hormonales et génétiques (liée aux chromosome Y) (**Butterweck et al., 2009 ; Daudon et al., 2012**).
- **Obésité et diabète** : Chez les personnes obèses, l'indice de masse corporelle élevé est corrélé à une plus grande incidence de lithiase. Chez les diabétiques de type 2, la résistance à l'insuline entraîne une diminution de l'ammoniogenèse rénale, ce qui réduit le pH urinaire et favorise la précipitation de l'acide urique, un composant commun des calculs rénaux (**Daudon et al., 2012**).

I.2.3. Composition et structure des calculs urinaires

Les calculs rénaux sont des concrétions minérales qui se forment dans les reins lorsque les substances présentes dans l'urine se cristallisent et s'agglomèrent. Leur taille varie, allant de celle d'un grain de sable à celle d'une perle, voire plus, et leur couleur peut être jaune ou brune, avec une surface lisse ou déchiquetée (**Daudon et al., 2012 ; Khan et al., 2016**).

- **Les pierres de calcium** : Les calculs rénaux de calcium (**Figure 2A**) sont les plus courants et existaient sous forme d'oxalate de calcium (CaOX) ou de phosphate de calcium (CaP). Le pH urinaire influence leur formation : les CaOX sont favorisés à un pH de 5 à 6.5, tandis que les CaP le sont dans un pH plus basique (supérieur à 7). Les CaOX peuvent exister sous forme de monohydrate (whewellite, COM) ou de dihydrate (weddelite, COD) (**Daudon et al., 2012 ; Alelign et Petros, 2018**).
- **Les pierres d'acide urique** : Les calculs d'acide urique (**Figure 2B**), représentant 8 à 10% de tous les calculs rénaux, sont formés suite à l'insolubilité de l'urate et de la déshydratation urinaire, conduisant à une hyperuricosurie. Cette condition peut être aggravée par une consommation excessive de produits alimentaires riches en purines (**Daudon et al., 2012 ; Khan et al., 2016**).
- **Les pierres Struvites** : Les calculs de struvite (**Figure 2C**), également appelés calculs d'infection « Magnésium Ammonium Phosphate Stones », représentent 7 à 8% des calculs urinaires. Ils sont causés par des infections chroniques des voies urinaires qui entraînent une production accrue d'ammoniaque, alcalinisant l'urine et provoquant la précipitation du phosphate en struvite (**Khan et al., 2016 ; Alelign et Petros, 2018**).

- **Les pierres de cystine** : Les calculs de cystine (**Figure 2D**), qui représentent moins de 2% de tous les calculs rénaux, sont causés par un défaut génétique récessif affectant le transporteur rénal de la cystine ce qui entraîne une hypercystinurie. La cystine, étant peu soluble, forme des cristaux qui peuvent s'agréger pour former des calculs (**Khan et al., 2016 ; Alelign et Petros, 2018**).
- **Les pierres de médicaments** : Les calculs médicamenteux (**Figure 2E**), bien que ne représentant qu'environ 1% de tous les calculs rénaux, peuvent être causés par certains médicaments (la guaifénésine, le triamterène, l'atazanavir et l'indinavir) qui peuvent précipiter et former des cristaux conduisant à la formation de calculs ou s'ajoutant à des calculs préexistants (**Alelign et Petros, 2018**).

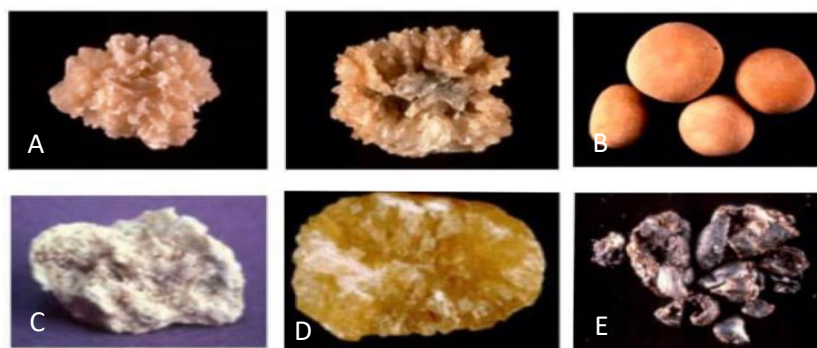


Figure 2 : Structure de différents calculs ; (A) pierre de calcium, (B) pierre d'acide urique, (C) pierre de struvite, (D) pierre cystine, (E) pierre de médicament (**Daudon et al., 2012**).

I.2.4. Lithogénèse

La lithogénèse est le processus complexe de formation d'un calcul urinaire impliquant une série d'événements physico-chimiques et biologiques qui aboutissent à la transformation de substances dissoutes dans l'urine en agrégats cristallins solides, constituant le calcul (**Atmani et al., 2004 ; Zerifi et al., 2008**).

➤ La sursaturation et la cristallisation

La sursaturation urinaire, caractérisée par un excès de substances ionisées capables de cristalliser où les conditions physico-chimiques, comme le pH, influencent la précipitation de ces cristaux ; Un pH acide favorise la précipitation de l'acide urique, tandis qu'un pH basique favorise celle du phosphate de calcium (**Zerifi et al., 2008 ; Daudon et al., 2008**).

Des substances appelées « inhibiteurs de cristallisation » peuvent être présentes dans les urines, et leur rôle est d'empêcher la formation de cristaux qui pourraient conduire à la

formation de calculs rénaux. Ces inhibiteurs, comme le magnésium et le citrate, sont naturellement présents dans les urines et leur action est essentielle pour maintenir un équilibre dans le système urinaire (**Zerifi et al., 2008**).

➤ **La germination cristalline**

La germination cristalline fait référence à la formation de cristaux, tels que l'oxalate de calcium, l'acide urique, etc., par précipitation d'ions dans l'urine. Cette formation peut se produire spontanément (nucléation homogène) ou sur des surfaces préexistantes, comme les cellules épithéliales ou d'autres cristaux (nucléation hétérogène) (**Daudon et al., 2008 ; Alelign et Petros, 2018**).

➤ **La croissance cristalline**

La croissance cristalline se réfère à l'augmentation de la taille des cristaux initiaux formés en raison d'une sursaturation élevée. Ces cristaux captent de nouvelles molécules dissoutes dans l'urine, augmentant ainsi leur taille (de 1 à 100 µm). La durée du transit urinaire joue un rôle clé : un temps de transit prolongé favorise la croissance cristalline et, par conséquent, augmente le risque de rétention de ces cristaux dans le système urinaire, potentiellement menant à des complications comme la formation de calculs (**Daudon et al., 2008**).

➤ **L'agrégation des cristaux**

L'agrégation des cristaux, processus rapide et spontané, implique l'attraction électrostatique entre les cristaux due à leurs charges superficielles. Cette interaction conduit à la formation rapide de particules volumineuses, appelées agrégats, qui peuvent être retenues dans les voies urinaires, contribuant ainsi à la formation de calculs rénaux (**Daudon et al., 2008**).

➤ **La rétention des cristaux**

La rétention des cristaux, étape cruciale de la formation des calculs urinaires, se produit lorsque les particules cristallines formées dans le rein ou les voies urinaires sont bloquées et ne sont pas évacuées. Plusieurs mécanismes peuvent entraîner cette rétention : l'adhésion des cristaux à l'épithélium, la rétention d'agrégats dans le néphron, l'accrochage aux structures papillaires ou la sédimentation dans des zones de repli ou de stagnation (**Daudon et al., 2008**).

I.2.5. Diagnostic de la lithiase

➤ **Manifestations cliniques et examens biologiques**

Les symptômes de colique néphrétique chez les personnes lithiasiques se manifestent par de fortes douleurs, en vagues, et peuvent irradier dans l'abdomen, souvent accompagnées de nausées, vomissements, agitation, et parfois de fièvre. De plus, le diagnostic peut être posé après l'expulsion d'un calcul ou être confirmé par des examens complémentaires si le patient est asymptomatique (**Danuser et al., 2002 ; Khan et al., 2016**).

➤ **Examens biologiques**

En cas de colique néphrétique, un bilan métabolique est souvent effectué, incluant des analyses de sang pour évaluer les niveaux de créatinine, calcium, acide urique, urée et sodium. Des bandelettes urinaires et un ECBU (examen cytobactériologique des urines) peuvent également être réalisés pour rechercher une hématurie microscopique (présence de sang dans les urines) ou une infection urinaire, en mesurant le pH urinaire et le nombre de globules rouges par millilitre (**Courbebaisse et al., 2016 ; Coulibaly, 2024**).

➤ **Examens radiologiques**

Les examens radiologiques pour la lithiase urinaire (calculs rénaux) incluent l'abdomen sans préparation (ASP), l'urographie intraveineuse (UIV), l'échographie et le scanner (TDM). L'ASP est un examen de première intention pour détecter les calculs calciques. L'UIV permet une étude plus détaillée de la fonction et de la morphologie de l'appareil urinaire, y compris la localisation précise des calculs. L'échographie est utile pour la détection des calculs de 2 à 3 mm, quel que soit leur composition. Le scanner, avec ou sans injection de produit de contraste, permet une visualisation précise du calcul, de son emplacement et de son diamètre (**Coulibaly, 2024**).

I.2.6. Prise en charge de la lithiase

➤ **Prise en charge médicale**

La prise en charge médicale des récurrences lithiasiques implique des mesures préventives qui visent à éviter la formation de nouveaux calculs et, en cas d'échec, un traitement pharmacologique comprenant des antalgiques et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), n'intervient qu'en dernier recours (**Doizi et al., 2013 ; Courbebaisse et al., 2016**).

- **Cas d'une lithiase calcique :** Pour la prévention d'une lithiase calcique, le traitement préconisé repose sur une augmentation de la diurèse à plus de 2 litres par jour, un apport

calcique normal, et une restriction des apports en protéines, sodium et oxalates. Les médicaments prescrits incluent des diurétiques thiazidiques et du citrate de potassium (Doizi et al., 2013).

- **Cas d'une lithiase urique :** Le traitement préventif de la lithiase urique repose sur l'augmentation de la diurèse, l'alcalinisation des urines et, si nécessaire, la réduction de l'hyperuricurie. Les médicaments tels que le bicarbonate de sodium, le citrate de potassium (officinal) et l'allopurinol peuvent être utilisés (Doizi et al., 2013).
- **Cas d'une lithiase cystinique :** La prévention des récurrences de la lithiase cystinique repose sur une stratégie combinant une hydratation abondante, un régime alimentaire spécifique et un traitement médical alcalinisant. Il est essentiel de maintenir une diurèse supérieure à 3 litres par jour, de limiter l'apport en méthionine et en sodium, et d'alcaliniser les urines avec du citrate de potassium ou du bicarbonate de sodium (Doizi et al., 2013).

