



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie

---

## Mémoire de Magister

Option : Environnement et santé

Présenté par  
**MESSAOUDI Sabah**

### Intitulé de mémoire :

**Etude de l'effet inhibiteur des substances  
chimiques (magnésium et citrate) et naturelles (Origan et Gingembre sur la  
cristallisation oxalo-phosphocalcique  
*in vitro***

### Membres de jury :

<b>Mekhaldi A.E.K</b>	Maitre de conférences	Université de Mostaganem	Président
<b>Djibaoui Rachid</b>	Maitre de conférences	Université de Mostaganem	Examineur
<b>M'hamedi Ahmed</b>	Maitre de conférences	Université de Mostaganem	Examineur
<b>Kacem Brahim</b>	Maitre de conférences	Université de Mostaganem	Rapporteur

## **REMERCIEMENTS**

Ce travail a été réalisé au laboratoire de « lithiase » que dirige le docteur KACEM BRAHIM à l'Université de Mostaganem.

Je remercie en premier lieu ALLAH le tout puissant de m'avoir permis de réaliser ce travail et de pouvoir l'achever malgré tout les obstacles.

J'exprime mes remerciements et une vive reconnaissance à Monsieur KACEM BRAHIM Maître de conférence à l'université de Mostaganem pour avoir accepté de m'encadrer. Je le remercie pour sa confiance, son aide, son soutien, ses critiques, ses conseils et surtout la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Je tiens à remercier Monsieur Mekhaldi A.E.K Maître de conférences à l'université de Mostaganem président de jury pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma thèse.

J'exprime mes profonds remerciements à Monsieur Djibaoui.R, et Monsieur M'hamedi.A pour m'avoir honoré d'accepter de se joindre à ce jury et d'examiner ce modeste travail.

J'adresse mes remerciements à ma chère amie Sbahi khayra qui m'a apporté un soutien sans faille.

Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Je ne saurais oublier mon mari qui m'a tant soutenue, merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

*Je dédie cette thèse*

...

*À MES TRÈS CHERS PARENTS*

*À MON MARI*

*À MON BEBE*

*À mes très chers frères et sœurs et leurs enfants*

*À mes chères amies Kheira, Malika, Nacira..*

*À tout mes amis et collègues*

*À ma belle famille...*

## *Liste des tableaux et figures*

<b>Tableau 1:</b> Nature des cristaux et leurs domaines de pH de cristallisation.	10
<b>Tableau 2:</b> Nature des composés avec leurs zones de pH et la couleur du culot de centrifugation.	10
<b>Tableau 3 :</b> Inhibiteurs de la cristallisation	24
<b>Tableau 4 :</b> composition chimique de l'urine artificiel phosphocalcique	48
<b>Tableau 5:</b> Principales fréquences de vibration de la whewellite	52
<b>Tableau 6:</b> Principales fréquences de vibration de la weddellite.	53
<b>Tableau 7:</b> Principales fréquences de vibrations de la struvite.	54
<b>Tableau 8:</b> Principales fréquences de vibration de la carbapatite	55
<b>Tableau 9:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de la whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en absence d'inhibiteur	55
<b>Tableau 10:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 2mM	56
<b>Tableau 11 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30minutes de cristallisation enprésence du magnésium 3mM	57
<b>Tableau 12:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 4mM	58
<b>Tableau 13 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 5 mM	59
<b>Tableau 14 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 6mM	60
<b>Tableau 15 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 7 mM	61
<b>Tableau 16 :</b> Taux d'inhibition de différentes concentrations du magnésium, pendant 30 minutes de cristallisation	62
<b>Tableau 17 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en absence d'inhibiteur.	63
<b>Tableau 18:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 0.1mM	64
<b>Tableau 19:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence du l'acide citrique 0.25Mm	65
<b>Tableau 20:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 0.5Mm	66
<b>Tableau 21 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 1mM	67
<b>Tableau 22 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 1.5mM	68
<b>Tableau 23 :</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 2mM	

<b>Tableau 24:</b> Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 2.5Mm	69
<b>Tableau 25:</b> les Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'acide citrique Sur la cristallisation de whewellite	70
<b>Tableau 26 :</b> Fréquences des bandes caractéristiques des constituants	72
<b>Tableau 27 :</b> Fréquences des bandes caractéristiques des constituants.	73
<b>Tableau 28:</b> L'évolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de la struvite pendant 4 heures de cristallisation en absence d'inhibiteur	75
<b>Tableau 29:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et agrégats de struvite en présence de magnésium	76
<b>Tableau 30 :</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence de magnésium 3mM	77
<b>Tableau 31:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du magnésium 4Mm	78
<b>Tableau 32:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du magnésium 5Mm	79
<b>Tableau 33:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence de magnésium 6 mM.	80
<b>Tableau 34:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence de magnésium 7mM	81
<b>Tableau 35 :</b> Taux d'inhibition de différentes concentrations du magnésium sur la cristallisation de struvite pendant 240 minutes.	82
<b>Tableau 36 :</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux de la struvite en présence de l'acide citrique 0.1mM.	84
<b>Tableau 37:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux de la struvite en présence du citrate 0.25mM	85
<b>Tableau 38 :</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 0.5mM	86
<b>Tableau 39:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 1 Mm	86
<b>Tableau 40 :</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 1.5 mM	87
<b>Tableau 41 :</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 2 mM	88
<b>Tableau 42:</b> Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 2.5 mM	89
<b>Tableau 43 :</b> Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'acide citrique sur la struvite pendant 240 minutes	
<b>Tableau 44:</b> Fréquences des bandes caractéristique des constituants	90
<b>Tableau 45:</b> Fréquences des bandes caractéristique des constituants.	
<b>Tableau 46:</b> Fréquences des bandes caractéristiques des constituants	92
<b>Tableau 47 :</b> Fréquences des bandes caractéristiques des constituants	93
	94
	94

## *Liste des abréviations*

**A.I** : avec inhibiteur

**AC** : acide citrique

**C1** : Wh, whewellite ou oxalate de calcium monohydraté

**C2** : Wd, weddellite ou oxalate de calcium dihydraté

**C3** : oxalate de calcium trihydraté

**CaCO<sub>3</sub>** : carbonate de calcium.

**CV** : coefficient de variation.

**I.R.T.F** : Infrarouge à Transformée de Fourier

**Kps** : produit de solubilité

**Mg** : magnésium

**mM** : mmol/l

**min** : minute

**Nbre** : nombre

**OxCa** : oxalate de calcium

**org** : origan

**P.I** : pourcentage d'inhibition

**PCa** : phosphate de calcium

**PF** : produit de formation

**S.I** : sans inhibiteur

**THP** : protéine de Tamm-Horsfall

**UPN** : uropontine

# Sommaire

## Introduction

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I Mécanisme de la lithogénèse

Introduction	01
I.1 les Etapes de la lithogénèse	01
I.1-1- Germination ou nucléation cristalline	01
I.1.2- Croissance cristalline	02
I.1.3. Agrégation et agglomération cristalline	03
I.1.4. Rétention des particules.	06
I.2. Théorie de la lithogénèse	06
I.3. La Cristallurie..	07
I.3.1-Protocole d'étude d'une cristallurie.	08
I.3.1.1. Choix de prélèvement	08
I. 3.1.2. Conservation du prélèvement.	08
I. 3.1.3. Méthodologie d'analyse	09
I. 3.1.3.1 la mesure de pH	09
I. 3.1.3.2 Identification des cristaux	09
I.4. Critères d'interprétation d'une cristallurie	11
I.4.1. Nature chimique des cristaux	12
I.4.1.1. Espèces cristallines	12
I.4.1.1.1. Oxalate de calcium	12
I.4.1.1.1.1 Oxalate de calcium dihydraté ou weddellite	13
I.4.1.1.1.2. Oxalate de calcium monohydraté ou whewellite	13
I.4.1.1.1.3. Oxalate de calcium trihydraté	14
I.4.1.1.2. Acides uriques	16
I.4.1.1.3. Phosphate de calcium	17
I.4.1.1.4. Phosphate ammoniaco magnésien hexahydraté ou struvite	17
I.4.1.1.5. Urate acide d'ammonium	17
I.4.1.1.6. Cristaux peu fréquents d'origine métabolique	18
I.4.1.1.6.1. Cystine	18
I.4.1.1.6.2. 2, 8 dihydroxyadénine	
I.4.1.1.6.3. Calcite (carbonate de calcium anhydre)	
I.4.1.1.7. Cristaux peu fréquents d'origine médicamenteuse	

## **Chapitre II                    Promoteurs, inducteurs et inhibiteurs urinaires de la lithogenèse**

II.1. Les promoteurs	19
II.1.1. Calcium	20
II.1.2. Oxalate	21
II.2. Les inhibiteurs	22
II.2.1. Nature et rôles des inhibiteurs de la cristallisation	23
II.2.2. Les inhibiteurs de faible poids moléculaire	24
II.2.2.1. Magnésium.	24
II.2.2.2. Pyrophosphate	25
II.2.2.3. Citrate	26
II.2.2.4. Isocitrate	26
II.2.2.5. Tartrat	27
II.2.2.6. Acides aminés	27
I.2.3. Inhibiteurs macromoléculaires	27
II.2.3.1 Les Glycosaminoglycans (GAGs)	28
II.2.3.2. Les inhibiteurs protéiques	29
II.2.3.2.1. Nephrocalcine	29
II.2.3.2.2. Protéine de Tam-horsfall	29
II.2.3.2.3. Uropontine	30
II.2.3.3. Acide rubonucléique (ARN)	31

## **Chapitre III                    Les plantes médicinales et modes d'extraction**

### **Introduction**

I. Les plantes médicinales étudiées	32
I.1. L'origan	34
I.1.1. Nom scientifique	34
I.1.2. Classification botanique	34
I.1.3. Présentation botanique de l'origan	34
I.1.4. Les parties utilisées	34
I.1.5. Composition chimique	35
I.1.6. Propriétés pharmacologiques et usage	35
I.2 Le gingembre	35
I.2.1. Le nom scientifique	36

- I.2.1. Le nom scientifique
- I.2.2. La classification botanique
- I.2.3. Présentation botanique de gingembre
- I.2.4. Les parties utilisées
- I.2.5. Composition chimique
- I.2.6. Propriétés pharmacologiques et usage

## II. Modes d'extraction

- La décoction
- L'infusion
- La macération
- L'extraction par l'appareil de Soxhlet
- Le cryobroyage
- La centrifugation différentielle
- L'entraînement à la vapeur (l'hydro-distillation)
- L'extraction en mode batch par agitation
- L'extraction accélérée par solvant

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### Introduction

#### I.Cristallisation des oxalates

A.Oxalate de calcium monohydraté (ou whewellite)

B.Oxalate de calcium dihydraté (ou weddellite)

#### II. Cristallisation des phosphates

A.Phosphates calciques

B.Phosphate ammoniaco-magnésien ( $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ ) ou struvite

C.Conversion cristalline

#### III. Produits utilisés

#### IV. Préparation des solutions

#### V. Méthodes de préparation des extraits des plantes médicinales

#### VI Mode opératoire et étude sans inhibiteur

#### VII. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

#### VIII. Cristallisation de la whewellite et la struvite en présence d'inhibiteur

## **Effet inhibiteur des substances chimiques sur la cristallisation oxalo-phosphocalcique**

I. Étude de l'effet inhibiteur des substances chimiques sur la cristallisation oxalo-calcique monohydraté (whewellite)

I.A. Etude sans inhibiteur

I.B. Etude en présence d'inhibiteur.

I.B.1 Effet du magnésium

I.B.2 Effet de l'acide citrique

I.B.2.1. Etude sans inhibiteur

I.B.2.2. Etude avec inhibiteur

I.C. Etude par IRTF

I.D. Discussion

II. Étude de l'effet inhibiteur des substances chimiques sur la cristallisation de la struvite (Phosphate amoniac-magnésien hexahydraté)

II.A. Étude en absence d'inhibiteur

II.B. Étude en présence d'inhibiteur

II.B.1. Effet du magnésium

II.B.2 Effet de l'acide citrique

I.C. Etude par IRTF

II.D. Discussion

## **Effet inhibiteur des substances naturelles sur la cristallisation oxalo-phosphocalcique**

I. Étude de l'effet inhibiteur des substances naturelles (Origan et Gingembre) sur la cristallisation oxalo-calcique monohydraté (whewellite)

I.A. Etude Sans inhibiteur

I.B. Etude en présence d'inhibiteur

I.B.1. Effet de l'Origan (*Origanum vulgare*)

I.1.1. L'origan préparé par la méthode de décoction

I.1.2 L'origan préparé par la méthode de l'infusion

I.1.3. L'origan préparé extrait par soxhlet

I.2. Effet de Gingembre

I.2.1. Gingembre préparé par décoction

I.2.2. Gingembre préparé par infusion

I.2.3. Gingembre extrait par soxhlet

I.3. Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et l'origan selon le mode d'extraction utilisé

I.C. Etude par IRTF

I.4. Discussion

## II. Étude de l'effet inhibiteur des substances naturelles (Origan et Gingembre) sur la cristallisation des phosphates ammoniac-magnésien hexahydraté (struvite)

### II.1. Effet de l'Origan (*Origanum vulgare*)

#### II.1.1. L'origan préparé par la méthode de décoction

#### II.1.2. L'origan préparé par la méthode de l'infusion

#### II.1.3. Origan extrait par soxhlet

### II.2. Effet du Gingembre

#### II.2.1. Gingembre préparé par décoction

#### II.2.2. Gingembre préparé par Infusion

#### II.2.3. Gingembre extrait par Soxhlet

### II.C. Etude par IRTF

### II.3. Discussion

### Conclusion générale.

### Références bibliographique

## ***Introduction***

La lithiase urinaire est connue depuis les temps les plus reculés et s'avère indissociable de l'histoire de l'humanité. C'est *une pathologie fréquente, hautement récidivante*, reflétant des conditions sanitaires, des habitudes alimentaires et le niveau de vie des populations. La lithiase évolue sans cesse tant du point de vue de ses caractéristiques épidémiologiques que de ses facteurs étiologiques.

Le terme de lithogénèse regroupe l'ensemble des processus qui conduisent au développement d'un calcul dans les voies urinaires. Le calcul est une agglomération de cristaux liés par une matrice organique [Khan S.R,1993 ; Ryall R.L,2005 ].

La lithogénèse comporte plusieurs phases qui s'expriment successivement ou simultanément. Certaines étapes, qui concernent le début de la lithogénèse et que l'on peut désigner sous le terme de cristallogénèse, correspondent à la formation de cristaux à partir de substances initialement dissoutes dans les urines et ne constituent pas en soi un processus pathologique. Il est en effet bien connu que la cristallisation s'observe dans de nombreuses urines normales [Werness P.G, 1981] traduisant l'état de sursaturation de celles-ci vis-à-vis de plusieurs solutés urinaires comme l'oxalate de calcium, l'acide urique ou le phosphate de calcium. La pathologie lithiasique proprement dite se définit généralement par la rétention et la croissance des cristaux et agrégats cristallins à un niveau quelconque de l'appareil urinaire. Dans tous les cas, cependant, la première étape nécessaire à ces processus lithiasiques est la formation de cristaux urinaires à partir de substances qui sont en concentration excessive dans l'urine à cause d'un défaut de diurèse, d'un excès d'apports (alimentation, médicaments), d'un excès de production par le métabolisme endogène (hyperoxalurie primaire) ou encore d'un excès d'excrétion urinaire (cystinurie). L'action de ces solutés promoteurs est contrebalancée par des inhibiteurs urinaires des cristaux, tel que l'ion magnésium et citrate, et des macromolécules protéiques.

D'après les données épidémiologiques, l'oxalate de calcium est le principal composant des calculs urinaires identifié dans la plus part des études publiées depuis une quarantaine d'années [Hesse A, 1976]. Lorsque la lithiase est de type hyperoxalurique, c'est-à-dire oxalo-dépendante, elle est caractérisée par l'oxalate de calcium monohydraté souvent idiopathique ou d'origine métabolique. Il est possible de la déceler par cristallurie. Lorsque cette dernière est positive et présente l'oxalate de calcium monohydraté ou whewellite, le patient doit être

pris immédiatement en charge contrairement à une cristallurie positive avec l'oxalate de calcium dihydraté ou weddellite.

Les calculs d'infection sont un cas particulier de la lithogénèse par la nature de leurs composants dont la struvite est l'élément le plus représentatif. Sa formation requiert un produit molaire phospho-ammoniac-magnésien et un pH urinaire élevé, ces deux conditions étant exceptionnellement observées dans des conditions physiologiques ou pathologiques d'origine métabolique (En pratique, ces calculs résultent d'une infection chronique des voies urinaires par des micro-organismes possesseurs d'une uréase active).

Vue l'importance de ces deux espèces cristallines (la whewellite et la struvite), nous nous sommes intéressés à étudier leur inhibition *in vitro* par des substances chimiques (magnésium et citrate) et naturelles (gingembre et l'origan).

Dans notre travail, La première partie est consacrée à l'étude bibliographique, cette partie est composée de 3 chapitres, le premier chapitre nommé « Mécanisme de la lithogénèse » ça parle de la lithiase, la lithogénèse et la cristallurie. Ceci étant comme une introduction nécessaire pour familiariser le lecteur avec la lithiase urinaire.

Le deuxième chapitre est consacré à parler de promoteur 'inhibiteurs de la cristallisation, leurs rôles et modes d'action.

Vu l'emploi de la phytothérapie chez les patients lithiasiques, on a choisi deux plantes médicinales très répandues dont nous n'avons relevé aucun travail les concernant sur leur effet contre la lithiase urinaire, alors qu'elles sont connues pour leur effet thérapeutique contre plusieurs maladies. Ceci était notre troisième chapitre où nous avons fait une étude botanique des plantes utilisées dans ce travail.

La deuxième partie de notre travail est la partie expérimentale où on a exposé les produits chimiques et naturels utilisés et la méthode de travail ainsi que les résultats et discussions. Nous avons exposé en premier lieu les résultats trouvés dans l'étude de l'effet inhibiteur des ions magnésium et citrate sur les deux espèces cristallines à savoir la whewellite et la struvite et ensuite ceux trouvés lors de l'étude de l'effet inhibiteur des substances naturelles. L'étude est réalisée *in vitro* par utilisation d'un modèle classique et simple dont son principe est basé sur un bain marie thermostaté à 37°C et mené par des agitateurs magnétiques afin de réaliser l'étude à des conditions proches de celles rencontrées dans l'urine. Ce modèle a montré sa fiabilité et sa reproductibilité vu le coefficient de variation qui était souvent inférieur à 10.

Le suivi de la cinétique de la cristallisation a été effectué par microscope à lumière polarisée et des photographies ont été prises à l'aide d'un appareil photo numérique.

Les résultats trouvés dans l'étude de l'effet inhibiteur de *Zingiber officinale Roscoe* et *Origanum vulgare* sur la cristallisation oxalocalcique et phosphocalcique et ses discussions sont résumés dans le dernier chapitre.

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

# Chapitre I

## Mécanisme de la lithogénèse

## **Introduction**

Le terme lithiase urinaire désigne la maladie caractérisée par la formation de calcul dans les reins ou dans les voies urinaires. « Lithiase » vient du grec *lithos* (pierre). « Calcul » vient du latin *calculus* (caillou). Un calcul est un amas compact d'une ou plusieurs substances cristallisées.

Le mécanisme essentiel de la formation des calculs est une concentration excessive dans les urines de composés peu solubles. Ces composés, en concentration excessive, précipitent en cristaux. Les cristaux s'agrègent pour former un calcul.

### **1. Les Etapes de la lithogénèse**

Le calcul se forme par une succession d'étapes dont le déroulement dépend du milieu environnant. Certaines phases de la lithogénèse peuvent être considérées comme instantanées ou rapides, c'est à dire capable de se dérouler en quelques secondes ou dizaines de secondes, comme la germination cristalline, les phénomènes d'agrégation cristalline et la rétention du noyau. D'autres étapes, comme la croissance cristalline où la dissolution des cristaux formés, sont plus lentes et nécessitent quelques minutes à plusieurs heures. [Daudon M, 1994]

#### **1.1. Germination ou nucléation cristalline**

Le passage d'une urine sursaturée à la formation de particules insolubles, cristaux et ou Précipités amorphes, est la première étape du processus lithogène. La sursaturation traduit un excès de concentration d'une substance dissoute dans l'urine par rapport aux capacités solvantes de celle-ci. Dans des conditions physicochimiques définies (température, pression, pH...), une substance peut être dissoute dans un solvant, en l'occurrence l'eau, jusqu'à une certaine concentration qui représente le produit de solubilité de cette substance dans le solvant. Dans les urines où pression et température peuvent être considérées comme constantes, le pH est le principal modificateur de la solubilité des substances qui y sont sensibles. Le produit de solubilité ( $K_{ps}$ ) est une caractéristique physique de la substance considérée. Lorsque la concentration de la substance égale son produit de solubilité, on dit que la solution est saturée vis-à-vis de cette substance. Lorsque la concentration de la substance excède son produit de solubilité, la solution est sursaturée vis-à-vis de cette substance et des cristaux de celle-ci peuvent en principe se former [Boistelle R, 1985]. Cependant, si l'excès de concentration par rapport au produit de solubilité est modéré, la cinétique de cristallisation est très lente, ce qui n'entraîne aucun risque de formation des cristaux dans les voies urinaires.

Cette situation est appelée « la zone métastable ». La majorité des urines sont dans cette zone pour des substances telles que l'oxalate de calcium ou le phosphate ammoniac-magnésien. Mais plusieurs auteurs [Abraham PA, 1987 ; Beland Y, 1990] ont montré que les urines des lithiasiques ont des niveaux de sursaturation légèrement plus élevés que les urines normales, aussi bien en oxalate de calcium qu'en phosphate ammoniac-magnésien [Daudon M, 1989].

Le niveau de sursaturation à partir duquel les cristaux se forment rapidement, c'est-à-dire pendant le temps de transit de l'urine au travers du rein, définit un seuil de risque désigné sous le terme de produit de formation (PF). À partir de ce seuil peuvent se manifester toutes les conséquences de la cristallisation, y compris la rétention cristalline, donc la lithogénèse. Le produit de formation dépend de la composition de l'urine et varie d'un individu à l'autre et, dans de moindres proportions, chez un même individu, d'un prélèvement à l'autre. Ce seuil est propre à chaque substance cristalline. Il diffère donc pour les oxalates de calcium, les phosphates de calcium, les acides uriques ou les urates [Daudon M, 2008].

- La nucléation primaire homogène est l'apparition de cristaux au sein d'une solution ou d'une urine dont la sursaturation est élevée et supérieure au produit de formation de la substance, alors que le terme de nucléation primaire hétérogène désigne l'apparition de nouveaux cristaux au contact de cristaux d'une autre espèce ou de substances protéiques présentes dans les urines, ou encore de supports solides tels que des débris cellulaires.
- La nucléation secondaire survient pour des sursaturations plus faibles que celles nécessaires à la nucléation primaire homogène et conduit à la formation de nouveaux cristaux à partir de cristaux déjà formés et de même nature.
- La nucléation primaire hétérogène est caractérisée par la formation de nouveaux cristaux à partir des cristaux d'une autre espèce cristalline préalablement formée par nucléation primaire homogène, et aussi par d'autres supports solides tels que des corps ou des débris cellulaires, des corps bactériens, des précipités mucoprotéiques etc....

Il faut se rappeler qu'environ 90 % des calculs sont mixtes et que les associations entre oxalate de calcium et phosphate de calcium représentent plus de deux tiers des cas. Dans les urines des lithiasiques calciques, il n'est pas rare d'observer des cristaux de l'oxalate de calcium dihydraté développés sur des cristaux du phosphate ammoniac-magnésien, et réciproquement, des cristaux de l'oxalate de calcium dihydraté ou monohydraté sur des cristaux d'acide urique avec, parfois, une orientation des cristaux qui atteste des relations épitaxiales entre les deux espèces [Daudon M, 2008].

## 1.2. Croissance cristalline

Contrairement à la germination, la croissance des cristaux peut se produire dans des urines faiblement sursaturées. La vitesse de croissance des cristaux est d'autant plus élevée que la sursaturation est plus grande.

En effet, les cristaux possèdent un niveau de la couche externe des électrons libres qui peuvent attirer des cations présents dans la solution. Le déséquilibre local de la charge électrique qui en résulte crée un pôle d'attraction d'un anion et ainsi de suite. Il en résulte qu'un cristal ne pousse pas de manière uniforme en tout point de sa surface. Chaque face du cristal a sa propre cinétique de croissance.

Elle se développe à partir de site de croissance où vont s'incorporer à la maille cristalline les nouveaux atomes capturés aux dépens de la solution. Ces sites sont en nombre limité à la surface de chaque face du cristal. Leur blocage par des substances présentes dans le milieu arrêtera la croissance de la ou des faces considérées. Si les sites de croissances de toutes les faces du cristal sont bloqués, la croissance du cristal est stoppée. Si seuls les sites d'une ou de quelques faces sont bloqués, la croissance du cristal se poursuivra à partir des faces non bloquées, ce qui aura pour conséquence de modifier la morphologie (le faciès) du cristal.

C'est ce qui rend compte des relations qui existent entre certaines formes cristallines et certains contextes pathogéniques [Daudon M, 1989]. De manière générale, la cinétique de croissance des cristaux ne leur permet pas d'atteindre une taille suffisante pendant le temps de transit de l'urine au travers du néphron pour qu'ils y soient retenus.

La croissance cristalline n'est donc pas considérée comme un élément déterminant du processus lithogène, du moins dans sa phase initiale. En revanche, elle joue un rôle important dans le grossissement du calcul. C'est à ce niveau de la croissance que l'inhibition intervient.

### **1.3. Agrégation et agglomération cristalline [Daudon M, 2008]**

Contrairement à la croissance, l'agrégation cristalline, qui met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, est un processus rapide. Elle peut, de ce fait, engendrer des particules volumineuses (plusieurs dizaines ou, plus rarement, plusieurs centaines de microns) dans un délai très court, inférieur au temps de transit de l'urine à travers le rein. À cause de leur taille, mais aussi de leur forme très irrégulière et de la présence de nombreuses aspérités (cristaux anguleux), les agrégats ainsi formés sont susceptibles d'être retenus dans les segments terminaux des néphrons, sur l'épithélium papillaire ou dans les cavités excrétrices du rein. L'agrégation cristalline est considérée aujourd'hui comme une étape importante de la lithogénèse et plusieurs travaux ont montré que les urines de sujets lithiasiques avaient une moindre aptitude à réduire l'agrégation des cristaux que les urines de sujets normaux [Kok DJ, 1990]. Parfois, l'accumulation de cristaux plus petits en amont d'un agrégat retenu dans le tube collecteur en raison de sa grande taille peut entraîner une obstruction du tube et la formation d'un véritable « bouchon cristallin » qui peut, lui aussi, être le point de départ d'un processus lithiasique.

L'agglomération des cristaux implique des macromolécules urinaires qui, par leurs nombreuses charges négatives, peuvent se fixer à la surface des cristaux et favoriser secondairement la fixation de nouveaux cristaux sur les premiers en les organisant les uns par rapport aux autres, contribuant ainsi à l'architecture du calcul. Il s'agit d'un aspect fondamental des processus lithiasiques s'exprimant aussi bien au niveau des étapes initiales de la lithogénèse, qui aboutissent à la rétention de particules dans les voies urinaires, que dans les phases ultérieures de croissance du calcul initié.

Les macromolécules impliquées dans ces processus sont essentiellement des protéines. Certaines sont souvent impliquées dans des processus d'inhibition cristalline et semblent donc avoir un rôle ambigu qui s'explique par la variabilité du milieu urinaire. Les interactions entre macromolécules et cristaux sont complexes et dépendent de plusieurs facteurs : pH, force ionique, concentration en inhibiteurs de faible masse molaire comme le citrate, concentration en promoteurs comme le calcium ou en électrolytes, en particulier le sodium, tous facteurs susceptibles de modifier la conformation de ces macromolécules, leur affinité pour les cristaux et leur efficacité à exercer leur action inhibitrice.

On peut illustrer cette complexité par quelques exemples. Le premier concerne la principale protéine urinaire, c'est-à-dire la protéine de Tamm-Horsfall (THP). Cette molécule est synthétisée par les cellules de la branche ascendante de l'anse de Henle et excrétée exclusivement dans l'urine. Particulièrement riche en sucres, qui représentent environ 30 % de sa masse molaire, elle peut se polymériser et former un gel lorsque les conditions urinaires le permettent, telles qu'un pH acide, une concentration élevée en calcium ou une force ionique augmentée. Sous forme de monomère, la THP est un inhibiteur efficace de la croissance et de l'agrégation cristalline de l'oxalate de calcium [Hess B, 1991]. En revanche, lorsqu'elle se polymérise, elle perd ses propriétés inhibitrices et semble même capable de promouvoir la cristallisation, du moins dans les expérimentations réalisées in vitro [Scurr DS 1986 ; Hess B 1992]. En réalité, sa gélification, lorsqu'elle est polymérisée, lui permet d'exercer des effets mécaniques qui peuvent être assimilés à une autre forme d'inhibition en ralentissant les flux ioniques et donc en réduisant la croissance des cristaux qui, piégés dans le gel, ont plus de difficultés à s'agréger ou à se fixer à l'épithélium. Plus complexes et pas toujours bien étudiées à ce jour sont les interactions entre inhibiteurs, certaines potentialisant leurs effets, d'autres tendant à les réduire. Ainsi, des liaisons entre THP et néphrocalcine, premier inhibiteur macromoléculaire de la cristallisation oxalocalcique historiquement décrit dans les urines humaines [Nakagawa Y 1981 ; Nakagawa Y 1983], réduisent l'activité

inhibitrice de la THP [Lopez M, 1986]. À l'inverse, une concentration élevée en citrate, sans doute par une complexation accrue des ions calcium, contribue à limiter la polymérisation de la THP et donc à préserver ses effets inhibiteurs directs [Hess B, 2000].

L'albumine, deuxième protéine des urines, a des effets inhibiteurs moins importants que ceux exercés par la THP, mais elle contribue, avec beaucoup d'autres macromolécules urinaires, à l'activité inhibitrice globale de l'urine. Elle possède une activité inhibitrice vis-à-vis de la croissance cristalline et tend par ailleurs à augmenter la germination cristalline [Cerini C, 1999]. Les cristaux sont donc plus petits, mais plus nombreux. Ces effets semblent bénéfiques à la fois pour réduire rapidement la sursaturation urinaire en augmentant la germination cristalline et pour évacuer les cristaux facilement en raison de leur taille réduite. Cependant, la présence d'un nombre accru de cristaux expose à d'autres conséquences, défavorables pour les patients, comme l'agrégation, l'agglomération et la rétention cristallines. De ce point de vue, il faut se rappeler que la fréquence de récurrence clinique de calculs chez les patients lithiasiques est très significativement augmentée lorsque la fréquence de cristallurie est elle-même élevée [Daudon M, 2005]. Par ailleurs, la présence constante de petites quantités d'albumine dans les urines et la capacité de celle-ci à se fixer sur les cristaux sont vraisemblablement deux facteurs qui expliquent la présence de cette protéine dans la matrice organique de tous les calculs dont elle compose très souvent une fraction quantitativement importante.

La troisième protéine qui paraît essentielle dans le cadre des processus d'agglomération cristalline est l'uropontine. En raison de son affinité pour le calcium, cette protéine se fixe facilement à la surface des cristaux d'oxalate de calcium, mais préférentiellement sur certaines faces, la liaison étant favorisée par la présence de groupements carboxyliques et phosphosérine. L'uropontine peut aussi se lier aux cristaux d'apatite, non seulement dans les urines, mais aussi dans le parenchyme rénal, comme le fait l'ostéopontine au niveau de l'os. De ce fait, l'uropontine exerce des effets contradictoires, protecteurs d'une part, par inhibition de la croissance, l'agrégation et même de l'adhésion des cristaux à l'épithélium, et des effets aggravateurs, d'autre part, en s'incorporant à la trame des calculs et en contribuant ainsi à leur architecture. Son affinité pour certaines espèces cristallines, notamment la whewellite et la brushite, participe à l'organisation des cristaux au sein des calculs et les rend plus résistants aux techniques de fragmentation extra ou endocorporelle.

#### **1.4. Rétention des particules cristallines [Daudon M, 2008]**

Cette étape peut être considérée comme la première étape du processus lithogène

proprement dit, à partir de laquelle des particules cristallines formées au cours des différentes phases de la cristallogénèse vont être retenues dans le rein ou les voies urinaires et vont croître pour former un calcul. Elle est favorisée par la présence d'aspérités liées aux arêtes pointues de certains cristaux qui s'accrochent facilement ou par la création d'une zone de stase due à une déformation tubulaire ou un étranglement des conduits excréteurs.

Quatre situations différentes peuvent être envisagées :

- l'adhésion d'un cristal ou d'un agrégat cristallin à la surface de l'épithélium tubulaire, avant son évacuation avec les urines hors du néphron.
- la rétention d'un agrégat cristallin du fait de sa taille ou/et de sa forme, à l'intérieur du néphron, notamment dans le tube collecteur.
- l'accrochage direct à l'épithélium papillaire ou par l'intermédiaire d'un support minéral préexistant, de cristaux ou d'agrégats formés dans le néphron puis éliminés au niveau des cavités excrétrices par le tube collecteur ou générés dans l'environnement de la papille.
- le blocage ou la sédimentation dans un repli muqueux, une cavité déclive (diverticule) ou un calice rénal, des cristaux excrétés par le néphron.

## 2. Théorie de la lithogénèse

La lithiase urinaire est un problème complexe. Certains de ses mécanismes sont concrètement expliqués à partir de diverses théories [Daudon M, 1989].

-Théorie de la sursaturation: lorsqu'une solution est sursaturée, les cristaux vont se former au cours d'un processus appelé nucléation. La formation du calcul est amorcée par la présence d'un cristal ou de particules organiques (amas leucocytaires, fragments papillaires), dans une urine saturée en sels minéraux susceptibles de cristalliser. Ceci favorise la croissance d'un réseau cristallin. L'urine est très souvent saturée en oxalate de calcium, ce qui pourrait expliquer la grande fréquence de ce type de calcul.

-Théorie de la matrice protéique lithogène : d'autres travaux ont montré que les urines des lithiasiques pouvaient, soit ne pas présenter de sursaturation particulière, soit être sursaturées vis-à-vis d'un constituant non retrouvé dans les calculs, ce qui suggère l'existence d'une protéine pathologique susceptible d'induire la cristallisation dans les urines et de permettre la croissance du calcul. Une matrice organique de protéines sériques et urinaires fournit un substratum au dépôt de cristaux. La grande majorité des calculs contient une matrice protéique. Mais la nature de ces protéines est mal définie.

-Théorie du déficit en inhibiteurs de la cristallogénèse:

Certaines substances présentes dans l'urine (magnésium, pyrophosphate, citrate) inhibent la cristallisation. Leur absence, ou leur faible concentration, pourrait expliquer la formation de cristaux dans l'urine.

-Théorie des plaques de Randall: les plaques calcifiées de topographie sous épithéliale (décrite par Randall), situées dans la papille sont composées de phosphate de calcium. Elles seraient les sites de nucléation dans une urine sursaturée pour au moins 15% des calculs d'oxalate de calcium. Ceci est démontré pour le noyau d'apatite existant dans la dépression papillaire de la surface d'un cristal. Ces plaques de Randall, sont souvent visibles en radiographie.

En plus de ces théories il est démontré que:

- Les précipitations de phosphate ammoniaco-magnésium se font dans les urines alcalines.
- Les lithiases urique et cystinique se développent dans les urines acides.
- La stase urinaire est la principale cause lithogène.
- L'infection favoriserait la lithiase par l'intermédiaire des modifications physico-chimiques des urines en particulier une augmentation du pH.

### **3. La Cristallurie**

La cristallurie est une identification qualitative et quantitative de toutes les espèces cristallines présentes dans l'urine (il en existe fréquemment deux ou trois associées) et une énumération des cristaux par espèce identifiée.

La cristallurie témoigne une rupture d'équilibre entre deux catégories de substances, d'une part les promoteurs et, d'autre part, les inhibiteurs de la cristallisation. Les premiers représentent le moteur de la formation des cristaux : ce sont les substances dont la concentration urinaire excessive, c'est-à-dire supérieure à leur produit de solubilité dans l'urine, les conduit à cristalliser. Les seconds sont constitués de substances de faible ou de haut poids moléculaire dont les propriétés physico-chimiques permettent de s'opposer à une ou plusieurs étapes du processus de cristallisation. La rupture d'équilibre peut être due à un excès de concentration des promoteurs, à un défaut de concentration des inhibiteurs ou encore à une altération de leur structure moléculaire [Ryall RL, 1993].

La présence des cristaux urinaires n'est pas, sauf cas particuliers, pathologique en soi. Cependant, chez un sujet lithiasique, ou dans certaines contusions pathologiques, la cristallurie peut être un indicateur très utile des facteurs lithogènes ou des causes de la pathologie observée, c'est à dire qu'il est possible de dépister certaines maladies génétiques par

l'identification des cristaux urinaires avant même qu'une symptomatologie rénale ne se soit déclarée. Chez un malade lithiasique connu, la surveillance de la cristallurie dans certaines conditions, apparaît comme un excellent indicateur de l'efficacité du traitement médical ou au contraire comme un marqueur pronostique du risque de récurrence lithiasique [Kaid Omar Z, 1998].

### **3.1. Protocole d'étude d'une cristallurie**

#### **3.1.1. Choix de prélèvement**

C'est une étape essentielle pour l'étude correcte de la cristallurie. L'urine ne peut être conservée trop longtemps, compte tenu du caractère instable de cette dernière qui est la tendance à la cristallisation spontanément à température ambiante *in vitro*. En pratique, on préconise d'étudier la cristallurie sur les urines concentrées du réveil du matin, car elles couvrent une période relativement longue de sursaturation liée à la restriction hydrique nocturne et reflètent, non seulement les effets du dernier repas, mais ceux du métabolisme propre du sujet et plus particulièrement dans la période du jeûne de la seconde partie de la nuit.

#### **3.1.2. Conservation du prélèvement**

L'urine doit être transmise le plus tôt possible au laboratoire après l'émission pour éviter tout risque de cristallisation secondaire *in vitro*. L'idéal est de la conserver à 37°C jusqu'au moment de l'analyse, ce qui est difficilement réalisable en pratique.