➤ **Prise en charge chirurgicale**

La prise en charge chirurgicale des calculs urinaires a beaucoup évolué avec l'arrivée de techniques mini-invasives. Les principales méthodes incluent l'urétéroscopie, la néphrolithotomie percutanée et la lithotripsie extracorporelle. L'urétéroscopie consiste à introduire un endoscope (urétéroscopie) par les voies naturelles pour atteindre le calcul, le fragmenter (souvent par laser) et l'extraire. Cette technique est indiquée pour les calculs de l'uretère et certains calculs rénaux (Doizi et al., 2015).

I.2.7. Activité anti lithiasique des plantes médicinales

Plusieurs plantes médicinales sont traditionnellement utilisées pour réduire les complications de la lithiase rénale. Parmi elles, on retrouve notamment les baies de genièvre, connues pour leur action purificatrice sur le système urinaire et leur capacité à dissoudre les calculs. De plus, des études ont montré l'effet antilithiasique de l'extrait aqueux d'*Erica multiflora* dans la région orientale du Maroc. Enfin, des plantes comme *Chenopodium album* sont également utilisées, leur extrait aqueux montrant une capacité à inhiber la formation et la croissance des cristaux d'oxalate de calcium. En phytothérapie, l'*Asplénium ceterach* (doradille, cétérach) est utilisé pour ses propriétés diurétiques et anti-lithiasiques, principalement sous forme de décoction ou de teinture mère. Ces préparations aident à favoriser l'élimination urinaire, prévenant ainsi la formation de calculs rénaux, notamment ceux d'oxalate de calcium, et facilitant leur expulsion (Žiković et al., 2023).

I.3. Plantes médicinales et activité antimicrobienne

Les infections bactériennes, en raison du développement de résistances aux antibiotiques, constituent un problème majeur de santé publique. La recherche de nouvelles thérapies, notamment à partir de plantes médicinales, suscite un intérêt croissant face à cette menace. Certaines plantes sont d'une grande importance pour la santé humaine en raison de leurs propriétés antimicrobiennes (**Tableau I**) et de leur potentiel à fournir des composés actifs pour de nouveaux médicaments anti-infectieux (**Bano et al., 2014**).

Diverses catégories de composés bioactifs d'origine végétale sont associées à l'activité antibactérienne. Parmi eux, les acides gras essentiels, tels que l'acide linoléique et palmitique, perturbent la bicouche lipidique. Les polyphénols, comme l'acide gallique et caféique, agissent en précipitant les protéines et en inhibant les enzymes. Les flavonoïdes comme la quercétine et le kaempférol agissent sur la synthèse de l'ADN ou des membranes bactériennes, alors que les tanins (hydrolysables ou condensés) altèrent les protéines membranaires. Toutes ces substances ont démontré une action efficace contre des bactéries pathogènes comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus* (**Obistioiu et al., 2021**).

Les plantes médicinales sont des composants importants de la médecine traditionnelle et des sources de nouveaux composés antimicrobiens contre les souches pathogènes résistantes aux médicaments (**Tejedor et Longtine., 2017**).

Tableau I : Quelques plantes médicinales à effet antimicrobien

Nom scientifique	Partie utilisée	Bactérie pathogène	Préparation	références
<i>Emblica officinalis</i>	Feuilles	<i>Staphylococcus aureus</i>	diffusion en milieu gélosé	(Funatoga wa et al., 2004).
<i>Lygodium altum</i>	Glandes des feuilles	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Vibrio cholerae</i>	Méthode des cupules (agar cup method)	(Mandal et Mondal., 2011)

Tableau I : Quelques plantes médicinales à effet antimicrobien

Nom scientifique	Partie utilisée	Bactérie pathogène	Préparation	références
<i>Salvinia cuculata</i>	Glandes des feuilles	<i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>V. cholerae</i>	Méthode des cupules (agar cup method)	(Mandal et Mondal, 2011)
<i>Alsophila cuspidata</i>	Frondes, pétioles, troncs	Bactéries Gram + (isolées de la peau humaine) Bactéries Gram - (isolées de selles).	Méthode de diffusion sur disque (Kirby-Bauer)	(Tejedor et Longtine, 2017)

I.3.1. Activité antibactérienne d'*Asplenium ceterach*

Une étude a évalué l'activité antibactérienne de l'extrait de plante d'*Asplenium ceterach*. Les chercheurs ont testé l'extrait sur deux souches bactériennes, *Bacillus cereus* (Gram-positive) et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-négative), en utilisant un contrôle antibiotique pendant 24 heures (Petkov et al., 2021). Les résultats d'inhibition bactérienne obtenus montrent une activité modérée à importante de l'extrait d'*A. ceterach*, bien que les zones d'inhibition soient plus petites que celles du témoin antibiotique, qui a complètement inhibé la croissance des deux souches bactériennes testées (23-25 mm). L'extrait d'*A. ceterach* a montré un effet plus prononcé contre *Bacillus cereus* que contre *Pseudomonas aeruginosa*. Bien que le nombre de colonies de *P. aeruginosa* soit réduit, la zone d'inhibition autour de l'extrait est comparable à celle du témoin, ce qui indique que les substances actives présentes dans l'extrait diffusent dans le milieu, empêchant le développement des bactéries et réduisant leur nombre (Petkov et al., 2021).

Une étude réalisée par Žiković et collaborateurs en 2023, a démontré que les extraits de la plante *Asplenium ceterach* peuvent présenter une activité antimicrobienne significative, ciblant divers agents pathogènes. Parmi les micro-organismes testés, *Staphylococcus aureus* qui s'est avéré particulièrement sensible à ces extraits. Cette activité peut être exploitée dans le traitement des infections, notamment celles causées par des agents pathogènes résistants aux antibiotiques traditionnels.

I.3.2. Relation entre l'infection bactérienne et la lithiase urinaire

Nombreux recherches ont démontré que les infections urinaires peuvent aggraver la formation de calculs rénaux (**Figure 3**), et que certains calculs peuvent même être infectés par des bactéries. Ces calculs infectés peuvent abriter des bactéries telles qu'*Escherichia Coli*, *Proteus Mirabilis* et *Pseudomonas*, formant un biofilm qui les protège des antibiotiques. De plus, des agents infectieux non urinaires, comme *Aspergillus* et *Candida albicans*, peuvent également coloniser les calculs (**Bruyere et al., 2008 ; Cole et al., 2020**).

En revanche, les infections urinaires persistantes causées par des bactéries productrices d'uréase, comme *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas*, peuvent favoriser la formation de calculs de struvite. L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniac, augmentant le pH urinaire, ce qui conduit à la formation de cristaux de phosphate ammoniaco-magnésiens et de carbo-apatite (**Bichler et al., 2002 ; Bruyere et al., 2008**).

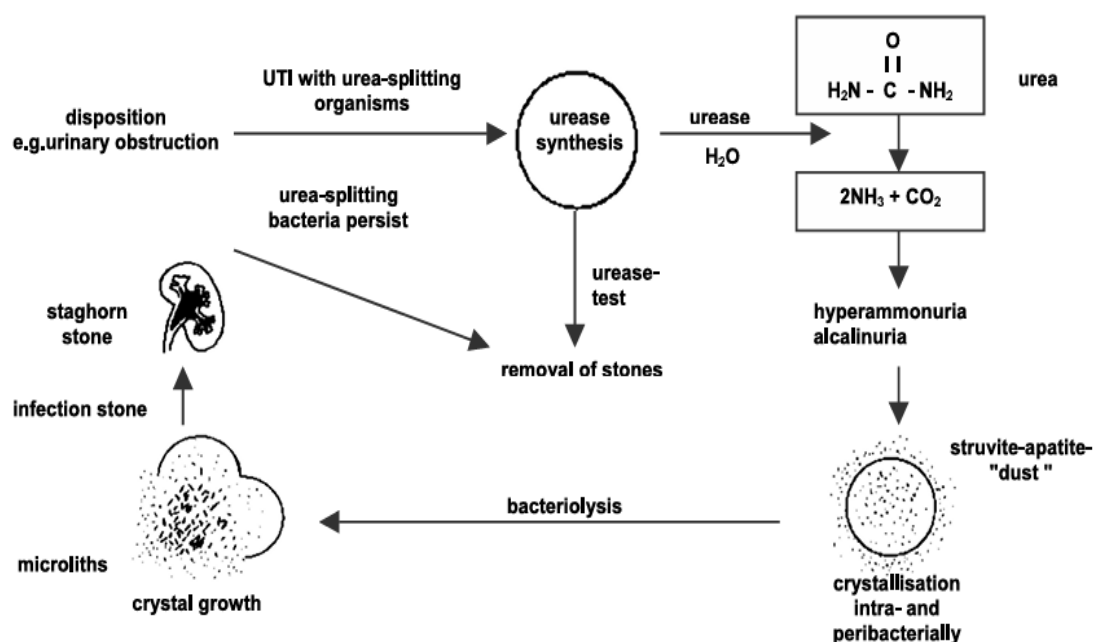


Figure 3 : La pathogénicité d'un calcul infectieux (**Bichler et al., 2002**).

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal

Asplenium ceterach a été récolté le mois de Février, dans la commune d'Ighram « MECHETA » (Akbou, Béjaia) (**Figure 4**). L'identification botanique de l'espèce a été effectuée par Pr Bouadam Saïd, enseignant chercheur au niveau de la faculté SNV de l'université A/Mira de Béjaïa et confirmée par comparaison à la littérature (**Quezel et Santa, 1962**).

La plante a été nettoyée et séchée à l'air libre pendant 2 mois puis broyée à l'aide d'un broyeur électrique et tamisée à un diamètre $\leq 125 \mu\text{m}$.

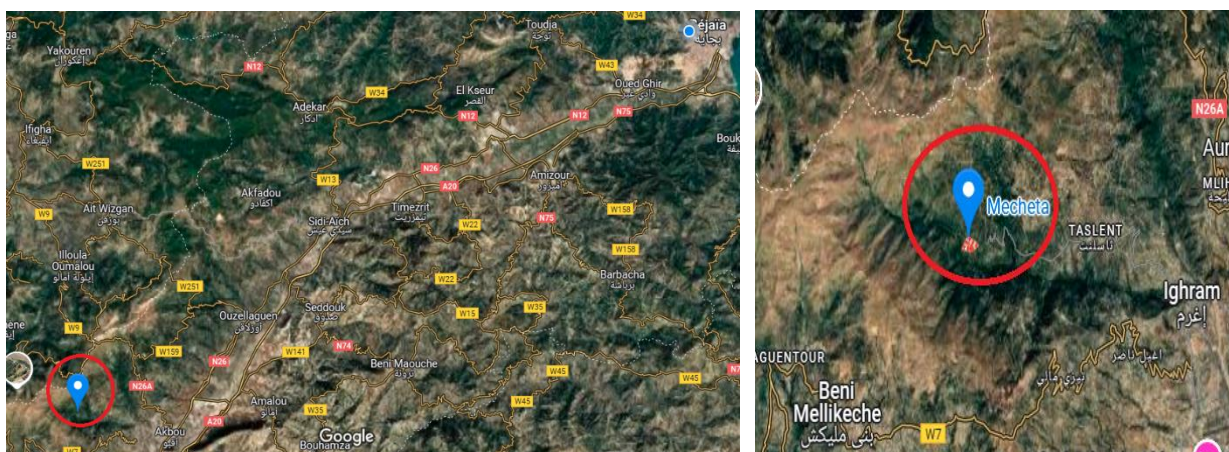


Figure 4 : Carte géographique du lieu de la récolte d'*Asplenium ceterach* (**Photo Originale**).

II.2. Extraction

Une quantité de 200 g de la poudre d'*Asplenium ceterach* a été macérée dans de l'éthanol (90%) avec un rapport de 1/10. Après 24h, le mélange a été filtré puis évaporé à l'aide d'un rota-vapeur afin d'éliminer le solvant pour ensuite être mis dans l'étuve à 40°C pendant 72h, l'extrait finale a été conservé et utilisé ultérieurement dans cette étude.

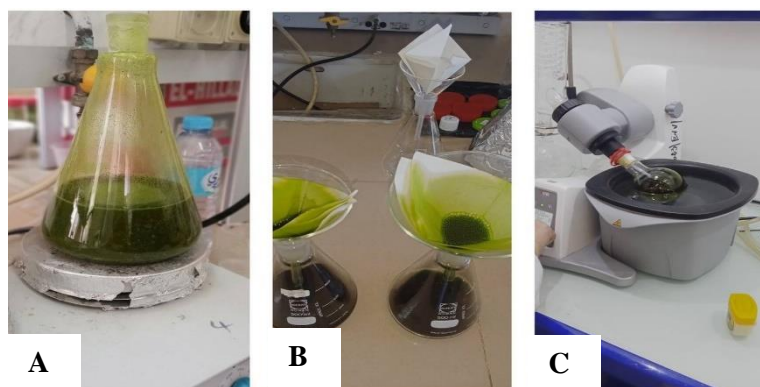


Figure 5 : Photos de macération ; (A) macération pendant 24h, (B) filtration sur papier Wattman, (C) Evaporateur rotatif (**Photos originales**).

II.2.1. Rendement

Le rendement d'extraction a été calculé en suivant la formule :

$$R (\%) = (M1-M0 /M) \times 100$$

Avec :

R (%) : Rendement en pourcentage.

M1 : Masse du cristalliseur avec de l'extrait après séchage en (g).

M0 : Masse du cristalliseur vide en (g).

M : Masse de la plante sèche utilisée en (g).

II.3. Dosage des composés phénoliques**II.3.1. Dosage des polyphénols totaux****Principe :**

Il consiste à réduire le réactif de Folin-Ciocalteu composé d'un complexe ionique, formé d'acides phosphomolybdique et phosphotungstique par les groupements phénoliques, provoquant ainsi l'oxydation de ces derniers et la formation d'un complexe bleu qui absorbe à 765 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des polyphénols dans l'extrait (**Dif et al., 2015**).

Mode opératoire :

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique a été évaluée par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (**Singleton et Ross, 1965**) d'où un volume de 200 µl d'extrait a été mélangé avec 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué à 10%. Après 4min, 800 µl de Carbonate de Sodium (Na₂CO₃) dilué à 7,5% ont été ajoutés. Après 2h d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard à une concentration de 1mg/ml.

La concentration ainsi obtenue est exprimée en équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait en se référant à la droite d'étalonnage (**Annexe 1**) (**Wong et al., 2006**). Le dosage a été réalisé en triple afin de calculer les valeurs moyennes.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Principe :

Il repose sur les capacités à oxyder les flavonoïdes par le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), formant ainsi un complexe jaunâtre qui absorbe à 430 nm, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes dans l'extrait (**Dif et al., 2015**).

Mode opératoire :

L'estimation de la teneur en flavonoïdes a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par (**Quettier-Deleu et al., 2000**) où un volume de 1 ml du réactif (AlCl_3) à 2% a été ajouté à 1 ml d'extrait. Après 30 min d'incubation, l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la quercétine comme standard à une concentration de 1mg/ml.

La concentration ainsi obtenue a été exprimée en équivalent de la quercétine (QE)/g d'extrait en se référant à la droite d'étalonnage (**Annexe 2**). Le dosage a été réalisé trois fois afin de calculer les valeurs moyennes.

II.4. Evaluation de l'activité anti-lithiasique**II.4.1. Etude de la cinétique de cristallisation de l'oxalate de calcium**

L'inhibition de la cristallisation oxalo-calcique est basée sur le principe de la turbidimétrie qui mesure le trouble existant dans la solution en fonction de temps via un spectrophotomètre UV-9200 d'où une courbe turbidimétrique qui montre les trois phases de la formation de ces cristaux (**Figure 6**) (nucléation, croissance et agrégation) (**Abdelmalek et al., 2001**).

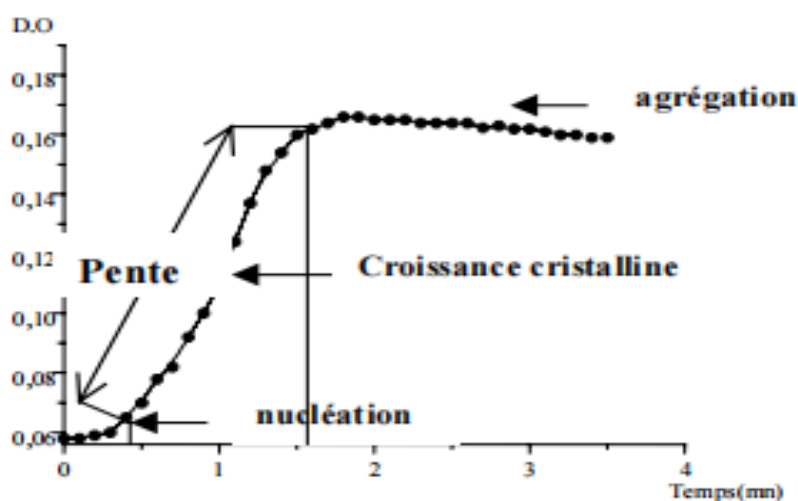


Figure 6 : Allure générale de la courbe turbidimétrique sans inhibiteur (**Abdelmalek et al., 2001**).

Mode opératoire :

- **En absence d'extrait:** Des solutions de chlorure de calcium et d'oxalate de sodium ont été préparées avec des concentrations finales de 40 mM et 4 mM respectivement dans un tampon contenant 200 mM NaCl et 10 mM acétate sodium à un pH 6,5 comme décrit par (Chaudhary et al., 2022). Ensuite, un volume de 500µl de CaCl₂ avec 500µl de tampon a été placé dans une cuve en quartz pour lire le blanc. La cristallisation a été initiée en ajoutant 500µl de solution d'oxalate de sodium et la mesure de la densité optique a été effectuée à 620 nm chaque 6s pendant 10 min.
- **En présence d'extrait:** Avec les mêmes solutions, un volume de 500µl de CaCl₂ avec 500µl d'extraits éthanolique à différentes concentrations (5mg/ml ; 2,5mg/ml ; 1mg/ml et 0,5mg/ml). La cristallisation a été initiée en ajoutant 500µl de solution d'oxalate de sodium et la mesure de la densité optique a été effectuée à 620 nm chaque 6s pendant 10 min.

Remarque :

L'acide citrique a été utilisé comme standard à différentes concentrations (5mg/ml ; 2,5mg/ml ; 1mg/ml et 0,5mg/ml)

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par la formule suivante :

$$I\% = (1 - [P_{pi} / P_{ai}]) \times 100$$

Avec :

I% : Pourcentage d'inhibition.

P_{pi} : La pente turbidimétrique en présence d'extrait de plante.

P_{ai} : La pente turbidimétrique en absence d'extrait de plante.

II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Asplenium ceterach* contre des souches bactériennes sélectionnées pour le test est évaluée selon le protocole standard décrit par le **Clinicat et Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015)**, utilisant la méthode de diffusion sur gélose pour mesurer l'efficacité de l'extrait étudié. Les bactéries de référence

utilisées sont provenues de laboratoires de microbiologie appliquée de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université A. MIRA –Bejaïa:

- ✓ Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 8739.
- ✓ Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

II.5.1. Préparation des échantillons

Les souches identifiées auparavant été conservées sur des milieux spécifiques (géloses inclinées) ont été revivifiées en utilisant un bouillon nutritif.

La revivification consiste à prélever quelques colonies des tubes contenant les souches conservées et à les transférer dans un tube à essai stérile contenant du bouillon nutritif, qui a été préparé au préalable. Après une incubation de 24 heures, la croissance est évaluée par l'apparition d'un trouble dans le milieu. On a réalisé une standardisation des souches afin d'obtenir une culture à une concentration de 10^8 UFC/ml.

II.5.2. Préparation de milieu de culture

Au cours de cette étude, on a utilisé le milieu Muller Hinton Agar (MHA) qui été préparés comme suit :

***Muller Hinton Agar (MHA) :** Dissoudre 38 g de gélose Muller-Hinton dans 1 l d'eau distillée. Faire bouillir en agitant jusqu'à dissolution complète. Ajuster le pH à $7,4 \pm 0,2$, puis autoclaver pendant 20 minutes à 121 °C. Verser ensuite le milieu dans des boîtes de pétri.

✓ Mode opératoire :

L'étude a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque de Müller-Hinton sur milieu solide. Des boîtes de Pétri (9 cm de diamètre) ont été remplies avec 10 ml de milieu de Müller-Hinton. Les souches bactériennes ont été ensemencées sur la surface des plaques d'agar sous forme de motifs radiaux à l'aide d'un écouvillon et de suspensions de jeunes cultures bactériennes.

L'application a été réalisée à l'aide de disques de papier stériles (6 mm de diamètre), placés sur les surfaces d'agar inoculées et imprégnés de 100 µl de l'échantillon. Une légère pression vers le bas a été appliquée sur chaque disque avant l'incubation pour garantir un contact complet entre le disque et la surface de l'agar. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Les résultats ont été lus en mesurant le diamètre de l'inhibition

autour du disque à l'aide d'une règle, maintenu à l'arrière de la boîte de Pétri inversée (Hicham et Samah, 2021).