#### **3.1.3. Méthodologie d'analyse**

La première étape consiste à apprécier l'environnement urinaire. La cristallurie est fortement dépendante de l'environnement urinaire et peut avoir elle-même des répercussions sur l'appareil urinaire. Il est donc important, parallèlement à l'étude des cristaux, de pouvoir apprécier différents marqueurs urinaires tels que le pH, la densité, la présence d'hématies, de leucocytes et de nitrites [Daudon M, 2005].

La deuxième étape concerne la cristallurie proprement dite et consiste en un examen en microscopie à polarisation sur urine homogénéisée par retournement :

- Détermination des espèces cristallines
- Détermination des faciès cristallins
- Comptage des cristaux par espèce cristalline
- Mesure des tailles moyenne et maximale de cristaux (cellule de Malassez ou équivalent)

- Comptage des agrégats
- Mesure des tailles moyenne et maximale (agrégats)
- Calcul du coefficient d'agrégation

### 3.1.3.1. La mesure de pH

Le pH urinaire est un des premiers facteurs influençant la cristallisation *in vivo*. Certaines substances ont une solubilité qui varie peu aux pH habituellement rencontrés dans les urines (cas de l'oxalate et de la 2,8 dihydroxyadenine).

D'autres, au contraire, sont dépendantes du pH comme les phosphates, la cystine et l'acide urique. Le pH urinaire peut avoir un rôle non seulement dans la cristallogénèse, mais aussi dans le diagnostic et le traitement de la maladie lithiasique. Il modifie la cristallisation des substances dissoutes et l'efficacité des inhibiteurs. Certaines lithiases ne sont pas dépendantes du pH comme les oxalates de calcium.

### 3.1.3.2. Identification des cristaux

La microscopie optique à lumière polarisée permet de reconnaître les différents types de cristaux urinaires. Une quarantaine d'espèces cristallines différentes, ont été identifiées dans Les urines [Daudon M, 1993]. Le tableau 1 donne les cristaux détectés dans la cristallurie en fonction du pH.

Plusieurs espèces insolubles peuvent se présenter sous des morphologies comparables qui sont une source de confusion. Le cas le plus fréquent est celui des granulations, c'est-à-dire des particules de dimensions inférieures à 3 microns. Des critères simples comme la valeur du pH et l'aspect en lumière polarisée peuvent aider à les différencier (tableau 2) [Daudon.M, 2005]

**Tableau 1:** Nature des cristaux et leurs domaines de pH de cristallisation.

Nature des cristaux	Domaine de pH
Acide urique anhydre	5,0-5,8
Acide urique dihydraté	4,7-5,9
Urates amorphes complexes	5,2-6,1
Oxalate de calcium monohydraté(whewellite )	5,2-7,8
Oxalate de calcium dehydrate (weddelite )	5,2-7,6
Phosphate amorphe de calcium carbonate (PACC)	5,9-7,6
Carbapatite	5,9-9,0
Hydrogenophosphate de calcium dihydraté(brushite)	5,9-8,8
Phosphate octocalcique	5,5-8,8

Whitlockite	5,9-9,0
Newberite	5,9-9,0
Phosphate ammoniaco-magnésien hexahydrate (struvite)	6,7-9,0
Calcite	6,2-9,0
Urate acide d'ammonium anhydre	6,6-9,0
Urate acide de sodium monohydrate	6,4-9,0
2,8 dihydroxyaténine	4,7-9,0
Cystine	4,7-7,6
Leucine	5,0-7,5
Protéines	5,0-5,9
Cholestérol	5,0-8,8

**Tableau 2:** Nature des composés avec leurs zones de pH et la couleur du culot de centrifugation.

Zone du pH	Nature des composés	Polarisation des cristaux	Couleur du culot de centrifugation
> 6	Phosphate amorphes de calcium carbonate	Negative	Blanc
> 6	Carbapatite	Intense	Blanc
> 6	Phosphate octocalcique	Faible	Blanc
< 7	Oxalate de calcium	Intense	Blanc
> 7	Urate acide d'ammonium	Negative	Beige
< 6	Protéines	Negative	Beige
> 7	Calcite	Intense	Beige
Acide	Acide glafenique	Intense	Jaune
< 6.2	Urates amorphes complexes	Faible	Rose

En pratique, la microscopie optique est suffisante dans la majorité des cas à condition que le microscope soit équipé d'un dispositif de polarisation sans lequel on s'expose à des erreurs d'identification d'espèces moléculaires différentes mais de morphologie semblable ou voisine.

Dans le cas où l'identification optique des cristaux reste incertaine, nous opérons une centrifugation de l'urine pendant 5 minutes à une vitesse de 3000 t/mn. On récupère les cristaux après filtration dans un filtre wattman 42 ou 52 et on procède à une caractérisation par Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF).

#### 4. Critères d'interprétation d'une cristallurie

De nombreux travaux ont montré que la cristallurie est fréquente chez le sujet normal comme chez le patient lithiasique, même si sa fréquence et, souvent, son abondance sont plus élevées chez ce dernier [Werness PG,1981 ; Caudarella R, 1986 ; Fan J,1999]. L'interprétation clinique de la cristallurie doit intégrer différents critères qui peuvent ne s'appliquer qu'à certaines espèces cristallines. Ces critères sont les suivants : nature chimique

des cristaux, nature cristalline, faciès cristallin, abondance de la cristallurie, taille des cristaux, Taux d'agrégation, fréquence de la cristallurie L'utilisation de ces critères implique au préalable une reconnaissance des cristaux observés selon leurs caractéristiques morphologiques et leur aspect en lumière polarisée, sachant que le pH de l'urine doit aussi être considéré.

#### **4.1. Nature chimiques des cristaux**

Au plan diagnostique, certains cristaux sont significatifs du fait de leur simple présence, indépendamment de toute autre considération qualitative ou quantitative. Et donc ce genre de cristaux a un intérêt pour diagnostiquer et dépister certaines maladies citons à titre d'exemple:

- Les cristaux de cystine peuvent révéler la cystinurie congénitale révélant ainsi une tubulopathie trop dangereuse et mortelle.
- Les cristaux de phosphates qui peuvent se trouver à pH élevé, provoqués par certains germes ureasiques d'origine infectieuse, conduisent souvent à une sursaturation en phosphate amoniac-magnésien (struvite) et en urate acide d'amonium.
- Urate d'ammonium qui traduisent une hyperuricurie associée à une hyperammoniurie et qui, selon le pH de l'urine, orientent soit vers une infection urinaire à germes uréasiques soit vers des diarrhées infectieuses avec perte digestive de bases et d'électrolytes chez des sujets ayant des apports insuffisants en phosphore

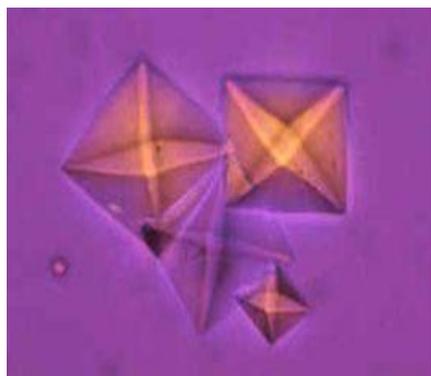
##### **4.1.1. Espèces cristallines**

###### **4.1.1.1. Oxalate de calcium [Daudon M, 2004]**

Trois espèces cristallines distinctes de l'oxalate de calcium peuvent être observées dans les urines humaines. Elles se caractérisent par leur degré d'hydratation et leur système de cristallisation qui conduit à des morphologies cristallines différentes.

###### **4.1.1.1.1. Oxalate de calcium dihydraté ou weddellite (Wd ou C2) ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )**

Espèce essentiellement calcium-dépendante, qui est fréquente dans les urines hypercalciuriques où la calciurie dépasse 3,8 mmol/L avec des rapports molaires calcium/oxalate supérieurs à 5. Un tel contexte biochimique étant souvent observé chez des sujets normaux, la simple présence de weddellite n'a qu'un intérêt clinique limité et d'autres critères contribuent à son intérêt au plan diagnostique. L'aspect en enveloppe est typique de ces cristaux dont les angles font 90° [figure 1]. Noter la faible polarisation de ces cristaux.



**Figure 1** : Cristaux caractéristiques de weddellite en forme d'octaèdres aplatis (aspect en enveloppe carrée). [Daudon M,2005]

#### 4.1.1.2. Oxalate de calcium monohydraté ou whewellite (Wh ou C1), ( $\text{Ca C}_2\text{O}_4, \text{H}_2\text{O}$ ),

Elle est, à l'inverse de la précédente, oxalo-dépendante, se formant dans des urines hyperoxaluriques au rapport calcium/oxalate bas, le plus souvent inférieur à 5. Contrairement à la weddellite, la whewellite est rare dans les urines de sujets normaux. Elle s'observe essentiellement chez des malades lithiasiques présentant une hyperoxalurie. Or cette anomalie biochimique est considérée comme l'une des principales causes de lithiase rénale. La détection de la whewellite dans une urine est donc toujours importante, notamment chez le patient lithiasique, indépendamment du nombre ou de la taille des cristaux qui peuvent orienter vers des causes ou des facteurs de risque particuliers.

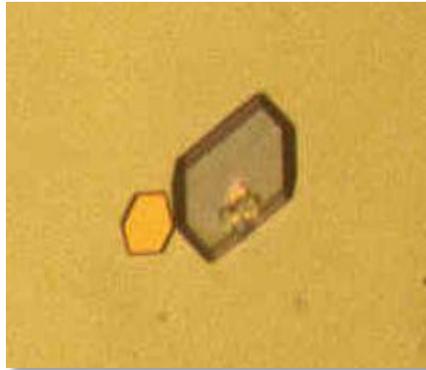
Rarement, les cristaux de whewellite peuvent être arrondis et avoir l'aspect et la taille d'hématies. Ils sont polarisants avec un centre légèrement plus foncé (aspect "ponctué"), ce qui permet de les différencier des érythrocytes.



**Figure 2**: Cristaux et agrégats de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite). [Daudon M,2005]

#### 4.1.1.1.3. Oxalate de calcium trihydraté (C3) ( $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Elle représente une forme beaucoup plus rare, observée dans des contextes pathologiques très particuliers (traitement par des associations de piridoxilate et de tétranitrate de pentaérythryle, hyperoxalurie primaire, déficit en inhibiteurs macromoléculaires ...).



**Figure 3** : Cristaux d'oxalate de calcium trihydraté. [Daudon M,2005]

#### 4.1.1.2. Acides uriques

L'acide urique peut précipiter dans les urines sous quatre formes. Les deux plus fréquentes sont l'acide urique dihydraté et une forme pseudo-cristalline de structure non stoechiométrique incluant des proportions variables de plusieurs cations que l'on désigne sous le nom d'urates amorphes complexes (UAC).

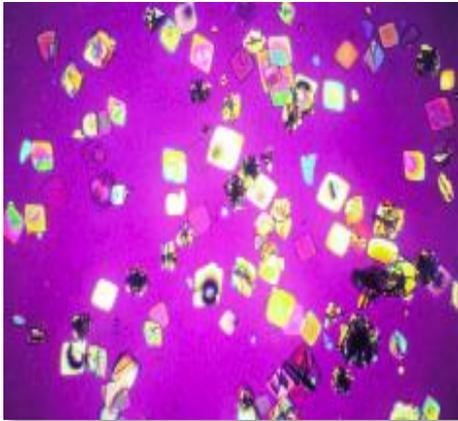
La forme dihydratée (AU2) est essentiellement pH-dépendante et s'observe en urine acide (pH moyen 5,2), généralement sans hyperuricurie. A l'inverse, les UAC sont plutôt urico-dépendants et précipitent à un pH légèrement supérieur, entre pH 5,4 et 5,9. Ils sont associés à des hyperuricuries qui sont d'autant plus fortes que le pH urinaire est lui-même plus élevé.

Les deux autres phases cristallines, acide urique anhydre (AU0) et acide urique monohydraté (AU1), sont beaucoup plus rares et leurs conditions de cristallisation moins bien connues, bien qu'il s'agisse dans les deux cas d'espèces cristallines formées en urine acide.

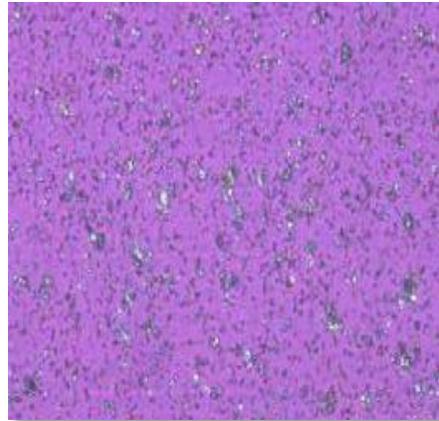
Toutes les formes d'acide urique sont théoriquement dépendantes du pH, c'est-à-dire qu'elles s'observent dans des urines dont le pH est inférieur à 6. Au-dessus de ce pH, l'acide urique est dissocié et présent sous forme d'urate beaucoup plus soluble. En fait, les différentes formes d'acide urique n'ont pas toutes le même comportement.

Ainsi, l'acide urique dihydraté et l'acide urique anhydre sont des espèces fortement dépendantes du pH : à concentration égale en acide urique, la fréquence de la cristallurie d'acide urique dihydraté ou d'acide urique anhydre est inférieure à 1 % à pH 5,8 alors qu'elle atteint 25 % lorsque le pH s'abaisse au-dessous de 5. À l'inverse, les urates amorphes

complexes sont beaucoup plus dépendants de l'uraturie. En effet, leur fréquence de précipitation passe de 1,5 % pour une uricurie de 2 mmol/L à 20 % lorsqu'elle atteint 6 mmol/L [Daudon M, 2004].



**Figure 4 :** Acide urique dihydraté  
[Daudon M,2005]



**Figure 5:** Urates amorphes complexes.  
[Daudon M,2005]

#### 4.1.1.3. Phosphate de calcium

Les phosphates calciques occupent une place particulière en raison de leur fréquence et de la difficulté de les identifier avec précision par simple examen microscopique.

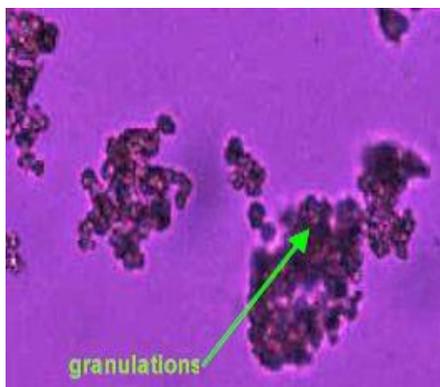
Il existe au minimum cinq formes minérales de phosphates calciques dans les urines: carbapatites, phosphate octocalcique, whitlockite, brushite et phosphates amorphes de calcium carbonatés (PACC).

Les trois premières espèces ont une similitude de structure cristalline et de morphologie qui ne permettent pas de les distinguer les unes des autres par un simple examen microscopique. Il serait nécessaire de recourir systématiquement à des techniques d'identification moléculaire et cristalline comme la diffraction X ou la spectrophotométrie infrarouge. L'intérêt clinique de différencier ces espèces est encore incertain. En pratique, on peut se contenter, du moins pour l'instant, de distinguer d'une part les espèces ayant globalement l'aspect de granulations (PACC, carbapatite) et d'autre part la brushite. Au plan clinique, les premières se rencontrent principalement dans des urines alcalines, avec ou sans hypercalciurie.

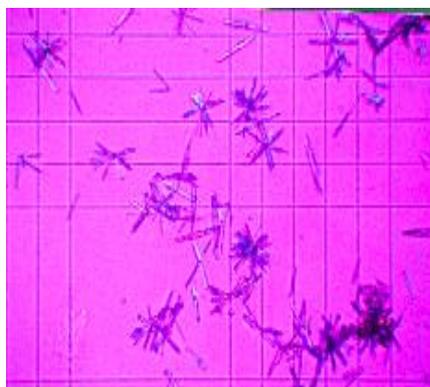
Quant à la brushite (Br) ou phosphate acide de calcium dihydraté, rare chez les sujets non lithiasiques, elle se présente, au même titre que la weddellite, comme une espèce dépendante du calcium. Ces deux espèces sont d'ailleurs fréquemment associées dans les urines hypercalciuriques où elles contribuent, notamment par les processus de nucléation hétérogène,

au développement de lithiases très récidivantes. La brushite se rencontre plus souvent dans des urines hypocitraturiques où le rapport calcium/citrate est élevé. C'est également une espèce dépendante du pH qui se forme dans les urines de pH supérieur à 6 et, parfois, à des pH inférieurs si la concentration en calcium et en phosphate est très élevée.

Quant aux orthophosphates calciques (PACC, carapatites, phosphate octocalcique), qui se différencient mal entre eux en microscopie optique en raison de la faible dimension des cristaux, souvent inférieure à 2 micromètres, ils sont essentiellement dépendants du pH des urines. Si on peut les observer dans des urines hypercalciuriques, on les rencontre surtout au cours des acidoses tubulaires, dans les infections urinaires, notamment lorsqu'elles s'accompagnent d'une élévation du pH et au cours des traitements alcalinisants (pour lithiase urique ou cystinique par exemple).



**Figure 6** : phosphates amorphes de calcium carbonatés (PACC)  
[Daudon M,2005]



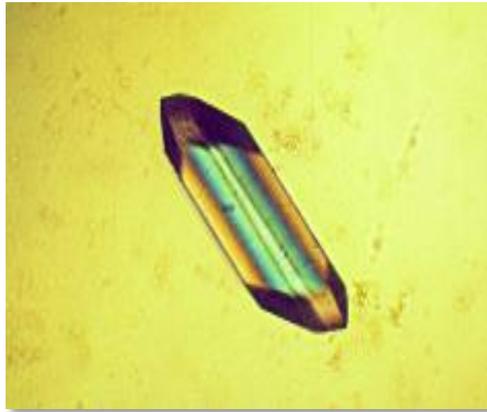
**Figure 7** : Brushite (phosphate acide de calcium dihydraté). [Daudon M,2005]

#### 4.1.1.4. Phosphate ammoniac magnésien hexahydraté ou struvite ( $Mg NH_4 P O_4, 6H_2O$ )

Les cristaux de struvite, qui résultent de l'uréolyse observée dans les infections urinaires par des micro-organismes possesseurs d'une uréase dont certains, comme *Ureaplasma urealyticum* ou *Corynebacterium urealyticum*, restent souvent méconnus faute d'avoir utilisé des conditions de culture appropriées.

Il est utile de se rappeler que la simple présence de cristaux de struvite associée à un pH élevé des urines représente un critère suffisant pour affirmer l'existence d'une infection par un micro-organisme uréasique. D'un point de vue clinique, le caractère uréasique d'un germe isolé des urines devrait être systématiquement précisé sur le compte rendu bactériologique étant donné l'implication particulière de ces germes dans les lithiases urinaires d'origine infectieuse et le développement de pyélonéphrites chroniques pouvant conduire à l'insuffisance rénale.

Ces cristaux s'observent à pH 6,6- 9,2 et ont des formes très diverses. Le sédiment est souvent abondant et blanchâtre.

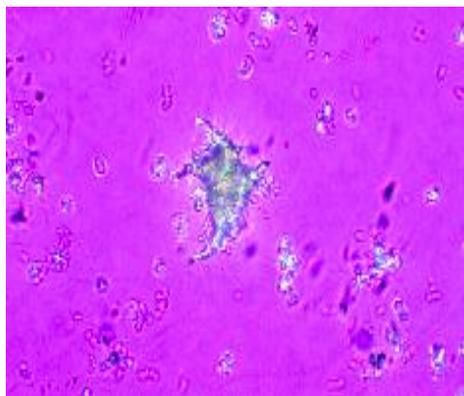


**Figure 8** : Phosphate ammoniaco magnésien hexahydraté ( struvite)  
[Daudon M,2005]

#### 4.1.1.5. Urate acide d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4$ )

Les cristaux d'urate acide d'ammonium témoignent d'une hyperuricurie associée à une hyperproduction d'ions ammonium d'origine infectieuse ou une carence en phosphate. Dans le premier cas, l'hyperammoniogenèse rénale peut résulter de la perte de bases digestives dans un contexte de dysnutrition ou malnutrition avec carence d'apport en phosphore par exemple.

Le pH des urines est alors supérieur à 7 et les cristaux d'urate d'acide d'ammonium s'accompagnent généralement de cristaux de struvite.



**Figure 9**: Urate acide d'ammonium.

Les cristaux d'urate d'ammonium peuvent être très petits et ressembler à des granulations de PACC, mais leur caractère polarisant permet de faire la différence. La forme irrégulière de l'agrégat central, avec des excroissances irrégulières, est très typique de l'urate d'ammonium, mais n'est pas la forme la plus fréquente, plus volontiers en petites sphères et en petits bâtonnets à bouts ronds.

#### **4.1.1.6. Cristaux peu fréquents d'origine métabolique**

##### **4.1.1.6.1. Cystine**

Ces cristaux rares révèlent une cystinurie congénitale par anomalie du transporteur rénal BAT (*broad-scope aminoacid transporter*) assurant la réabsorption tubulaire proximale de la cystine et des aminoacides dibasiques. La maladie résulte soit d'une mutation du gène SLC3A1 localisé sur le chromosome 2, qui code pour une sous-unité (rBAT) du transporteur, soit d'une mutation du gène SLC7A9 sur le chromosome 19 codant pour BAT. Certains patients peuvent être hétérozygotes doubles par mutation simultanée des deux gènes. Ils développent alors une lithiase cystinique comme les sujets homozygotes pour chaque mutation.

##### **4.1.1.6.2. 2, 8 dihydroxyadénine**

La présence de ces cristaux très caractéristiques est très rare mais signe un déficit homozygote, plus rarement hétérozygote, en adénine phosphoribosyltransférase (APRT, EC 2.4.2.7), par mutation du gène APRT localisé sur le chromosome 16. Cette enzymopathie qui touche le métabolisme des purines, est transmise selon un mode autosomique récessif.

L'APRT catalyse la conversion de l'adénine en adénosine monophosphate. Son déficit entraîne une accumulation de l'adénine qui est oxydée par la xanthine déshydrogénase (XDH; EC 1.1.1.204), en 2,8- dihydroxyadénine (2,8-DHA) éliminée par le rein. Ce métabolite est extrêmement insoluble, quel que soit le pH des urines et sa précipitation engendre la formation de lithiases et des insuffisances rénales [Bouzidi H, 2007].

##### **4.1.1.6.3. Calcite (carbonate de calcium anhydre)**

Ces cristaux parallélipédiques à contours orthogonaux s'observent en urine peu acide contenant de fortes concentrations de bicarbonates (le plus souvent par apport excessif de poudres alcalines) et de calcium.

##### **4.1.1.7. Cristaux peu fréquents d'origine médicamenteuse**

Les espèces cristallines d'origine médicamenteuse sont souvent liées à la prise de médicaments antiseptiques utilisés à des posologies élevées et principalement éliminés par le rein. Certaines, comme le chlorhydrate de N-acétylsulfaméthoxazole (métabolite du Bactrim®, ou des médicaments analogues) ont la particularité de cristalliser assez souvent sous une forme qui peut être confondue avec des cristaux métaboliques alors que la signification de la cristallurie est évidemment très différente.

Le risque de confusion est encore accentué par le fait que ces espèces cristallisent dans le même domaine de pH. A titre d'exemple, le métabolite N-acétylé du Bactrim® ressemble souvent à des cristaux d'acide urique dihydraté et se forme, comme celui-ci, en urine acide. De même, la N-acétylsulfadiazine peut se confondre parfois avec la brushite dont elle partage le même domaine de pH. Les cristaux d'amoxicilline trihydratée en aiguilles peuvent ressembler à la tyrosine ou à d'autres espèces médicamenteuses comme les quinolones et parfois l'indinavir monohydraté. En pratique, l'examen attentif de la forme des cristaux (faciès cristallin) et l'aspect en lumière polarisée sont des éléments essentiels du diagnostic.

L'identification correcte des espèces médicamenteuses est d'autant plus importante que la cristallisation peut être à l'origine de manifestations rénales plus ou moins sévères à type d'hématurie, de lithiase, voire d'insuffisance rénale aiguë. Lorsque l'on ne parvient pas à déterminer la nature de l'espèce cristalline, il est conseillé de centrifuger l'urine et de faire identifier le culot sec par un laboratoire équipé d'un spectrophotomètre infrarouge.

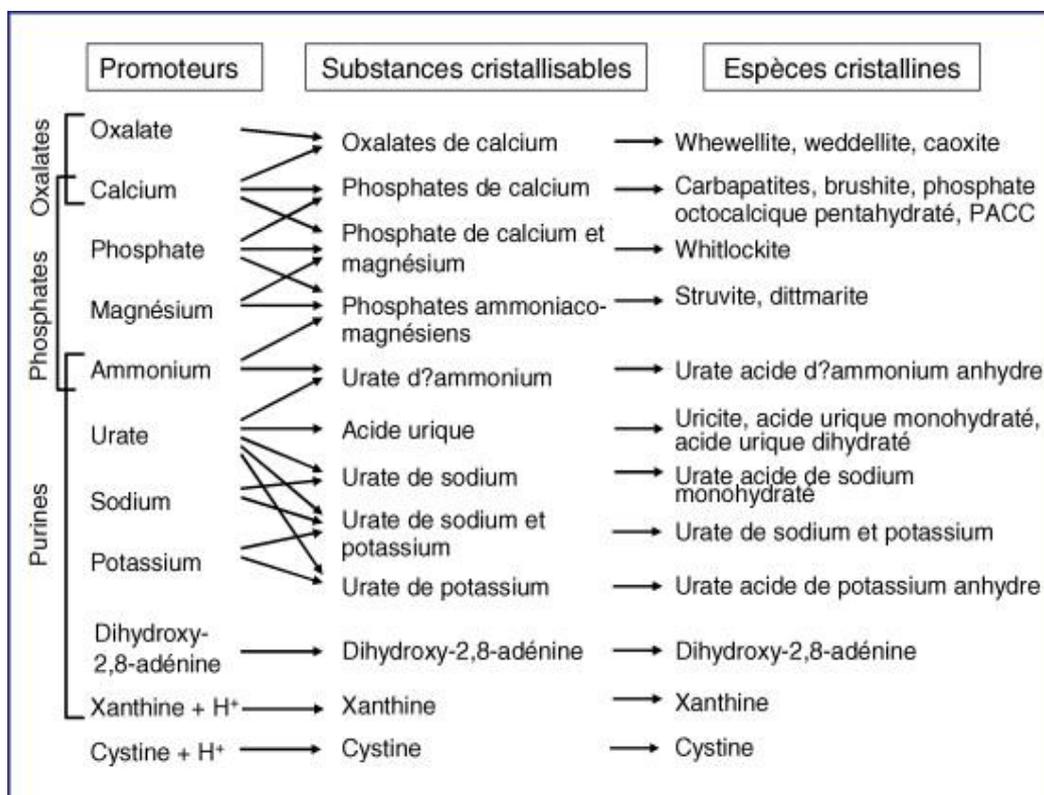
## Chapitre II

### Promoteurs, inducteurs et inhibiteurs urinaires de la cristallisation

## 1. Les promoteurs

La formation de calculs résulte d'un déséquilibre entre des facteurs promoteurs et des facteurs inhibiteurs de la lithogénèse.

Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles sont appelés promoteurs de la cristallisation. Au nombre d'une dizaine, ils s'associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable qui, elle-même, peut se présenter sous plusieurs espèces cristallines (Figure 10) [Daudon M, 2008]. Ces dernières se forment dans des environnements biologiques différents dont elles témoignent, d'où l'intérêt de les prendre en considération pour identifier les facteurs étiologiques d'une maladie lithiasique. Dans le cas de l'oxalate de calcium, la whewellite (oxalate de calcium monohydraté) est avant tout oxalate-dépendante, donc le marqueur d'états hyperoxaluriques, alors que la weddellite (oxalate de calcium dihydraté) est plutôt calcium-dépendante et observée préférentiellement dans des contextes hypercalciuriques [Daudon M, 1984 ; Asplin J.R, 1998]. En ce qui concerne les phosphates calciques, des distinctions méritent d'être faites selon la nature de l'espèce cristalline identifiée. Ainsi, la brushite est, comme la weddellite, une forme cristalline calcium-dépendante, contrairement à la whitlockite que l'on rencontre plutôt dans des contextes infectieux [Maurice-Estépa L, 1999].



**Figure 10** : Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines. [Daudon M, 2008]

## 1.1. Calcium

Le calcium est l'une des composantes essentielles des lithiases dites calciques, c'est-à-dire composées d'oxalate et/ou de phosphate de calcium, qui représentent aujourd'hui près de 90 % de la totalité des calculs urinaires dans les pays industrialisés.

L'importance du calcium dans la lithiase calcique a été illustrée par différentes études réalisées dans les pays anglo-saxons. En Grande-Bretagne, des enquêtes épidémiologiques ont montré que la fréquence de la lithiase calcique croît linéairement avec les apports alimentaires de calcium jusqu'à un niveau d'environ 25 mmol/j, soit 1 g/j [Robertson WG 1979].

Aux États-Unis, Pak *et al.* 1975 ont montré qu'à charge égale en calcium, de nombreux lithiasiques calciques avaient tendance à absorber plus de calcium que les sujets normaux et, de ce fait, à majorer leur excrétion urinaire de calcium. Récemment, Curhan GC *et al.* 2001 ; ont rapporté que le principal facteur biochimique qui différencie les lithiasiques calciques des sujets normaux est l'excrétion urinaire du calcium, significativement plus élevée chez les premiers. À l'inverse, le risque lithogène induit par un régime pauvre en calcium est également une éventualité fréquemment observée. Ce risque a été mis en évidence par une vaste enquête épidémiologique portant sur le comportement nutritionnel de plus de 45 000 sujets non lithiasiques suivis prospectivement pendant 4 ans. Les résultats de cette enquête ont clairement démontré l'existence d'une corrélation négative entre la fréquence d'apparition d'une lithiase calcique et les apports alimentaires de calcium [CurhanGC, 1993]. L'explication est la formation de cristaux d'oxalate de calcium dans la lumière intestinale réduisant l'absorption colique des ions oxalates [Lemann Jr, 1996]. Les effets délétères d'une restriction calcique sur le risque cristallogène avaient déjà été suggérés par Zarembski et Hodgkinson dès 1969, puis confirmés par d'autres auteurs chez les sujets lithiasiques calciques [Bataille P, 1983]. L'explication tient à l'hyperabsorption intestinale des ions oxalates présents dans la lumière du tube digestif lorsqu'ils ne sont pas bloqués sous forme d'oxalate de calcium insoluble par une quantité suffisante de calcium. L'oxalate ainsi absorbé n'étant pas métabolisé, il est éliminé par le rein. Il en résulte une hyperoxalurie qui favorise la formation de calculs oxalocalciques.

En 1996, Lehman *et al.* ont bien montré la relation entre les apports calciques et l'excrétion urinaire de l'oxalate, illustrant le fait que des apports calciques inférieurs à 600 mg/j entraînent une augmentation significative de l'oxalurie. En revanche, lorsque les apports calciques sont supérieurs à 700 mg/j, l'oxalurie est significativement diminuée, mais l'accroissement des apports calciques au-delà des apports recommandés par l'OMS ne réduit

plus significativement l'oxalurie. La conclusion de ces études est que l'on ne doit pas, sauf cas particulier dûment exploré, traiter une lithiase oxalocalcique par une réduction incontrôlée des apports calciques. Toutefois, il a été montré que des régimes modérément restreints en calcium associés à une restriction des apports oxaliques n'induisaient pas d'augmentation de l'oxalurie [Pak CY 2007].

## 1.2. Oxalate

L'oxalate est présent dans de nombreux aliments végétaux. Il représente l'autre facteur important de la lithogénèse oxalocalcique. Il peut aussi être synthétisé dans l'organisme à partir de précurseurs comme l'acide ascorbique, des acides organiques et surtout des aminoacides apportés par l'alimentation sous forme de protéines ou synthétisés dans l'organisme.

Une alimentation végétale souvent riche en acide oxalique et pauvre en calcium, telle qu'on l'observe dans bon nombre de régions du monde, favorise l'absorption intestinale des ions oxalates libres qui sont alors éliminés par le rein. L'hyperoxalurie qui en résulte peut être responsable de la formation de novo de calculs ou de la croissance de calculs préexistants développés initialement par un autre mécanisme. Cela explique que, même dans des pays pauvres où l'alimentation de base est essentiellement végétale, les populations sont exposées à un risque de lithiase oxalocalcique, d'où la proportion relativement élevée des calculs d'oxalate de calcium observée dans ces pays [Daudon M, Bounxouei B, 2004].

Les aliments les plus riches en oxalate consommés en France sont essentiellement les épinards, l'oseille, la rhubarbe, les bettes, les betteraves et surtout le cacao et le chocolat noir. Leur teneur en acide oxalique est indiquée dans le tableau 3. Dans les pays industrialisés, et notamment en France, l'augmentation régulière, depuis plus de 20 ans, de la consommation de chocolat est probablement en partie à l'origine de la progression des calculs oxalocalciques observée, en particulier sous leur forme whewellitique [Donsimoni R, 1997].

Une étude récente a clairement montré que la consommation de chocolat noir, contrairement à celle de chocolat au lait, entraînait une augmentation de 20 % de l'oxalurie [De Mendonca CO, 2003]. Il a été montré que, pour une charge donnée d'oxalate, la proportion de celui-ci absorbée par l'intestin des patients lithiasiques était en moyenne plus élevée que chez les sujets normaux [Hesse A, 1999]. Une autre source d'hyperoxalurie est la consommation de vitamine C, démontrée aussi bien au plan individuel [Traxer O, 2003] qu'au plan épidémiologique [Taylor EN, 2004].

En dehors des pathologies inflammatoires digestives et des stéatorrhées qui sont connues pour augmenter l'absorption des ions oxalates, une cause particulière d'hyperabsorption digestive d'oxalate est l'absence de bactéries intestinales capables de le métaboliser et de limiter son absorption par la muqueuse colique. Parmi ces bactéries, *Oxalobacter formigenes* a fait l'objet de plusieurs études [Sidhu H 1999; Mittal RD, Kumar R 2004] qui ont montré que son absence dans le tractus digestif, la plupart du temps en raison de traitements antibiotiques antérieurs, était corrélée à une augmentation de l'oxalurie par hyperabsorption d'oxalate. Récemment, Mittal et al. 2003 ont rapporté que la bactérie, recherchée par *polymerase chain reaction* (PCR) sur les selles de 70 sujets témoins et de 80 lithiasiques calciques, était présente chez 62 % des témoins, mais seulement chez un tiers des lithiasiques non récidivants et 7 % de ceux qui avaient fait plus de quatre épisodes lithiasiques.

## 2. Les inhibiteurs

Pour s'opposer aux effets des promoteurs, différentes substances de l'urine, également ionisées, sont capables de former des espèces chimiques solubles qui vont réduire le risque de cristallisation ou vont se fixer à la surface des germes cristallins pour les empêcher de grossir ou de s'agréger [Daudon M, 2008].

Un inhibiteur est, donc, défini comme une substance susceptible d'empêcher, de ralentir ou de réduire l'une ou l'autre phase de la cristallisation d'une espèce minérale donnée. Partant de cette définition, de nombreuses molécules présentes dans les urines peuvent prétendre au titre d'inhibiteur de cristallisation. Elles ont un poids moléculaires (PM) très variable, allant de 1 à 100.000 Da, et même d'avantage. Pour certains auteurs, cette définition est beaucoup plus restrictive actuellement, puisque sont exclues toutes les substances qui contribuent à réduire la sursaturation [Conte A, 1989].

Les inhibiteurs appartiennent à des familles diverses. On distingue des ions mono-atomiques, généralement di ou trivalents ( $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) des ions poly-atomiques et de petites molécules acides (citrate, isocitrate, pyrophosphate, acide aspartique, etc....), enfin des macromolécules de poids moléculaire compris entre 10.000 et 100.000 Da qui sont considérées comme les responsables principales de l'activité inhibitrice urinaire. Les effets des inhibiteurs sont assez difficiles à préciser.

Les techniques d'explorations consistent, en règle générale, à étudier l'apparition de cristaux, leur importance et leur taille dans une solution où est ajoutée la substance inhibitrice. Le mode d'action des inhibiteurs lui aussi reste souvent hypothétique, mais nombre d'entre eux

peuvent agir sur les diverses phases de la cristallisation (germination, croissance, agrégation). Certains agissent par compétition chimique, d'autres par modification de la force ionique, d'autres en occupant, en surface de la maille cristalline des sites sélectifs. Il n'est pas nécessaire de recouvrir la totalité de la surface cristalline, et certains sont actifs en ne se fixant que sur un pourcentage de surface très réduit [Conte A, 1989].

Si on se limite à la définition restrictive des inhibiteurs, on peut distinguer quatre types de substances selon leur effet sur la cristallisation [Bellanger H, 1950].

- 1- Les inhibiteurs de la cristallisation secondaire.
- 2- Les inhibiteurs de la croissance cristalline.
- 3 -Les inhibiteurs de l'agrégation cristalline.
- 4- Les stabilisants de phases cristallines.

## **2.1. Nature et rôles des inhibiteurs de la cristallisation**

L'existence d'inhibiteurs de la formation de cristaux dans l'urine normale est assurée par le fait qu'à concentration égale en solutés, il se forme moins de cristaux dans l'urine que dans l'eau pure. Leur action est analogue à celle des anti-calcaires utilisés dans l'industrie des lessives et des détergents. C'est ainsi que l'adjonction de polyphosphate à l'eau de ville trop calcaire empêche la formation de cristaux de carbonate de calcium et le dépôt de tartre dans les canalisations des machines à laver.

Les inhibiteurs naturels ont, donc, pour rôle d'augmenter la solubilité des substances contenues dans les urines en s'opposant à la croissance et à l'agrégation des cristaux. Il est possible de mesurer le pouvoir inhibiteur de l'urine sur la cristallisation et sur l'agrégation cristalline. Là encore, les méthodes sont très complexes et restent du domaine de la recherche. Elles montrent, chez les lithiasiques une diminution du pouvoir inhibiteur global par rapport aux sujets normaux, sans qu'un déficit précis en tel ou tel inhibiteur puisse être habituellement identifié. On ignore encore le rôle exact des inhibiteurs et notamment les conséquences de leur déficit éventuel dans la formation des lithiases. Toutefois, même les sujets normaux ont fréquemment des urines à la limite de la sursaturation, bien qu'ils ne produisent pas de calculs, ce qui indique qu'il existe dans l'urine normale des substances protectrices (inhibiteurs) empêchant l'apparition des cristaux [Daudon M, 1989].

On distingue deux sortes d'inhibiteurs:

- Inhibiteurs de petit poids moléculaires

- Inhibiteurs macromoléculaires

Les principaux inhibiteurs urinaires connus à ce jour sont indiqués dans le tableau 3 [Daudon M, 2008].

**Tableau 3** : Inhibiteurs de la cristallisation.

Inhibiteurs de faible poids moléculaire	Cible	Inhibiteurs macromoléculaires	Cible
<i>Cations</i>		<i>Protéines</i>	
Zn <sup>2+</sup>	OxCa	Protéine de Tamm-Horsfall	OxCa
Fe <sup>3+</sup>	OxCa	Néphrocalcine	OxCa
Mg <sup>2+</sup>	OxCa	Uropontine	OxCa, PCa
<i>Anions</i>		Bikunine	OxCa
Citrate	OxCa, PCa	Fragment 1 de la prothrombine	OxCa
Isocitrate	OxCa, PCa	Fibronectine	OxCa
Phosphocitrate	OxCa, PCa	Calprotectine	OxCa
Pyrophosphate	OxCa, PCa	Lithostathine	CaCO <sub>3</sub>
Aspartate	OxCa	<i>Glycosaminoglycans</i>	
Glutamate	OxCa	Sulfate de chondroïtine	OxCa, acide urique, urates
Hippurate	OxCa	Sulfate d'héparane	OxCa
<i>Cofacteurs d'inhibition</i>		Sulfate de kératane	OxCa
Variabilité du pH	Acide urique, urates, PCa, struvite	Sulfate de dermatane	OxCa
Force ionique	Tous cristaux	Acide hyaluronique	OxCa, PCa

OxCa : oxalate de calcium ; PCa : phosphate de calcium ; CaCO<sub>3</sub> : carbonate de calcium.

## 2.2. Les inhibiteurs de faible poids moléculaire :

Le rôle des inhibiteurs de faible poids moléculaire est très étudié, qui agissent par adsorption sur un site de croissance du cristal d'oxalate de calcium et entraînent une rupture des liaisons avec les autres cristaux. On peut ainsi citer la diminution du taux des glycosaminoglycans, la diminution de l'activité de la néphrocalcine.

### 2.2.1. Magnésium

Le magnésium est un élément chimique de masse atomique = 24,3. C'est un cation important du métabolisme cellulaire, en particulier au niveau musculaire. Il est considéré avant tout, comme chélateur des ions oxalates. Il entre en compétition avec le calcium et forme des complexes solubles dont le principal effet est une diminution de la sursaturation urinaire on oxalate de calcium. En fait, si l'on en juge par les données de la littérature, le magnésium avait un rôle multiple qui s'exprimerait à la fois sur la sursaturation oxalo-calcique, sur la germination [Kohri k, 1988] et la croissance des cristaux d'oxalate de calcium [Li mk 1985] ainsi que sur la cristallisation des phosphates calciques [Fleisch H, 1978].

L'effet inhibiteur du magnésium *in vitro* est indiscutable sur la base des nombreux travaux publiés, qui, tous concourent à démontrer que la supplémentation du magnésium an milieu de cristallisation, à des concentrations physiologiques, est capable de réduire la nucléation et la croissance de l'oxalate de calcium [Desmars JF, 1973 ; Kohri K, 1983 ; Halsson PC, 1982 ; Achilles W, 1986].

Le magnésium pourrait donc agir différemment an niveau tubulaire, peut être par interaction avec d'autre substances ou avec les membranes des cellules épithéliales, en empêchant par exemple les cristaux de se fixer à l'épithélium. Une autre propriété, peu considérée mais cependant peut être très importante de l'activité inhibitrice du magnésium, est sa capacité à s'incorporer à la structure moléculaire des phosphates calciques, en particulier les phosphates amorphes de calcium, (les apatites, carbapatites et la whitlokite), qui se forment préférentiellement dans les urines, et à stabiliser ces espèces sous le forme de particules de petites tailles dont l'élimination urinaire est plus facile que celle d'espèces cristallines plus volumineuses, comme la brushite vers laquelle ces espèces ont tendance à évoluer spontanément [Heughebaert JC, 1984 ; Fleisch H, 1978].

### **2.2.2. Pyrophosphate**

Le premier inhibiteur de ce groupe a été identifié an début des années 60 par Fleisch et Bisaz [Fleisch H, 1978]. Il s'agit de l'ion pyrophosphate, dont les propriétés vis-à-vis de l'oxalate de calcium et du phosphate de calcium ainsi que l'excrétion urinaire chez les sujets normaux et lithiasiques ont été fréquemment étudiées [Bataille P, 1984 ; Baumann JM, 1977. Clavelj, 1983 ; Lamiaski NA, 1990 ; Lewis AM, 1966] L'excrétion urinaire normale du pyrophosphate se situe habituellement entre 25 et 50  $\mu\text{mol}/24\text{h}$  [Coe FL,

1992]. Certains sujets peuvent en excréter des quantités beaucoup plus faibles [Li MK, 1985]. Les pyrophosphates alimentaires sont peu absorbés par l'intestin car ils sont rapidement hydrolysés dans le tractus gastro-intestinal. Certains travaux, comparant des sujets lithiasiques et des sujets normaux, ont conclu l'existence d'un déficit en pyrophosphate urinaire chez les lithiasiques [Baumann JM, 1977 ; Bataille P, 1984]. Les propriétés inhibitrices du pyrophosphate peuvent s'exercer principalement sur le phosphate de calcium.

En 1978 le groupe de Fleisch a montré que les ions pyrophosphates inhibent fortement la germination cristalline des apatites et à un degré moindre sur leur croissance et leur agrégation *in vitro*. Dans les modèles de cristallisation oxalocalciques, le pyrophosphate se comporte comme un inhibiteur de la germination cristalline capable d'augmenter modérément le produit de formation [Russell R, 1976]. C'est également un inhibiteur de la croissance cristalline actif par adsorption surfacique [Hennequin C, 1993].

### 2.2.3. Citrate

L'acide citrique est un acide tricarboxylique de poids moléculaire égal à 192 Da.

De multiples travaux ont montré que le citrate réduit la cristallisation des sels calciques *in vitro* [Bizas S, 1978 ; Ryall RI, 1981 ; Kok DJ, 1990 ; Daudon M, 2004]. Cet effet est imputable essentiellement à la complexation du calcium par le citrate, qui abaisse la quantité de calcium disponible pour réagir avec les ions oxalates ou phosphates. Il s'ensuit une diminution de la sursaturation urinaire en oxalate de calcium. Par ailleurs, des études ont montrées que le citrate se comporte aussi comme un inhibiteur vrai vis-à-vis de l'oxalate de calcium, car il est capable, du moins *in vitro*, de se fixer à la surface des cristaux, d'en réduire la taille et d'en modifier la forme [Hennequin C, 1993 ; Antinozzi B, 1992].

Le citrate urinaire est un complexant efficace de la cristallisation oxalocalcique dans certaines limites dépendant de sa propre concentration dans les urines ainsi que du produit molaire oxalocalcique et du pH. Le citrate peut être apporté par certains fruits et légumes, en particulier les agrumes, mais sa principale source est endogène et l'excrétion urinaire du citrate est essentiellement dépendante de l'équilibre acidobasique intracellulaire. Toute situation génératrice d'acidose aura tendance à augmenter la réabsorption tubulaire du citrate et engendrera une hypocitraturie, donc un défaut de complexation du calcium urinaire.

Si les apports de citrate peuvent être utiles à la prévention de la lithiase urinaire, la meilleure façon de majorer la citraturie est d'augmenter la charge alcaline alimentaire en augmentant la consommation quotidienne de légumes et de fruits qui apporteront en même temps du potassium et contribueront à neutraliser la charge acide et à réduire une éventuelle acidose intracellulaire [Frassetto L, 2001].

#### **2.2.4. Isocitrate**

L'isocitrate est un isomère du citrate, excrète en faible quantité dans l'urine. Dans un modèle de cristallisation de l'oxalate de calcium *in vitro* à 37°C sans ensemencement, M. Daudon et C. Hennequin, ont observé que l'isocitrate, à la concentration  $0,25 \times 10^{-3}$  mol/litre, est capable d'inhiber de 42% la croissance cristalline de l'oxalate de calcium. Comme le citrate, l'isocitrate agit en partie par sa capacité à complexer le calcium ionisé et en partie par interaction surfacique avec les cristaux de calcium. Cet effet étant proportionnellement plus marqué que celui observé avec le citrate.

#### **2.2.5. Tartrate**

Le tartrate est un polyacide carboxylique dont l'élimination urinaire est faible, mais dont l'activité inhibitrice potentielle a suscité quelques intérêts en raison de sa teneur élevée dans certains aliments végétaux consommés en Asie, tel le tamarin. Ses propriétés inhibitrices ont été étudiées notamment par Minero et Coll en 1987, dans un modèle de cristallisation à composition constante avec ensemencement par des germes cristallins de whewellite à 37°C. Ces auteurs ont observé que des concentrations en tartrate de  $2 \times 10^{-3}$  M conduisaient à inhiber de 50 % la croissance cristalline de l'oxalate de calcium. Comme le citrate et l'isocitrate, le tartrate agit en partie par complexation, mais son effet majeur est celui d'un inhibiteur surfacique ainsi que l'atteste la concentration élevée en calcium ionisé après incubation avec inhibiteur.

#### **2.2.6. Acides aminés**

Plusieurs aminoacides excrétés dans l'urine ont fait l'objet d'investigations concernant leurs capacités inhibitrices vis-à-vis de l'oxalate de calcium [Achilles W, 1991]. L'acide aspartique et l'acide glutamique, sont tous les deux des acides dicarboxyliques largement représentés dans la structure primaire d'un grand nombre de protéines impliquées dans le processus de biominéralisation et inhibition cristalline. L'aspartate et le glutamate sont capables, *in vitro* d'inhiber la nucléation et la croissance cristalline de l'oxalate de calcium avec

une efficacité comparable à celle du tartrate en ce qui concerne l'aspartate et sensiblement moindre dans le cas du glutamate; le mécanisme d'action est essentiellement surfacique, par interaction avec les sites de croissance [Gartin, 1980]. Les faibles concentrations urinaires de ces aminoacides libres en font des inhibiteurs secondaires de l'urine.

### **2.3. Inhibiteurs macromoléculaires**

Ils sont des polysaccharides ou bien des protéines porteuses pour beaucoup d'entre elles de fractions glucidiques. De nombreuses molécules ont été identifiées à ce jour, mais il est probable que les inhibiteurs macromoléculaires de l'urine ne sont pas encore tous connus. Parmi ceux qui ont été caractérisés à ce jour, certains proviennent du catabolisme de molécules actives dans l'organisme et partiellement éliminées ensuite dans les urines par filtration glomérulaire. D'autres sont produites localement par les cellules rénales.

La concentration urinaire de ces inhibiteurs est souvent très faible. Ils agissent par adsorption à la surface des cristaux grâce à leurs nombreuses charges anioniques liées à la présence de groupements acides ( $\text{COO}^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). Leur fixation sur les cristaux entraîne une altération des phénomènes d'attraction électrique entre les atomes situés à la surface du cristal et les ions présents dans la solution et par suite une inhibition de la croissance et de l'agrégation cristalline. Les cristaux peuvent ainsi s'évacuer plus facilement dans l'urine.

La capacité inhibitrice d'une macromolécule dépend de son affinité pour les sites de croissance situés sur les différentes faces du cristal. Elle peut être évaluée par la mesure du potentiel, paramètre proposé par différents auteurs pour hiérarchiser l'activité inhibitrice des macromolécules urinaires. Contrairement au phénomène de décomplexation qui présente l'un des principaux modes d'action des inhibiteurs de faibles poids tels que le citrate ou le magnésium.

Les inhibiteurs de faible poids moléculaire jouent un rôle important vis-à-vis des cristaux de phosphates de calcium, mais ils ne semblent pas avoir de rôle important dans la croissance et l'agrégation de l'oxalate de calcium. En effet, l'élimination des substances de poids moléculaire inférieur à 10.000 Da ne diminue que 10 à 20 % le pouvoir inhibiteur global des urines à l'égard de l'oxalate de calcium. Il semble donc que 80 à 90 % de l'activité inhibitrice des urines vis-à-vis de la cristallisation de l'oxalate de calcium soit supportée par les inhibiteurs macromoléculaires [Grases F, 1989]

L'étude de Baumann [Baumann JM, 2007] teste l'effet d'une solution de macromolécules urinaires (prélevées par hémodialyse sur des patients sains) sur une suspension d'oxalate de

calcium. Elle conclut que ces macromolécules inhibent l'agrégation en cristaux d'oxalate de calcium et augmentent la stabilité de la suspension pendant le processus de cristallisation.

Les inhibiteurs macromoléculaires sont classés en trois familles chimiques ; les glycosaminoglycans, les protéines (La protéine de Tamm-Horsfall, la néphrocalcine, uropontine (l'ostéopontine), la lithostatine, le calcium matrix-protein, l'uronic-Acide-rich protein (UAP) et le fragment de la prothrombine) et les acides ribonucléiques.

### **2.3.1 Les Glycosaminoglycans (GAGs)**

Ce sont des polymères constitués d'unités disaccharidiques associant une hexosamine et un acide uronique. Ils sont capables de se lier de manière covalente aux protéines. Ces protéoglycans sont des constituants majeurs du milieu intercellulaire et des liquides de l'organisme. La production quotidienne est de 200 mg à 300 mg dont 10 % sont éliminés dans l'urine par filtration glomérulaire après dépolymérisation et désulfatation partielle dans le foie. Au niveau rénal, ce sont les constituants majoritaires de la matrice extracellulaire des membranes glomérulaires et tubulaires. Des études récentes ont montré que les GAGs et notamment le sulfate de chondroïtine inhibent la nucléation de l'acide urique sur les cristaux de l'oxalate de calcium [Oury Ra, 1985].

Le rôle du pH urinaire est essentiel puisque son abaissement favorise la sursaturation en acide urique et modifie probablement la réactivité GAGs - acide urique. L'activité des GAGs *in vitro* est fortement stimulée par les ions magnésium

### **2.3.2. Les inhibiteurs protéiques**

Howard & Coll ont été les premiers à isoler de l'urine des molécules peptidiques douées de propriétés inhibitrices et capables de s'opposer à la calcification du cartilage de rat [Howard JE, 1966,1967]. En 1975, Smith et Meyer ont individualisé un composé urinaire anionique non dialysable de poids moléculaire supérieure à 10.000 Da actif *in vitro* contre la cristallisation oxalocalcique. [Smith H, Meyer JL, 1975]

#### **2.3.2.1. Néphrocalcine**

Il a été analysé par des procédés biochimiques et immunologiques il comporte 25% d'acides aminés dicarboxyliques et deux molécules de cystéine, on note aussi la présence de plusieurs radicaux phosphorés qui semble jouer un rôle dans l'activité inhibitrice.

Dans l'urine, la néphrocalcine existe principalement sous formes de polymères contenant

du calcium. Il se compose en fait de quatre formes moléculaires appelées A, B, C et D, qui diffèrent par leur teneur en résidus gamma carboxyglutonique. Par ailleurs, la teneur en phosphate et notamment en radicaux phosphoserine contribuerait à l'expression du pouvoir inhibiteur de la néphrocalcine, ainsi qu'il existe une grande variabilité dans la répartition des formes A et D, aussi bien, chez le sujet normal que chez le lithiasique.

Le néphrocalcine est un inhibiteur de la nucléation secondaires de l'oxalate de calcium et semble être principale inhibiteur de la croissance cristalline oxalo-calcique [Desmars JF, 1973 ; Ceo FL, 1992].

### **2.3.2.2. Protéine de Tam-horsfall**

Cette protéine est appelée aussi uromucoïde, et isolé de l'urine il y a près d'un demi-siècle et pourtant son rôle biologique reste encore mal connu aujourd'hui. L'auto agrégation réversible de la THP est favorisée par les fortes concentrations urinaires de la molécule.

Le THP est considéré comme la protéine majeure de l'urine, il existe de grande variation individuelle et d'un jour à l'autre chez un même sujet, elle a été localisée sur la membrane basale des cellules rénales. THP et cristallisation, les premiers travaux s'intéressant au rôle de la THP sur la cristallisation montrant un effet tantôt promoteur tantôt inhibiteur de la protéine.

### **2.3.2.3. Uropontine**

L'uropontine est une glycoprotéine chargée négativement sécrétée par les cellules épithéliales de l'anse de Henlé et du tube contourné distal [Brown L.F, 1992, Young B.A, 1995] dont l'activité inhibitrice a été évoquée par de nombreux auteurs [Dussol B 1996 ; Berland Y., Dussol B 1999 ; Asplin J.R., Arsenault D 1998 ; Hoyer J.R 1995 ; Kleinman J.G 1995 ; Worcester E.M 1995 ; Worcester E.M 1996 ; Worcester E.M 1992]

Lieske a montré que l'uropontine agirait au niveau de la phase de rétention des cristaux : elle modifierait les interactions entre les cristaux d'oxalate de calcium et les cellules épithéliales rénales par inhibition de l'adhésion des cristaux à la surface des cellules [Lieske J.C, 1996 ; Lieske J.C1, 999]. Hoyer et d'autres auteurs ont montré sur des modèles in vitro que l'UPN aurait plutôt une action inhibitrice sur la phase de croissance des cristaux d'oxalate de calcium monohydraté [Hoyer J.R.1995 ; Shiraga H 1992 ; Worcester E.M 1992 ; Sorensen S 1995]. Worcester et Asplin ont par ailleurs montré un effet inhibiteur de l'UPN sur la phase de nucléation des cristaux d'oxalate de calcium [Worcester E.M 1995 ; Asplin J.R 1998]. Enfin, Asplin a également décrit une action inhibitrice de l'UPN sur la phase d'agrégation des cristaux d'oxalate de calcium [Asplin J.R 1998]

Il semble que l'action inhibitrice de l'UPN s'exerce sur les quatre phases de la formation des calculs. [Pascal P,2002]

D'un point de vue biologique, la concentration urinaire moyenne pour laquelle l'UPN a un effet inhibiteur est de 6 à 8 µg/ml chez le rongeur [Worcester E.M, 1995]. Cette concentration efficace d'UPN est de 1,9 µg/ml chez l'homme, et varie inversement avec le volume d'urine [Min W,1998]. Cette variation inverse entre le volume urinaire et la concentration d'UPN est une caractéristique physiologique qui plaide en faveur du rôle inhibiteur de l'UPN [Min W,1998]. D'autre part, Wesson a mis en évidence sur une étude in vitro que l'UPN peut modifier la structure des cristaux d'oxalate de calcium en favorisant la formation des cristaux d'oxalate de calcium dihydraté au dépend des cristaux d'oxalate de calcium monohydraté [Wesson J.A, 1998]. Cette constatation indique pour l'auteur que le pouvoir inhibiteur de l'UPN s'exerce dans la phase d'attachement des cristaux en favorisant la formation de cristaux de structure différente qui adhèrent moins aux cellules épithéliales.

### **2.3.3. Acide ribonucléique (ARN)**

Les ARN en raison de leur structure nucléotidique possèdent de nombreuses charges négatives qui favorisent leur adsorption sur la surface des cristaux. Les ARN étaient les macromolécules les plus actives contre l'agrégation cristalline de l'oxalate de calcium monohydraté était d'autant plus forte que la charge superficielle des cristaux était elle-même plus grande. [Daudon M, 1994 ; Ceo FL, 1992].

## Chapitre III

### Les plantes médicinales et modes d'extraction

## Introduction

Les ressources végétales occupent une grande place dans la vie de l'homme. Ainsi pour se défendre contre toute agression, l'homme fait appel quotidiennement à ses systèmes de défense interne notamment son arsenal de cellules immunitaires. C'est alors que l'homme a recours aux médicaments et nutriments qui sont susceptibles de stimuler ou de rétablir son équilibre. Parmi les sources de médicaments, il y a principalement les plantes médicinales qui restent une source inépuisable de drogues pour les hommes [Handa, 2006].

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art [Hamburger et Hostettmann, 1991].

L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents [Hostettmann, 1998].

Selon l'Organisation mondiale de la santé (O.M.S) ; la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (parlement ou par écrit) [Adjanohoun, 1979].

Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits de teintures)

- pure, chimiquement définie comme principe actif.

Les composés purs sont généralement utilisés quand les principes actifs des plantes produisent une forte et spécifique activité ou possèdent un faible indice thérapeutique [Hamburger et Hostettmann, 1991].

De plus, l'usage excessif des médicaments de synthèse et la prise de conscience de leur toxicité ont conduit à reconsidérer favorablement les pratiques médicinales « douces » ou « naturelles » dans lesquelles s'inscrivent l'Homéopathie, la Phytothérapie et l'Aromathérapie. L'Algérie de par son climat (méditerranéen, aride) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existe à l'état

spontané. La valorisation des plantes médicinales et aromatiques est un domaine particulièrement intéressant à développer car c'est une source de produits à haute valeur ajoutée [Felidj, 2010].

La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% endémiques [Quezel et Santa, 1963], reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique.

La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique algérienne et aura un impact économique certain.

Pour notre part nous avons choisi d'étudier l'effet inhibiteur de deux espèces endémiques telles que *Zingiber officinale Roscoe* et *Origanum vulgare* sur la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté et la cristallisation des phosphates amoniac-magnésiens hexahydraté.

## I. Les plantes médicinales étudiées

### I.1. L'origan

#### I.1.1. Nom scientifique : *Origanum vulgare*



**Figure 11** : L'origan (*Origanum vulgare*)

#### I.1.2. Classification botanique

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Origanum*

Espèce : *Origanum vulgare*

#### I.1.3. Présentation botanique de l'origan

L'origan (appelée aussi Marjolaine bâtarde, Marjolaine sauvage, Thé rouge) Son nom vient de *oros*, montagne, et de *ganos*, éclat. C'est une plante vivace. Ses tiges, de 25 à 85 cm, sont dressées, souvent rougeâtres, plus ou moins velues, avec des feuilles opposées pétiolées vertes sur les deux faces, entières ou découpées de larges dents peu marquées. Les fleurs, visibles de juillet à octobre, disposées en glomérules terminaux très compacts, sont

purpurines, rarement blanches, odorantes et remarquables par leurs nombreuses bractées ovales, imbriquées, d'un rouge violet, dépassant le calice. Celui-ci est campanulé, sillonné de 13 nervures, barbu à la gorge, terminé par 5 dents lancéolées à peu près égales.

La corolle, nettement bilabée, a un tube saillant, une lèvre supérieure dressée émarginée, une lèvre inférieure à 3 lobes presque semblables. Les 4 étamines sont droites, divergentes -les 2 internes plus courtes - avec des anthères à loges séparées au sommet.

Les 4 akènes formant le fruit sont ovoïdes et lisses. L'odeur est aromatique, la saveur amère [Garnier, 1961].

L'origan aime un sol léger en plein soleil. On peut la retrouver sur le bord des chemins et sur des terrains secs. On récolte les têtes fleuries du mois de juillet jusqu'en août.

Le genre *Origanum* est largement présent dans îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante.

**I.1.4. Les parties utilisées :** Tiges fleuries, sommités fleuries, feuilles.

#### **I.1.5. Composition chimique**

Elle fournit une huile essentielle généralement riche en thymol et ou en carvacrol [Ticli, 1999]. Tanins, substance amer, saponosides, gomme ou résine, acides phénols, flavonoides, triterpènes, aromadendrine. [Carlier, 2006].

#### **I.1.6. Propriétés pharmacologiques usage**

Des travaux scientifiques ont été effectués pour confirmer ou infirmer certains usages traditionnels de cette plante.

##### ✓ **Antibactérien**

Les sommités fleuries revendiquent une action anti-bactérienne [De Martino,2009].

##### ✓ **Anti cancéreux**

*Origanum vulgare* est très courant dans le régime méditerranéen. On l'associe à un risque moindre de cancer du colon. En effet ses composants seraient capables d'induire l'apoptose des cellules caco2 dans le cancer du colon humain [Savini, 2009]. De plus une autre étude montre qu'une supplémentation en origan (40 mg.kg-1) chez des rat portant un cancer du colon joue un rôle dans la peroxydation lipidique ce qui suggère un possible effet anticancéreux de l'origan [Srihari, 2008].

### ✓ Antifongique

D'après une étude récente [Rosato, 2009], la combinaison entre l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et la nystatine dans le traitement de certaines candidoses permet de réduire les doses de nystatine employées pour une même efficacité et donc de diminuer sa toxicité rénale.

### ✓ Utilisation traditionnelle

En usage local l'Origan traditionnellement utilisée : comme traitement d'appoint adoucissant et antiprurigineux des affections dermatologiques, comme trophiques protecteur dans le traitement des crevasses, écorchures, gerçures, et contre les piqûres d'insecte, en pastilles et collutoires comme antalgique dans les affections de la cavité buccale et ou pharynx, en cas de nez bouché, rhume [Bruneton, 1999]. Utilisé aussi en cas de douleurs d'estomac, manque d'appétit, constipation et encore d'autre utilisation.

## I.2. Le gingembre

### I.2.1. Nom scientifique *Zingiber officinale* Roscoe.



**Figure 12 :** *Zingiber officinale* Roscoe et son rhizome

### **I.2.2. Classification botanique**

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous classe : Zingiberidae

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : Zingiber

Espèce : *Zingiber officinale Roscoe*

### **I.2.3. Présentation botanique de gingembre**

Le *gingembre* ou *Zingiber officinale Roscoe* est une plante appartenant à la famille des Zingibéracées [USDA, 2008]. Originaire d'Asie, plus particulièrement d'Inde, de Chine et de l'île de Java, il est actuellement cultivé dans tous les pays tropicaux et de manière générale dans la plupart des régions chaudes et humides de la planète sur un sol riche.

Le gingembre est une plante vivace herbacée, semblable au curcuma. Sa racine ou plutôt son *rhizome* est horizontal et charnu. La pulpe qu'il contient sent le camphre et a une saveur piquante, brûlante et poivrée, particulièrement puissante. Le rhizome est de taille et de couleur variables selon la variété. La partie aérienne du gingembre peut atteindre les 1m50 de hauteur et présente des feuilles alternes et lancéolées, odorantes. Ses fleurs sont regroupées en inflorescence terminales, nommées épis, à la base de bractées jaune orangé.

Ces fleurs odorantes sont de couleur jaune-vert avec la lèvre rouge rayée de jaune (voir figure 13). Etant stériles, on ne peut donc reproduire le gingembre que par division de son rhizome. Quant au fruit, il s'agit d'une petite baie rouge ne produisant que peu de graines.

Le *rhizome du gingembre* est récolté, le plus souvent manuellement, lorsque les parties vertes se dessèchent, c'est à dire après 6 (rhizome jeune ou immature) à 9 mois.



**Figure 13** : les fleurs de gingembre



**Figure 14** : la plante de gingembre avec ses feuilles vertes

#### **I.2.4. La partie utilisée :**

La *racine du gingembre* (le rhizome).

#### **I.2.5. Composition chimique**

- Eau
- Glucide, principalement de l'amidon (60%)
- Protéine
- Lipide (3 à 8 %)
- Huile essentielle (2 à 3%) renfermant des *sesquiterpènes* (curcumène, zingibérène, zingibérol, bisabolène,...), et des *monoterpènes* (géranial, linalol, citronellal, néral,...)
- Oléorésine (5 à 6%) contenant des *gingérols*, des shogaols et des zingérones
- Phénols
- Fibres (cellulose)
- Enzyme (protéase)
- Vitamines (A et B), minéraux (magnésium, ...)

#### **1.2.6. Propriétés pharmacologiques et usage**

En phytothérapie, c'est la *racine du gingembre*, encore appelée « Rhizome » que l'on utilise [McGuffin M, 2000]. Le rhizome du gingembre est récolté lorsque les parties vertes se dessèchent. Il est aussi possible d'extraire de ce rhizome une *huile essentielle*, à la couleur paille et à la saveur poivrée.

Le gingembre est surtout réputé pour son *action stimulante sur le tonus sexuel*, mais ces propriétés aphrodisiaques sont plus ou moins fondées. Il est également connu et utilisé en *phytothérapie* pour bien d'autres effets , notamment pour aider à soulager les malaises

digestifs, y compris la perte d'appétit, les nausées, les spasmes digestifs, l'indigestion, la dyspepsie et les coliques flatulentes ( Carminatif ;aide à expulser les gaz intestinaux) [Mills S ,Bone K, 2000].

Il est utilisé aussi comme :

- Expectorant et antitussif pour aider à soulager la bronchite, la toux et les rhumes [Mills S ,Bone K, 2000].
- Fébrifuge (contre la fièvre)
- Antiémétique (action sédative sur la muqueuse de l'estomac)
- Cholagogue et hépato-protecteur
- Hypocholestérolémiant
- Sudorifique
- Stimulant général
- Antibactérien

Le gingembre est aussi employé pour :

- Traiter une asthénie fonctionnelle passagère

En usage externe, l'huile de gingembre dispose es propriétés suivantes :

- Antalgique
- Anti inflammatoire
- Antiseptique

## **II. Modes d'extraction**

Plusieurs techniques d'extraction peuvent être mises en œuvre pour extraire les principes actifs des plantes, toujours très recherchés pour toutes sortes d'application ; en alimentaire, nutraceutique, cosmétique et pharmacie.

### **❖ La décoction**

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale par dissolution dans l'eau bouillante, ce qui suppose que ces substances ne soient pas thermolabiles.

Elle s'applique généralement aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, bois.

La décoction consiste à chauffer l'élément avec de l'eau, jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante (frémillante), pour en extraire les principes actifs. Plusieurs plantes, feuilles, fleurs,

racines etc... trouvées en herboristerie pour leur vertu thérapeutique, s'utilisent entre autres, sous forme de décoctions.

Pour réaliser une décoction, on prépare les parties de plantes recherchées, coupées et fractionnées si nécessaire, et on les place dans un récipient rempli d'eau. Le tout est porté à ébullition et maintenu à température pendant un temps variable, généralement entre deux et quinze minutes. À la fin, on laisse tiédir et on filtre le liquide à l'aide d'une passoire avant de l'utiliser.

### ❖ **L'infusion**

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement bouillant que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes, le thé par exemple.

Cette opération s'oppose à la décoction, dans laquelle le liquide est maintenu bouillant, et à la macération dans laquelle le liquide est froid. Le solvant n'est pas nécessairement de l'eau, cela peut être également une huile ou un alcool.

### ❖ **La macération**

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante. La macération ne doit être confondue avec l'infusion ou la décoction.

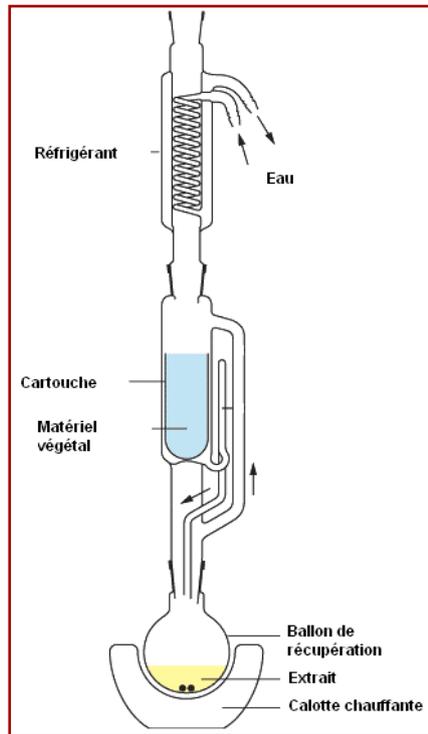
### ❖ **L'extraction par l'appareil de Soxhlet :**

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure 15. Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal. D'un tube siphon et d'un tube de distillation. La cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmonté d'un réfrigérant. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu.

Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé.

L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté [Houghton P. J. et Raman, 1998].



**Figure 15:** Schéma de l'extracteur Soxhlet

#### ❖ Le cryobroyage

Le procédé du cryobroyage consiste à pulvériser la partie active de la plante sèche en la broyant à froid sous azote liquide, à  $-196^{\circ}\text{C}$ . Le froid permet de conserver les vitamines, les enzymes et de nombreux principes actifs des plantes sans les détériorer. On recueille ainsi une poudre parfaitement fine et homogène qu'on peut conditionner sous forme de gélules.

#### ❖ La centrifugation différentielle

Cette méthode est identique au procédé de décantation. La force centrifuge accélère la séparation de principes actifs en fonction de leur densité. Les principes actifs les plus lourds se déposent au fond des tubes. La centrifugation différentielle est un procédé qui sépare différentes particules en fonction de leur taille par une succession de centrifugation, dont l'intensité croît au fur et à mesure.

#### ❖ L'entraînement à la vapeur (l'hydro-distillation)

L'hydro-distillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression

atmosphérique. Lit distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage.

Le montage de type Clevenger est composé de quatre parties principales :

1. le réacteur, un ballon dans lequel on introduit la matière et l'eau.
2. la colonne, un cylindre en verre placé au-dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur
3. Le réfrigérant dans lequel se condensent les vapeurs
4. le vase florentin où vont se séparer la phase organique (huile essentielle) et la phase aqueuse (eau florale).

Ce système peut être équipé d'un recyclage ou cohobage : un principe de siphon renvoie l'eau florale du vase florentin vers le réacteur. Un simple robinet au bas du vase permet de recueillir l'huile essentielle à la fin de la réaction. Le milieu réactionnel, constitué par la matière et l'eau, est porté à ébullition grâce à un chauffe-ballon. La température est limitée par la température d'ébullition de l'eau : 100 C°. La composition chimique des huiles essentielles dépend largement de l'influence des conditions d'hydrodistillation sur l'essence contenue dans la plante.

#### ❖ **L'extraction en mode batch par agitation**

Son avantage majeur vis-à-vis le soxhlet est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants (ex : différents ratios alcool-eau) et de contrôler la température d'extraction pour éviter le risque de destruction des composés thermolabiles. C'est une méthode simple et efficace mais qui exige des procédures ultérieures de filtration et de concentration relativement longues.

#### ❖ **L'extraction accélérée par solvant**

Technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 \_200 °C) et des pressions élevés (100\_150 bar). La pression exercée est assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'ASE, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques. Ses avantages vis-à-vis les techniques conventionnelles sont qu'on évite les échauffements locaux et qu'on consomme de plus petites quantités de solvant (vis-à-vis l'extraction par soxhlet et par batch avec agitation). Ses inconvénients sont liés à son coût élevé et surtout à son non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits. Les températures opératoires élevées peuvent aussi mener à une dégradation des solutés thermolabiles.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## Modèle de cristallisation

### Introduction :

Le facteur lithogène majeur dans toutes les variétés chimiques de lithiase, est la sursaturation des urines en solutés entrant dans la composition des calculs. La sursaturation résulte de l'augmentation de la concentration des urines en solutés lithogènes, tels que l'oxalate et le calcium dans la lithiase oxalocalcique variété prédominante de lithiase observée dans les pays industrialisés [Andreol VT, 1989] et dans l'Ouest Algérien [Kacem B et al.,2007].

Les études de cristallisation *in vitro* permettent de préciser les conditions cinétiques et thermodynamiques de formation et de croissance des espèces cristallines. Elles déterminent l'influence de diverses substances sur ces processus, ainsi que sur l'agrégation cristalline différents protocoles ont été proposés [Beuks GJ, 1987]. Ils utilisent des solutions aqueuses sursaturées, des urines synthétiques, des urines diluées ou entières [Jungers P,1989]. La cristallisation peut être déclenchée par addition au milieu réactionnel des solutions apportant des ions calcium, oxalates ou phosphate, ou par ensemencement à l'aide des germes cristallins de l'espèce que l'on souhaite étudier. La cristallisation peut aussi avoir lieu, en modifiant le pH pour les substances dont la solubilité est pH-dépendant.

### I. Cristallisation des oxalates

Dans les pays industrialisés, l'oxalate de calcium est présent dans plus de 70% des calculs urinaires [Daudon M, Bader CA, 1993]. Il est retrouvé dans les calculs sous deux formes cristallines distinctes :

#### A. Oxalate de calcium monohydraté (ou whewellite) :

- Oxalo-dépendante
- Les plus fréquents
- Brunâtres, lisses, de petite taille, se formant dans des urines hyperoxaluriques
- Forme ovale avec centre déprimé ; aspect en cacahuètes, en avette.

#### B. Oxalate de calcium dihydraté (ou weddellite) :

- Calcium-dépendant
- Jaunâtres, spicules, de grande taille, fréquente dans urines hypercalciuriques
- Octaèdre (peu de signification clinique sauf les chez le lithiasique connu)
- Dodécaèdre, faciès hexagonal (hypercalciurie majeure)

L'identification de ces deux formes cristallines au sein du calcul ou dans les urines est accessible par analyse physique (spectrophotométrie infrarouge) mais également par étude morphologique du calcul ou microscopique des urines [Daudon M, 1985].

## II. Cristallisation des phosphates

### A. Phosphates calciques

Les phosphates calciques représentent une famille complexe. Leur étude est difficile à cause de la diversité des espèces cristallines qui la composent et la relative facilité avec laquelle peuvent s'opérer des conversions cristallines. La plupart de phosphates calciques sont sensibles à l'influence de l'environnement aux ions mono ou divalents de l'urine. Ces ions sont susceptibles de s'incorporer à la maille cristalline et peuvent modifier le devenir de l'espèce de l'espèce considérée. Il en résulte que les études de cristallisation, plus encore pour les phosphates calciques que pour les oxalates de calcium, doivent s'attacher à maîtriser au mieux les facteurs capables d'influencer la cristallisation [Jungers P,1989].