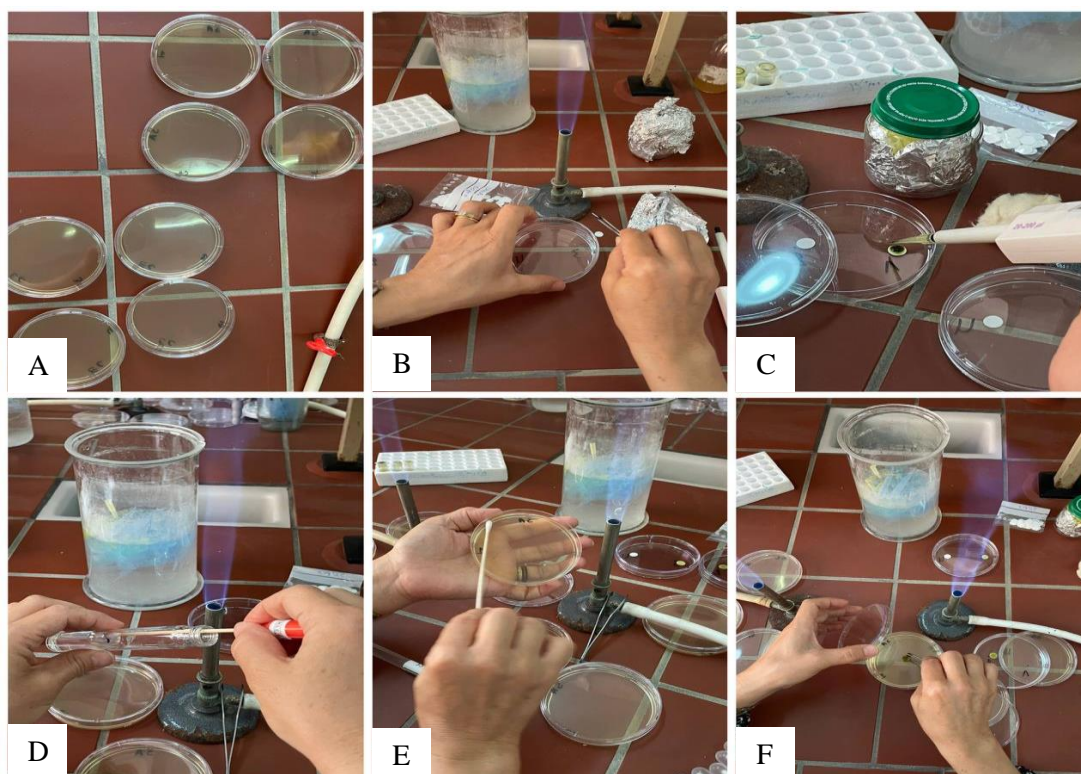


Figure 7 : Evaluation de l'activité antimicrobienne ; (A) Milieu muller hinton agar, (B) et (C) Disques en papiers stériles imprégnés d'échantillon, (D) et (E) Des souches bactériennes préparées et ensemencées, (F) Disques placés sur les surfaces d'agar (**Photos originales**).

II.6. Etude statistique

Tous les tests réalisés ont été répétés trois fois et les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type. Les coefficients de corrélation ont été réalisés à l'aide du programme Microsoft Office Excel 2013 et les valeurs des IC50 ont été calculées en utilisant le logiciel Graph Pad.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction

Afin d'évaluer l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs présents dans *Asplenium ceterach*, le rendement d'extraction a été déterminé à partir de la formule standard mentionnée dans la partie méthodes expérimentales à partir de 200g de plante sèche utilisée.

Le rendement d'extraction représente la capacité du solvant à extraire les composés bioactifs de la plante. Dans notre étude, le rendement d'extraction par macération utilisant un solvant hydroalcoolique (mélange éthanol/eau) a atteint 35,16 %. Ce rendement a été comparé à ceux rapportés dans la littérature. En effet, **Negadi et al. (2021)** ont obtenu un rendement de 8 % à partir d'un extrait méthanolique de *Asplenium ceterach* collecté dans la région de Tiaret (Algérie), tandis que **Petrova et al. (2021)** ont rapporté un rendement de $9,8 \pm 1,1$ % pour un extrait méthanolique obtenu également par macération.

Le rendement obtenu dans notre étude est donc supérieur à ceux mentionnés ci-dessus. Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs intervenant dans le processus d'extraction. D'abord, le choix du solvant joue un rôle majeur : les solvants hydroalcooliques sont connus pour leur capacité à extraire un spectre plus large de composés bioactifs, en particulier les substances polaires et semi-polaires (**Handa et al., 2008**). Ensuite, des paramètres comme la température, la durée de macération, l'agitation, la taille des particules végétales, ainsi que l'origine géographique et l'état physiologique de la plante influencent également significativement le rendement d'extraction (**Azwanida, 2015**).

Ainsi, le rendement de 35,16 % obtenu dans notre étude peut être considéré comme modéré à élevé pour ce type d'extraction. Il reflète une efficacité acceptable du procédé mis en œuvre, justifiant le choix du solvant et des conditions opératoires appliquées.

III.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes

Les teneurs de l'extrait d'*Asplenium ceterach* en polyphénol totaux et flavonoïdes sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E) et en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g E) respectivement, en se référant aux courbes d'étalonnage (**Annexe 1 et 2**).

Nos résultats révèlent une teneur plus élevée en polyphénols totaux, estimée à $277,14 \pm 9,1$ mg EAG /g d'extrait de la plante et une teneur en flavonoïdes estimée à $30,62 \pm 0,15$ mg EQ /g d'extrait.

Ces résultats ont été comparés à ceux rapportés dans la littérature pour la même espèce :

Petkov et ses collaborateurs en 2021 ont trouvé des teneurs en polyphénols de l'ordre de $214,7 \pm 12,1$ mg EAG /g d'extrait et en flavonoïdes avec une valeur de $8,0 \pm 0,2$ mg EQ/g d'extrait.

Petrova et al. (2021), utilisant un extrait méthanolique d'*Asplenium ceterach*, ont rapporté une teneur en polyphénols de $29,61 \pm 1,7$ mg GAE/g et une teneur en flavonoïdes de $18,42 \pm 1,2$ mg QE/g. De leur côté, **Halli et al. (2020)** ont obtenu, à partir d'un autre extrait méthanolique de la même plante, des teneurs de $231,5 \pm 13,6$ mg GAE/g pour les polyphénols et $25,5 \pm 1,6$ mg QE/g pour les flavonoïdes.

Les différences observées peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Le choix du solvant joue un rôle majeur : les solvants hydroalcooliques permettent l'extraction d'un spectre plus large de composés à polarité intermédiaire, tandis que le méthanol pur favorise certains polyphénols plus polaires (**Handa et al., 2008**). Les conditions opératoires comme la durée de macération, la température, l'agitation ou la granulométrie de la poudre végétale influencent aussi fortement les rendements en métabolites secondaires (**Azwanida, 2015**). Aussi, des facteurs environnementaux comme l'origine géographique, les conditions climatiques de la région de récolte ou encore le stade physiologique de la plante au moment de la cueillette peuvent moduler la concentration en composés bioactifs ((**Pekgöz et Çinbilgel, 2019**)).

La teneur en composés phénolique obtenue dans cette étude est supérieure par rapport aux valeurs rapportées par **Halli et collaborateurs** et **Petrova et ses collaborateurs**. Ces résultats suggèrent que notre protocole d'extraction éthanolique est particulièrement efficace pour l'obtention des polyphénols et des flavonoïdes.

III.3. Evaluation de l'activité anti-lithiasique

III.3.1. En présence et en absence de l'extrait de la plante

La figure 8 donne l'allure de la courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'inhibiteur en fonction du temps et en absence de l'extrait.

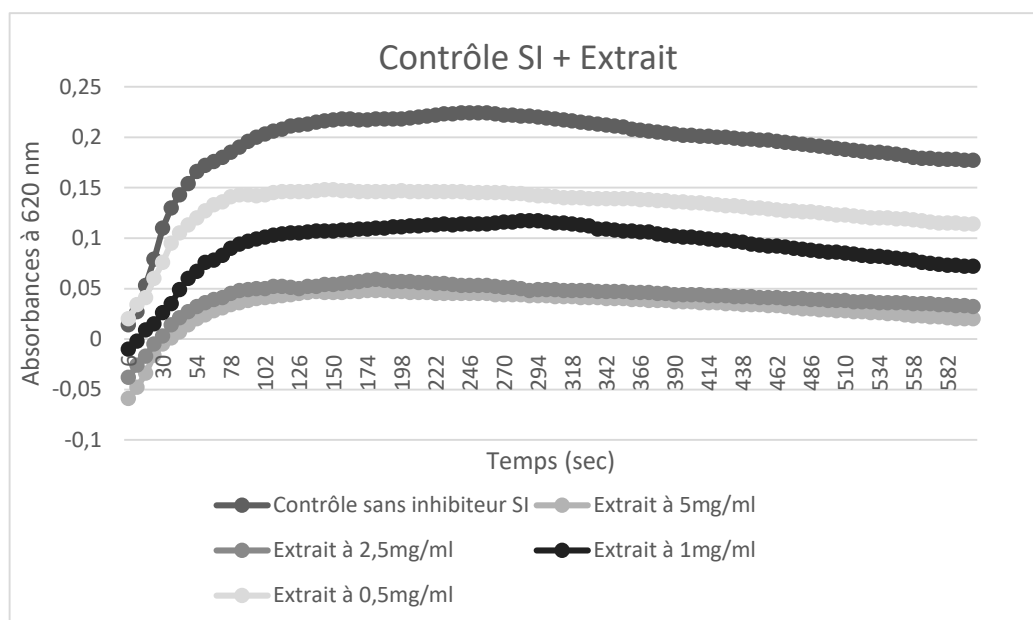


Figure 8 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en absence et en présence d'extrait à différentes concentrations.

II.3.2. Control positif (Acide citrique)

La figure 9 présente la courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'acide citrique à différentes concentrations.

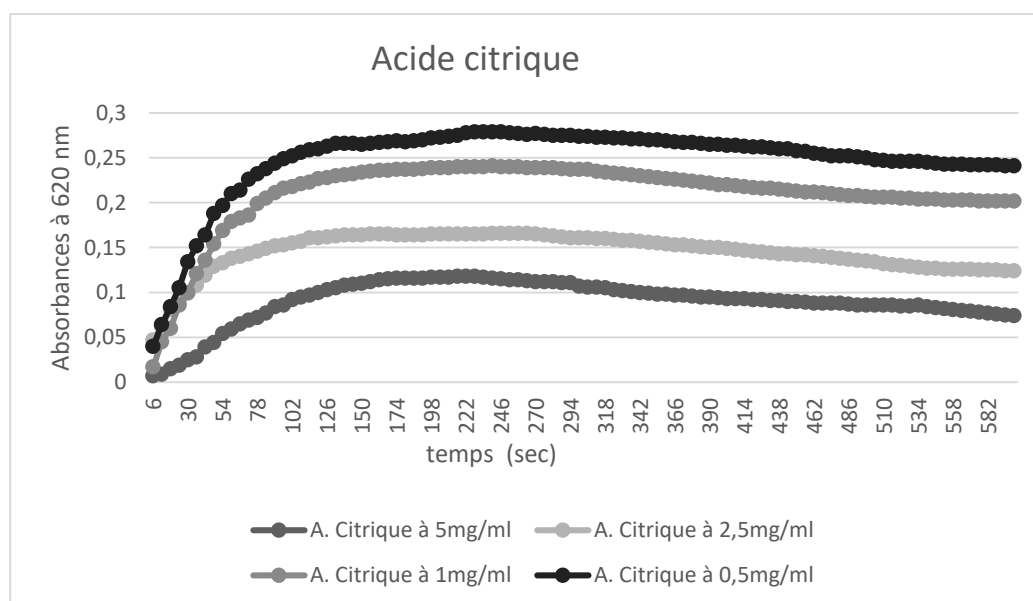


Figure 9 : Courbe de cristallisation oxalocalcique en présence d'acide citrique à différentes concentrations.

L'activité antilithiasique *in vitro* des extraits a été évaluée par la méthode de turbidité (inhibition de la formation d'oxalate de calcium). Dans cette méthode l'inhibition de la formation d'oxalate de calcium a été mesurée en termes de turbidité en utilisant un spectrophotomètre (Agilent technologies Cary 60 uv-vis). Plus la turbidité est faible, plus l'inhibition est forte et moins l'absorbance sera observée dans le spectrophotomètre. L'inhibition de la formation d'oxalate de calcium en présence de l'extrait a été comparée à un contrôle positif (acide citrique). L'étude a été réalisée à 37 ° C avec une agitation constante à pH 6,5.

Tout d'abord, la croissance des cristaux *in vitro* en l'absence de tout inhibiteur a été réalisée (contrôle négative), la turbidité a été formée immédiatement après le mélange des produits chimiques. Les données obtenues ont été utilisées comme contrôle pour la comparaison de la croissance en présence d'extrait de la plante. Ensuite, l'étude a été poursuivie pour évaluer l'effet de l'extrait de l'espèce *Asplénium cétérach* sur la formation des cristaux selon la procédure mentionnée dans le chapitre matériels et méthodes. L'inhibition de la formation des cristaux a été calculée par la méthode graphique.

La concentration croissante de l'extrait avait inhibé la croissance cristalline en inhibant la nucléation de l'oxalate de calcium en se désintégrant en particules plus petites. Les résultats de l'analyse de nucléation ont confirmé que l'extrait contenait des agents empêchant la nucléation.

La présente étude (**figures 8 et 9**) a révélé que la concentration croissante de l'extrait de plante étudiée et du contrôle positif avait inhibé la croissance cristalline tout en inhibant la nucléation de l'oxalate de calcium.

La figure 10 illustre les pourcentages d'inhibition de la cristallisation oxalo-calcique avec l'extrait et l'acide citrique à différentes concentrations.

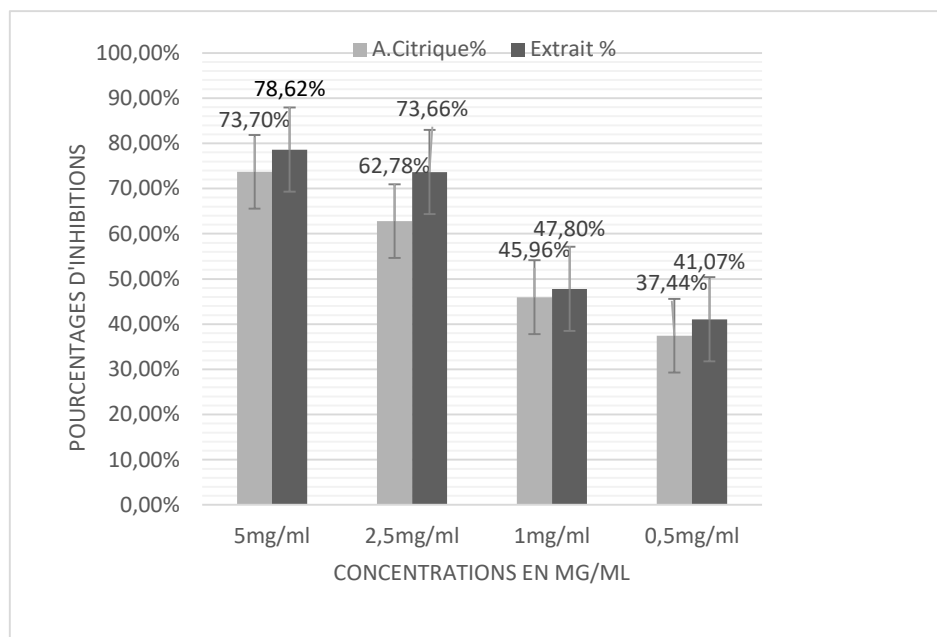


Figure 10 : Pourcentages d'inhibition de la cristallisation oxalo-calcique avec l'extrait et l'acide citrique à différentes concentrations.

Dans cette étude, il a été observé que la faible dose d'extrait d'*Asplénium cétérach* (0.5 mg / ml) a montré 41.07% d'inhibition, alors que la dose la plus élevée (5 mg/ml) a montré 78.62% d'inhibition (**Figure 10**).

Après exploration de ses résultats, au niveau de l'extrait d'*Asplénium cétérach* et de l'acide citrique, on constate que la plante *Asplénium cétérach* présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport à l'acide citrique

Ces résultats sont supérieurs aux ceux obtenus par **Helali et ses collaborateurs en 2024** sur l'extrait méthanolique des feuilles et des fruits de *Capparis spinosa L*, en utilisant la même méthode, (la forte concentration 10 mg/ ml a donné une inhibition de 74.47 % pour l'extrait des feuilles, et 60.06 % pour l'extrait des fleurs). Par contre, ils sont inférieurs aux ceux obtenus par **Taşkın et ses collaborateurs en 2020** avec l'extrait de la plante *Equisetum telmateia* (de la même division que *A. Ceterach*), ils ont démontré que, la nucléation a été inhibée à 85,59% à une concentration de 5 mg/ml. Cette différence est probablement due aux compositions phytochimiques de la plante, conditions de croissance de la plante comme

le sol, la géolocalisation de la plante, conditions ambiantes pendant le développement de l'organe, degré de maturité, la récolte et les différences génétiques et le solvant d'extraction.

Le **tableau II** illustre les concentrations d'inhibition de la cristallisation oxalo-calcique à 50% avec l'extrait et l'acide citrique

Tableau II: Les concentrations d'inhibition de la cristallisation à 50%

Groupe	IC50
Extrait éthanique	1540 ± 5,3 µg/ml
Acide citrique	1720 ± 5,22 µg/ml

Cependant, l'extrait de plante « *A. Ceterach* » a montré une inhibition de 50% (IC50) à 760 µg/ml tandis que l'acide citrique a montré une inhibition à 950 µg/ml (**Tableau IV**). Les résultats obtenus par **Chaudhary et ses collaborateurs en 2022** sur l'extrait de *Thalictrum foliolosum* DC. ont marqué une inhibition de nucléation à 114,36 µg/ml pour l'extrait, 10,41 et 10,69 µg/ml pour les standards (berberine et palmatine) respectivement. Cela suggère que notre plante présente une grande efficacité d'inhibition qui pourrait être dû à la présence d'agents inhibiteurs de la croissance des cristaux CaOx (**Sasikala et al., 2013**).

Malgré la disponibilité de diverses techniques de traitement de la lithiase urinaire tels les médicaments pour l'expulsion des pierres et la chirurgie, mais le taux de récurrence et d'effets secondaires restent importants, c'est pour cela, l'utilisation de la phytothérapie demeure comme une approche thérapeutique durable (**Chaudhary, 2022**). D'après les résultats de notre étude et de la littérature, de nombreux extraits de plantes réalisent une activité antilithiasique, parmi elles on trouve, l'*Asplenium ceterach* pourrait être une herbe à effets bénéfiques et activité puissante, capable de prévenir la formation de calculs urinaires en induisant l'excrétion de petites particules par les reins et en réduisant le risque de rétention dans les voies urinaires (**Sasikala et al., 2013 ; De Bellis et al., 2019**).

On peut conclure que, l'*Asplénium cétérach* possède des propriétés anti-lithiasiques, c'est-à-dire qu'il peut aider à prévenir ou à traiter les calculs rénaux, notamment ceux formés d'oxalate de calcium. Des études ont montré que l'extrait aqueux de cette plante inhibe la formation de ces calculs et modifie leur structure pour les rendre plus faciles à éliminer.

L'*Asplénium cétérach* agit sur les calculs rénaux (Sasikala *et al.*, 2013 ; De Bellis *et al.*, 2019) :

- **Inhibition de la formation** : L'extrait aqueux de la plante empêche la cristallisation de l'oxalate de calcium, un composant principal des calculs rénaux ;
- **Modification de la structure** : Il favorise la formation de cristaux d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite), qui sont plus petits et plus facilement éliminables par l'organisme, par rapport à l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) ;
- **Effet dose-dépendant** : L'action de la plante est proportionnelle à la dose utilisée.

III.4. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique d'*Asplénium cétérach* basée sur les mesures de diamètres en cm des halos d'inhibition.

La méthode de diffusion des disques des échantillants nous a permis de déterminer leur action sur les deux souches (*Escherichia coli* : gram négatif et *Staphylococcus aureus* : Gram positif).

Les résultats obtenus sont illustrés dans le Tableau V ci-dessous :

Tableau III : Diamètres d'inhibition obtenus avec l'extrait d'*Asplénium cétérach* à différentes concentrations

Souches / Echantillon (A. <i>cétérach</i>)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1 ^{er} échantillon à 100 mg/ml	1,1	/
3 ^{ème} échantillon à 25 mg/ml	1	/
4 ^{ème} échantillon (Témoin)	/	/

Après incubation dans l'étuve à 37C°, la lecture des résultats a été effectuée 24 heures puis 48 heures après la manipulation. Les différentes observations sont présentées dans la figure 11.