Des modèles expérimentaux ont été développés pour la synthèse de la plupart des espèces phosphatées observables dans l'urine : hydroxy-apatite, phosphate tricalcique, phosphate octacalcique, whitlockite, carbapatite, brushite, phosphate amorphe de calcium carbonatés ou non [Jungers P,1989]. Chaque phosphate de calcium a son propre produit de solubilité qui est dépendant de sa concentration molaire, du pH et plus précisément, de la concentration en calcium ionisé, de la concentration en ion  $\text{PO}_4$  et/ou  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Le domaine de précipitation usuel des phosphates calciques dans l'urine se situe au-dessus de  $\text{pH}=6$ . Mais certains phosphates, notamment l'hydroxy-apatite et la brushite, peuvent cristalliser à un pH inférieur à 6 lorsque la cristallurie et le produit phosphocalcique sont élevés. L'hydroxy-apatite est moins soluble que les phosphates tricalciques et octacalcique, eux même moins soluble que la brushite. Cette dernière étant moins soluble que les phosphates amorphes de calcium. Dans l'urine, comme en solution aqueuse, lorsque la sursaturation phosphocalcique est importante ( $\text{pH}$  supérieur à 6,5 avec un produit élevé), le phosphate amorphe de calcium est la première espèce formée. Il évolue spontanément dans le temps vers la formation d'apatite ou de brushite. Lorsque le pH est inférieur à 6,5 et/ou la sursaturation moindre, la brushite peut cristalliser d'emblée dans l'urine [Beuks GJ 1987 ; Robertson W.G 1968]. Pour divers auteurs elle est capable de se transformer, elle aussi, en apatite qui est la forme thermodynamiquement la plus stable [Beuks GJ 1987; Pak CYC 1981], après conversion intermédiaire en phosphate octacalcique [Bigi A, 1993]. Selon Pak [Pak CYC,1981], cette transformation de la brushite se trouverait favorisée par la variation du pH alcalin.

Un autre facteur pourrait intervenir dans la conversion de la brushite, à savoir la baisse de la sursaturation phosphocalcique de la solution. Cette dernière est régie par diminution de la calciurie et de la nucléation hétérogène d'un phosphate par un autre, rendue possible aux variations de pH et de sursaturation [Jungers P, 1989]. Les phosphates amorphes de calcium carbonatés et les apatites carbonatées sont les espèces les plus fréquentes parmi les phosphates de calcium identifiés dans les cristalluries spontanées et dans les calculs [Beuks GJ, 1987].

### **B. Phosphate ammoniaco-magnésien ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) ou struvite**

La struvite ou phosphate ammoniaco-magnésien hexahydraté (PAM) est une espèce minérale particulière puisqu'elle nécessite un ensemble de conditions de cristallisation qui ne sont pas réunies dans l'urine normale. Ces conditions sont le pH urinaire, le produit molaire  $[\text{Mg}^{2+}][\text{NH}_4][\text{PO}_4^{3-}]$  et une concentration en ammoniacque élevés. La struvite peut cristalliser en urines acides stériles, comme l'ont montré Boistelle et coll [Boistelle R, 1984]. Leurs travaux ont montré qu'en urines acides, la struvite peut se former sous réserve que le produit molaire soit très élevé : supérieure à  $10^5 \text{ (mmol/l)}^3$  à pH = 6, et voisin de  $10^4$  à pH = 6,5. Ceci correspond par exemple à des concentrations respectives en magnésium de 20 et 10 mmol/l, en phosphate de 100 et 60 mmol/l, en ammonium de 50 et 20 mmol/l. On voit ainsi que la formation de PAM à pH inférieur à 6,5 est hautement improbable dans les urines en raison des concentrations molaires très élevées nécessaire à la sursaturation. Par contre, à partir du pH 6,5, les concentrations minimales requises pour la cristallisation de struvite sont compatibles avec la composition de certaines urines. Plus le pH est élevé, plus le produit molaire nécessaire à la cristallisation de la struvite peut être bas, et à produit constant, plus le risque cristallogène est élevé. Ces données sont en parfaite concordance avec les observations de Daudon et coll [Jungers P, Daudon M, 1989], selon lesquelles le pH moyen de cristallisation de la struvite se situe aux environs de 7,5 dans l'urine. Alors que le pH minimum pour lequel les cristaux de struvite sont détectés est 6,6 [Jungers P, Daudon M, 1989]. Le dernier point important mis en évidence par Boistelle, Abbona et coll [Boistelle R, 1984] est la concentration en ammoniacque qui exerce la plus grande influence sur le degré de sursaturation, essentiellement par sa concentration à l'élévation du pH urinaire. Ce sont les urines à plus forte teneur en ammoniacque qui sont les plus exposées à cristalliser.

### **C. Conversion cristalline**

Plusieurs espèces cristallines formées dans les urines est génératrices de calculs sont thermodynamiquement instables. Cela signifie qu'elles ont une propension naturelle à évoluer

spontanément vers une autre forme cristalline de la molécule, thermodynamiquement stable, caractérisée par un niveau d'enthalpie minimal [Bisaz S,1984].

Dans notre travail, on s'est intéressé à étudier deux espèces cristallines qui sont l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) et phosphate amoniac-magnésien hexahydraté (struvite) qui est généralement considéré comme un marqueur des infections lithogènes [Griffith D.P 1987].

Nous avons adopté pour l'étude de la cristallisation [Grases F,1996], le modèle classique le plus utilisé actuellement (figure 16), il présente en plus de sa simplicité, une reproductibilité très satisfaisante. Ce modèle comporte l'étude de la cristallisation sans inhibiteur et avec inhibiteur afin d'apprécier quantitativement l'effet du pouvoir d'inhibition de chaque substance étudiée.



**Figure 16** : modèle de cristallisation (Bain Marie thermostaté + Agitateur)

### III. Produits utilisés :

- ✓ Chlorures de sodium (NaCl) de marque MERCK et type Extra pure.
- ✓ Chlorure de calcium dihydraté ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) de marque MARCK
- ✓ Oxalate de sodium anhydre ( $\text{NaC}_2\text{O}_4$ ) de marque MERCK
- ✓ L'acide citrique  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  de marque MERCK.
- ✓ Chlorure de magnésium  $\text{MgCl}_2$
- ✓ Extrait de rhizome de Gingembre (*Zingiber officinale Roscoe*)
- ✓ Extrait de l'Origan (*Origanum vulgare*)

#### IV. Préparation des solutions

Plusieurs essais ont été faits pour déterminer les plages de concentration où on peut suivre la cinétique de cristallisation. Selon Daudon M, Pour induire la formation de whewellite et éviter totalement la formation des cristaux de weddellite, le rapport molaire doit être inférieur à 6 [Daudon M, 1994]. Pour cela nous avons choisi le rapport le plus faible  $Ca/Ox = 1$  où on a effectivement obtenu l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) pure.

##### ❖ Le solvant :

C'est une solution de chlorure de sodium (NaCl) qui permet de ramener les solutions initiales à une force ionique de 0.15M. Cette solution est la concentration de 9g de NaCl par litre de solution.

##### ❖ Solutions précipitantes

###### ➤ L'oxalate de calcium monohydraté (Whewellite)

1. Une solution mère de chlorure de calcium à 40 mmol/l préparée avec la solution de chlorure de calcium.
2. Une solution mère d'oxalate de sodium à 4mmol/l préparée avec la solution de l'oxalate de sodium.

A partir de la solution mère de chlorure de calcium, une solution fille été réalisée :

3. Une solution de chlorure de calcium 4mmol/l.

###### ➤ Phosphate amoniac-magnésien hexahydraté ( $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ ) Struvite:

On prépare une urine artificiel de type phosphocalcique en mélangeant deux solutions A et B dont leurs compositions sont les suivantes :

**Tableau 4** : composition chimique de l'urine artificiel phosphocalcique

Solution A		Solution B	
Produit	Concentration (mg/l)	Produit	Concentration (mg/l)
$Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	11,02	$NaH_2 PO_4 \cdot 2H_2O$	2,65
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,46	$Na_2HPO_4$	18,82
$NH_4Cl$	2,64	$NaCl$	13,05
$Ca^{2+}$	0,24	$Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$	1,00
$KCl$	12,13	$C_2H_5O_4$	00,5

### ❖ **Solution inhibitrices :**

Substances chimiques : chlorure de magnésium ( $MgCl_2$ ) et l'acide citrique ( $C_6H_8O_7$ ).

1. *Zingiber officinale* Roscoe (Rhizome) 20g/l d'eau distillée.

2. *Organum vulgare* (toute la plante) 20g/l d'eau distillée.

### **V. Méthodes de préparation des extraits des plantes médicinales**

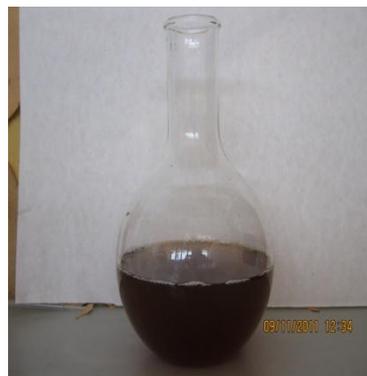
Nous avons pris 20g de chaque plante lavée et séchée à l'avance à l'aire libre pendant quelques jours. L'extraction s'est faite par trois méthodes (Décoction, Infusion et Soxhlet).

#### ❖ **La décoction :**

Une quantité donnée de chaque plante (20g) a été coupée, fractionnée et ensuite pesée et placée dans un récipient en verre rempli d'eau. Le tout est porté à ébullition et maintenu à température pendant une heure. À la fin, on laisse tiédir et on filtre le liquide à l'aide d'une passoire et un papier filtre.



**Figure 17 :** Extraction par décoction



**Figure 18 :** Extrait issu de décoction après filtration

#### ❖ **L'infusion :**

On fait verser un litre d'eau distillée bouillante sur chaque plante (20g), on laisse infuser pendant 12 heures puis on filtre.



**Figure 19:** Extrait issu de l'infusion après filtration

### ❖ Soxhlet :

On prépare la même quantité (20g) de chaque plante pour la disposer dans une cartouche cellulosique laquelle est introduite dans un extracteur de type soxhlet, équipé à sa base d'un ballon de 1 litre d'eau distillée. L'opération se déroule jusqu'à épuisement du produit.



**Figure 20** : L'extracteur soxhlet



**Figure 21** : Extrait issu de soxhlet après filtration

Les extraits obtenus par les trois méthodes d'extraction ont été conditionnés dans des flacons en verre ambré, et conservés au frais dans un réfrigérateur.

A partir de ces solutions mères, des dilutions ont été effectuées pour obtenir les différentes concentrations (10%, 25%, 50%, 75%) en considérant que le produit initial est de 100% de concentration.

### **VI. Mode opératoire et étude sans inhibiteur**

La précipitation de la phase solide des oxalates de calcium et phosphate amoniacomagnésien hexahydraté à partir de l'urine artificielle a fait l'objet de nos investigations.

- L'urine artificielle oxalocalcique : Il est préparé en mélangeant deux volumes égaux de deux solutions (solution **a** de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  et solution **b** de  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ).
- L'urine artificielle phosphocalcique : Deux volumes égaux des deux solutions A et B (tableau 4) ont été mélangés afin d'obtenir une urine artificielle phosphocalcique.

Dans un premier temps, les deux solutions de l'urine artificiel oxalocalcique, sont ramenées à  $37^\circ\text{C}$  dans un bain marie thermostaté, 50 ml de la solution **a** sont versés dans un Erlen Meyer

sous agitation à une température constante de 37°C, puis 50 ml de solution **b** sont versés aussi dans un autre Erlen Meyer, après quelques minutes les deux solutions sont mélangées. L'agitation du mélange pour chaque expérience est maintenue constante dans le but d'empêcher la sédimentation. La cinétique est suivie pendant 30 minutes immédiatement après le mélange des solutions.

Même mode opératoire a été suivi pour l'urine synthétique phosphocalcique de type (struvite) en mélangeant les volumes égaux des deux solutions (A et B). Le pH de la solution B est fixé à 8 en ajoutant quelques gouttes de NaOH ou HCl afin d'obtenir la struvite pure. La cinétique est suivie pendant 240 minutes dès 5 minutes après le mélange des solutions.

L'évolution des cristaux formés en fonction du temps se fait par microscopie optique à lumière polarisée en mesurant leurs tailles, leurs nombres ainsi que le nombre d'agrégats. Une goutte de mélange réactionnel est prise par une pipette Pasteur ; posée sur une cellule de Mallassez ensuite soumise à l'analyse microscopique avec l'objectif 40 fois. On signale que toutes les manipulations ont été effectuées 4 fois afin de s'assurer de la bonne reproductibilité des résultats en déterminant le CV% (Coefficient de Variation).

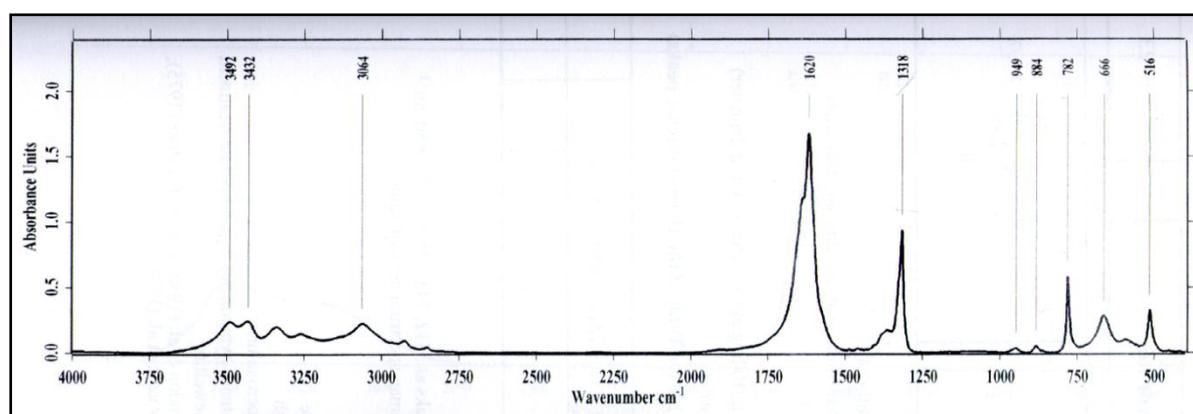
Des photographies ont été prises à l'aide d'un appareil photos numérique de marque (Sony). Après chaque temps de cristallisation le volume entier du mélange est filtré, le précipité récupéré, séché à l'air libre, ensuite soumise aux analyses IRTF (Infra Rouge à Transformée de Fourier).

## **VII. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)**

Cette technique permet l'analyse de composés en observant les fréquences des résonances des différents atomes. En effet, au dessus du zéro absolu, la matière est en mouvement permanent avec des rotations autour de certaines liaisons et l'oscillation autour d'une valeur d'équilibre des distances inter atomiques ainsi que les angles entre ces liaisons. Chacun ayant une fréquence propre. La connaissance de ces fréquences permet de déduire la nature du produit étudié. Pour cela, on balaye la gamme des fréquences de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$  et on observe l'intensité du signal transmis. Lorsque la fréquence émise correspond à celle d'un des oscillateurs, le signal est plus ou moins absorbé. Pour le domaine inférieur à 4000  $\text{cm}^{-1}$  on vérifie la présence du phosphate amorphe de calcium carbonaté et d'autres phosphates tels que la brushite ou la carapatite.

▪ **Spectre de référence**

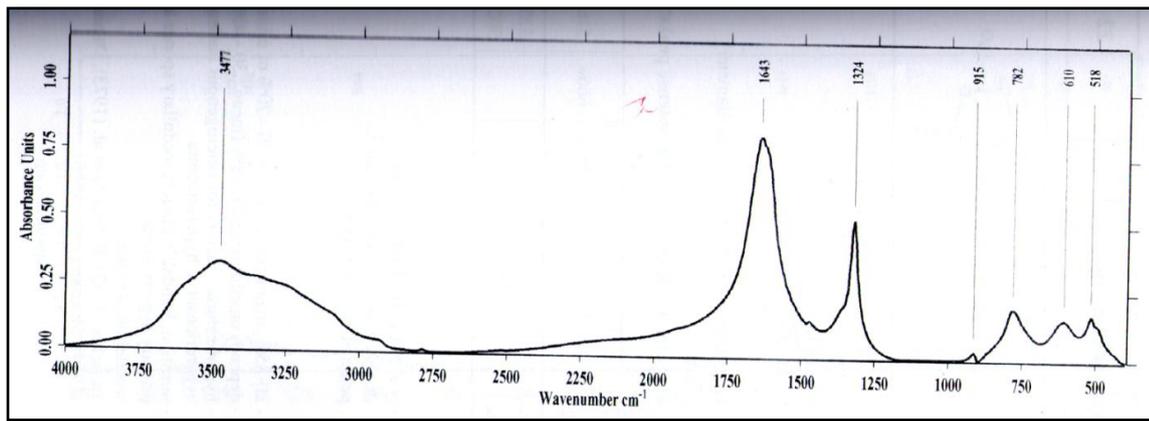
L'analyse IRTF des échantillons de chaque partie du calcul urinaire peut aboutir à des informations clés pour le diagnostic clinique [Estepa L, Daudon M, 1997] du fait que cette étude est significative pour l'édification de la phase de cristallisation et la quantification des constituants au sein du même calcul. La présence de d'oxalate est mise en évidence par des bandes d'absorption dans la zone des 1600  $\text{cm}^{-1}$  et 1300  $\text{cm}^{-1}$ . La présence des deux bandes intenses à 1620  $\text{cm}^{-1}$  et à 1318  $\text{cm}^{-1}$  caractérise la présence de la whewellite (figure 22, tableau 5) tandis que l'apparition des bandes à 1642  $\text{cm}^{-1}$  et 1324  $\text{cm}^{-1}$  caractérise la weddellite (figure 23, tableau 6) en plus, la bande de d'absorption large au voisinage de 780  $\text{cm}^{-1}$  apparaît fine pour la whewellite et beaucoup plus large pour la weddellite.



**Figure 22:** Spectre de référence de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite).

**Tableau 5:** Principales fréquences de vibration de la whewellite.

Nom minéralogique	Formule	Abréviation	Pics caractéristiques (cm-1)
Whewellite	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	COM, Ww	1620, 1318, 782 $\text{cm}^{-1}$
<b>Pics observés (cm<sup>-1</sup>)</b>			
949 <sub>ww</sub> , 884 <sub>ww</sub> , 516 <sub>w</sub> , 666 <sub>w</sub> , 3492 <sub>w</sub> ,			
<b>Identification des constituants</b>			
Bande de vibration de C=O à 1620 $\text{cm}^{-1}$ Bande de vibration C-O à 1318 $\text{cm}^{-1}$ Bande de vibration de déformation de H2O à 782 $\text{cm}^{-1}$			

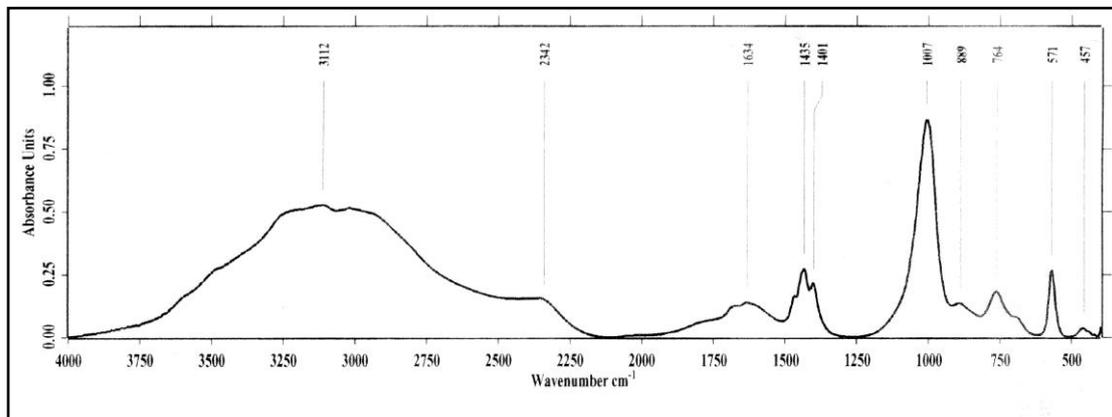


**Figure 23:** Spectre de référence de l'oxalate de calcium dihydraté (weddellite)

**Tableau 6:** Principales fréquences de vibration de la weddellite

Nom minéralogique	Formule	Abréviation	Pics caractéristiques (cm <sup>-1</sup> )
Weddellite	CaC2O4.2H2O	COD,Wd	1642, 1324, 915cm <sup>-1</sup>
<b>Pics observés (cm<sup>-1</sup>)</b>			
518w, 610w, 782w, 3477m			

Les phosphates présentent des bandes intenses entre 1000 cm<sup>-1</sup> et 1100 cm<sup>-1</sup>. La struvite est caractérisée par les bandes 1007 à 2350 cm<sup>-1</sup> sous la forme d'un immense massif en palier dû aux vibrations de valence de six molécules d'eau auxquelles s'ajoute celle de l'ion NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (figure 24, tableau 7)

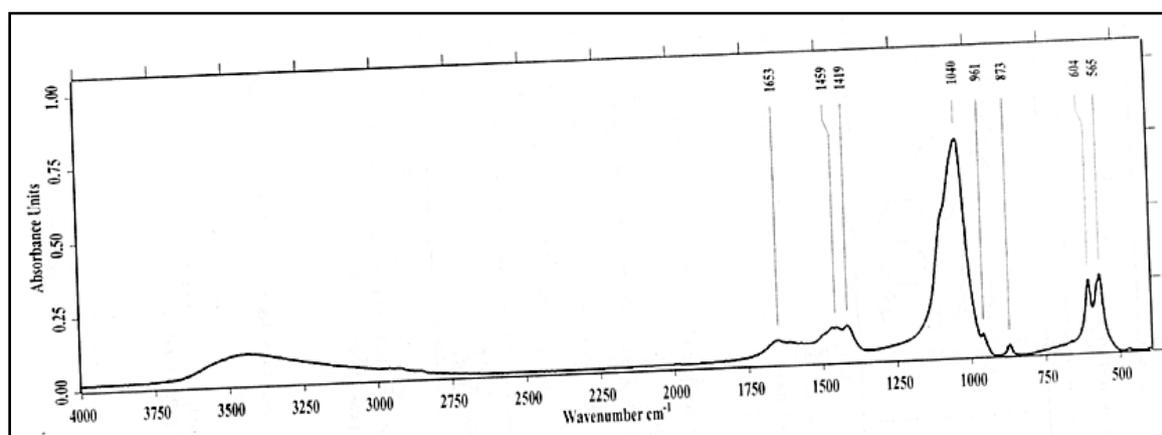


**Figure 24 :** Spectre de référence de phosphate amoniac-magnésien hexahydraté (struvite)

**Tableau 7:** Principales fréquences de vibrations de la struvite

Nom minéralogique	Formule	Abréviation	Pics caractéristiques (cm <sup>-1</sup> )
Struvite	MgNH4PO4, 6H2O	Str ou MAP	TF : 1007 m : 2350 (plateau) m : 1436
<b>Pics observés (cm<sup>-1</sup>)</b>			
2350m, 1638m, 1436m, 1007TF, 764f, 572m			
<b>Identification du constituant</b>			
Bande phosphate à 1007, concave à gauche Déformation de l'ion ammonium à 1436 cm <sup>-1</sup> Plateau des molécules H2O + ion NH4 à 2350 cm <sup>-1</sup>			

La carapatite est caractérisée par deux bandes l'une à  $1459\text{ cm}^{-1}$  et l'autre à  $1040\text{ cm}^{-1}$  (figure 25, tableau 8).



**Figure 25:** Spectre IRTF de référence de la carapatite

**Tableau 8:** Principales fréquences de vibration de la carapatite

Nom minéralogique	Formule	Abréviation	Pics caractéristiques (cm-1)
Carapatite	$\text{Ca}_{10-x+y}\text{M}_{x-y}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2+2y-x}(\text{CO}_3)_x$	CA	F : 1040 F : 604,565 ; f : 1459,1419
<b>Pics observés (cm-1)</b>			
3438f ; 1653f ; 1459f ; 1419f ; 1040TF ; 604m ; 565m.			
<b>Identification des constituants</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Valence asymétrique des <math>\text{PO}_4^{3-}</math> à <math>1040\text{cm}^{-1}</math> Forte, asymétrique à gauche, épaulée à <math>1100\text{cm}^{-1}</math></li> <li>• Bande symétrique faible de <math>\text{PO}_4^{3-}</math> à <math>961\text{cm}^{-1}</math></li> <li>• Valence carbonate 1459 et <math>1419\text{ cm}^{-1}</math></li> </ul>			

### VIII. Cristallisation de la whewellite et la struvite en présence d'inhibiteur

La même méthodologie a été suivie mais cette fois en présence d'inhibiteurs utilisés séparément. Les concentrations des inhibiteurs chimiques testés étaient des concentrations physiologiques, avec pour l'ion magnésium de  $2 \cdot 10^{-3}\text{ M}$  à  $7 \cdot 10^{-3}\text{ M}$  et l'acide citrique entre  $10^{-4}\text{ M}$  et  $2,5 \cdot 10^{-3}\text{ M}$ . Pour les inhibiteurs naturels (*Zingiber officinale* Roscoe et *Organum vulgare*) les concentrations utilisées sont : 10%, 25%, 50%, 75%, 100%.

Le taux d'inhibition des cristaux et agrégats est déterminé par la formule suivante (Hennequin, 1993).

$$\text{I\%} = (1 - (\text{PAI}/\text{PSI}) \cdot 100.$$

I% : pourcentage d'inhibition

PAI : pente turbidimétrique avec inhibiteur.

PSI : pente turbidimétrique sans inhibiteur.

# **Effet inhibiteur des substances chimiques sur la cristallisation oxalo-phosphocalcique**

## I. Étude de l'effet inhibiteur des substances chimiques sur la cristallisation oxalocalcique monohydraté (whewellite)

### I.A. Etude sans inhibiteur

Le nombre de cristaux et agrégats de whewellite, leurs tailles moyennes et les coefficients de variation (CV %) en absence d'inhibiteur sont regroupés dans le tableau 8.

**Tableau 9:** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de la whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en absence d'inhibiteur.

Temps de cristallisation (min)			<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>
C1	Nbre	Cristaux	2492	686	58	31.2	34.4	31.2	38
		Agrégats	0	123.6	96.8	85	62.8	74.4	120.5
		Total	<b>2492</b>	<b>809.6</b>	<b>154.8</b>	<b>116.2</b>	<b>97.2</b>	<b>105.6</b>	<b>158.5</b>
		CV%	7.89	5.43	8.94	10.53	4.53	9.03	7.64
	Taille (µm)	Cristaux	3.16	2.995	3.33	3.75	3.455	4	2.25
		Agrégats	—	16.21	18.26	19.44	17.73	22.72	29.43
		Moyenne	<b>3.16</b>	<b>9.6</b>	<b>10.79</b>	<b>11.59</b>	<b>10.59</b>	<b>13.36</b>	<b>15.84</b>
		CV%	8.64	8.92	5.45	3.09	7.89	5.98	11.02

Pendant l'étude sans inhibiteur, on a enregistré le nombre le plus élevé de cristaux à la première minute de cristallisation (phase de germination). Au cours du temps ce nombre commence à se diminuer mais leurs tailles augmentent, les cristaux grossissent, c'est la phase de croissance. Les agrégats se forment après 5 minutes de cristallisation et leurs nombres et tailles augmentent fur à mesure le temps de cristallisation (voir tableau 9).

### I.B. Etude avec inhibiteur

Les résultats trouvés en présence du magnésium et du citrate comme inhibiteurs chimiques et les coefficients de variation (CV %) sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

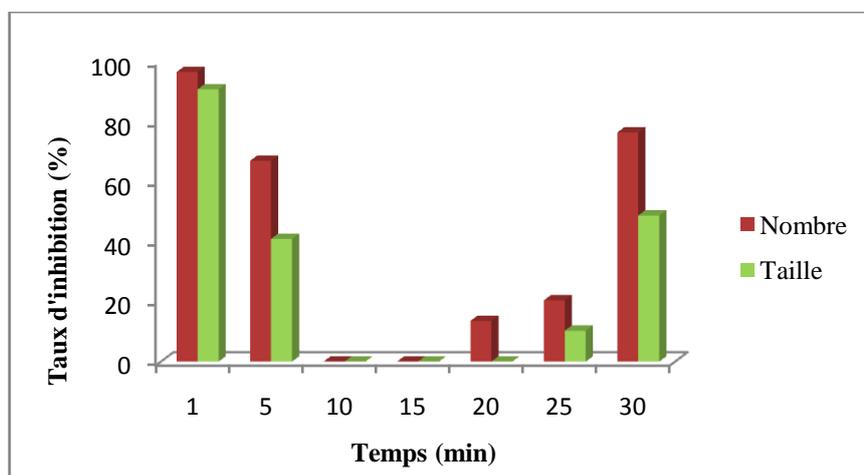
#### I.B.1. Effet du magnésium

##### I.B.1.1. En présence de 2mmol/l de magnésium

**Tableau 10:** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 2mM.

Temps de cristallisation (min)			<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>
C1	Nbre	Cristaux	84.66	197.33	149.33	93.33	50	75.33	26.67
		Agrégats	0	70	60.67	36	34	8.67	10.67
		Total	<b>84.66</b>	<b>267.33</b>	<b>210</b>	<b>129.33</b>	<b>84</b>	<b>84</b>	<b>37.34</b>
		CV%	7.65	4.09	7.67	6.77	8.86	5.55	7.65
	Taille (µm)	Cristaux	0.58	1.69	2.20	2.21	1.1	1.97	1.13
		Agrégats	0	9.66	19.99	23.17	26.44	21.99	15.11
		Moyenne	<b>0.29</b>	<b>5.67</b>	<b>11.09</b>	<b>12.69</b>	<b>13.77</b>	<b>11.98</b>	<b>8.12</b>
		CV%	8.65	6.54	8.76	6.75	6.7	6.54	8.97

Selon le tableau 10, on remarque une réduction importante du nombre des cristaux au cours des trois phases de cristallisation. On remarque aussi que le magnésium 2mM a agit sur la taille des cristaux et celle des agrégats. Le nombre total atteint 267.33 à 5 minutes de cristallisation. La taille moyenne augmente au cours du temps pour atteindre sa valeur maximale de 13.77  $\mu\text{m}$  à 20 minutes.



**Figure 26 :** Taux d'inhibition du nombre et de taille des cristaux de whewellite en présence de 2 mmol/l de magnésium.

D'après la figure 26, on remarque que l'addition de 2 mmol/l de magnésium a fait diminuer la taille et le nombre des cristaux au début de la cristallisation (phase de germination) avec un taux d'inhibition égale à 90,82% et 96,6% respectivement. Après 5 minutes l'effet inhibiteur du magnésium devient nul et il a repris son rôle vers la 20<sup>ème</sup> minute pour atteindre un taux d'inhibition égal à 76,44% pour le nombre de cristaux et 48,73% pour leurs tailles à 30 minutes de cristallisation.

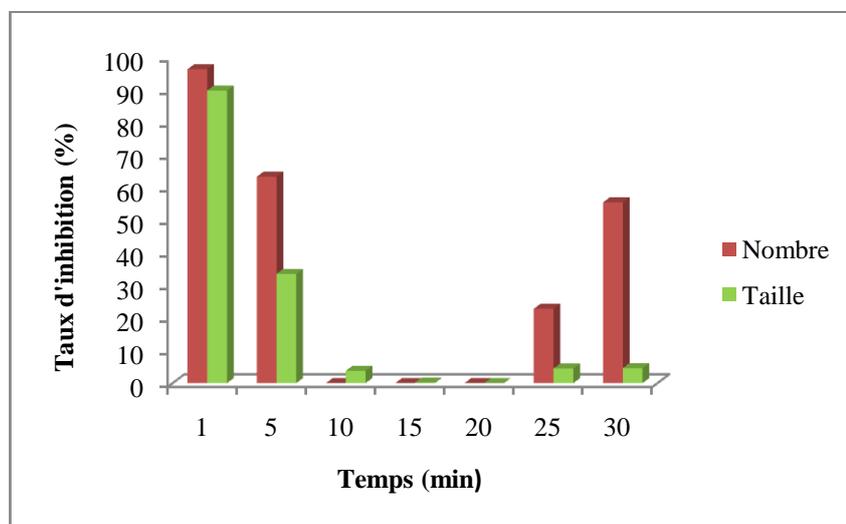
### I.B.1.2. En présence de 3mmol/l du magnésium

**Tableau 11 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 3mM.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C 1	Nbre	Cristaux	89.5	241	131.5	97.5	62	49.5	45
		Agrégats	0	55.33	77	35	49.5	32	25.5
		Total	89.5	296.33	208.5	132.5	111.5	81.5	70.5
		CV%	7.65	5.03	8.73	5.93	6.76	5.66	9.11
	Taille ( $\mu\text{m}$ )	Cristaux	0.65	4	4.94	3.86	3.83	3.69	3.33
		Agrégats	0	8.77	15.83	19.29	24.08	21.83	26.9
		Moyenne	0.32	6.38	10.38	11.57	13.95	12.76	15.11
		CV%	6.42	4.09	7.65	6.65	8.75	6.75	8.56

En présence de 3mM de magnésium, on remarque toujours, d'après les résultats affichés dans le tableau 11, une réduction importante du nombre et de la taille des cristaux et agrégats

par rapport aux résultats trouvés en absence du magnésium. Le nombre total atteint sa valeur maximale à 5 minutes de cristallisation. La taille moyenne augmente au cours du temps pour atteindre 15.11  $\mu\text{m}$  à la fin de la cristallisation.



**Figure 27:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 3mM du magnésium.

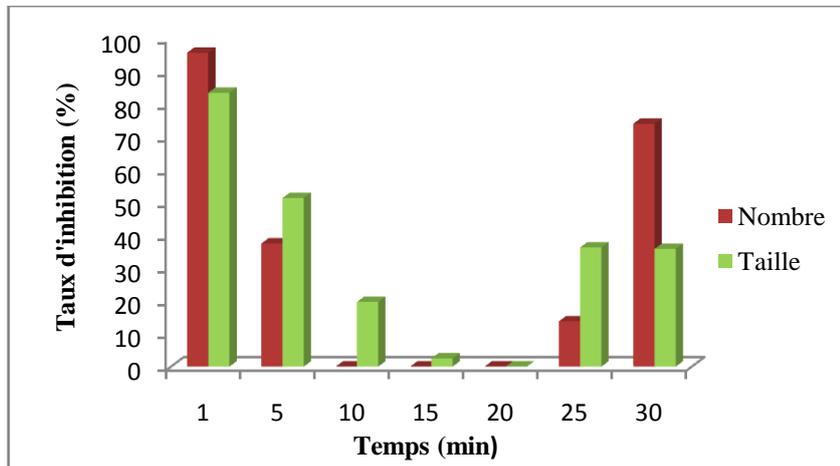
D'après la figure 27, on remarque un taux d'inhibition très élevé au début de la cristallisation que ce soit pour le nombre (96.4%) ou la taille (89.87%). Ce qui nous mène à déduire que le magnésium 3mM a agit sur la phase de germination. Le taux d'inhibition commence à se diminuer jusqu'à ce qu'il atteigne le 0% à 20 minutes. A la fin de la cristallisation le magnésium a repris son rôle d'inhibition avec un pourcentage de 4,49 % et 4,60% durant les minutes 25, et 30 respectivement et ceci pour la taille. Concernant le nombre de cristaux, après les 5 premiers minutes le magnésium à 3mM semble être sans effet jusqu'à la 25<sup>ème</sup> minute où on a remarqué un pourcentage d'inhibition de 22,82% qui a augmenté à 55,52 % à la fin de la cristallisation.

### I.B.1.3. En présence de 4mmol/l du magnésium

**Tableau 12:** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 4mM.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	105.25	400	107	102.66	50.66	46	21
		Agrégats	0	105.5	95.67	52.5	46.67	45	20
		Total	105.25	505.5	202.67	155.16	97.33	91	41
		CV%	6.4	8.43	5.03	5.12	9.3	6.02	9.64
	Taille ( $\mu\text{m}$ )	Cristaux	1.04	2.33	4	3.77	3	1.87	1.05
		Agrégats	0	7	13.33	18.83	19.11	15.13	19.25
		Moyenne	0.52	4.66	8.66	11.3	11.05	8.5	10.15
		CV%	6.82	7.82	4.01	8.94	6.74	8.72	9.43

Selon le tableau 12, à 4mM le magnésium continue à avoir un effet sur la taille et le nombre des cristaux, et on constate la présence de quelques cristaux de whewellite formés à 5 min et 20 min de cristallisation. Le nombre total atteint 505.5 à cinq minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint 11.3 comme valeur maximale à 15 minutes et ceci par rapport à l'étude sans inhibiteur.



**Figure 28:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 4mM du magnésium.

D'après la figure 28, la concentration 4mM du magnésium a un effet très efficace sur la germination par rapport aux autres phases de cristallisation dont il atteint 95.77% pour le nombre et 83.54% pour la taille et ceci après une minute de cristallisation. On constate aussi une diminution allant jusqu'à la rupture totale de l'inhibition au milieu de la cristallisation (10, 15, 20 minutes) alors qu'elle reprend à la fin avec 74.13% et 35.92% pour le nombre et la taille respectivement.

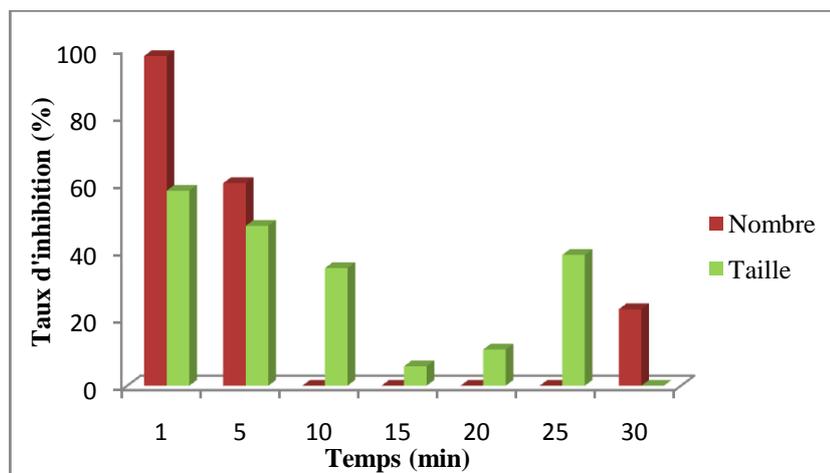
#### I.B.1.4. En présence de 5mmol/l du magnésium

**Tableau 13 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 5 mM.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	52	260	187.33	123.5	72.5	89.5	66.5
		Agrégats	0	62.5	96.5	116.5	57.5	47.5	56
		Total	52	322.5	283.83	240	130	137	122.5
		CV%	7.53	4.91	9.83	10.41	5.63	8.73	8.77
	Taille (µm)	Cristaux	2.67	3.29	3.5	4.98	4.41	3.29	5.12
		Agrégats	—	6.79	10.55	16.86	14.5	13.06	26.70
		Moyenne	1.33	5.04	7.02	10.92	9.45	8.17	15.91
		CV%	7.42	6.64	9.84	9.73	3.03	5.97	6.73

A 5 mM, l'effet du magnésium sur la taille des cristaux était moins important par rapport à celui sur le nombre. Le nombre total atteint 322.5 à cinq minutes de cristallisation. La taille

moyenne augmente au cours du temps pour atteindre 15.91 à la fin de la cristallisation. (Voir tableau 13).