Figure 11: Activité antibactérienne de l'extrait d'*Asplénium ceterach* contre *E. coli* (Photos originales)

L'extrait éthanolique d'*Asplénium ceterach* n'a montré aucune activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations. En revanche, il a démontré une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition allant de 1 à 1,1 cm pour les concentrations de 25 et 100mg/ml respectivement.

Les résultats insatisfaisants peuvent être dus à plusieurs facteurs liés à la manipulation des produits et à la qualité des produits eux-mêmes.

Il a été constaté une absence de zones d'inhibition autour de la plupart des disques d'extrait. L'extrait d'*Asplenium ceterach* montre une activité antibactérienne modérée contre *Escherichia coli*, avec une inhibition observée à des concentrations de 25 mg/ml et 100 mg/m. Contrairement à la littérature qui a démontré qu'*Asplenium ceterach* possède une activité antibactérienne avérée. Plusieurs études ont montré que ses extraits, notamment ceux des rhizomes, présentent une activité antimicrobienne significative contre plusieurs souches bactériennes, y compris des bactéries Gram-négatives ce qui explique son efficacité contre *Escherichia coli*.

Asplénium ceterach est connue pour ses effets antimicrobiens, des études *in vitro* ont démontré que les extraits d'*Asplenium ceterach* peuvent inhiber la croissance de diverses bactéries, telles que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* d'où le choix des souches lors de la pratique. Ainsi, il est à noter que, *A. ceterach* peut agir sur différentes souches bactériennes, en effet, l'activité antibactérienne a été observée à la fois sur des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ce qui souligne le large spectre d'action de cette plante.

Les rhizomes d'*Asplenium ceterach* semblent présenter une activité antimicrobienne plus élevée que les feuilles, bien que les deux parties aient montré des effets.

Conclusion

Conclusion

Le travail présenté vise à explorer le potentiel phytochimique, anti-lithiasique et anti-microbien de l'*Asplenium ceterach*, une plante médicinale locale de la région de Béjaïa, afin de trouver des alternatives naturelles aux produits de synthèse aux effets secondaires indésirables. L'étude se justifie par la richesse de cette plante, sa disponibilité locale et le manque de recherches approfondies sur ses propriétés.

Les résultats de l'analyse chimique montrent que le rendement d'extraction est satisfaisant, permettant une analyse approfondie de la composition chimique de l'échantillon. Les dosages phytochimiques ont révélé une abondance de composés phénoliques et de flavonoïdes, connus pour leurs propriétés biologiques bénéfiques.

Les résultats d'études montrent que l'extraits d'*Asplenium ceterach* réduit la cristallisation de l'oxalate de calcium, ce qui pourrait en faire un produit préventif intéressant pour les calculs rénaux d'oxalate de calcium et les infections urinaires en inhibant la croissance des agents pathogènes.

L'extraît éthanolique d'*Asplénium cétérach* n'a montré aucune activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations. En revanche, il a démontré une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition allant de 1,1 à 1 cm pour les concentrations de 25 et 100 mg/ml respectivement.

Il est vrai que l'utilisation de l'*Asplénium cétérach* en phytothérapie a connu un regain d'intérêt, notamment en Algérie et à l'échelle mondiale, pour traiter diverses affections, dont les infections urinaires et la lithiase rénale. Cependant, il est important de noter que l'efficacité de cette plante dans ces domaines spécifiques n'est pas toujours clairement établie par la recherche scientifique.

Il est crucial de valider scientifiquement l'efficacité de cette plante médicinale revendiquée pour ses propriétés anti-lithiasiques, notamment en ce qui concerne l'inhibition des cristaux d'oxalate de calcium. Des études suggèrent que l'identification et la caractérisation des molécules chimiques responsables de cet effet sont nécessaires, ainsi qu'une évaluation approfondie de l'efficacité thérapeutique de la plante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques**(A)**

Abdelmalek F, Harrache D, Addou A, Taleb S, Semmoud A. Etude par turbidimétrie de la cristallisation oxalocalcique en présence de quelques inhibiteurs. *Phys Chem News*, 2001; 4: 96-107.

Alelign T, Petros B. Kidney stone disease: An update on current concepts. *Advances in Urology*, 2018 ; 4: 1-12.

Atmani F, Slimani Y, Mimouni M, Aziz M, Hacht B, Ziyat A. Effect of aqueous extract from *Herniaria hirsuta* L. on experimentally nephrolithiasic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2004; 95: 87-93.

Azwanida N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 2015; 4 : 196.

(B)

Bano A, Ahmad M, Hadda T, Saboor A, Sultana S, Zafar M, Khan MPZ, Ashraf MA. Quantitative ethnomedicinal study of plants used in the skardu valley at high altitude of Karakoram-Himalayan range, Pakistan. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2014; 10: 1-18.

Bayart M. Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin. *Scholaris.ca. Université de Sherbrooke*; 2019

Bey M B, Sidhoum R, Halli L, Yalaoui O, Belkadi A. Phenolic profile, Anti-inflammatory and Diuretic properties of *Asplenium ceterach* tested on Albino mice and Wistar albino rats. *Global Journal of Medical Research*, 2020 ; 20: 27-32.

Bélair G, Haou S. First approach to ecological niche of Numidian lycophytes and ferns in Algeria. *Acta Ecologica Sinica*, 2019; 40: 52-63.

Bichler K H, Eipper E, Naber K, Braun V, Zimmermann R, Lahme S. Urinary infection stones. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2002; 19: 488-498.

Bonet M A, Agelet A, Vallès J, Luis V P. Contribution à la connaissance ethnobotanique des ptéridophytes dans les Pyrénées. *Boccone*, 2001 ; 13 : 605-612.

Bouyahya A, Et-Touys A, Khouchlaa A, El-Baaboua A, Benjouad A, Amzazi S. Notes ethnobotaniques et phytopharmacologiques sur *Inula viscosa*. *Phytothérapie*. 2018; 16 : 263-268.

Butterweck V, Khan S R. Herbal Medicines in the Management of Urolithiasis: Alternative or Complementary?. *Planta medica*, 2009; 75: 1095-1103.

Bruyere F, Traxer O, Saussine C, Lechevallier E. Infection et lithiase urinaire. *Progrès en Urologie*, 2008 ; 18: 1015-1020.

(C)

Chaudhary M K, Misra A, Tripathi D, Srivastava S. In-vitro anti-urolithiatic activity and simultaneous HPTLC quantification of berberine and palmatine in standardized extract of *Thalictrum foliolosum* DC. *South African Journal of Botany*, 2022; 151: 445-453.

Chebaibi A, Marouf Z, Rhazi-Filali F, Fahim M, Ed-Dra A. Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 2015; 14: 355-362.

Cole A, Telang J, Kim T K, Swarna K, Q i J, Dauw C, Seifman B, Abdelhady M, Roberts W, Hollingsworth J, Ghani KR. Infection-related hospitalization following ureteroscopic stone treatment: results from a surgical collaborative. *BMC Urology*, 2020; 20 : 1-7.

Coppo E, Marchese A. Antibacterial activity of polyphenols. *Current pharmaceutical biotechnology*, 2014 ; 15 : 380-390.

Coulibaly B S. Apport de l'imagerie médicale dans le diagnostic de lithiase urinaire au centre de santé de référence de la commune I. *Bibliosanteml*. 2024 ; Plant Secondary Metabolites : 99.

Courbebaisse M, Prot-Bertoye C, Bertocchio J P, Baron S, Maruani G, Briand S, Daudon M, Houillier P. Lithiase rénale de l'adulte : des mécanismes au traitement médical préventif. *La Revue de Médecine Interne*, 2017; 38: 44-52.

Crozier A, Jaganath I B, Clifford M N. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. *Plant Secondary Metabolites*, 2006 ; 1: 1-25.

(D)

Danuser H, Gerber R, Hochreiter W, Studer U. Les calculs rénaux en médecine générale - Quelle attitude adopter?. *Forum Médical Suisse*, 2002 ; (44) : 1051-1057.

Daudon M, Traxer O, Lechevallier E, Saussine C. La lithogénèse. *Progrès en Urologie*, 2008; 18: 815-827.

Daudon M, Traxer O, Jungers P. Lithiase urinaire. Paris : Médecine sciences, 2012 : 672.

Debeaux MO. Flor de la kabylie du djurdjura. Paris : Paul Klincksieck, 1894 :417.

De Bellis R, Piacentini M P, Meli M A, Mattioli M, Menotta M, Mari M, Valentini L, Palomba L, Desideri D, Chiarantini L. In vitro effects on calcium oxalate crystallization kinetics and crystal morphology of an aqueous extract from *Ceterach officinarum*: Analysis of a potential antilithiatic mechanism. *PLoS ONE*, 2019; 14: e0218734.

De Wavrin H. Habitats préférentiels des tritons en Moyenne-Belgique. *Les Naturalistes Belges*, 2003 ; 84 : 1-14.

Dif M M, Benchiha H, Mehdadi Z, Benali-Toumi F, Benyahia M, Bouterfas K. Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, 2015; 13: 314-319.

Doizi S, Letendre J, Bensalah K, Traxer O. Prise en charge pharmacologique de la lithiase urinaire. *Progrès en Urologie*, 2013; 23: 1312-1317.

Doizi S, Raynal G, Traxer O. Evolution du traitement chirurgical de la lithiase urinaire sur 30 ans dans un centre hospitalo- universitaire. *Progres en urologie : journal de l'Association francaise d'urologie et de la Societe francaise d'urologie*, 2015; 25: 543-548.

(E)

El Khasmi M, Farh M. Impact des plantes médicinales sur le rein. *Revue Marocaine de Néphrologie*, 2022 ; 2 : 32-40.

(F)

Farràs A, Mitjans M, Maggi F, Caprioli G, Vinardell M P, López V. Exploring wild Aspleniaceae ferns as safety sources of polyphenols: The case of *Asplenium trichomanes* L. and *Ceterach officinarum* Willd. *Frontiers in Nutrition*, 2022 ; 9 : 99215.

Foradori CD, Weiser MJ, Handa RJ. Non-genomic actions of androgens. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2008; 29:169-181.

Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H, Hirai Y. Antibacterial Activity of Hydrolyzable Tannins Derived from Medicinal Plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiology and Immunology*, 2004; 48: 251-261.

(G)

Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005; 3: 162-169.

Ghourri M, Zidane L, Douira A. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc saharien). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2014; 7: 1688-1700.

(H)

Hammiche V, Gheyouche R. Plantes Médicinales Et Thérapeutiques. 1ère Partie : Les Plantes Médicinales Dans La Vie Moderne Et Leur Situation En Algérie. *Algerian Annals of Agronomy*, 1988; 12: 419-49.