**Figure 29:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 5mM du magnésium.

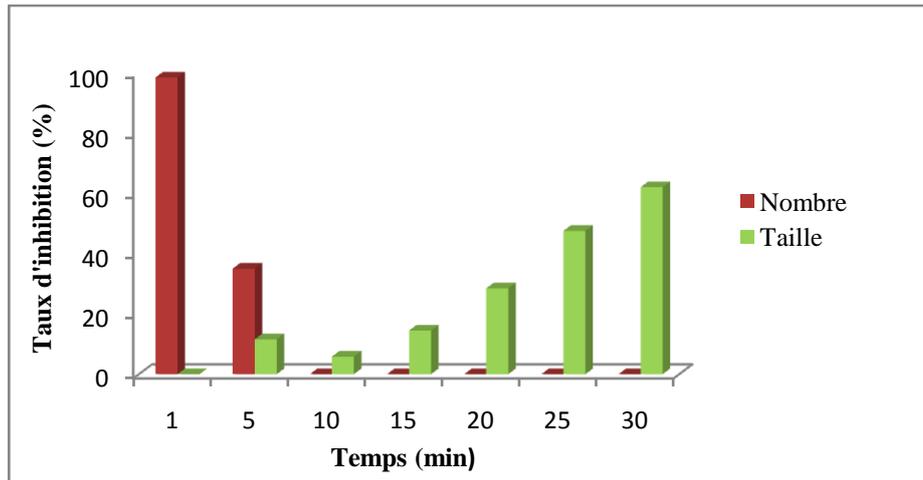
D'après la figure 29, le taux d'inhibition le plus élevé a été remarqué à la 1<sup>ère</sup> minute de cristallisation (97.91% pour le nombre et 57.91% pour la taille) après cette minute le taux d'inhibition se diminue jusqu'à 0% à la fin de la cristallisation pour la taille. Alors que pour le nombre on a remarqué une absence totale d'inhibition durant toute la phase de croissance et l'agrégation, sauf à 30 minutes où il atteint 22.71% d'inhibition.

#### I.B.1.5. En présence de 6mmol/l du magnésium

**Tableau 14 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 6mM.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	36	322	214	134	114	156	148.5
		Agrégats	1	204	158	118	111	74	88
		Total	37	526	372	252	225	230	236.5
		CV%	7.43	9.81	8.91	10.66	6.73	8.83	6.87
	Taille (µm)	Cristaux	1.66	3.66	3	2.5	2.33	3	2.12
		Agrégats	6	13.33	17.33	17.33	12.81	11	9.89
		Moyenne	3.83	8.49	10.16	9.91	7.57	7	6.005
		CV%	9.93	7.93	8.63	10.01	3.93	7.83	7.77

Selon le tableau 14, en présence du magnésium 6 mM, on remarque la formation d'un agrégat à la première minute de cristallisation. Son effet sur le nombre et la taille reste remarquable. Le nombre total de cristaux et agrégats formés atteint 526 comme valeur maximale à 5 minutes de cristallisation. Quand à la taille moyenne, elle atteint 10.16 à 10 minutes.



**Figure 30:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 6mM du magnésium

D'après la figure 30, on remarque que le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la première minute et ceci pour le nombre. Le magnésium à 6mM agit sur la phase de nucléation avec une inhibition égale à 98.51%. Cet effet est diminué après 5 minutes jusqu'à ce qu'il devient nul à partir de la 10<sup>ème</sup> minute jusqu'à la fin de cristallisation. Concernant la taille le contraire a été remarqué, à la phase de nucléation le magnésium n'a aucun effet sur la taille des cristaux. Son effet inhibiteur apparaît à la 5<sup>ème</sup> minute et continue de s'élever jusqu'à ce qu'il atteint 62% à la fin de cristallisation.

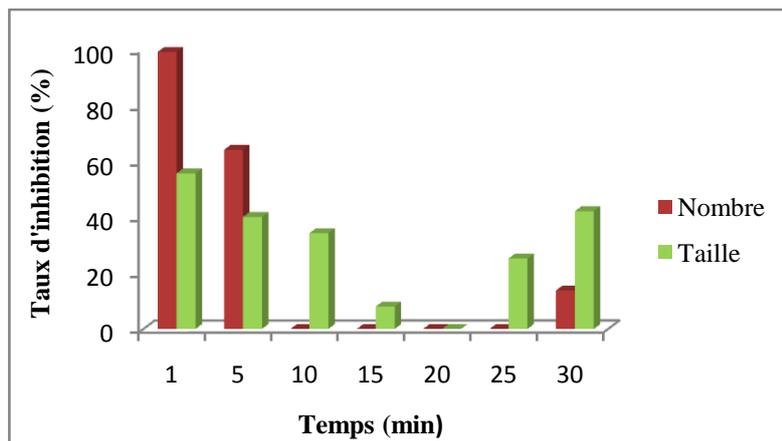
#### I.B.1.5. En présence de 7mmol/l du magnésium

**Tableau 15 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence du magnésium 7 mM.

Temps de cristallisation (min)		1	5	10	15	20	25	30	
C1	Nbre	Cristaux	20	204.25	109	85.5	48.5	32	26.67
		Agrégats	0	86	179	131	125.5	90	110
		Total	20	290.25	288	216.5	174	122	136.67
		CV%	7.67	4.94	7.84	6.77	5.74	9.84	5.74
	Taille (µm)	Cristaux	1.31	2.06	3.02	2.41	2.48	3.33	1
		Agrégats	1.5	9.08	11.16	18.91	23.51	16.66	17.33
		Moyenne	1.40	5.75	7.09	10.66	12.99	9.99	9.16
		CV%	8.99	4.04	8.72	9.82	6.15	6.71	8.12

A 7mM le magnésium a toujours son effet inhibiteur sur la cristallisation de whewellite.

Le nombre total atteint 290 à 5 minutes et la taille moyenne 12.99µm à 20 minutes de cristallisation (tableau 15).



**Figure 31:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 7mM de magnésium

D'après la figure 31, on a constaté un taux d'inhibition très élevé à la phase de germination et il diminue jusqu'à ce qu'il devient nul durant toute la période de cristallisation sauf à la fin de cristallisation où il atteint 13,77 %. Pour la taille, on a remarqué une diminution du taux d'inhibition jusqu'à 0 % à la 20<sup>ème</sup> minute pour s'élever à 42.17% à la fin de la cristallisation.

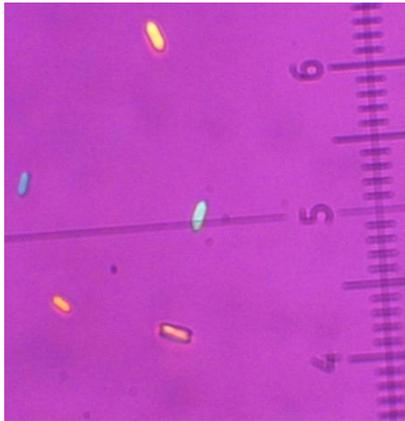
**Tableau 16 :** Taux d'inhibition de différentes concentrations du magnésium, pendant 30 minutes de cristallisation

Concentration (mM)		1	5	10	15	20	25	30
Temps(min)								
2	nombre	96.6%	66.97%	0%	0%	13.58%	20.45%	76.44%
	taille	90.82%	40.93%	0%	0%	0%	10.32%	48.73%
3	nombre	96.40%	63.39%	0%	0%	0%	22.82%	55.52%
	taille	89.87%	33.54%	3.79%	0.17%	0%	4.49%	4.60%
4	nombre	95.77%	37.56%	0%	0%	0%	13.82%	74.13%
	taille	83.54%	51.45%	19.74%	2.50%	0%	36.37%	35.92%
5	nombre	97.91%	60.16%	0%	0%	0%	0%	22.71%
	taille	57.91%	47.5%	34.93%	5.78%	10.76%	38.84%	0%
6	Nombre	98.51%	35.02%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	0%	11.56%	5.83%	14.49%	28.51%	47.60%	62.08%
7	nombre	99.19	64.14%	0%	0%	0%	0%	13.77%
	taille	55.69	40.10%	34.29%	8.02%	0%	25.22%	42.17%

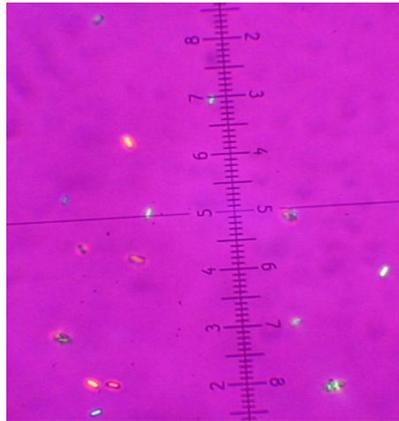
On constate d'après le tableau 16 qui résume les taux d'inhibition de différentes concentrations de magnésium, que l'effet inhibiteur du magnésium n'a pas suivi la relation linéaire pour les concentrations testées. La meilleure inhibition enregistrée pour le nombre a été constaté à 2mmol/l avec un taux égal à 76.44% à 30 minutes de cristallisation. Tandis que pour la taille le meilleur taux d'inhibition qui égal à 62.08% a été enregistré à 6 mmol/l et ceci toujours à la fin de cristallisation.

De point de vue générale le magnésium est un bon inhibiteur à faible concentration sur le nombre par rapport à la taille, il agit forcément sur la germination tandis que cet effet sur la phase de croissance et l'agrégation est dépourvu faible. L'analyse au microscope optique des différents prélèvements a montré la présence unique des cristaux et agrégats de whewellite.

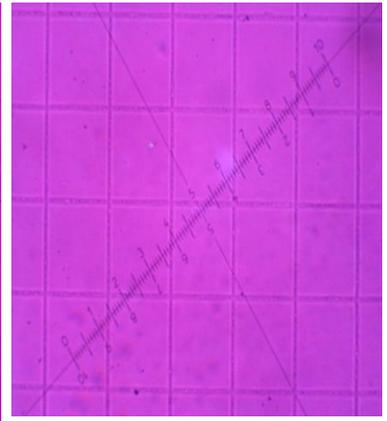
La forme générale des cristaux en présence du magnésium reste la même qu'en absence d'inhibiteur (voir les photographies de 1 à 9)



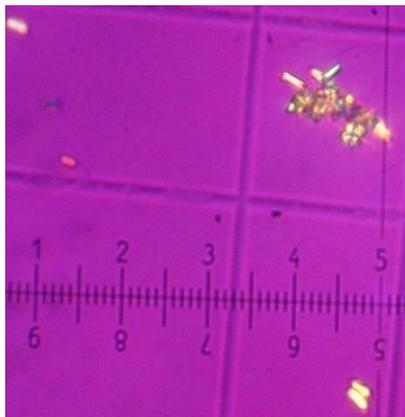
**Photo 1** : S.I à 5min



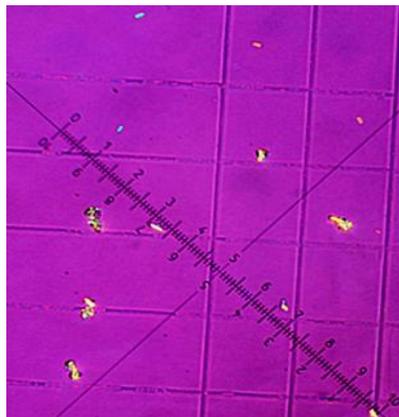
**Photo 2** : [Mg]=2mM à 5 min



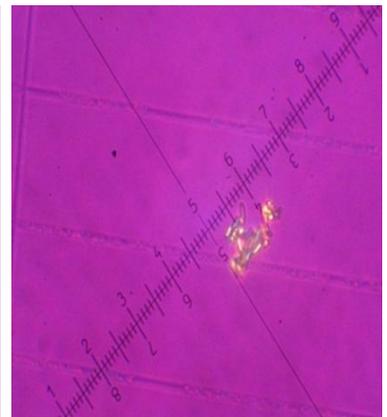
**Photo 3** : [Mg]=7mM à 1min



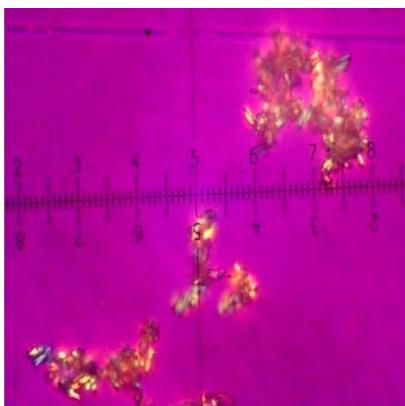
**Photo 4** : S.I à 15min



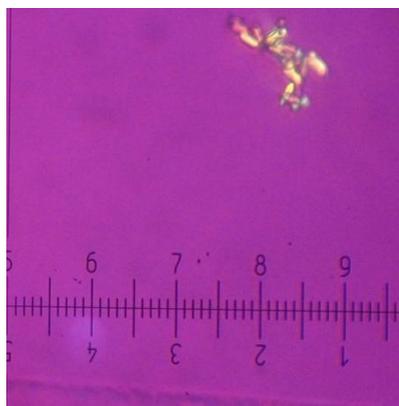
**Photo 5** : [Mg]=2mM à 15min



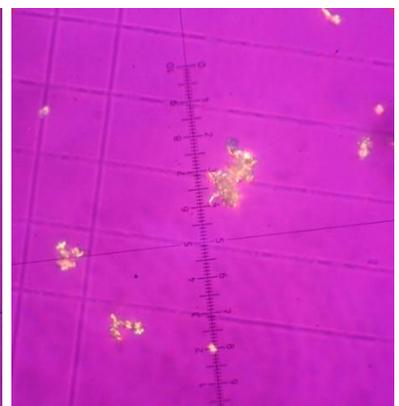
**Photo 6** : [Mg]=7mM à 15 min



**Photo 7** : S.I à 30 min



**Photo 8** : [Mg]= 2mMà 30min



**Photo 9** : [Mg]=7mM à 30 min

S.I : Sans inhibiteur

[Mg]= 2mM : En présence de 2mM du magnésium

[Mg]=7mM : En présence de 7mM du magnésium

Les photographies obtenues en l'absence d'inhibiteur montrent des cristaux d'oxalate de calcium de plus grandes tailles qui tendent à se séparer au cours de la phase de croissance mais qui s'agrègent au bout de 15 minutes. L'examen des photographies (1.4.7) représentant les trois étapes de la cristallisation en l'absence d'inhibiteur et les photographies (2.3.5.6.8.9) en présence du magnésium 2 et 7mM montre que cet ion agit plus sur la nucléation (photos 2,3) des cristaux de l'oxalate de calcium et l'agrégation (8,9) que sur la croissance cristalline (photos 5,6).

## I.B.2. Effet de l'acide citrique

### I.B.2.1. Etude sans inhibiteur

**Tableau 17** : Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en absence d'inhibiteur.

Temps de cristallisation			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	488	182	104	104	98	78	82
		Agrégats	16	124	220	158	142	98	36
		Total	504	306	324	262	240	176	118
		CV%	4.5	7.65	8.43	4.75	6.84	3.91	4.31
	Taille (µm)	Cristaux	2,5	3.25	3	3.5	4.23	4	4
		Agrégats	11	13.75	12.5	17.33	19	23.5	25
		Moyenne	6.75	8.5	7.75	10.41	11.61	13.75	14.5
		CV%	6.43	5.51	6.72	8.92	4.09	6.11	10.81

Selon les résultats du tableau 17, En absence d'inhibiteur, on remarque la formation massive de cristaux et agrégats de whewellite. La taille moyenne s'élève de 6.43µm à la première minute à 14.15µm à la fin de cristallisation.

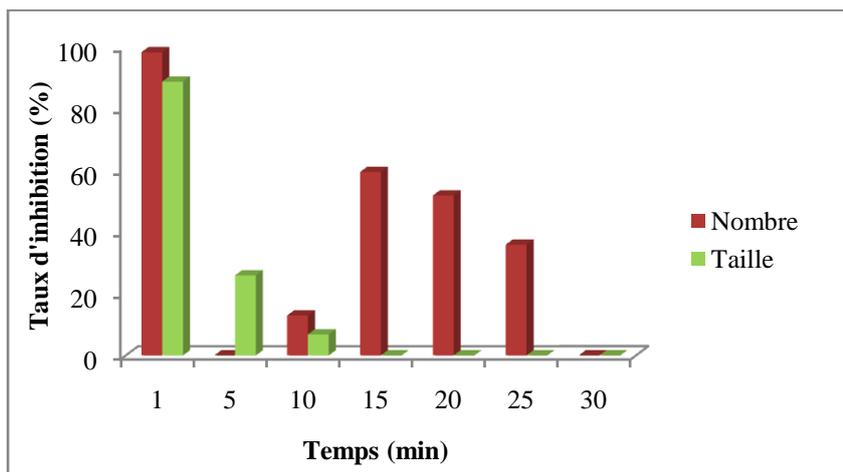
### I.B.2.2. Etude avec inhibiteur

#### I.B.2.2.1. En présence de 0.1 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 18** : Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 0.1mM.

Temps de cristallisation			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	8	428.33	150	38	30	44	26.27
		Agrégats	—	166.67	132	68	85.33	68.67	109.32
		Total	8	595	282	106	115.33	112.67	135.59
		CV%	7.41	8.92	5.03	6.55	3.09	10.03	8.64
	Taille (µm)	Cristaux	1.5	3.25	4	4.62	3.67	3.5	2.57
		Agrégats	0	9.33	10.44	20.2	33	26.14	27.27
		Moyenne	0.75	6.29	7.22	12.41	18.33	14.82	14.92
		CV%	7.53	7.91	6.73	8.21	6.53	8.82	9.81
C2	Nbre	0	12	21	10.33	0	0	0	

D'après les résultats affichés sur le tableau 18, on remarque qu'au début de la cristallisation, l'acide citrique 0.1 mM, a fait diminuer le nombre de cristaux de 488 à 8 cristaux et a fait retarder le temps d'apparition des agrégats (de 1 à 5 minutes). Au cours du temps, la taille s'élève, on a enregistré à la 15<sup>ème</sup> minute une taille moyenne égale à 12.41 et 18.33  $\mu\text{m}$  à la 20<sup>ème</sup> minute alors qu'en absence de l'acide citrique, la taille était 10.41, et 11.61 à 15 et 20 minutes respectivement. Ce qui indique que l'acide citrique 0.1mM n'a pas d'effet sur l'agrégation cristalline du moment où il agit lentement sur le nombre de la whewellite.



**Figure 32:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 0.1mM de l'acide citrique.

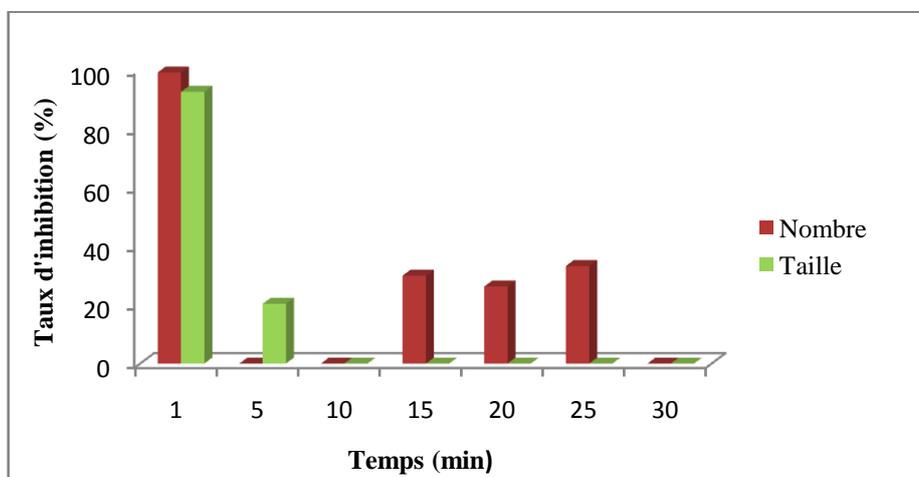
Concernant le nombre : la figure 32 montre que le taux d'inhibition varie de 98,41% au début de cristallisation à 0% à la fin de la cristallisation. Pour la taille : le citrate à 0.1mM a fait diminuer la taille des cristaux avec un taux égal à 88.88% à la phase de germination mais cet effet inhibiteur devient nul à la phase de croissance et d'agrégation après 15 minutes de cristallisation.

#### I.B.2.2.2. En présence de 0.25 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 19:** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence du l'acide citrique 0.25Mm.

Temps de cristallisation			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	4	332	196.67	43.5	56	35.5	36.5
		Agrégats	–	134	139	140	121	82	114.5
		Total	4	466	335.67	183.5	177	117.5	151
		CV%	7.61	8.3	11.09	8.22	6.57	9.43	2.92
	Taille ( $\mu\text{m}$ )	Cristaux	1	3.4	3.75	4.5	3.29	3.75	3.66
		Agrégats	–	10.15	18.21	20.93	26.5	24.50	26.83
		Moyenne	0.5	6.77	10.98	12.71	14.89	14.12	15.24
		CV%	4.53	7.61	4.34	5.63	9.15	7.63	2.09
C2	Nbre	–	–	–	–	–	–	–	

Selon les résultats du tableau 19, à 0.25 mM, le citrate montre un effet inhibiteur sur le nombre et la taille des cristaux et des agrégats de whewellite, il a retardé le temps d'apparition des agrégats de 1 à 5min.



**Figure 33:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 0.25mM de l'acide citrique.

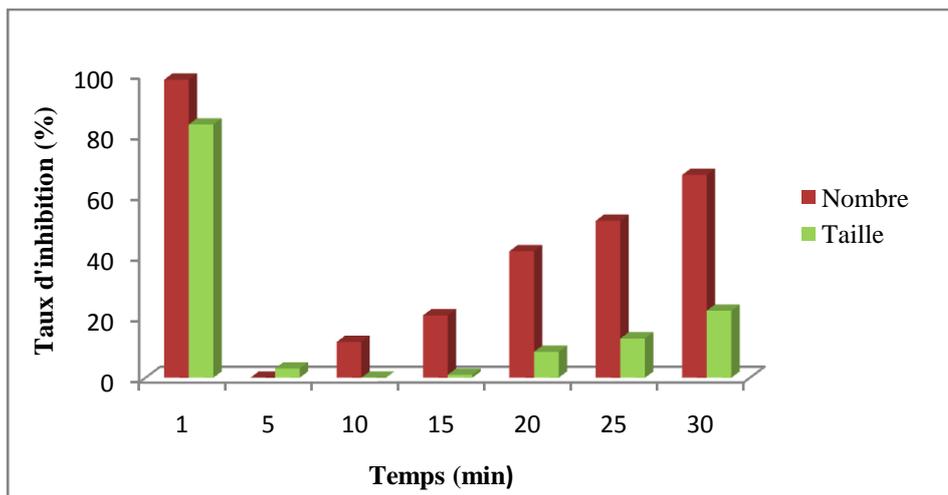
D'après la figure 31, le taux d'inhibition du nombre et de la taille est très élevé et égal presque à 100% à la première minute. Après cinq minutes l'inhibition se diminue à 0%. Ce qui explique que l'acide citrique à 0.25Mm est un bon inhibiteur de germination des cristaux de whewellite.

### I.B.2.2.3. En présence de 0.5 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 20:** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 0.5mM

Temps de cristallisation			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	9.3	247	167.33	73.5	26	14	16.5
		Agrégats	—	76.5	118.5	134.67	114	71	22.67
		Total	9.3	323.5	285.83	208.17	140	85	39.17
		CV%	6.51	4.56	7.82	9.11	10.22	6.87	8.77
	Taille (µm)	Cristaux	2.25	2.91	2.49	3.37	3.25	2.33	2.41
		Agrégats	—	13.58	20.54	17.25	18	21.62	20.20
		Moyenne	1.12	8.24	11.51	10.31	10.62	11.97	11.30
		CV%	6.51	8.92	4.02	7.83	8.99	5.41	6.93
C2	Nbre	31	50.9	21	13	22	3	10	

Le tableau 20 montre qu'à 0.5 mM, l'acide citrique a toujours un effet sur le nombre et la taille des cristaux. Il a fait retarder le temps d'apparition d'agrégats jusqu'à cinq minutes de cristallisation. Le nombre total le plus élevé des cristaux et agrégats atteint 323.5 à cinq minutes. La taille maximale atteint 11.97µm à 25 minutes.



**Figure 34** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 0.5mM de l'acide citrique.

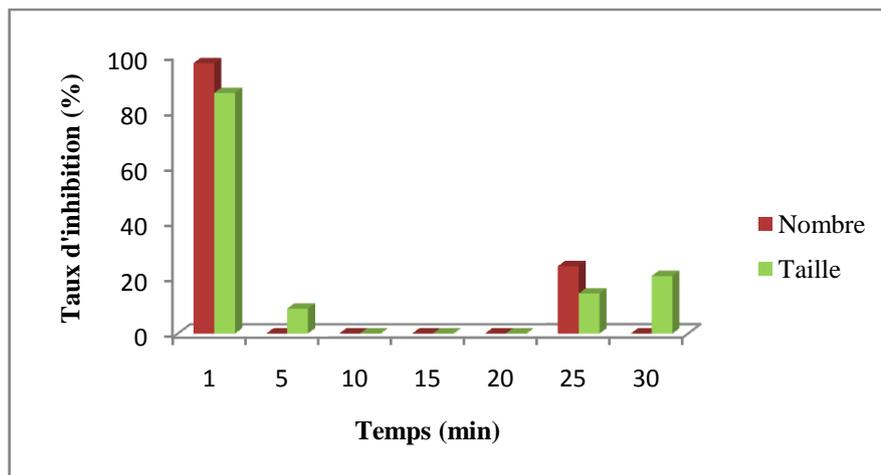
Suite aux résultats consignés dans la figure 34, le taux d'inhibition maximal a été enregistré à la première minute de cristallisation (phase de germination) avec 98.15% et 83.4% et ceci pour le nombre et la taille des cristaux de whewellite respectivement. Après 5 minutes de cristallisation, le taux d'inhibition est devenu nul alors qu'après dix minutes il commence à augmenter de nouveau jusqu'à 66.8% pour le nombre et 22.06% pour la taille.

#### I.B.2.2.4. En présence de 1 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 21** : Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 1mM.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	14	340	229	148	132	61.33	55.33
		Agrégats	–	176	134	141	116.5	72	78
		Total	14	516	363	289	248.5	133.33	133.33
		CV%	8.61	5.92	8.73	4.31	9.02	11.33	7.24
	Taille (µm)	Cristaux	1.83	3.58	3.62	3.5	3.1	3.55	3
		Agrégats	-	11.91	21.66	19.25	23.66	20	20
		Moyenne	0.91	7.74	12.64	11.37	13.38	11.77	11.5
		CV%	6.56	7.81	8.92	3.23	9.01	4.55	7.67

L'effet inhibiteur de citrate augmente légèrement en fonction des concentrations. D'après les résultats enregistrés dans le tableau 21, à 1mM, l'acide citrique fait diminuer le nombre ainsi que la taille des cristaux de whewellite. Le nombre total atteint sa valeur maximale à cinq minutes de cristallisation, la taille maximale atteint 13.38 µm à 20 minutes.



**Figure 35** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 1 mM de l'acide citrique.

Les résultats affichés dans la figure 35, montrent que l'acide citrique à 1mM a agit sur la phase de germination où il a fait diminuer le nombre et la taille moyenne des cristaux de 97% et 86.51% respectivement. Durant la phase de croissance, l'effet inhibiteur devient nul.

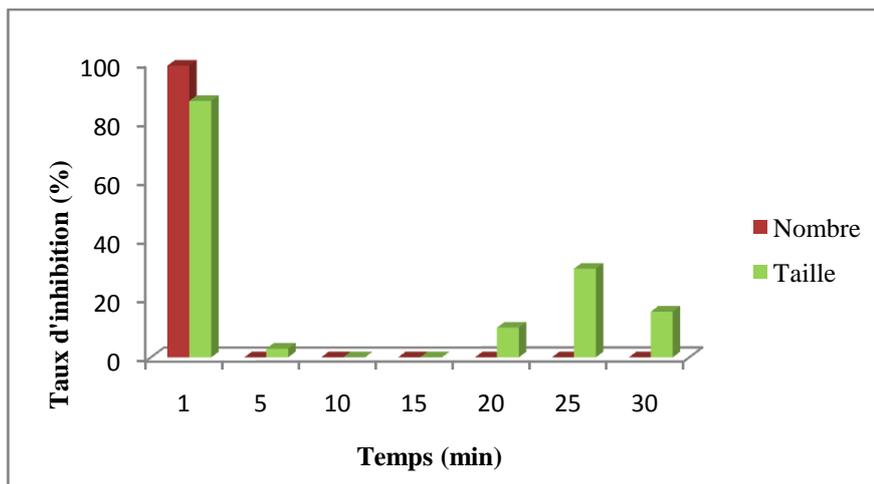
A 25 minutes, on voit une inhibition du nombre de 24.24% et de la taille de 14.4% ; à la fin de la cristallisation le citrate n'a pas d'effet sur le nombre par contre, il a fait diminuer la taille avec un taux égal à 20.68%.

#### I.B.2.2.5. En présence de 1.5 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 22** : Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 1.5mM

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	4.67	416	294.69	226.67	150.67	128	71.33
		Agrégats	—	61.33	168	142	110.66	104	102.66
		Total	4.67	477.33	462.69	368.67	261.33	232	173.99
		CV%	7.91	7.16	8.91	5.67	8.72	9.09	7.67
	Taille (µm)	Cristaux	1.75	3.33	3.66	4.33	3.72	3	3.67
		Agrégats	—	13.17	18	21.66	17.16	16.22	20.83
		Moyenne	0.87	8.25	10.83	12.99	10.44	9.61	12.25
		CV%	7.68	8.19	4.56	7.62	3.09	5.67	3.76

Les résultats trouvés en présence de l'acide citrique 1.5 mM (tableau 22), montrent que ce dernier a fait retarder le temps d'apparition des agrégats à 5 minutes. Le nombre total de cristaux atteint 477.33 à 5 minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint 12.99 µm à 15 minutes.



**Figure 36** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 1.5 mM de l'acide citrique.

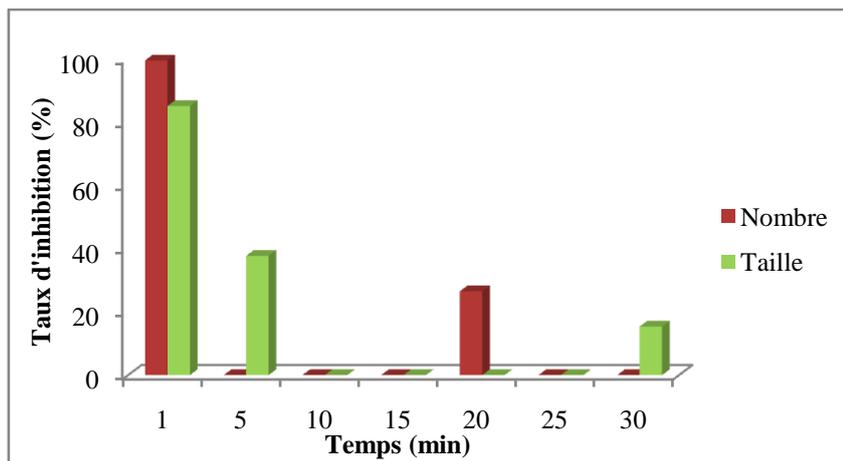
D'après la figure 36, au début de cristallisation, l'acide citrique à 1.5mM a un effet inhibiteur très élevé qui atteint 99.07%. Mais au cours du temps cet effet a disparu totalement où on n'a pas enregistré une diminution du nombre des cristaux. Pour la taille le pouvoir d'inhibition le plus élevé a été enregistré aussi au début de la cristallisation avec un taux de 87.11%. Ce qui explique que cet inhibiteur avait un bon effet sur la germination de la whewellite que soit pour le nombre ou la taille.

#### I.B.2.2.6. En présence de 2 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 23** : Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 2mM

Temps de cristallisation		1	5	10	15	20	25	30	
C1	Nbre	Cristaux	2	374.5	288.5	229	107	86	101
		Agrégats	–	135.33	169.66	117.5	69.33	106.66	88
		Total	2	509.83	458.16	346.5	176.33	192.66	189
		CV%	3.01	6.78	6.81	9.29	5.67	3.94	4.98
	Taille (µm)	Cristaux	2	2.83	3.5	3.22	3.33	3.5	3.75
		Agrégats	–	7.75	15.74	23.75	22.37	24.75	20.8
		Moyenne	1	5.29	9.62	13.48	12.85	14.12	12.27
		CV%	6.53	8.91	4.56	3.01	4.82	3.93	5.16

L'acide citrique 2mM a fait retarder le temps d'apparition d'agrégats de whewellite à cinq minutes. Le nombre total des cristaux et agrégats atteint sa valeur maximale à cinq minutes de cristallisation. Quand à la taille moyenne, elle augmente au cours du temps pour atteindre sa valeur maximale 14.20 µm à 25 minutes. (tableau 23)



**Figure 37** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 2 mM de l'acide citrique.

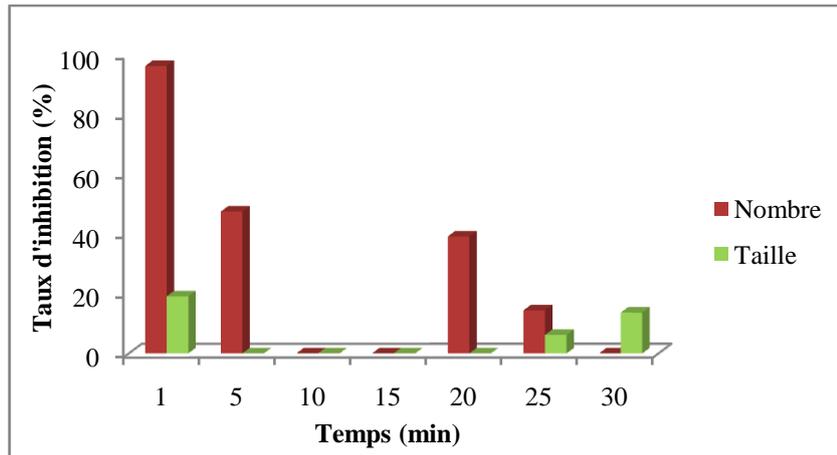
D'après la figure 37, à 2mM de concentration, le pouvoir inhibiteur de l'acide citrique le plus élevé a été enregistré au début de cristallisation avec un taux de 96.6% et 85.18% pour le nombre et la taille respectivement. Au cours de la phase de croissance, l'inhibition du nombre devient nul (5, 10,15 minutes) mais à la 20<sup>ème</sup> minute on remarque que l'effet inhibiteur a réapparu avec un taux de 26.53% pour le nombre alors qu'aucune inhibition de taille n'a été enregistrée. A la fin de la cristallisation le citrate 2mM n'avait pas d'effet sur le nombre des cristaux par contre un taux d'inhibition de 15.37% a été enregistré pour la taille.

#### I.B.2.2.7. En présence de 2.5 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 24**: Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'acide citrique 2.5mM.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	16	106.66	163.33	148	71	62	90.67
		Agrégats	3	54	175.33	129.33	75	88.67	100.67
		Total	19	160.66	338.66	277.33	146	150.67	191.34
		CV%	7.67	6.42	7.9	5.76	8.31	4.33	9.13
	Taille (µm)	Cristaux	1.77	2.33	3.41	2.27	2.25	2.83	3.5
		Agrégats	9.16	17.77	16.83	18.89	30	22.97	21.55
		Moyenne	5.46	10.05	10.12	10.58	16.12	12.9	12.52
		CV%	5.78	9.02	3.98	6.75	8.42	8.93	4.31

A 2.5mM de concentration en citrate, on remarque une diminution du nombre et de la taille des cristaux et agrégats de whewellite. Le nombre total atteint 338 à dix minutes de cristallisation et la valeur maximale de la taille moyenne a été atteinte à 20 minutes de cristallisation. (tableau 24)



**Figure 38:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de 2.5 mM de l'acide citrique.

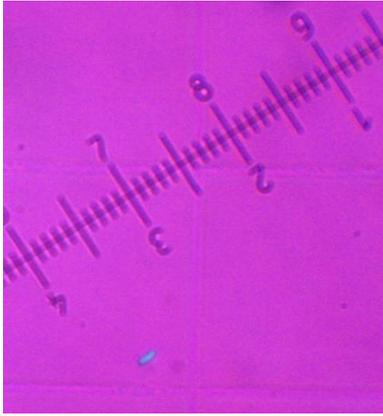
Selon la figure 38, on peut dire que l'acide citrique 2.5 mM agit fortement sur la phase de germination en ce qui concerne le nombre de cristaux, tandis que cet effet est devenu très faible ou nul pour la taille et ceci pendant toute la période de cristallisation.

**Tableau 25:** les Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'acide citrique Sur la cristallisation de whewellite

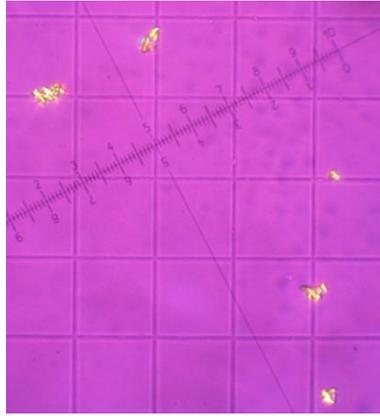
Concentration (mM) / Temps (min)		Temps (min)						
		1	5	10	15	20	25	30
0.1	nombre	98.41%	0%	12.96%	59.54%	51.94%	35.98%	0%
	taille	88.88%	26%	6.83%	0%	0%	0%	0%
0.25	nombre	99.20%	0%	0%	29.96%	26.25%	33.23%	0%
	taille	92.59%	20.35%	0%	0%	0%	0%	0%
0.5	nombre	98.15%	0%	11.78%	20.54%	41.66%	51.70%	66.80%
	taille	83.40%	3.05%	0%	0.96%	8.52%	12.94%	22.06%
1	nombre	97.22%	0%	0%	0%	0%	24.24%	0%
	taille	86.51%	8.94%	0%	0%	0%	14.4%	20.68%
1.5	Nombre	99.07%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	87.11%	2.94%	0%	0%	10.07%	30.10%	15.51%
2	nombre	99.60%	0%	0%	0%	26.53%	0%	0%
	taille	85.18%	37.76%	0%	0%	0%	0%	15.37%
2.5	nombre	96.23%	47.49%	0%	0%	39.16%	14.39%	0%
	taille	19.11%	0%	0%	0%	0%	6.18%	13.65%

D'après le tableau 25 qui résume les taux d'inhibition de différentes concentrations de l'acide citrique, on peut dire que ce dernier est un bon inhibiteur de la phase de germination. La meilleure inhibition du nombre a été enregistrée à 2mM avec un taux de 99.6%. A 0.25mM on a enregistré la meilleure inhibition pour la taille avec un taux égal à 92.59%.

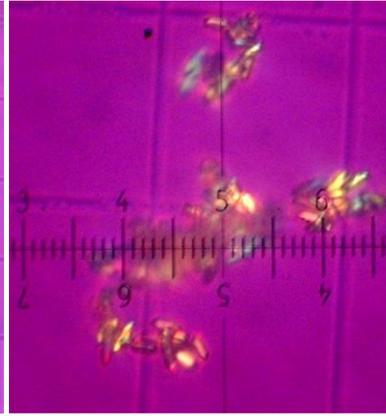
Les photos de 10 à 15 ont été prises en présence de 0.25 et 2mM de l'acide citrique.



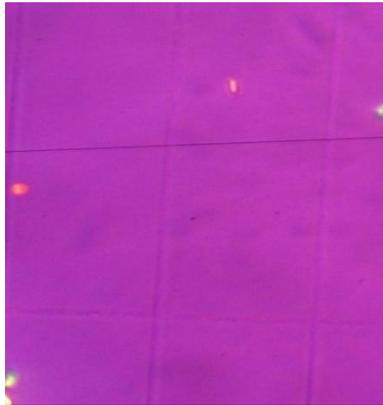
**Photo 10** : [AC]=0.25mM à 1 min



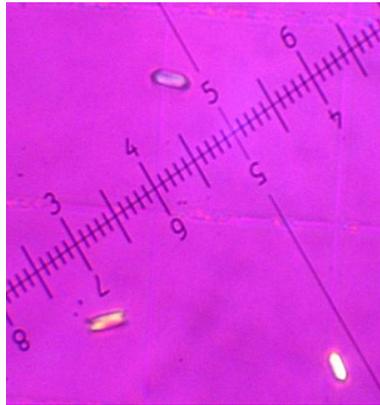
**Photo 11** : [AC]=0.25mM à 15 min



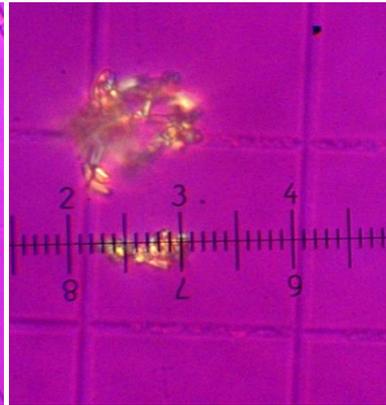
**Photo 12**: [AC]=0.25mM à 30min



**Photo 13** : [AC]=2mM à 1 min



**Photo 14** : [AC]=2mM à 15min



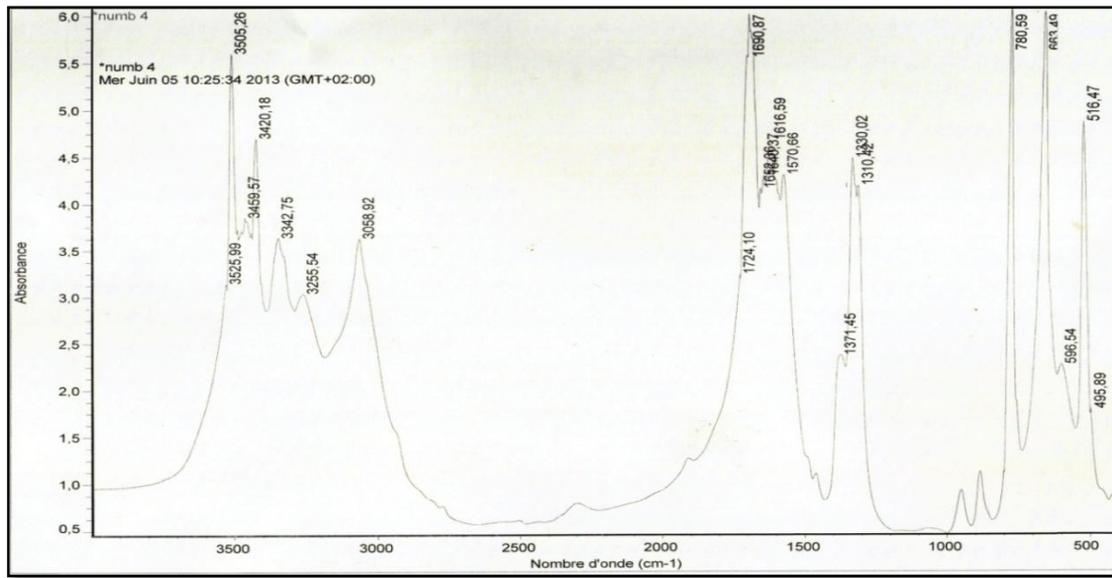
**Photo 15** : [AC]=2mM à 30min

[AC]=0.25mM : En présence de 0.25 mM de l'acide citrique

[AC]=2mM: En présence de 2mM de l'acide citrique

## I.C. Etude par IRTF

Nous avons réalisé une analyse IRTF du culot recueilli à la fin des expériences pour la concentration en citrate 0.1 et 0.5mM. L'identification avec les spectres de référence (figures 22 et 23) a permis d'observer les pics 780 et 1640 (figure 39) et 1313 et 782 (figure 40) qui montrent que les cristaux formés sont de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) et dihydraté (weddellite) respectivement. Ces résultats confirment l'étude microscopique

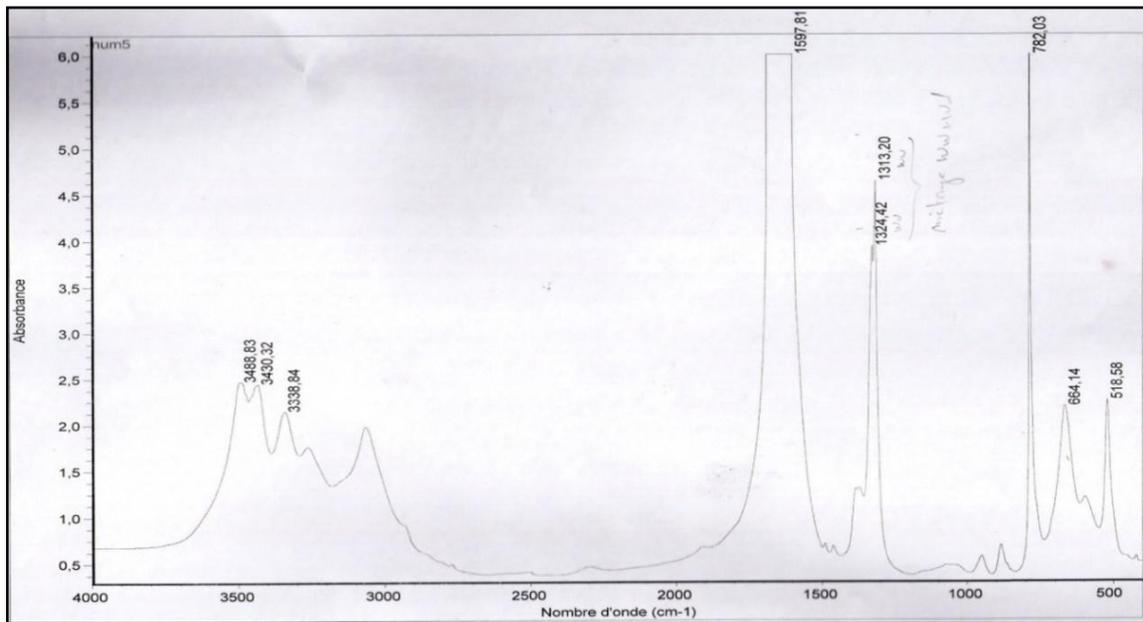


**Figure 39:** Spectre IRTF en présence de l'acide citrique 0.1mM

Les fréquences des bandes caractéristiques de whewellite et la weddellite sont consignées dans le tableau 26.

**Tableau 26 :** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1616 780 1310	vibration C=O déformation de H2O vibration C-O	Whewellite CaC2O4.H2O
1640 1310 516		Weddellite CaC2O4.2H2O



**Figure 40:** Spectre IRTF en présence de l'acide citrique 0.5mM

Les fréquences des bandes caractéristiques de whewellite et la weddellite sont consignées dans le tableau 27.

**Tableau 27 :** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1313 782	vibration C-O déformation de H <sub>2</sub> O	Whewellite CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O
1324 518, 782	Vibration C=O Bandes secondaires	Weddellite CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O

### Discussion :

L'inhibition urinaire est un processus complexe qui est loin d'avoir livré tous ces secrets, malgré les nombreux travaux qui lui ont été consacré [Fleish H, 1978 ; Hess B, 1991 ; Beaufays JP, 1993] des études ont tenté d'identifier les substances douées d'activité inhibitrice sur les phases cristallines urinaires. Ces travaux ont aboutit à l'identification de plusieurs molécules, du moins in vitro, d'activité inhibitrice vis-à-vis des sels calciques.

L'étude du pouvoir inhibiteur des différentes substances dans des conditions proches de celles rencontrées dans l'urine (concentration en calcium et oxalate, force ionique, température) donnent une inhibition qui diffère selon la concentration utilisée.

Le magnésium et l'acide citrique induisent une réduction importante de la phase de nucléation et croissance cristalline et une inhibition modérée sur l'agrégation comme il a été montré par d'autres travaux publiés [Abdelmalek F. 2001]

Le magnésium fait l'objet de plusieurs études dans le cadre de la lithogénèse [Desmars JF, 1973 ; Abdelmalek F. 2001]. Dans la cristallisation oxalocalcique, le magnésium forme des complexes solubles avec l'oxalate. De ce fait, la sursaturation en oxalate de calcium diminue et l'oxalate de magnésium, ainsi obtenu est très soluble et peut être facilement éliminé [Hennequin C.1993, 1995].

Dans notre étude, Les essais en présence du magnésium ont été menés pour des concentrations couvrant la gamme de 2 à 7 mmol.L<sup>-1</sup>. L'ion magnésium est connu comme un inhibiteur de la cristallisation phosphocalcique mais l'est beaucoup moins lorsqu'il s'agit de l'oxalate de calcium. Il a été montré que cette inhibition n'existerait que pour des concentrations supérieures à 5 mmol.L<sup>-1</sup> en ions calcium [Fleish H,1978 ; LiMK,1985 ] alors que les résultats obtenus pour notre étude montre un taux d'inhibition de 99% du nombre de cristaux à la phase de nucléation pour une concentration de 7mM en magnésium et une inhibition de 90.82% de la taille des cristaux et agrégats pour une concentration de 2mM mais en comparant le pouvoir inhibiteur des différentes concentrations de magnésium à la fin de cristallisation, on trouve que la concentration de 2 mM était meilleure que ce soit pour le nombre ou la taille.

Suggérant que le mode d'inhibition est une complexation. Le magnésium agit alors en retardant le processus de cristallisation. Il est un bon inhibiteur de la nucléation de l'oxalate de calcium comme il a été montré par dans l'étude de Abdelmalek et al., en 2001, et agit modérément sur la phase de l'agrégation. Ces résultats sont d'ailleurs confirmés dans ce travail par microscopie optique à lumière polarisée.

L'acide citrique est l'un des inhibiteurs les plus étudiés. De nombreux travaux *in vitro* ont montré qu'il inhibe la cristallisation des sels calciques [Bizas S, 1978 ; Ryall RL, 1981 ; Kok DJ, 1990 ; Abdelmalek F, 2001].

Dans notre étude, la cristallisation oxalocalcique en présence de l'acide citrique a été testée avec des concentrations allant de 0,1 à 2.5mM. A son tour, le citrate montre un pouvoir inhibiteur important sur la nucléation des cristaux de whewellite. Le meilleur pouvoir inhibiteur a été enregistré à la concentration 2mM avec un taux d'inhibition maximal (99.6%) et ceci pour le nombre. Par contre la concentration 0.25 mM était la meilleure pour la taille dont le taux d'inhibition atteint 92.59%. Ce qui traduit une inhibition par complexation du calcium. Il agit là aussi en retardant la cristallisation par effet surfacique [Grass F,1989,1990].

L'analyse spectrale effectuée en présence de 0.1 et 0.5 mmol/l de l'acide citrique confirme la présence de whewellite accompagnée par les cristaux de weddellite issus de la conversion cristalline.

En conclusion on peut dire que les deux inhibiteur testés (magnésium et acide citrique) ont un effet très élevé sur la phase de germination par rapport aux autres périodes où l'effet devient faible ou nul dans la plupart du temps de cristallisation.

L'évolution inhibitrice du magnésium et de citrate en fonction de la concentration n'est pas respectée. au contraire à ce qu'il a été trouvé par d'autres auteurs [Driouch A ,2005].

## II. Étude de l'effet inhibiteur des substances chimiques sur la cristallisation de la struvite (Phosphate amoniaco-magnésien hexahydraté) :

Les résultats du suivi de l'évolution du nombre et de la taille des cristaux de la struvite par microscopie optique à lumière polarisée en fonction du temps en absence et en présence d'inhibiteurs, ainsi que le coefficient de reproductibilité (CV%) obtenus sont présentés dans les tableaux si dessous.

### II.A. Étude sans inhibiteur

**Tableau 28:** L'évolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de la struvite pendant 4 heures de cristallisation en absence d'inhibiteur.

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	423.3	496	478	381.33	510.66	254	278	283.33	420	350
	Agrégats	114.6	89.5	104	118.5	119.5	124.5	111.5	139	100.5	98
	Total	537.9	585.5	582	499.83	630.16	378.5	389.5	422.33	520	448
	CV%	7.43	8.93	4.02	4.53	6.5	6.71	9.82	9.01	5.64	7.65
Taille (µm)	Cristaux	6.2	6.66	8.48	8.62	8.69	9.16	10.27	8.26	8.45	8.45
	Agrégats	10.93	12.53	17.69	16.29	16.15	17.09	18.18	19.58	20.1	21
	Moyenne	8.56	9.59	13.08	12.45	12.42	13.12	14.22	13.92	14.27	14.72
	CV%	7.61	5.34	8.76	4.67	9.81	4.09	6.73	5.87	6.75	9.05

Le nombre de cristaux de struvite le plus élevé remarqué aux 40 minutes de cristallisation quand à la taille, elle s'élève en fonction du temps pour atteindre sa valeur la plus élevée à la fin de la cristallisation. Nous avons constaté aussi la présence de quelques granulations qu'on a identifiées par microscopie optique à lumière polarisée comme étant de carbapatite en effet celle-ci précipite à pH : 5.9-9 alors que la struvite cristallise à pH : 6.7-9. (voir tableau 28)

## II.B. Étude avec inhibiteur

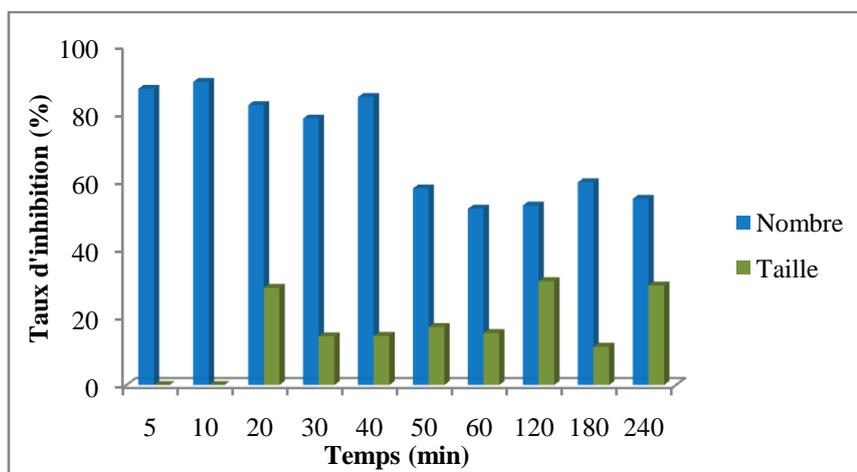
### II.B.1.Effet du magnésium

#### II.B.1.1. En présence de 2mmol/l du magnésium

**Tableau 29:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et agrégats de struvite en présence de magnésium 2mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	14	18	58	67	55	66	88	120	79	100
	Agrégats	54	44	43.5	40	40	93	99	78.7	130	102
	Total	68	62	101.5	107	95	159	187	198.7	209	202
	CV%	8.56	4.67	8.42	10.33	5.66	7.64	9.16	6.74	8.72	9.81
Taille (µm)	Cristaux	5	6.12	5.33	5.83	5.75	6.02	7.75	4.5	8.33	7
	Agrégats	16	14.75	13.33	15.5	15.5	15.75	16.33	14.83	17	13.81
	Moyenne	10.5	10.43	9.33	10.66	10.62	10.88	12.04	9.66	12.66	10.40
	CV%	5.64	8.99	3.02	6.75	7.91	7.53	9.01	4.55	7.63	7.32

En comparant les résultats affichés dans le tableau 29, avec ceux trouvés en absence d'inhibiteur, on voit clairement une diminution du nombre et de la taille des cristaux et agrégats en présence de 2mmol/l de magnésium. Le nombre total atteint sa valeur maximale à 180 minutes de cristallisation. Quand à la taille, elle atteint 12.66 µm à la même minute.



**Figure 41 :** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 2 mmol/l de magnésium.

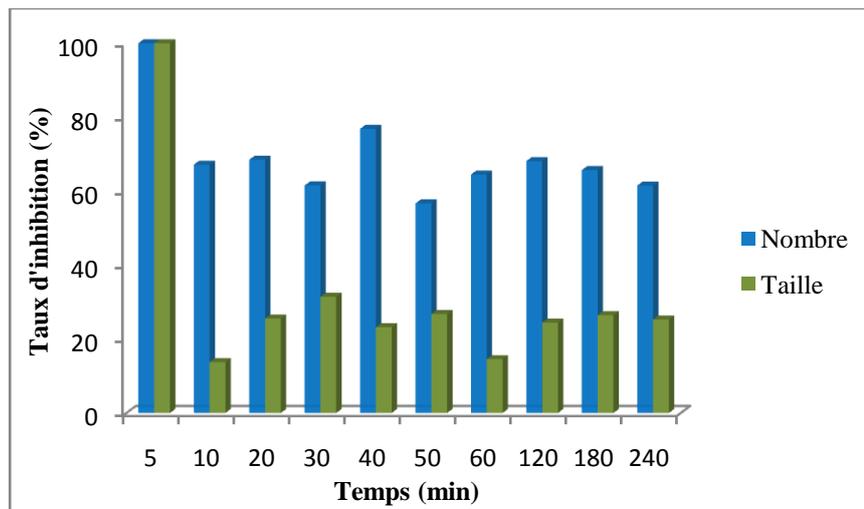
D'après la figure 41, le taux d'inhibition du nombre le plus élevé, a été enregistré à 10 minutes de cristallisation (89.41%). Le magnésium 2mM n'a pas d'action sur la taille des cristaux et ceci à 5 et 10 minutes. Son action inhibitrice apparaît à la 20<sup>ème</sup> minute et varie au cours du temps pour atteindre 30.6% comme valeur maximale à 120 minutes.

### II.B.1.2. En présence de 3 mmol/l de magnésium

**Tableau 30** : Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence de magnésium 3mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	–	93	80.5	105.75	78	88	70.83	78.25	89.12	90
	Agrégats	–	99.33	102.86	87.21	68	76	67.5	56.33	89.3	82.5
	Total	–	192.33	183.36	192.96	146	164	138.33	134.58	178.42	172.5
	CV%	–	7.92	5.65	6.91	8.99	6.71	3.23	8.93	5.64	6.71
Taille (µm)	Cristaux	–	7.33	7.99	6.75	6.75	6.22	9.81	6.72	6	6
	Agrégats	–	9.22	11.5	10.33	12.33	13	14.5	14.33	15	16
	Moyenne	–	8.27	9.74	8.54	9.54	9.61	12.15	10.52	10.5	11
	CV%	–	6.51	8.11	10.01	4.54	6.73	5.92	7.88	4.53	9.53

Un ralentissement dans le temps d'apparition de la struvite et une diminution dans le nombre et dans la taille des cristaux et des agrégats, a été remarqué suite aux résultats enregistrés dans le tableau 30 en présence de 3 mmol/l de magnésium. On constate toujours la présence de granulations. Le nombre total de cristaux atteint sa valeur maximale à 30 minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint 12.15µm à 60 minutes.



**Figure 42**: Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 3 mmol/l de magnésium.

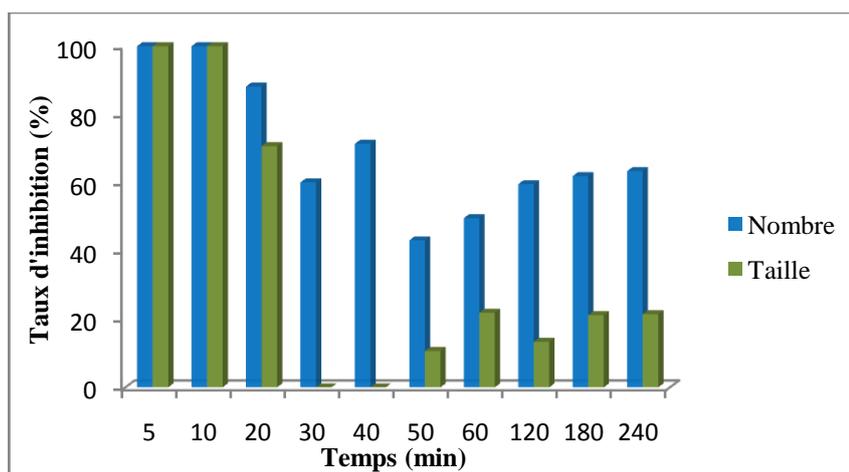
Le taux d'inhibition atteint 100% au bout des premiers cinq minutes de cristallisation et ceci pour le nombre et la taille des cristaux de whewellite. Ce qui indique que cette concentration agit bien sur la phase de nucléation. (voir figure 42).

### II.B.1.3. En présence de 4 mmol/l de magnésium

**Tableau 31:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du magnésium 4mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nbre	Cristaux	–	–	68.75	77.45	80.1	120	98	80.25	110	99.7
	Agrégats	–	–	–	122.12	100	95.4	98.33	90.5	88	79
	Total	–	–	68.75	199.57	180.1	215.4	196.33	170.75	198	178.7
	CV%	–	–	6.63	8.91	4.34	10.92	5.66	3.33	5.72	7.64
Taille (µm)	Cristaux	–	–	7.66	8.35	9.5	8.63	8.45	8.12	6.75	8.12
	Agrégats	–	–	–	16.75	16.33	14.81	13.77	16	15.75	15
	Moyenne	–	–	3.83	12.55	12.91	11.72	11.11	12.06	11.25	11.56
	CV%	–	–	8.32	6.75	3.43	6.77	8.31	9.81	4.11	10.45

D'après les résultats présentés dans le tableau 31, on remarque une absence totale de cristaux au bout de dix premiers minutes et le magnésium a fait retarder le temps d'apparition des agrégats de 5 min à 30 minutes. Le nombre total atteint une valeur maximale égale à 215.4 à 50 minutes, la taille maximale atteint 12.06µm à 120 minutes de cristallisation.



**Figure 43:** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 4 mmol/l de magnésium.

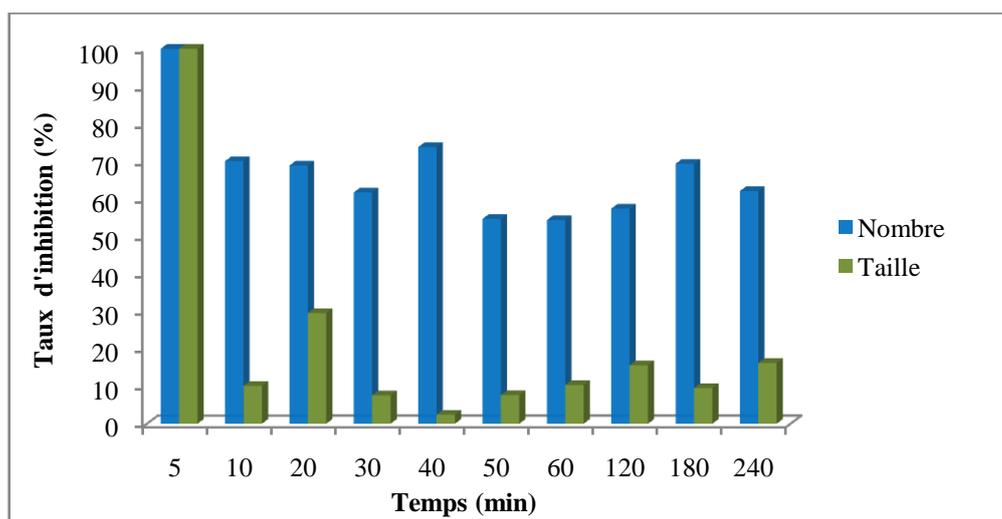
D'après la figure 43, un retard d'apparition de cristaux a été remarqué. Le magnésium à 4mM agit sur les trois phases de cristallisation avec des pourcentages d'inhibition qui varient de 100 à 43.09% pour le nombre et de 100 à 10.67% pour la taille.

### II.B.1.4. En présence de 5 mmol/l de magnésium

**Tableau 32:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du magnésium 5mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nbre	Cristaux	–	77.5	80.12	113	98.5	92.81	80	82.12	82	90
	Agrégats	–	98	101.12	78.5	66.83	78.9	98	98	77.5	80
	Total	–	175.5	181.24	191.5	165.33	171.71	178	180.12	159.5	170
	CV%	–	7.82	7.62	9.02	4.63	8.77	3.09	6.52	10.02	4.53
Taille (µm)	Cristaux	–	6	7.33	9.21	10.25	10	9.83	6.5	7.33	8
	Agrégats	–	11.25	11.12	13.81	14	14.25	15.67	17	18.5	16.67
	Moyenne	–	8.62	9.22	11.51	12.12	12.12	12.75	11.75	12.91	12.33
	CV%	–	7.82	5.91	5.67	3.99	2.09	5.64	4.33	4.77	10.02

L'addition du magnésium 5mM a fait retarder le temps d'apparition de cristaux et agrégats à 10 minutes de cristallisation. Le nombre total atteint sa valeur maximale de 191.5 à 30 minutes et la taille moyenne augmente pour atteindre sa valeur maximale de 12.91µm à 180 minutes de cristallisation. (Voir tableau 32)



**Figure 44 :** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 5 mmol/l de magnésium

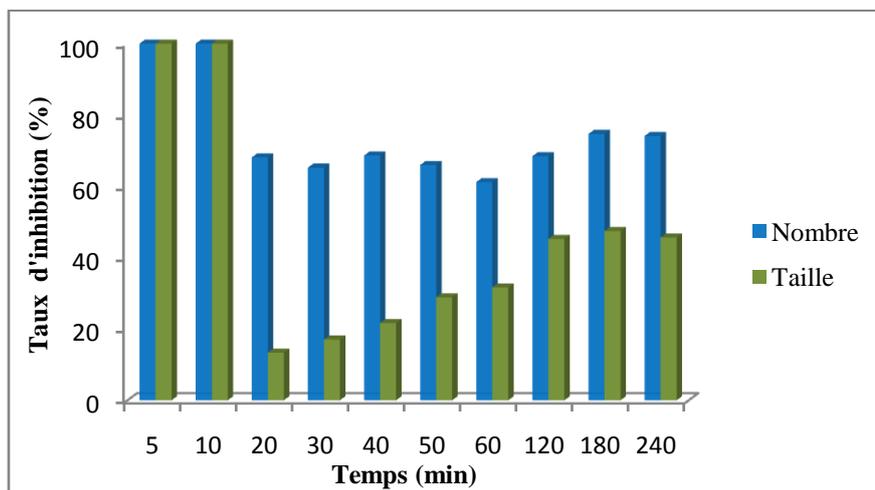
D'après la figure 44, le magnésium 5mM a agit sur le nombre dans les trois phases de cristallisation avec une action inhibitrice élevée. A 5 minutes de cristallisation, l'inhibition est totale. L'action inhibitrice diminue jusqu'à 54% après 50 minutes de cristallisation. Pour la taille, l'inhibition est moins importante par rapport au nombre. La meilleure inhibition a été enregistrée à 5 minutes (100%) et elle diminue au cours du temps pour atteindre sa valeur minimale (2.41%) à 40 minutes de cristallisation.

### II.B.1.5. En présence de 6 mmol/l de magnésium

**Tableau 33:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence de magnésium 6 mM.

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nbre	Cristaux	–	–	98.67	88.25	120	84.5	86.12	78.33	66.67	56.5
	Agrégats	–	–	87	85.5	77.8	44.33	65.12	55	65	59.5
	Total	–	–	185.67	173.75	197.8	128.83	151.24	133.33	131.67	116
	CV%	–	–	6.72	6.13	9.83	7.63	10.92	4.53	2.22	7.62
Taille (µm)	Cristaux	–	–	7	7.33	7.25	6.66	5.45	5	5	6
	Agrégats	–	–	15.67	13.33	12.21	12	14	10.25	10	10
	Moyenne	–	–	11.33	10.33	9.73	9.33	9.72	7.62	7.5	8
	CV%	–	–	5.63	8.63	8.91	11.09	4.82	10.92	5.66	4.98

Le magnésium à 6mM a inhibé la cristallisation au bout de dix premiers minutes. Le nombre total atteint 197.8 à 40 minutes. La taille moyenne atteint sa valeur maximale à 20 minutes et elle diminue au cours du temps de cristallisation. (voir tableau 33)



**Figure 45 :** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 6 mmol/l de magnésium

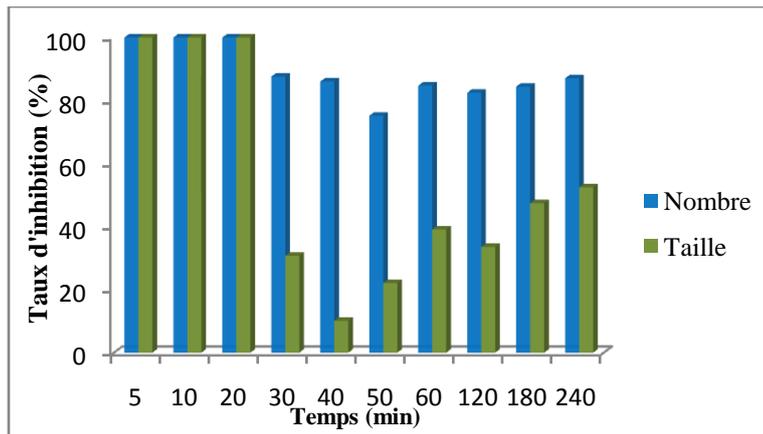
D'après la figure 45, on remarque un retard d'apparition de cristaux jusqu'à la 20<sup>ème</sup> minute. L'action inhibitrice du magnésium 6 mM diminue au cours de la phase de croissance pour s'élever légèrement à la phase de l'agrégation. L'effet inhibiteur du magnésium sur le nombre est plus élevé que celui sur la taille mais il reste toujours de dire que le magnésium à 6mM est un très bon inhibiteur de nucléation.

### II.B.1.6. En présence de 7 mmol/l de magnésium

**Tableau 34:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence de magnésium 7mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nbre	Cristaux	–	–	–	46	72	70	32	56	55.12	44
	Agrégats	–	–	–	16	16	24	27.5	18	26	14
	Total	–	–	–	62	88	94	59.5	74	81.12	58
	CV%	–	–	–	6.54	7.81	4.53	6.72	6.73	8.71	5.62
Taille (µm)	Cristaux	–	–	–	6.25	6.33	7.25	7	8.25	6	6
	Agrégats	–	–	–	11	16	13.2	10.33	10.25	9	8
	Moyenne	–	–	–	8.62	11.16	10.22	8.66	9.25	7.5	7
	CV%	–	–	–	7.63	8.92	3.53	4.91	9.82	5.63	10.02

D'après les résultats illustrés dans le tableau 33, on remarque une absence complète de cristaux et agrégats durant les 20 premières minutes et on constate la présence de granulations. Le nombre total de cristaux et agrégats atteint 94 à 50 minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint 11.16µm à 40 minutes et diminue au cours du temps.



**Figure 46:** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 7 mmol/l du magnésium.

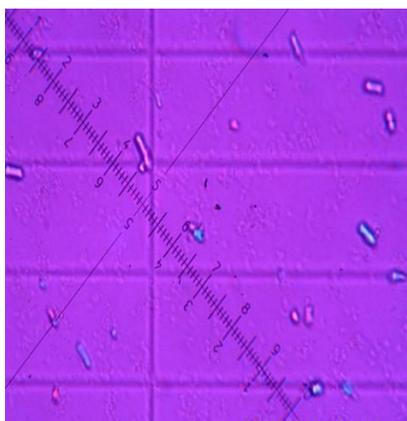
Selon la figure 46, au cours des premiers 20 minutes de cristallisation, on remarque une absence totale de cristaux de struvite. Le taux d'inhibition reste toujours élevé au cours du reste du temps. L'action inhibitrice de la concentration 7 mM est la plus élevée par rapport aux autres concentrations, que ce soit pour la taille ou le nombre de cristaux de struvite.

**Tableau 35** : Taux d'inhibition de différentes concentrations du magnésium sur la cristallisation de struvite pendant 240 minutes.