Haou S, De Bélair G, Viane R L L. Inventory of the ferns (filicopsida) of Numidia's (North-Eastern Algeria). *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 2011 ; 3: 206-23.

Helali A, Benchachou K, Kemer C, Kechkeche S, Bellifa N, kamel D Y M. Phenol content, potential antioxidant and anti-urolithic effects of fruit and leaf extracts from Algerian *Capparis spinosa* L. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 2024 ; 8: 112-122.

(I)

Idm'hand E, Msanda F, Cherifi K. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in treatment of kidney stones in Tarfaya province (Morocco). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2019 ; 26: 711-719.

(K)

Kara M, Zidane L. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des lithiases urinaires dans la région d'Oujda (Maroc oriental). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 2020 ; 8 : 2181-2189.

Khan S R, Pearle M S, Robertson W G, Gambaro G, Canales B K, Doizi S, Traxer O, Tiselius H G. Kidney stones. *Nature Reviews Disease Primers*, 2016 ; 2: 1-23.

Khouchlaa A, Talbaoui A, El Idrissi A E Y, Bouyahya A, Lahsen S A, Kahouadji A, Tijane A. Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique *in vitro* sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie*, 2017 ; 16: 14-19.

Khouchlaa A, Tijane M, Chebat A, Hseini S, Kahouadji A. Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de la lithiase urinaire au Maroc. *Phytothérapie*, 2017 ; 15: 274-287.

(L)

Lowe E J, Lydon A F, Fawcette B. Ferns : Asplenium, Diplazium, Hemidictyum, Ceterach, Scolopendrum. Royaume-Uni : Groombridge and Sons, 1867 : 152.

(M)

Mandal A, Mondal A. Studies on antimicrobial activities of some selected ferns and lycophytes in Eastern India with special emphasis on ethno-medicinal uses. *African Journal of Plant Science*, 2011 ; 5 : 410-412.

Marrelli M. Medicinal Plants. *Plants* ; 2021, 10: 2-5.

Meddour R, Sahar O, Ouyessad M. Enquête ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc national du Djurdjura et sa zone d'influence, Algérie. *Ethnobotany Research and Applications*, 2020 ; 20 : 1-25.

(N)

Negadi M, Mohamed AH, Djamel M, Hamid Bendif, Blake P. Floristic diversity and Ecology of Epilithic Diatoms of the Chott Chergui wetland (North-West of Algeria). *Genetics and Biodiversity Journal*, 2021; 5 :186-197.

(O)

Obistioiu D, Cocan I, Tîrziu E, Herman V, Negrea M, Cucerzan A, Neacsu AG, Cozma AG, Nichita I, Hulea A, Radulov I, Alexa E. Phytochemical Profile and Microbiological Activity of Some Plants Belonging to the Fabaceae Family. *Antibiotiques*, 2021 ; 10 : 662.

(P)

Pawlowska A M, Camangi F, Braca A. Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Cornaceae) fruits. Food chemistry, 2010 ; 119: 1257-1261.

Pekgöz A K, Çinbilgel I. Phytochemical contents and antioxidant activities of fern, *Asplenium ceterach* L. In different altitudes. Bangladesh Journal of Botany, 2019 ; 48: 315-320.

Petkov V, Batsalova T, Stoyanov P, Mladenova T, Kolchakova D, Argirova M, Raycheva T, Dzhambazov B. Selective Anticancer Properties, Proapoptotic and Antibacterial Potential of Three *Asplenium* Species. Plant, 2021 ; 10 : 1053.

Petkov V H, Ardasheva R G, Prissadova N A, Kristev A D, Stoyanov P S, Argirova M D. Receptor-mediated biological effects of extracts obtained from three *Asplenium* species. Zeitschrift für Naturforschung C, 2021 ; 76: 367-373.

Petrova K, Nevarez MD, Waldinger RJ, Preacher KJ, Schulz MS. Self-Distancing and Avoidance Mediate the Links Between Trait Mindfulness and Responses to Emotional Challenges. Mindfulness, 2021;12 : 947-958.

Petteri H, Agarwal V, Partinen J, Reuter MA. Recovery of Pb and Zn from a citrate leach liquor of a roasted EAF dust using precipitation and solvent extraction, 2020 ; 236: 116264.

(Q)

Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin J C, Bailleul F, Trotin F. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. J Ethnopharmacol, 2000; 72: 35-42.

(R)

Raj S, Rajan M S G S, Ramasamy S, Goldy R I R S, Ariyamuthu R, Sudhagar M, Gandhi S, Shoba P, Gurusamy M. Une activité anti-urolithiase in vitro d'une formulation à base de plantes: *Spinacia oleracea* L. et *Coriandrum sativum* L. *Clinical Complementary Medicine and Pharmacology*, 2024 ; 4 (1) : 100124.

(S)

Sasikala V, Radha S R, Vijayakumari B. Évaluation in vitro de *Rotula Aquatica* Lour. pour l'activité antiurolithiatique. Journal de recherche en pharmacie, 2013 ; 6: 378-382.

Soares S, Brandão E, Guerreiro C, Soares S, Mateus N, De Freitas V. Tannins in food: Insights into the molecular perception of astringency and bitter taste. Molecules, 2020 ; 25: 2590.

(T)

Taşkın T, Yılmaz B, Doğan A. Antioxidant, Enzyme Inhibitory and Calcium Oxalate Anti-crystallization Activities of *Equisetum telmateia* Ehrh. International Journal of Secondary Metabolite, 2020 ; 7: 181-191.

Tejedor A, Longtine C. Antimicrobial activity of ethanolic and aqueous extracts of medicinally used tree ferns *Alsophila cuspidata* and *Cyathea microdonta*. *Acta Botanica Malacitana*, 2017 ; 42 : 119-123.

Toumou E M, Skaltsa H. Phytochemical Investigation of the fern *Asplenium Ceterach* (*Aspleniaceae*). *Natural Product Communication*, 2018 ; 13: 849-850.

(W)

Wong C C, Li H B, Cheng K W, Chen F. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chem*, 2006; 97(4): 705-711.

(Z)

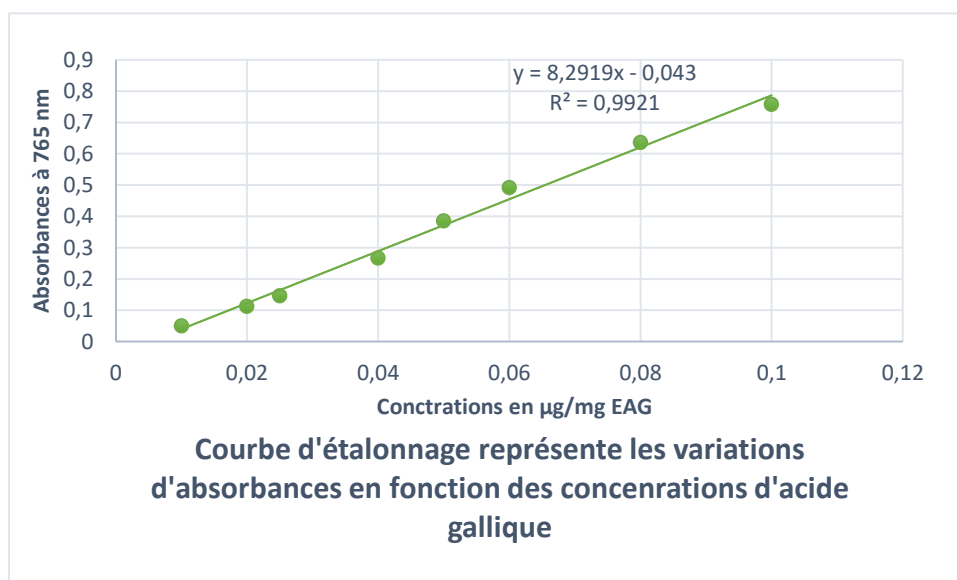
Zerifi R, Bahlous A, Marakchi O, Daudon M, Bartagi Z, Abdelmoula J. Syndrome métabolique : Pathologie et impacte sur la lithogénèse. *Ann Biol Clin*, 2008 ; 66 : 9-17.

Živković S, Skorić M, Ristić M, Filipović B, Milutinović M, Perišić M, Puač N. Rehydration process in rustyback fern (*Asplenium ceterach* L.): Profiling of volatile organic compound. *Biology*, 2021 ; 10 : 574.

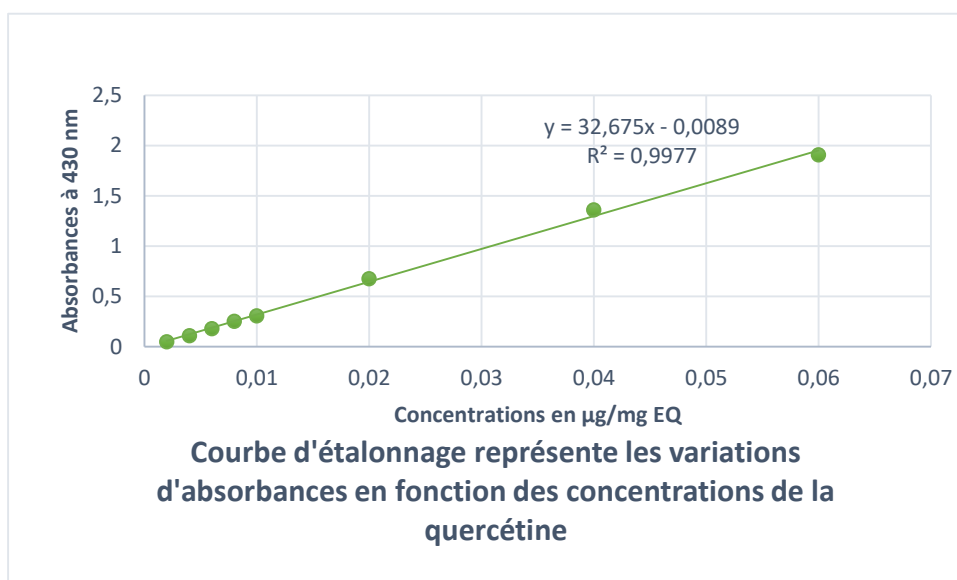
Živković S, Milutinović M, Skoric M. Bioactive Compounds un Bryophytes and Pteridophytes. *India : Hosakatte Niranjana Murthy*, 2023 : 774.

Žiković S, Skorić M, Šiler B, Dmitrović S, Filipović B, Nikolić T, Mišić D. Phytochemical Characterization and Anti-oxidant Potential of Rustyback fern (*Asplenium Ceterach*. L). *Lekovite Sirovine*, 2017 ; 37 : 15-20.