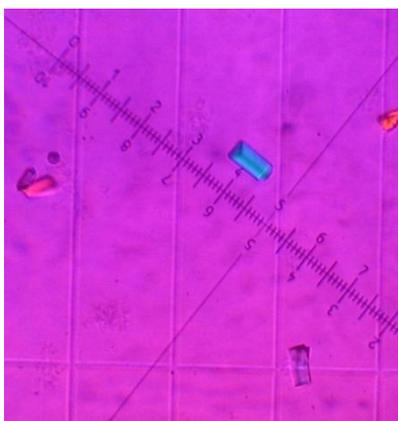
Concentration (mM) / Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
<b>2</b>	nombre	87.35	89.41	82.56	78.59	84.92	57.99	51.98	52.95	59.80	54.91
	taille	0	0	28.66	14.37	14.49	17.07	15.33	30.60	11.28	29.34
<b>3</b>	nombre	100	67.15	68.49	61.53	76.83	56.67	64.48	68.13	65.68	61.49
	taille	100	13.76	25.53	31.40	23.18	26.75	14.55	24.42	26.41	25.27
<b>4</b>	nombre	100	100	88.18	60.07	71.41	43.09	49.59	59.56	61.92	63.38
	taille	100	100	70.71	0	0	10.67	21.87	13.36	21.16	21.46
<b>5</b>	nombre	100	70.02	68.85	61.68	73.76	54.63	54.30	57.35	69.32	62.05
	taille	100	10.11	29.51	7.55	2.41	7.62	10.33	15.58	9.53	16.23
<b>6</b>	nombre	100	100	68.09	65.23	68.61	65.96	61.17	68.42	74.67	74.10
	taille	100	100	13.37	17.02	21.65	28.88	31.64	45.25	47.44	45.65
<b>7</b>	nombre	100	100	100	87.59	86.03	75.16	84.72	82.47	84.4	87.05
	taille	100	100	100	30.76	10.14	22.10	39.09	33.54	47.44	52.44

Si on compare les résultats obtenus lors de l'étude microscopique on constate que la concentration 7Mm donne le meilleur pouvoir inhibiteur pendant les 240 minutes de cristallisation et ceci pour le nombre et la taille. Par contre les autres concentrations agissent faiblement sur les cristaux formés sauf les 5 premiers minutes où on trouve une inhibition de la phase de nucléation. (Voir tableau 34)

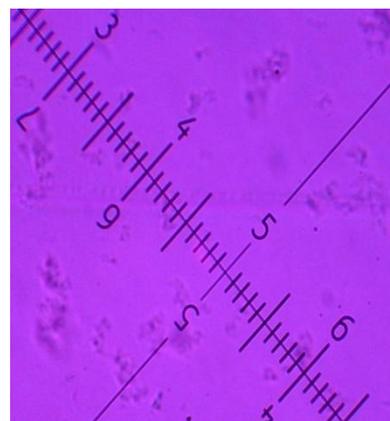
Voir les photos de 16 à 27, prises en absence d'inhibiteur et en présence de 2 et 7mM du magnésium



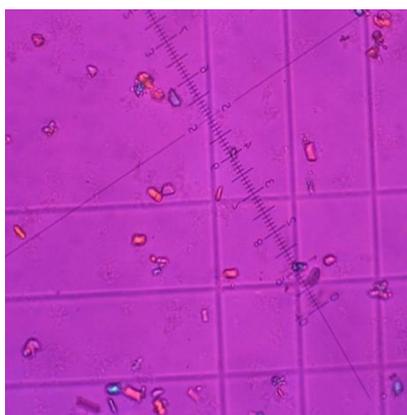
**Photo 16** : S.I à 5 min



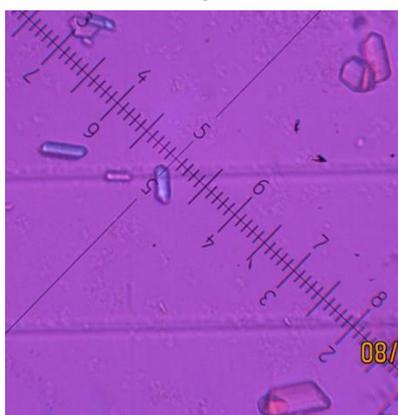
**Photo 17** : [Mg]=2mM à 5min



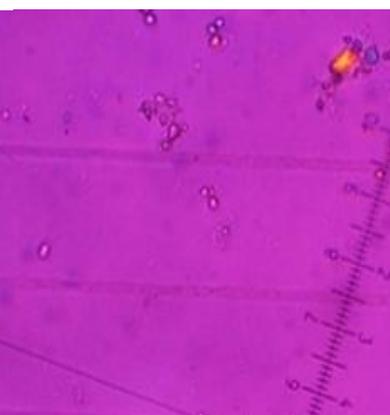
**Photo 18** : [Mg]=2mM à 5min



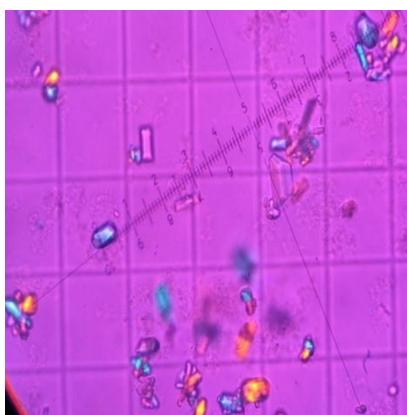
**Photo 19** : S.I à 30 min



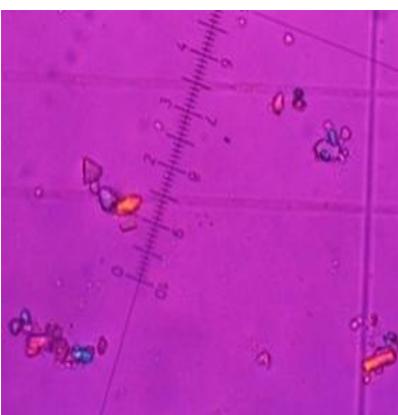
**Photo 20** : [Mg]=2mM à 30min



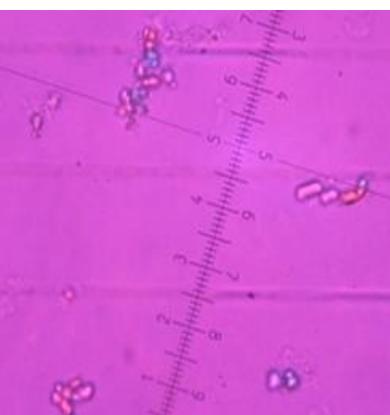
**Photo 21** : [Mg]=7mM à 30min



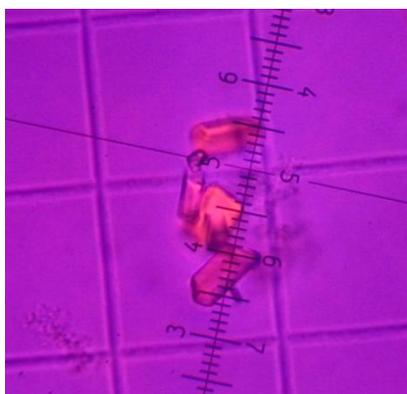
**Photo 22** : S.I à 120min



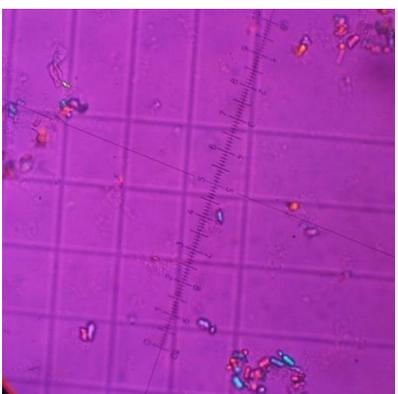
**Photo 23** : [Mg]=2mM à 120min



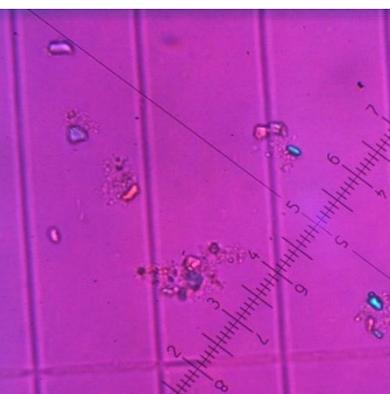
**Photo 24** : [Mg]=7mM à120min



**Photo 25** :S.I à 240 min



**Photo 26** : [Mg]=2mM à 240min



**Photo 27** : [Mg]= 7Mm à 240min

## II.B.2. Effet de l'acide citrique

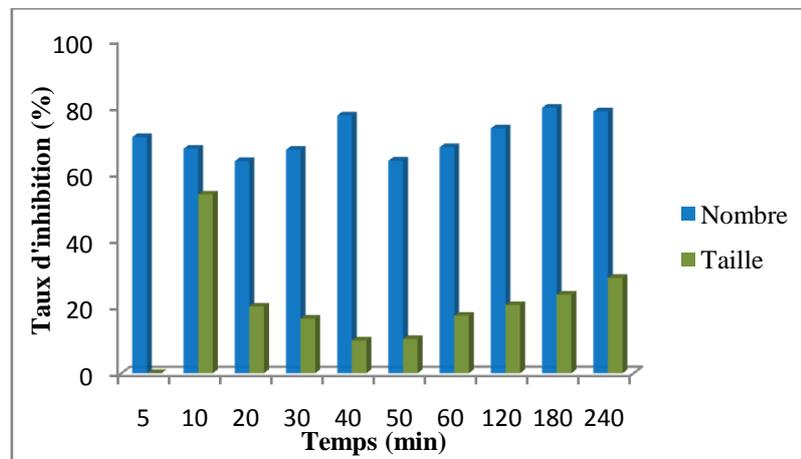
Les résultats obtenus en présence de l'acide citrique montre un pouvoir important de ce dernier sur la cristallisation de la struvite. Aux concentrations les plus élevés le taux de granulations la carbatapite devient plus important.

### II.B.2.1. En présence de 0.1 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 36** : Evolution du nombre et de la taille des cristaux de la struvite en présence de l'acide citrique 0.1mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	89	120	135	98.2	84.75	77.33	60.75	56.5	45	44
	Agrégats	67	70.44	76	66	57.12	59.33	64.2	55	60	51.5
	Total	156	190.44	211	164.2	141.87	136.66	124.95	111.5	105	95.5
	CV%	7.86	9.02	4.55	6.73	4.91	3.09	3.92	5.66	6.73	8.21
Taille (µm)	Cristaux	8	8.88	10.12	9.5	9	8	6.77	5.15	6	6.12
	Agrégats	9.81	10.31	10.81	11.33	13.4	15.55	16.75	17	15.81	15
	Moyenne	8.90	4.44	10.46	10.41	11.2	11.77	11.76	11.07	10.90	10.56
	CV%	5.32	5.44	8.92	10.72	11.42	8.82	9.45	7.65	6.31	9.44

D'après le tableau 36, le nombre total atteint une valeur maximale de 211 à 20 minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint 11.77 µm à 50 minutes.



**Figure 47**: Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 0.1mM de l'acide citrique.

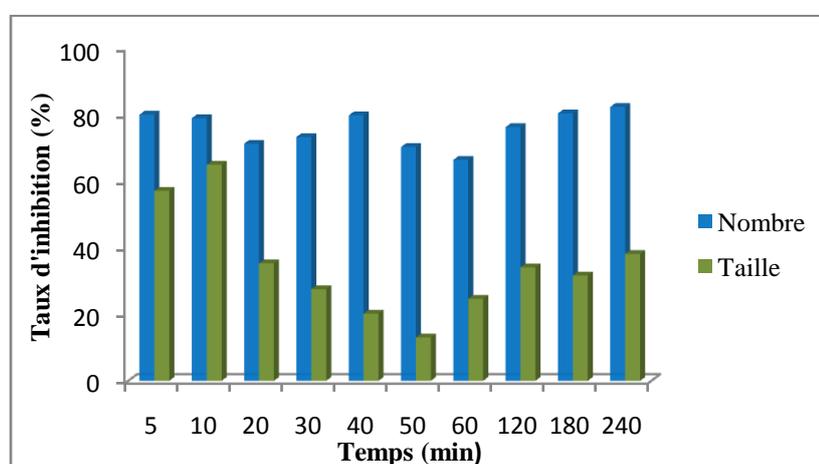
Selon la figure 43, l'acide citrique à 0.1 mM a pu diminuer le nombre des cristaux avec des taux d'inhibition qui atteignent plus de 70% à plusieurs moments de cristallisation. Pour la taille, le taux d'inhibition le plus élevé à été enregistré à 10 minutes de cristallisation (53.7%).

## II.B.2.2. En présence de 0.25 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 37:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux de la struvite en présence du citrate 0.25mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	107.32	123	102	78.33	80.6	77.83	74.2	50.12	50.75	45
	Agrégats	0	40	65	55	46.5	34.5	56.5	50	51.1	34
	Total	107.32	123	167	133.33	127.1	112.33	130.7	100.12	101.85	79
	CV%	8.91	3.02	5.74	6.72	6.71	4.55	6.82	6.91	9.71	6.03
Taille (µm)	Cristaux	7.34	6.73	7.12	8.3	9.5	8.33	7.67	5.12	5.33	5.12
	Agrégats	–	10.2	9.81	9.75	10.33	14.5	13.75	13.23	14.18	13.08
	Moyenne	3.67	3.36	8.46	9.02	9.91	11.41	10.71	9.17	9.75	9.1
	CV%	4.01	5.67	8.92	4.55	9.42	9.82	10.29	4.82	5.34	5.92

D'après le tableau 37, On remarque une absence totale des agrégats au début de la cristallisation. Le nombre total atteint 167 à 20 minutes. La taille moyenne augmente au cours du temps pour atteindre sa valeur maximal de 11.41µm à 50 minutes de cristallisation.



**Figure 48 :** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 0.25mM de l'acide citrique.

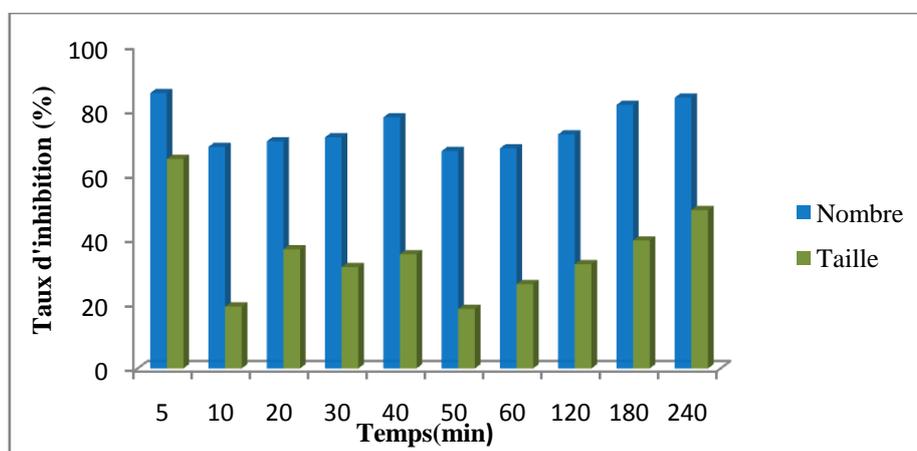
D'après la figure 48, on remarque un effet inhibiteur de l'acide citrique sur le nombre et la taille des cristaux de struvite. Le pouvoir inhibiteur du nombre le plus élevé a été enregistré après 240 minutes de cristallisation avec un taux de 82.63%. Le citrate 0.25mM a agit sur les trois phases de cristallisation. Il a fait diminuer la taille mais avec des taux d'inhibition moins importants par rapport aux taux enregistrés pour le nombre. Le taux le plus élevé était 64.96% à 10 minutes de cristallisation.

### II.B.2.3. En présence de 0.5 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 38** : Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 0.5mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nbre	Cristaux	78.5	122	97	76.55	79.12	79	73.5	60.08	45	41.5
	Agrégats	0	61.13	75	65	60.33	44.3	50.1	55.6	50.03	30.12
	Total	78.5	183.13	172	141.55	139.45	123.3	123.6	115.68	95.03	71.62
	CV%	7.2	4.93	6.02	5.34	11.02	4.26	7.83	9.82	4.82	9.12
Taille (µm)	Cristaux	6	6.5	6.75	6.33	6.72	7.67	7	6.03	5.83	4.99
	Agrégats	–	9	9.75	10.76	9.33	13.75	14	12.81	11.4	10
	Moyenne	3	7.75	8.25	8.54	8.02	10.71	10.5	9.42	8.61	7.49
	CV%	5.38	7.82	9.82	4.53	9.08	4.93	5.63	8.77	3.21	8.23

Pour une concentration en acide citrique égale à 0.5mM, on remarque l'absence des agrégats au bout des premiers cinq minutes, leur taille maximale était 14 µm à la 60<sup>ème</sup> minute. La taille maximale des cristaux est 10.71 µm à la 50<sup>ème</sup> minute (voir tableau 38)



**Figure 49**: Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 0.5mM de l'acide citrique.

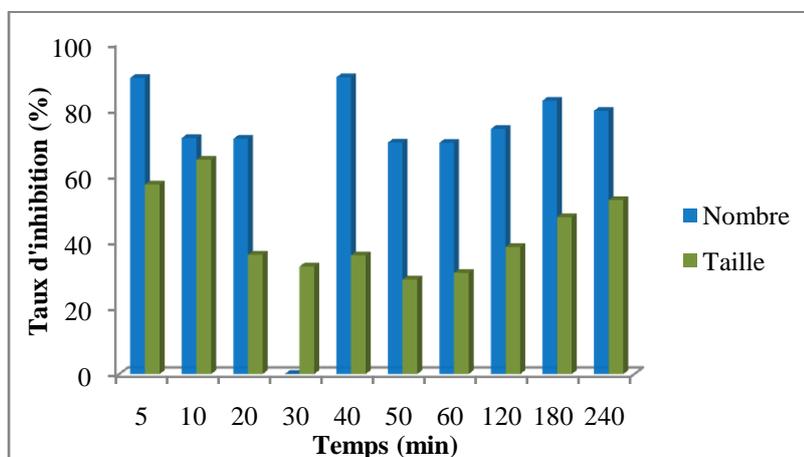
Les résultats illustrés dans la figure 49, montrent bien l'effet inhibiteur de l'acide citrique 0.5mM sur le nombre et la taille des cristaux. Les taux d'inhibition du nombre et de la taille les plus élevés sont 85.4% et 64.95% respectivement. Ils ont été enregistrés à 5 minutes de cristallisation.

### II.B.2.4. En présence de 1 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 39**: Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 1 mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	56	100.5	88	67.5	70.33	66.5	72.81	66.23	50.1	50.1
	Agrégats	–	67	80	66.81	58.7	47	44.3	43	40	41.2
	Total	56	167.5	168	134.31	64.51	113.5	117.11	109.23	90.1	91.3
	CV%	7.62	8.92	3.22	9.63	5.54	8.71	2.09	4.45	6.42	9.12
Taille (µm)	Cristaux	7.3	6.75	7.01	7	6.81	6	6.75	5.81	5	4.25
	Agrégats	–	10	9.72	9.81	9.12	12.75	13	11.33	10	9.72
	Moyenne	3.65	8.37	8.36	8.40	7.96	9.37	9.87	8.57	7.5	6.98
	CV%	7.3	6.72	3.09	4.56	7.83	4.99	10.11	4.93	7.63	5.38

En présence de 1mM de citrate, résumés dans le tableau 38, on constate une diminution du nombre et de taille des cristaux et des agrégats par rapport à l'étude sans inhibiteur ce qui donne signe que cette concentration a un effet inhibiteur sur la struvite.



**Figure 50:** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 1 mM de l'acide citrique.

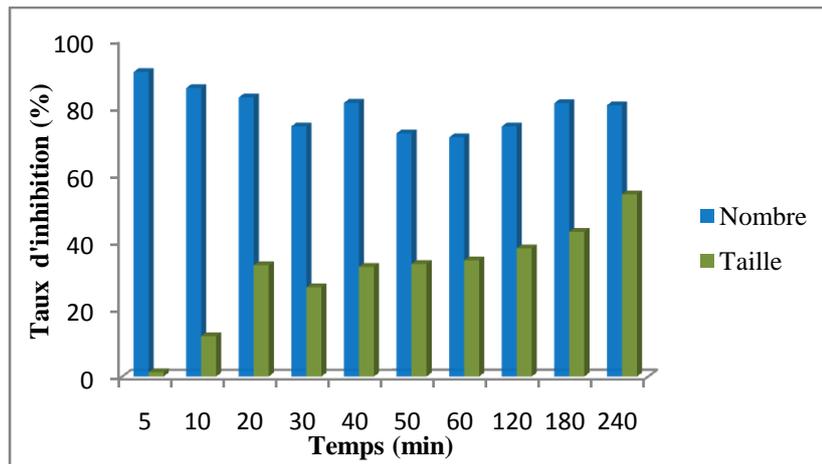
Une inhibition plus importante par rapport aux autres concentrations (0.1 et 0,5 mM), a été remarqué à la concentration 1mM. Pour le nombre, la valeur la plus élevée était à la 40<sup>ème</sup> minute (89.76%) et pour la taille (64.85%) enregistré à la 10<sup>ème</sup> minute. (Voir Figure 50)

#### II.B.2.5. En présence de 1.5 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 40 :** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 1.5 mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	51.2	48.1	57.33	77.5	66.33	60.25	70.12	66.75	54.5	49.01
	Agrégats	0	35.44	41.8	50.83	51.25	44.7	42.5	41.75	43	37.8
	Total	51.2	83.54	99.13	128.33	117.58	104.95	112.62	108.5	97.5	86.81
	CV%	7.92	3.09	4.56	7.83	8.01	2.98	11.71	9.18	4.85	7.85
Taille (µm)	Cristaux	6.56	7.12	7	7.81	6.75	6.72	6.12	6.25	5.27	4.5
	Agrégats	10.34	9.76	10.5	10.5	10	10.75	12.5	10.99	11	9
	Moyenne	8.45	8.44	8.75	9.15	8.37	8.73	9.31	8.62	8.13	6.75
	CV%	9.83	4.09	4.89	8.73	4.11	5.65	7.56	3.23	10.71	7.56

D'après les résultats regroupés dans le tableau 40, On remarque l'absence d'agrégats aux premières cinq minutes de cristallisation. Le nombre total atteint 128.33 comme valeur maximale à 30 minutes. La taille moyenne atteint 9.31µm à 60 minutes ce qui indique cette concentration inhibe bien la phase d'agrégation que soit par élimination totale comme à 5 minutes ou diminution des tailles des agrégats pendant toute la période de cristallisation



**Figure 51** : Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 1.5 mM de l'acide citrique.

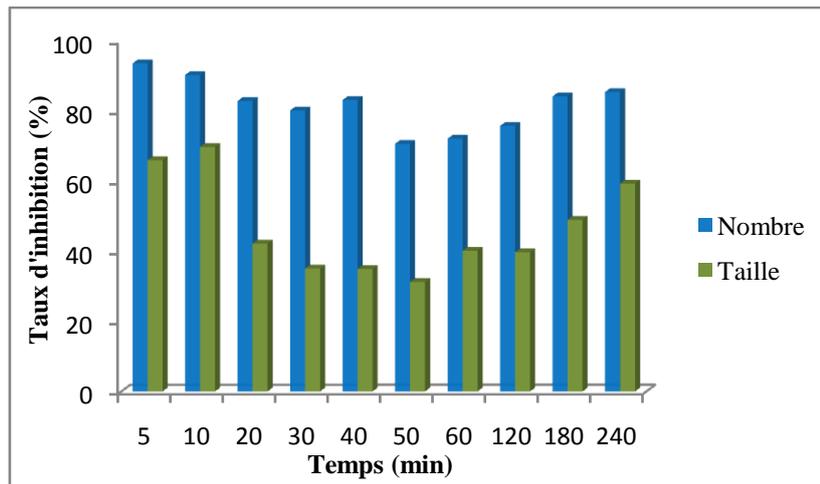
D'après la figure 51, l'effet inhibiteur du citrate 1.5 mmol/l sur le nombre de cristaux a été remarqué dès le début de la cristallisation (phase de germination) avec des taux élevés qui atteignent plus de 82% aux 20 premières minutes. Pour la taille, l'effet inhibiteur était moins important. A 240 minutes de cristallisation on enregistre la valeur maximale de 54.14%.

#### II.B.2.6. En présence de 2 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 41** : Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 2 mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	34.35	56.7	54.1	54	60.5	55.33	50.81	56	45	33.2
	Agrégats	0	0	45.5	45	45.5	55.67	57.75	46.33	37.12	32
	Total	<b>34.35</b>	<b>56.7</b>	<b>99.6</b>	<b>99</b>	<b>106</b>	<b>111</b>	<b>108.56</b>	<b>102.33</b>	<b>82.12</b>	<b>65.2</b>
	CV%	6.72	5.56	9.23	6.21	6.72	7.82	7.01	5.44	3.09	7.99
Taille (µm)	Cristaux	5.83	5.81	5	5.83	5.83	5.75	5.02	5.12	4.75	3.99
	Agrégats	–	–	10.12	10.33	10.33	12.3	12	11.67	9.81	8
	Moyenne	<b>2.91</b>	<b>2.90</b>	<b>7.56</b>	<b>8.08</b>	<b>8.08</b>	<b>9.02</b>	<b>8.51</b>	<b>8.39</b>	<b>7.28</b>	<b>5.99</b>
	CV%	5.55	6.92	6.85	9.23	4.04	5.78	5.92	10.10	4.77	6.66

Selon les résultats enregistrés en présence du citrate 2mM, résumés dans le tableau 41, on remarque une absence totale des agrégats au cours des dix premières minutes de la cristallisation. Le nombre total maximal est 111 enregistré à 50 minutes. La taille moyenne maximale obtenue est 9.02µm enregistré à la même minute.



**Figure 52:** Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 2 mM de l'acide citrique.

Selon la figure 52, le citrate 2mmol/l montre une inhibition importante et ceci durant toutes les phases. Le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré au début de la cristallisation, que ce soit pour le nombre ou la taille.

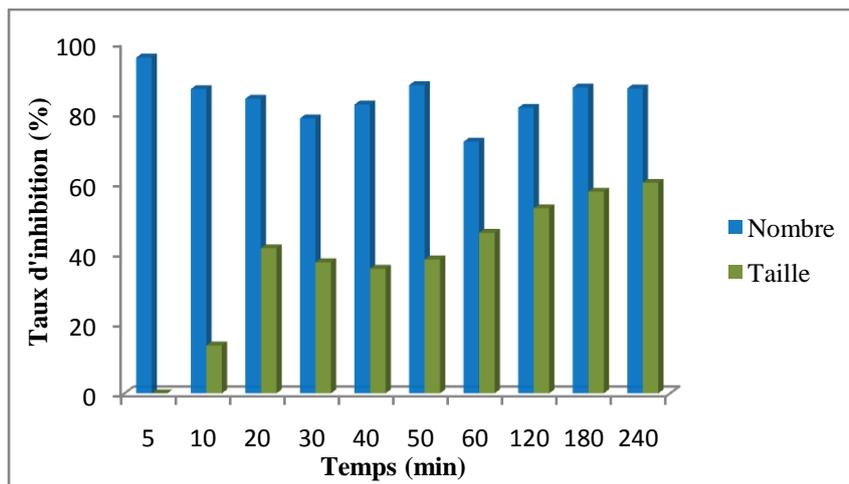
On remarque toujours des granulations de Carbatite qui sont plus importantes à cette concentration (2mM) ce qui confirme la conversion cristalline.

### II.B.2.7. En présence de 2.5 mmol/l de l'acide citrique

**Tableau 42:** Evolution du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats de la struvite en présence du citrate 2.5 mM

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nombre	Cristaux	22	35.41	49.67	65.6	65	65.5	65	41.21	33.75	29.8
	Agrégats	0	41.21	42.5	41.7	45.33	45.33	44.5	36.7	32.10	28
	Total	<b>22</b>	<b>76.62</b>	<b>92.17</b>	<b>107.3</b>	<b>110.33</b>	<b>45.33</b>	<b>109.5</b>	<b>77.91</b>	<b>65.85</b>	<b>57.8</b>
	CV%	7.68	10.34	6.78	8.92	10.03	5.67	7.84	3.09	6.57	7.23
Taille (µm)	Cristaux	6.25	6.12	5.34	5.27	5.76	5.7	5.66	4.12	3.99	3.75
	Agrégats	11.1	10.45	9.98	10.31	10.25	10.5	9.75	9	8.12	8
	Moyenne	<b>8.67</b>	<b>8.28</b>	<b>7.66</b>	<b>7.79</b>	<b>8.0</b>	<b>8.1</b>	<b>7.70</b>	<b>6.56</b>	<b>6.05</b>	<b>5.87</b>
	CV%	7.56	3.91	7.84	6.57	8.94	3.45	6.75	8.75	9.08	6.11

Selon les résultats trouvés en présence de 2.5mM de citrate (Tableau 42), la taille moyenne maximale obtenue est 8.67µm à 5 min de cristallisation. On constate la présence abondante des granulations de carbatite qu'on a identifiées par microscopie optique et confirmées par IRTF.



**Figure 53** : Taux d'inhibition des cristaux de struvite en présence de 2.5mM de l'acide citrique.

Le citrate à 2.5mM continue à avoir un effet inhibiteur important sur le nombre et la taille des cristaux de struvite. Le taux d'inhibition du nombre le plus élevé a été enregistré à 5 minutes de cristallisation (95.91%). Par contre le citrate 2.5 mmol/l n'agit pas sur la taille des cristaux de struvite aux premiers cinq minutes. Après 10 minutes de cristallisation, l'inhibition augmente fur à mesure le temps pour atteindre le taux le plus élevé à la fin de cristallisation (60.12%). (voir figure 53)

**Tableau 43** : Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'acide citrique sur la struvite pendant 240 minutes.

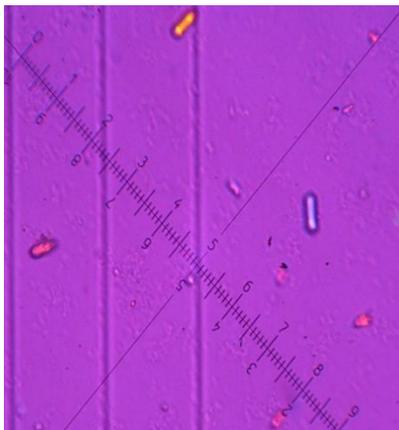
Concentration (mM) \ Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
<b>0.1</b>	nombre	70.99	67.47	63.74	67.14	77.48	63.89	67.92	73.59	79.80	78.68
	taille	0	53.70	20.03	16.38	9.82	10.28	17.29	20.47	23.61	28.66
<b>0.25</b>	nombre	80.04	78.99	71.30	73.32	79.83	70.32	66.44	76.29	80.41	82.36
	taille	57.12	64.96	35.32	27.55	20.20	13.03	24.68	34.12	31.67	38.17
<b>0.5</b>	nombre	85.40	68.72	70.44	71.68	77.87	67.42	68.26	72.60	81.72	84.01
	taille	64.95	19.18	36.92	31.40	35.42	18.44	26.16	32.32	39.66	49.11
<b>1</b>	nombre	89.58	71.39	71.13	73.12	89.76	70.01	69.93	74.13	82.67	79.62
	taille	57.35	64.85	36.08	32.53	35.90	28.58	30.59	38.43	47.44	52.58
<b>1.5</b>	nombre	90.48	85.73	82.96	74.32	81.34	72.27	71.08	74.30	81.25	80.62
	taille	1.28	11.99	33.10	26.50	32.60	33.46	34.52	38.07	43.02	54.14
<b>2</b>	nombre	93.61	90.31	82.88	80.19	83.17	70.67	72.12	75.77	84.20	85.44
	taille	66	69.76	42.20	35.10	34.94	31.25	40.15	39.72	48.98	59.30
<b>2.5</b>	nombre	95.91	86.91	84.16	78.53	82.49	88.02	71.88	81.55	87.33	87.09
	taille	0	13.66	41.43	37.42	35.58	38.26	45.85	52.87	57.60	60.12

Suite aux résultats regroupés dans le tableau 43 qui résume les taux d'inhibition trouvés en présence de différentes concentrations de l'acide citrique, on constate que le meilleur pouvoir inhibiteur du nombre des cristaux était à la concentration 2.5mmol/l et ceci pour toute la période de cristallisation, suivi par la concentration 2mmol/l. Par contre, l'inhibition de la taille

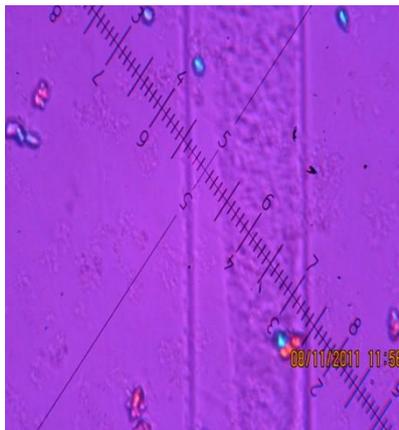
des cristaux et agrégats était moins importante par rapport au nombre. À 2mmol/l on a remarqué une inhibition meilleure de la taille suivi par la concentration 1mmol/l.

En conclusion le citrate est un inhibiteur très efficace pour le nombre que pour la taille des cristaux et ceci a été retiré suite à la réduction énorme au niveau du nombre et de la taille des cristaux de struvite pendant la cristallisation de cette dernière en présence de l'acide citrique.

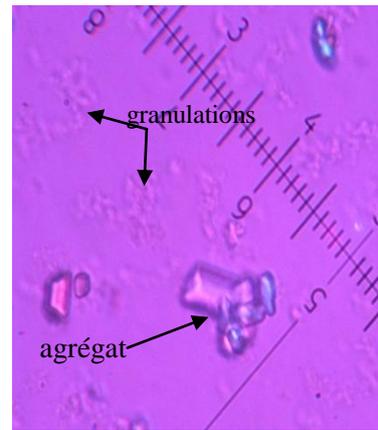
Les photos de 28 à 33 présentent les différentes phases de cristallisation de struvite en présence de 0.25 et 2.5 mM du citrate.



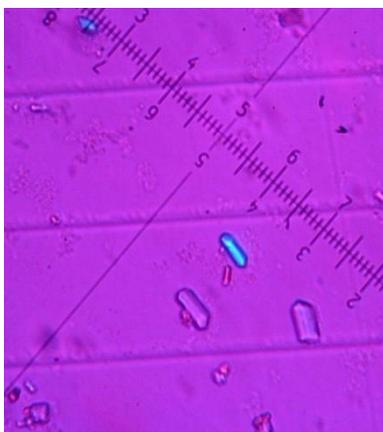
**Photo 28 :** [AC]=2.5mM à 5 min



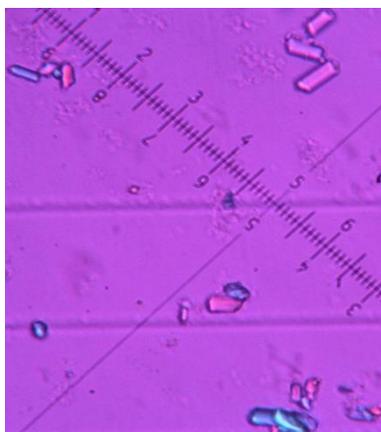
**Photo 29 :** [AC]=2.5mM à 30



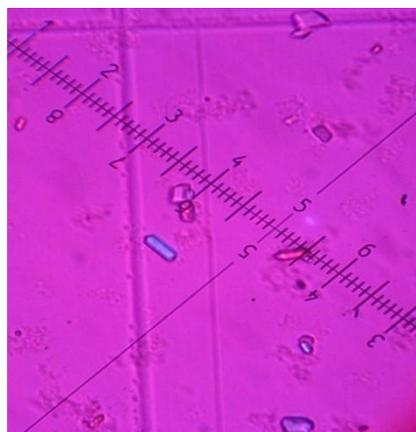
**Photo30 :** [AC]=2.5mM à 120min



**Photo 31:**[AC]=0.25mM à 5 min



**Photo 32 :** [AC]= 0.25mM à 30min



**Photo 33 :**[AC]= 0.25mM à 120min

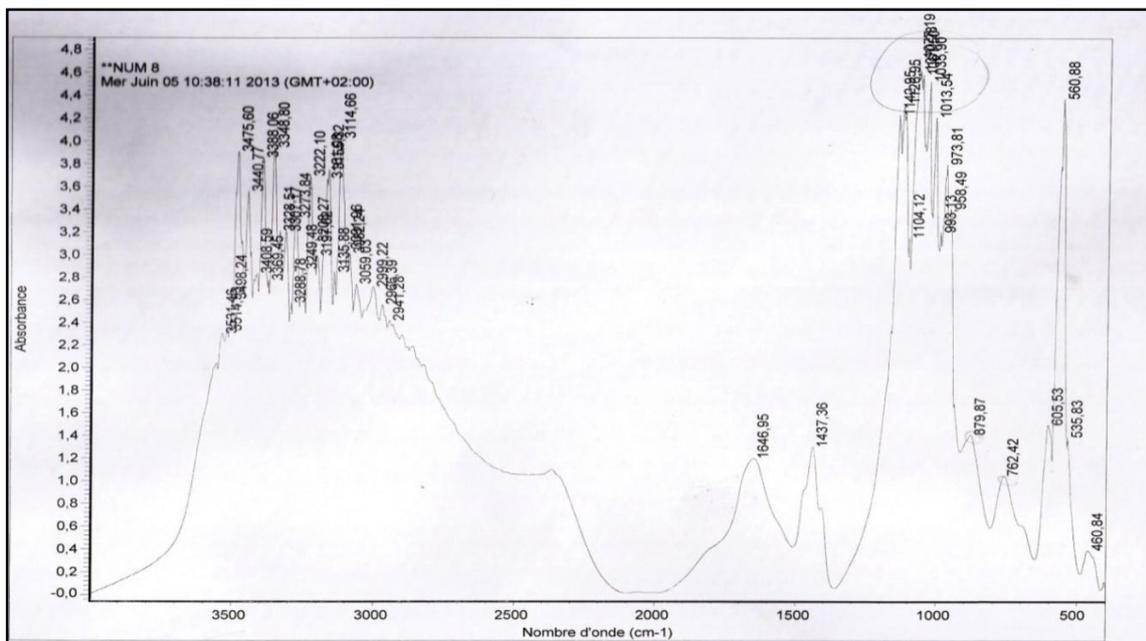
[AC]=2.5mM : En présence de 2.5mM de l'acide citrique

[AC]=0.25mM : En présence de 0.25mM de l'acide citrique

## II.C. Etude par IRTF

Suite à l'analyse du spectre infrarouge de l'effet de la concentration 2 et 7mmol/l du magnésium on constate la présence des pics initiaux de la struvite plus des pics secondaires (figure 54 et 55) ce qui indique que le magnésium n'a pas agi clairement sur la formation des cristaux de struvite et cela confirme l'étude microscopique où on a enregistré la présence unique de la struvite.

L'analyse spectrale en présence de 0.25 mmol/l de citrate (figure 56) montre que les cristaux de struvite sont toujours formés ce qui indique que cette concentration était insuffisante pour inhiber totalement l'espèce cristalline, en revanche la concentration 2.5mmol/l montre une action inhibitrice par conversion cristalline de la struvite en carbatpate, mais on note toujours la présence de struvite (figure 57)

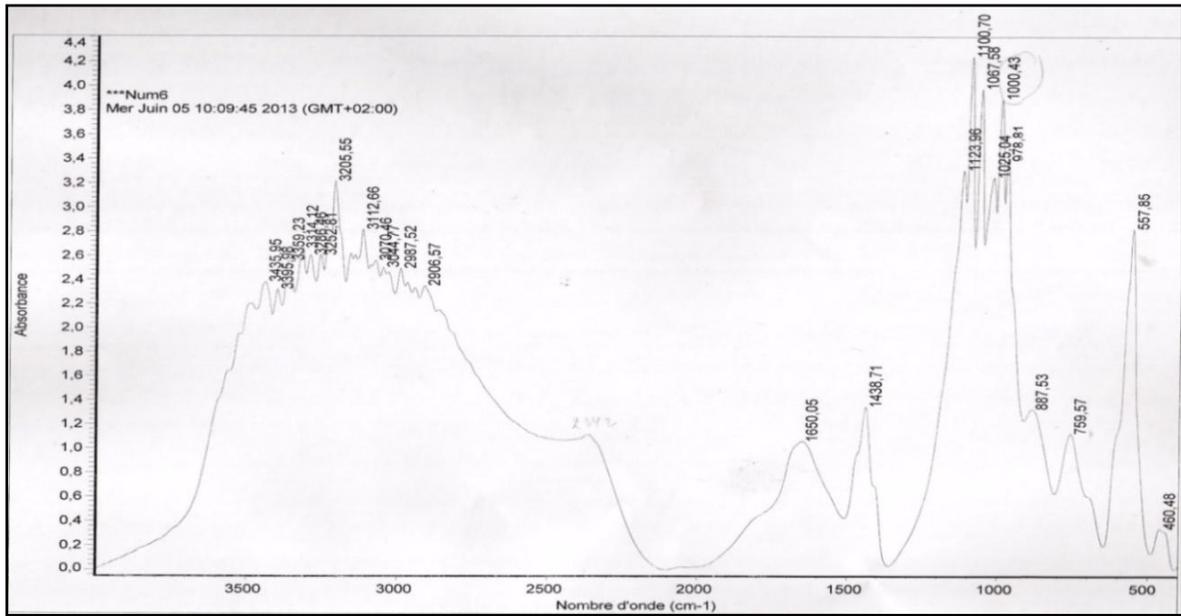


**Figure 54:** Spectre IRTF en présence de 2mM du magnésium

Les fréquences des bandes caractéristiques de la struvite sont consignées dans le tableau 44

**Tableau 44:** Fréquences des bandes caractéristique des constituants

Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1013	Bande de phosphate	Struvite MgNH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub> , 6H <sub>2</sub> O
460, 762, 3114	Bande secondaires	
1437	Vibration NH <sub>4</sub>	
	(déformation)	

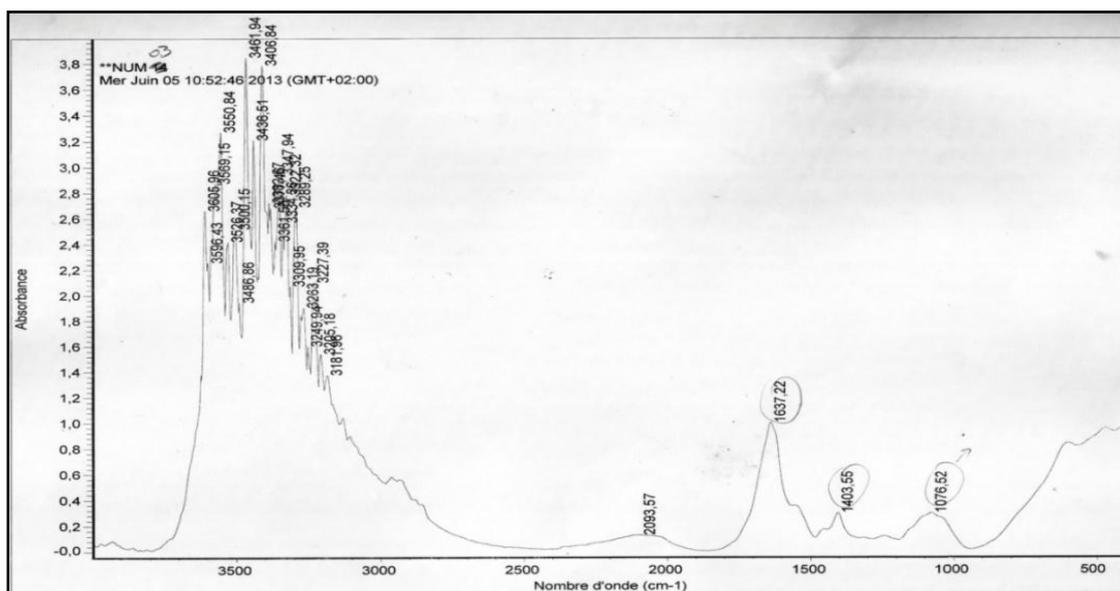


**Figure 55:** Spectre IRTF en présence de 7mM de Mg

Les fréquences des bandes caractéristiques de la struvite sont consignées dans le tableau 45.