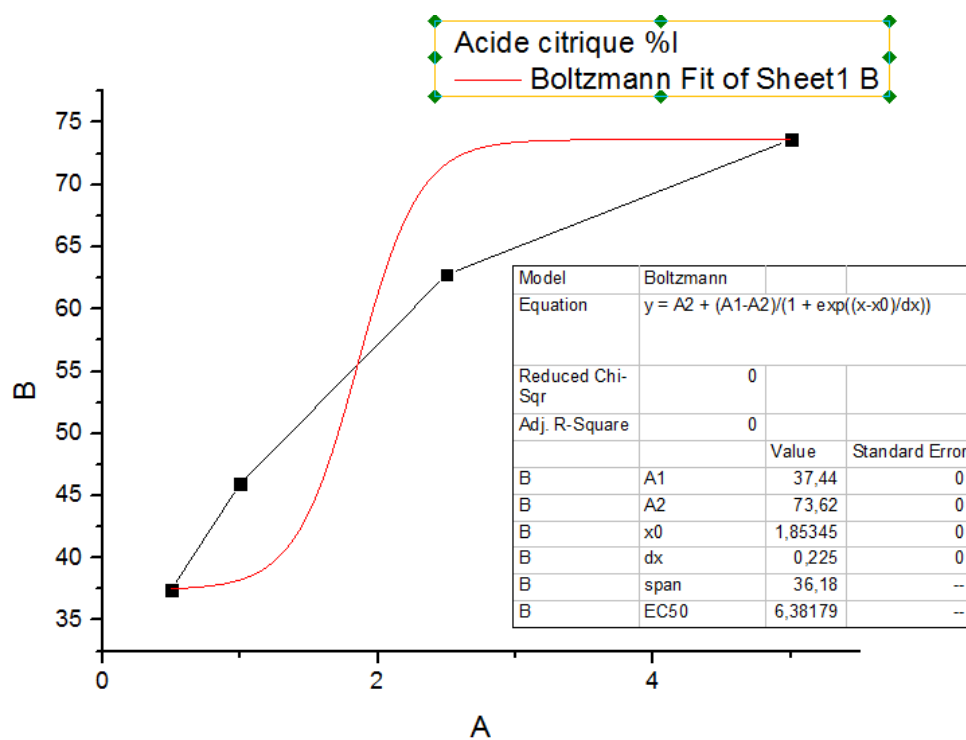
Annexes



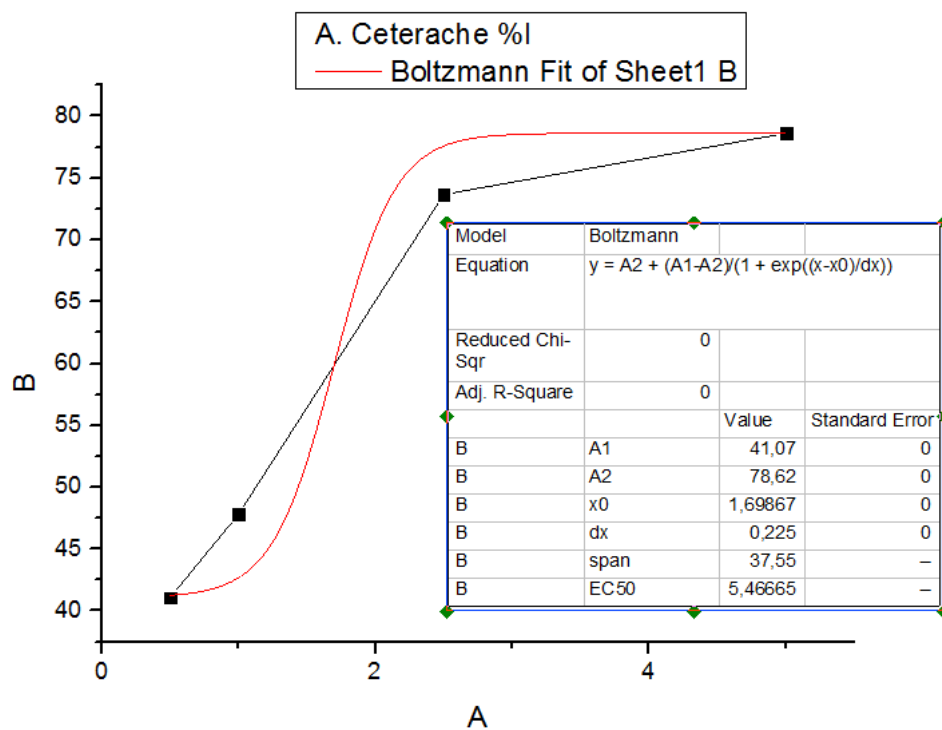
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine



Annexe 3 : Courbe d'IC50% d'acide citrique



Annexe 4 : Courbe d'IC50% pour l'extrait d'Asplenium ceterach

Résumé :

La lithiase urinaire, maladie fréquente, est traitée par des méthodes pouvant engendrer des effets secondaires. Des recherches explorent des alternatives naturelles à base de composés bioactifs pour une prise en charge plus sûre et efficace de cette pathologie. L'étude porte sur l'*Asplenium ceterach* (Cétérach officinal) afin d'évaluer son potentiel en tant que traitement antilithiasique (contre les calculs rénaux) et antimicrobien. L'étude porte sur l'évaluation de l'activité d'un extrait éthanolique, en particulier son efficacité sur la dissolution des cristaux d'oxalate de calcium (CaOx) et son action antibactérienne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, effectué par des méthodes colorimétriques (Folin-Ciocalteu et AlCl₃ respectivement), a permis d'évaluer la richesse de l'extrait en ces composés. Les résultats de l'étude indiquent que l'extrait analysé est riche en composés phénoliques, avec une teneur de $277,14 \pm 9,1$ mg EAG/g E en polyphénols totaux et de $30,62 \pm 0,15$ mg EQ/g E en flavonoïdes. De plus, l'extrait a démontré une activité antilithiasique significative, avec une inhibition de la cristallisation de 78,62% à une concentration de 5 mg/ml, et une concentration inhibitrice 50% (IC₅₀) de $760 \pm 5,3$ µg/ml, selon les tests de turbidité. Cet extrait présente une inhibition contre les souches *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition allant de 1 à 1,1 cm pour les concentrations de 100 et 25 mg/ml respectivement. Il est crucial de valider scientifiquement l'efficacité de cette plante médicinale revendiquée pour ses propriétés antilithiasiques, notamment en ce qui concerne l'inhibition des cristaux d'oxalate de calcium.

Mots clés : Lithiase urinaire, Cristaux CaOX, *Asplenium ceterach*, Activité antilithiasique, Activité antimicrobienne.

Abstract:

Urinary lithiasis, a common condition, is treated with methods that can cause side effects. Research is exploring natural alternatives based on bioactive compounds for safer and more effective management of this condition. This study focuses on *Asplenium ceterach* (*Ceterach officinalis*) to evaluate its potential as an antilithiasis (against kidney stones) and antimicrobial treatment. The study evaluates the activity of an ethanolic extract, particularly its effectiveness in dissolving calcium oxalate (CaOx) crystals and its antibacterial action against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Total polyphenol and flavonoid assays, performed using colorimetric methods (Folin-Ciocalteu and AlCl₃, respectively), allowed us to assess the extract's richness in these compounds. The results of the study indicate that the analyzed extract is rich in phenolic compounds, with a content of 277.14 ± 9.1 mg EAG/g E in total polyphenols and 30.62 ± 0.15 mg EQ/g E in flavonoids. In addition, the extract demonstrated significant antilithiasis activity, with a crystallization inhibition of 78.62% at a concentration of 5 mg/ml, and a 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of 760 ± 5.3 µg/ml, according to turbidity tests. This extract shows inhibition against *Escherichia coli* strains with an inhibition zone ranging from 1 to 1.1 cm for concentrations of 100 and 25 mg/ml respectively. It is crucial to scientifically validate the efficacy of this medicinal plant, which is claimed to have antilithiasis properties, particularly with regard to the inhibition of calcium oxalate crystals.

Keywords: Urinary lithiasis, CaOX crystals, *Asplenium ceterach*, Antilithiasis activity, Antimicrobial activity.

ملخص:

تُعالج حصوات المسالك البولية، وهي حالة شائعة، بطرق قد تُسبب آثارًا جانبية. ويستكشف البحث بدائل طبيعية قائمة على مركبات نشطة بيولوجيًا لإدارة أكثر أمانًا وفعالية لهذه الحالة. تُركّز هذه الدراسة على عشبة الأسبلينيوم سيتراش (*Ceterach officinalis*) لتقييم إمكاناتها كمضاد لحصوات الكلى وعلاج مضاد للميكروبات. تُقيم الدراسة فعالية مستخلص إيثانولي، وخاصةً فعاليته في إذابة بلورات أكسالات الكالسيوم (CaOx) وتأثيره المضاد للبكتيريا ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية. وقد أتاحت لنا فحوصات إجمالي البوليفينول والفلافونويد، التي أُجريت باستخدام طرق قياس اللون (Folin-Ciocalteu و AlCl₃، على التوالي)، تقييم غنى المستخلص بهذه المركبات. تشير نتائج الدراسة إلى أن المستخلص المحلّل غني بالمركبات الفينولية، حيث يحتوي على 277.14 ± 9.1 ملغ EAG/g E من إجمالي البوليفينولات و 30.62 ± 0.15 ملغ EQ/g E من الفلافونويدات. بالإضافة إلى ذلك، أظهر المستخلص نشاطًا ملحوظًا مضادًا لتكوين الحصوات، حيث ثبت تثبيط التبلور بنسبة 78.62% عند تركيز 5 ملغ/مل، وتركيز مثبط بنسبة 50% (IC₅₀) يبلغ 760 ± 5.3 ميكروغرام/مل، وفقًا لاختبارات العكارة. يُظهر هذا المستخلص تثبيطًا ضد سلالات الإشريكية القولونية مع منطقة تثبيط تتراوح من 1 إلى 1.1 سم لتركيزات 100 و 25 ملغ/مل على التوالي. من الضروري التحقق علميًا من فعالية هذا النبات الطبي، الذي يُزعم أنه يتمتع بخصائص مضادة لتكوين الحصوات، وخاصة فيما يتعلق بتثبيط بلورات أكسالات الكالسيوم.

الكلمات المفتاحية: حصوات المسالك البولية، بلورات أكسيد الكالسيوم، نبات الأسبلينيوم سيتراش، النشاط المضاد لحصوات المسالك البولية، النشاط المضاد للميكروبات.