**Tableau 45:** Fréquences des bandes caractéristique des constituants

Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
2342	Plateau H <sub>2</sub> O + NH <sub>4</sub> , décrochant à 2342 cm-1	Struvite MgNH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub> , 6H <sub>2</sub> O
1000	Bande de phosphate	
457,3112	Bande secondaires	
1438	Vibration NH <sub>4</sub> (déformation)	

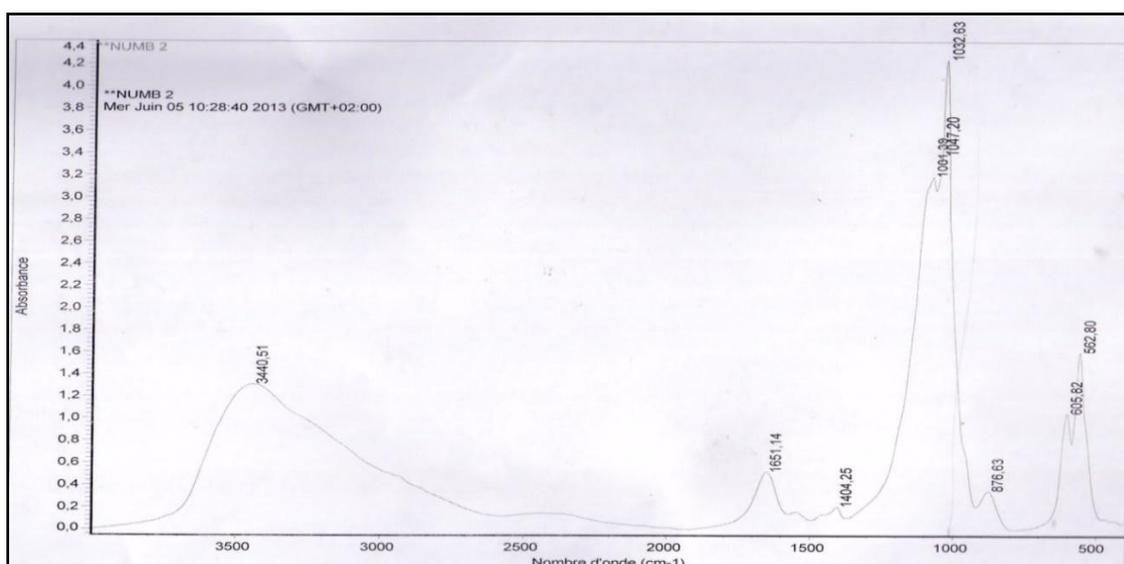


**Figure 56** : spectre IRTF en présence de 0.25mMde citrate

Les fréquences des bandes caractéristiques de la struvite sont consignées dans le tableau 46.

**Tableau 46**: Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Pics observés		
1076TF ; 1403m ; 1637f ; 2093f		
Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
2093	Plateau H2O + NH4	Struvite MgNH4PO4, 6H2O
1076	Bande de phosphate	
1637	Bande secondaire	
1403	Vibration NH4 (déformation)	



**Figure 57** : Spectre IRTF en présence de 2.5mM de citrate

Les fréquences des bandes caractéristiques de la Carapatite et struvite sont consignées dans le tableau 47.

**Tableau 47** : Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Pics observés (cm <sup>-1</sup> )		
3440f ; 1651f ; 1032TF ; 876f ; 605 ; 562m ; 1047m ; 1081 ; 1404		
Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1032	Valence asymétrique PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> forte, asymétrique à gauche épaulée à 1100 cm <sup>-1</sup> Bandes caractéristique de carbapatite Bandes secondaires	Carbapatite
605, 562		
1652, 3440		
1032	Plateau des molécules H <sub>2</sub> O + ion NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Déformation de l'ion ammonium	Struvite
1404		MgNH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub> , 6H <sub>2</sub> O

**Discussion :**

Le magnésium a prouvé son action inhibitrice sur le nombre et la taille des cristaux de struvite. Cette action s'élève en fonction de la concentration du magnésium utilisée ; à 7 mM, le magnésium a fait retarder totalement l'apparition de cristaux jusqu'à la 30<sup>ème</sup> minute de cristallisation et le taux d'inhibition reste élevé et atteint les 87% à la fin de la cristallisation. Ceci est pour le nombre. Pour la taille, à 7mmol/l de magnésium on a enregistré des taux d'inhibition peu élevés, qui varie de 10.14, à 52.44%, par rapport aux ceux du nombre. L'étude par IRTF a confirmé qu'à la concentration 2 et 7 mmol/l la struvite persiste.

Le citrate apparait comme un bon inhibiteur de faible poids moléculaire. Plusieurs travaux ont montré la capacité du citrate à former des complexes ou des associations moléculaires avec des atomes métalliques où des ions polyatomiques [Skrtec D,1984 ; Kok DJ, 1990] qui sont actifs contre la croissance des phosphates de calcium. Il agit nettement sur le nombre, la taille et l'agrégation des phosphates ammoniac-magnésien [Ryall RL,1981 ; Grases F, 1996]. Mais il est plus efficace dans les urines acides ou neutres -où il peut inhiber de façon totale la struvite- qu'en urines alcalines. Dans notre travail, nous avons étudié la cristallisation de la struvite à pH =8.

D'après nos résultats, on remarque une relation linéaire entre le pouvoir inhibiteur de citrate et la concentration utilisée. A 2.5mM à la fin de la cristallisation, on a enregistré les taux d'inhibition les plus élevés que ce soit pour le nombre (87.09%) ou la taille (60.12%)

Son pouvoir inhibiteur est important sur l'agrégation et la taille des cristaux mais n'inhibe pas totalement l'espèce cristalline ce qui a été confirmé par IRTF.

D'après l'analyse spectrale par IRTF, les granulations observées sont de la Carbapatite, Le taux de ces granulations devient plus important aux concentrations les plus élevés ce qui nous mène à penser que le citrate a converti la struvite à la Carbapatite.

## **Effet inhibiteur des substances naturelles sur la cristallisation oxalo-phosphocalcique**

## I. Étude de l'effet inhibiteur des substances naturelles (Origan et Gingembre) sur la cristallisation oxalo-calcique monohydraté (whewellite)

### I.A. Etude Sans inhibiteur

**Tableau 48** : Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en absence d'inhibiteur.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	672	322	147	121	60	65	69
		Agrégats	0	342	312	290	236	279.5	215
		Total	672	664	459	411	296	344.5	284
		CV%	8.53	7.14	7.53	8.93	8.93	5.44	9.81
	Taille (µm)	Cristaux	1.75	4.075	4	4.5	4.5	4.25	4
		Agrégats	—	23.75	24.165	40	29	24.75	27.9
		Moyenne	0.875	13.91	14.08	22.25	16.75	14.5	15.95
		CV%	3.03	5.65	8.94	9.02	3.13	7.83	9.55

En absence d'inhibiteur, on obtient le nombre maximal des cristaux à la phase de germination, et ça diminue au cours du temps. Par contre, la taille moyenne augmente et atteint une valeur maximale à la fin de cristallisation. (tableau 48)

### I.B. Etude en présence d'inhibiteur

#### I.B.1. Effet de l'Origan (*Origanum vulgare*)

Les résultats obtenus en utilisant l'origan préparé par les trois méthodes (décoction, infusion, soxhlet), sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

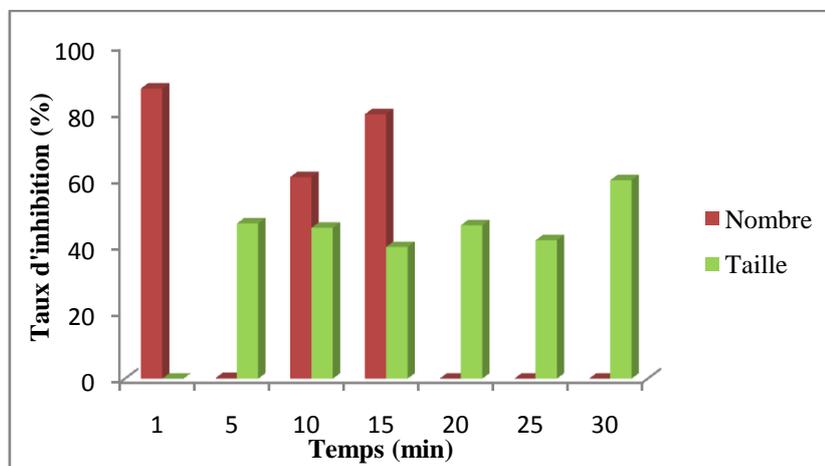
##### I.B.1.1. L'origan préparé par la méthode de décoction

##### I.B.1.1.1. En présence de l'Origan 10%

**Tableau 49**: Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 10% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	84.66	616.66	650	616.66	450	770.66	496.66
		Agrégats	1	46	87.33	121.33	180	245.33	160
		Total	85.66	662.66	737.33	737.99	630	1015.99	656.66
		CV%	7.42	6.73	8.71	9.52	7.44	3.02	6.71
	Taille (µm)	Cristaux	2	5	4.91	5.083	4.58	4.91	5.6
		Agrégats	11.5	9	7.87	12.55	10.88	7.16	13.44
		Moyenne	6.75	7	6.39	8.81	7.73	6.035	9.52
		CV%	3.02	6.73	7.83	9.02	4.53	7.66	8.72
C2	Nbre	62.66	520	264	284	230	330	139.33	

On constate d'après les résultats trouvés en présence de l'Origan 10% (tableau 49), une diminution du nombre des cristaux et agrégats ainsi que leurs tailles. Le nombre de weddellite atteint 520 cristaux à 10 minutes de cristallisation. Ce nombre élevé nous mène à penser que l'origan a converti la whewellite à la weddellite.



**Figure 58:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 10% préparé par la méthode de décoction.

D'après la figure 58, l'origan à 10% réduit le nombre de cristaux de 87% à la première minute de cristallisation. A 5min l'origan perd son effet inhibiteur, à 10 minutes le taux d'inhibition du nombre s'élève à 60% et continue à s'élever jusqu'à 79% à 15 minutes. de 20 jusqu'à 30 minutes, l'origan ne montre aucun effet inhibiteur sur le nombre de cristaux.

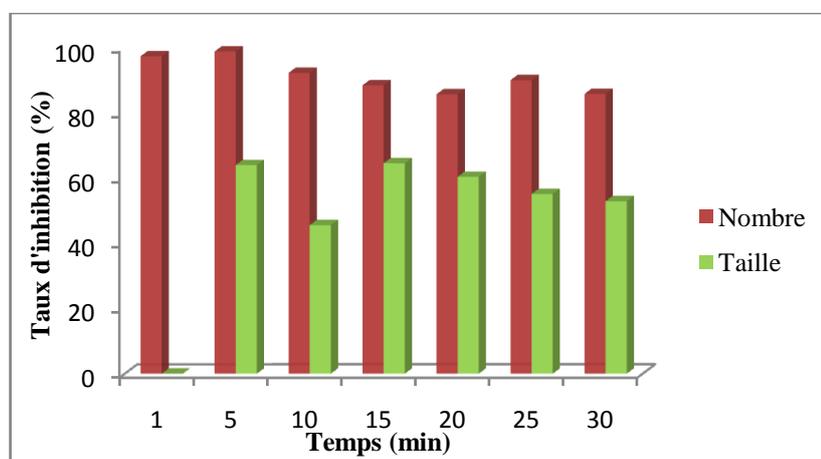
Pour la taille, l'effet inhibiteur de l'origan est un peu plus important par rapport à celui du le nombre. A la fin de cristallisation, on a enregistré le taux d'inhibition le plus élevé 59%.

#### I.B.1.1.2. En présence de l'Origan 25%

**Tableau 50 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 25% préparé par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	17	—	15	30	18	7	16
		Agrégats	—	7	20	17	24	27	24
		Total	17	7	35	47	42	34	40
		CV%	7.88	9.42	6.73	8.71	8.34	7.83	5.66
	Taille (µm)	Cristaux	2.5	—	3	3.25	3.25	3	2.5
		Agrégats	—	10	12.33	12.5	10	10	12.5
		Moyenne	1.25	5	7.66	7.87	6.625	6.5	7.5
		CV%	8.73	5.46	9.01	10.42	6.77	8.93	4.61
C2	Nbre	214	1360	1858	1435	1194	1474	1262	

Pour une concentration de 25% de l'origan, on a remarqué que le nombre maximal des cristaux et agrégats ne dépasse pas 40 cristaux à la fin de cristallisation (30 minutes). La taille moyenne maximale enregistrée à 15min est de 7.87 $\mu$ m. En plus d'une conversion cristalline de la whewellite en weddellite. (Voir tableau 50)



**Figure 59:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 25% préparé par la méthode de décoction.

D'après les taux d'inhibition enregistré lors de la présence de l'origan à 25% (figure 59), on constate un effet inhibiteur important que ce soit pour le nombre ou la taille des cristaux. Le taux d'inhibition du nombre et de la taille le plus élevé a été enregistré à 5 minutes, 98.94%, et 64.05% respectivement.

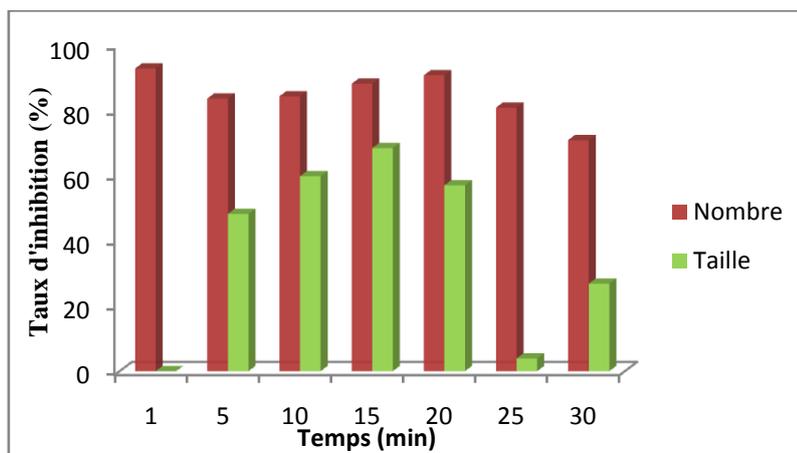
### I.B.1.1.3. En présence de l'Origan 50%

**Tableau 51:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 50% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	33.33	91.33	40	30	5.33	38	63.33
		Agrégats	14.66	14	32	18.66	22	28	19.33
		Total	47.99	105.33	72	48.66	27.33	66	82.66
		CV%	6.8	3.9	9.83	3.92	10.8	7.8	7.02
	Taille ( $\mu$ m)	Cristaux	3	2.08	1.33	1.83	0.5	2	8.25
		Agrégats	5.55	12.33	9.99	12.22	13.91	25.88	15.10
		Moyenne	4.55	7.20	5.66	7.025	7.20	13.94	11.67
		CV%	3.82	4.9	2.8	4.93	3.92	8.23	4.32
C2	Nbre	532.66	1434.66	1520	1326.66	1629.33	1466.66	1502.66	

D'après le tableau 51, pour une concentration de 50% de l'origan, le nombre de whewellite atteint 82.66 à 30 minutes de cristallisation. Pour la taille, la valeur maximale était 13.94 à 25

minutes. On a constaté la présence massive de cristaux de weddellite issus de la conversion de la whewellite.



**Figure 60:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 50% obtenu par la méthode de décoction.

D'après la figure 60, l'origan 50% a un effet inhibiteur important sur le nombre de cristaux de whewellite et moins important sur la taille, durant toute la période de la cristallisation. Le taux d'inhibition le plus élevé pour le nombre était 92.85% enregistré à la première minute. Pour la taille le pourcentage d'inhibition atteint 68.82% à 15 minutes de cristallisation.

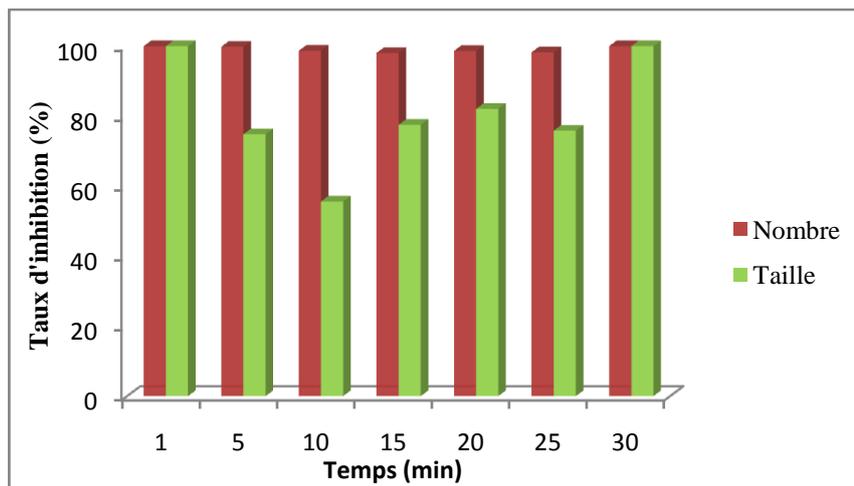
#### I.B.1.1.4. En présence de l'Origan 75%

**Tableau 52:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 75% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)		1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	—	—	—	—	—	—
		Agrégats	—	1	6	8	4	6
		Total	—	0	6	8	4	6
		CV%	—	4.2	1.83	3.6	7.3	2.02
	Taille (µm)	Cristaux	—	—	—	—	—	—
		Agrégats	—	7	12.5	10	6	7
		Moyenne	—	3.5	6.25	5	3	3.5
		CV%	—	5.4	8.8	3.92	4.2	5.64
C2	Nbre	—	1192	474	1200	1024	1420	590

Une Absence totale des cristaux de whewellite a été enregistrée durant toutes les expériences faites. On remarque la formation des agrégats à 5 minutes, leur nombre s'élève de 1 à 8, à 15 minutes et diminue au cours du temps, à 30 minutes aucun agrégat a été observé.

On note aussi la présence de cristaux de weddellite au bout de 5 minutes de cristallisation avec un nombre très important. (voir tableau 52)



**Figure 61:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 75% préparé par la méthode de décoction.

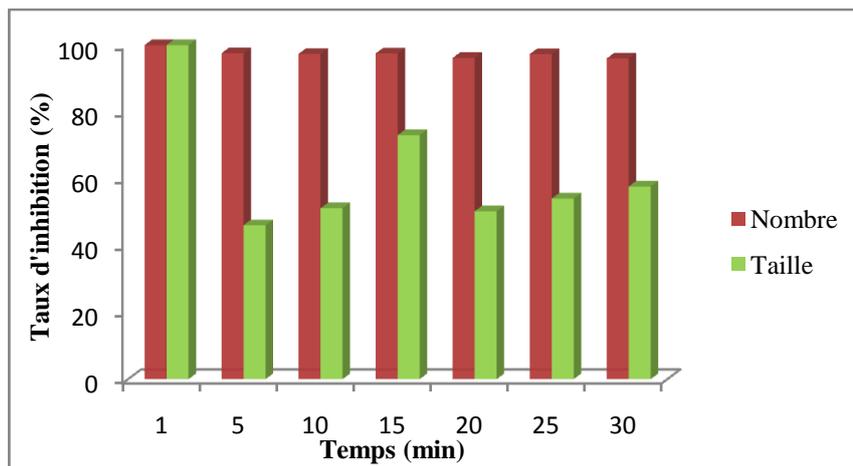
Suite aux résultats affichés sur la figure 61, on constate que l'origan à 75% de concentration préparé par décoction, agit bien sur le nombre et la taille des cristaux de whewellite formés lors de toute les phases de la cristallisation.

#### I.B.1.1.5. En présence de l'Origan 100%

**Tableau 53:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et des agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 100% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	–	–	–	–	–	–	–
		Agrégats	–	16	12	10	11.33	9.33	11.33
		Total	–	16	12	10	11.33	9.33	11.33
		CV%	–	6.4	7.2	2.92	4.94	5.9	3.37
	Taille (µm)	Cristaux	–	–	–	–	–	–	–
		Agrégats	–	15	13.75	12	16.66	13.33	13.5
		Moyenne	–	7.5	6.87	6	8.33	6.66	6.75
		CV%	–	4.9	3.43	8.72	4.92	9.83	4.01
C2	Nbre	566.66	984.66	1138.66	834.66	1048	1121.33	1017.33	

A 100% de l'origan, on remarque une absence de cristaux et une formation d'un nombre d'agrégats qui ne dépasse pas 16 agrégats à 5min de cristallisation. La weddellite se présente en abondance avec une valeur maximale de 1138 cristaux à 10 minutes. (Voir tableau 53)



**Figure 62 :** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 100% préparé par la méthode de décoction.

D'après la figure 62, l'origan 100% montre un effet inhibiteur très important sur le nombre de cristaux et agrégats de whewellite. Le taux d'inhibition le plus élevé (100%) a été enregistré à la première minute. Quant à la taille, l'origan a fait diminuer la taille des cristaux et agrégat durant toutes les phases de cristallisation mais le pouvoir inhibiteur était moins important par rapport au nombre sauf à la première minute où il atteint 100% en plus d'une conversion cristalline de la whewellite vers la weddellite.

**Tableau 54:** Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'Origan préparé par la méthode de décoction.

Concentration (%) \ Temps (min)		1	5	10	15	20	25	30
<b>10%</b>	nombre	87.25%	0.20%	60.63%	79.55	0%	0%	0%
	taille	0%	46.67	45.38%	39.59%	46.15%	41.62%	59.68%
<b>25%</b>	nombre	97.47%	98.94%	92.37%	88.56%	85.81%	90.13%	85.91%
	taille	0%	64.05%	45.59%	64.62%	60.44%	55.17%	52.97%
<b>50%</b>	nombre	92.85%	83.64%	84.31%	88.16%	90.76%	80.84%	70.89%
	taille	0%	48.23%	59.80%	68.42%	57.01%	3.86%	26.83%
<b>75%</b>	nombre	100%	99.85%	98.69%	98.05%	98.65%	98.25%	100%
	taille	100%	74.83%	55.61%	77.52%	82.08%	75.86%	100%
<b>100%</b>	nombre	100%	97.59%	97.38	97.56%	96.17%	97.29%	96.01%
	taille	100%	46.08%	51.20%	73.03%	50.26%	54.06%	57.68%

D'après le tableau 54, on constate que les concentrations très élevées de l'origan préparé par décoction agissent fortement sur le nombre des cristaux de whewellite par rapport aux concentrations faibles. Tandis que son effet sur la taille était moyen par

rapport au nombre.

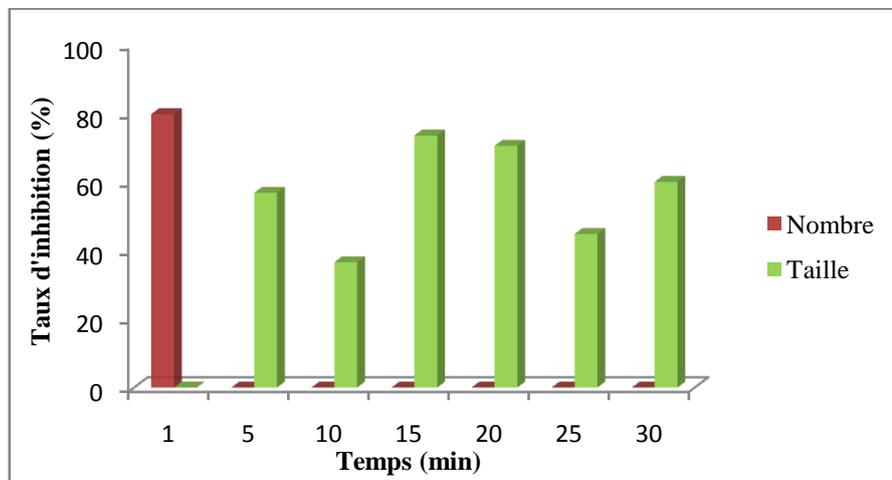
## I.B.2.2. L'origan préparé par la méthode de l'infusion

### I.B.2.2.1. En présence de l'Origan 10%

**Tableau 55:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'Origan 10%.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	123.5	576	643	540	457	498	369
		Agrégats	12	187	231	178	98	130	116.5
		Total	135.5	763	874	718	555	628	485.5
		CV%	3.2	3.92	10.6	9.74	6.53	2.93	4.21
	Taille (µm)	Cristaux	2	1.25	1.125	0.75	0.125	3	2.5
		Agrégats	7	10.75	16.75	11	9.75	13	10.25
		Moyenne	4.5	6	8.93	5.875	4.93	8	6.37
		CV%	9.2	3.82	7.53	3.74	2.94	8.64	2.47
C2	Nbre	14	2.5	5	3	0	3.5	7	

Selon le tableau 55, à 10% de l'origan préparé par infusion, le nombre total des cristaux et agrégats augmente au cours du temps et atteint sa valeur maximale (874) à 10 minutes. A la même minute, la taille moyenne atteint sa valeur maximale de 8.93µm. Le nombre de cristaux de weddellite ne dépasse pas 14 cristaux au début de cristallisation.



**Figure 63:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 10% préparé par la méthode de l'infusion.

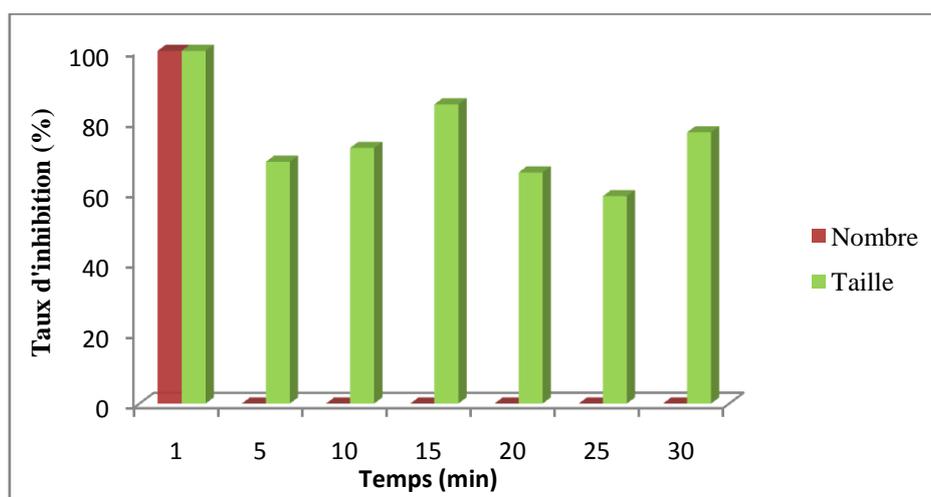
D'après la figure 63, on remarque que l'origan 10% provoque une inhibition du nombre au début de cristallisation avec un taux égale à 79.83%. Dès la 5eme minute l'origan perd son effet inhibiteur jusqu'à la fin de cristallisation. Pour la taille, le taux d'inhibition varie de 0% à la première minute à 73.59% à 15 minutes de cristallisation.

### I.B.2.2.2. En présence de l'Origan 25%

**Tableau 56 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 25% obtenu par la méthode de l'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	–	800	1300	1900	2200	3000	2900
		Agrégats	–	150	156	278	212	296	282
		Total	–	950	1456	2178	2412	3296	3182
		CV%	–	7.5	4.93	2.65	9.54	4.93	6.67
	Taille (µm)	Cristaux	–	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	1.17
		Agrégats	–	8	7	6	10.8	11.2	6.2
		Moyenne	–	4.375	3.875	3.375	5.775	5.975	3.685
		CV%	–	5.6	4.8	5.9	7.21	3.09	4.12
C2	Nbre	–	–	–	–	–	–	–	

On remarque l'absence de cristaux et agrégats au début de cristallisation. Après 5 minutes, le nombre total de cristaux et agrégats formés atteint 950 et s'élève au cours du temps pour atteindre sa valeur maximale à la fin de cristallisation. Aucun cristal de whewellite n'a été formé au cours de cristallisation. (voir tableau 56)



**Figure 64:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 25% obtenu par la méthode de l'infusion.

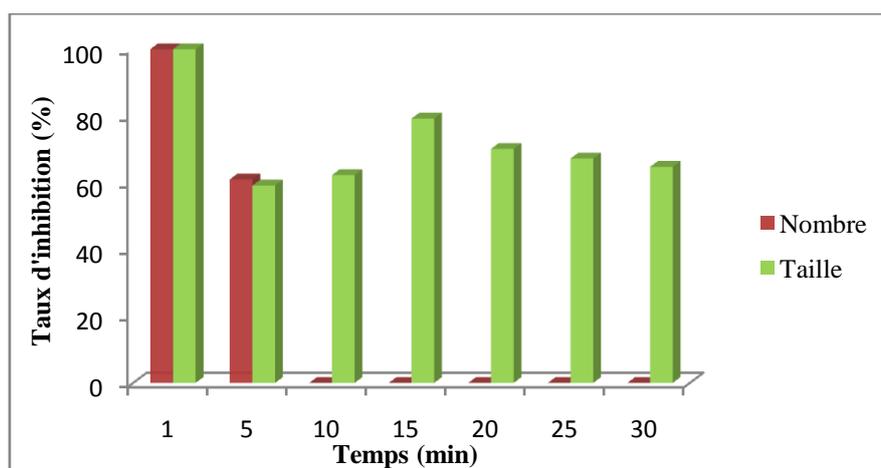
D'après la figure 64, l'origan 25% en infusion a un effet remarquable sur la taille de cristaux et agrégats, alors qu'il perd son effet sur le nombre à partir de la 5<sup>ème</sup> minute de cristallisation. Donc on peut dire que l'origan est un bon inhibiteur sur la taille des cristaux et des agrégats et ceci pendant toute la période de la cristallisation.

### I.B.2.2.3. En présence de l'Origan 50%

**Tableau 57 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 50% obtenu par la méthode de l'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	–	250	450	1135	1250	1175	1125
		Agrégats	–	9	18	123	202	235	240
		Total	–	259	468	1258	1452	1410	1365
		CV%	–	6.43	11.43	4.71	7.09	2.94	9.34
	Taille (µm)	Cristaux	–	1.125	1.125	0.75	1.125	0.625	0.75
		Agrégats	–	10.25	9.5	8.5	8.875	8.875	10.5
		Moyenne	–	5.68	5.31	4.62	5	4.75	5.625
		CV%	–	7.31	7.52	4.87	3.85	9.43	10.04
C2	Nbre	55	1230	1300	705	620	450	400	

D'après le tableau 57, on remarque une absence totale de cristaux et agrégats pendant la 1<sup>ère</sup> minute. Alors qu'à 5 minutes, on a enregistré un nombre total de 259. Ce nombre s'élève jusqu'à 1452 à 20 minutes de cristallisation. Le nombre de whewellite le plus élevé a été enregistré après cinq minutes de cristallisation



**Figure 65 :** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 50% obtenu par la méthode de l'infusion.

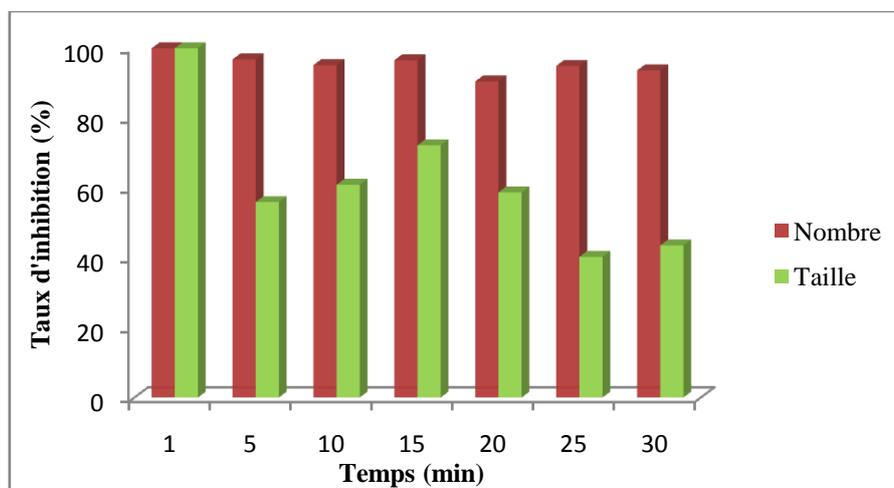
Selon la figure 65, l'origan 50% a inhibé totalement l'apparition de cristaux et agrégats de whewellite à la première minute de cristallisation. Son effet inhibiteur diminue à 60.99% à 5 minutes. Au reste du temps de cristallisation, l'origan perd son effet sur le nombre mais il a continué à avoir une inhibition remarquable sur la taille en plus d'une conversion cristalline.

### I.B.2.2.3. En présence de l'Origan 75%

**Tableau 58:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 75% obtenu par la méthode de l'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	–	10	10	6.66	17.5	10	10
		Agrégats	–	11	12	7.33	10.5	7.33	8
		Total	–	21	22	13.99	28	17.33	18
		CV%	–	6.5	4.98	5.94	5.09	3.82	3.2
	Taille (µm)	Cristaux	–	1.875	2	1.375	1	10	10
		Agrégats	–	10.375	9	11	12.83	7.33	8
		Moyenne	–	6.125	5.5	6.18	6.915	8.66	9
		CV%	–	6.5	7.4	2.87	4.92	3.09	2.75
C2	Nbre	1287	1292	1359.5	1602.5	1740	1265	1287	

D'après le tableau 58, en présence de l'Origan 75%, on remarque la formation de cristaux et agrégats après 5 minutes de cristallisation. Le nombre total, atteint 28 à 20 minutes. La valeur maximale de la taille moyenne a été remarquée à la fin de cristallisation. La whewellite se présente en abondance et atteint une valeur maximale de 1602 cristaux à 15 minute de cristallisation.



**Figure 66 :** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 75% obtenu par la méthode de l'infusion.

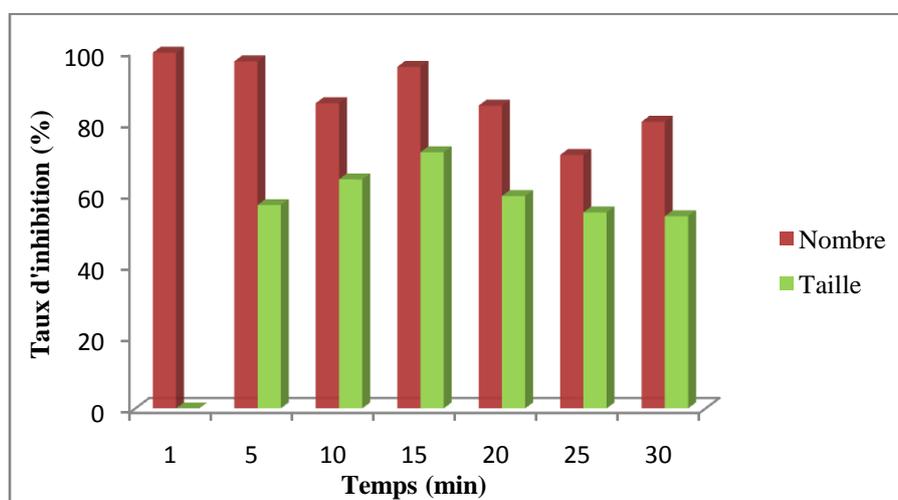
D'après les résultats consignés dans la figure 66, on constate une inhibition du nombre de cristaux très importante et cela durant toutes les phases de la cristallisation. Cette inhibition consiste à convertir la whewellite vers la weddellite ce qui explique la présence excessive de cristaux de weddellite. Alors on peut dire que l'origan 75% préparé par infusion agit fortement sur le nombre des cristaux et moyennement sur leur taille.

### I.B.2.2.3.En présence de l'Origan 100%

**Tableau 59** : Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 100% obtenu par la méthode de l'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	–	–	50	10	70	85	40
		Agrégats	2.66	18.66	16.66	8	20	15	16
		Total	2.66	18.66	66.66	18	45	100	56
		CV%	9.54	8.43	6.5	7.3	4.9	9.53	4.43
	Taille (µm)	Cristaux	–	–	1.5	2.33	2.75	1.75	2.25
		Agrégats	10	11.99	8.61	10.25	10.83	11.33	12.5
		Moyenne	5	5.99	5.05	6.29	6.79	6.54	7.37
		CV%	3.09	4.65	6.75	8.75	4.32	8.54	2.54
C2	Nbre	251.16	1766	1750	1201	1616.66	1795	1765	

D'après le tableau 59, l'origan 100% a fait retarder le temps d'apparition de cristaux à 10 minutes. Le nombre total de cristaux et agrégats atteint 100 à 25 minutes de cristallisation. En ce qui concerne la taille moyenne, une valeur maximale de 7.37 a été enregistrée à la fin de la cristallisation. Le nombre maximal des cristaux de weddellite a été remarqué à la 25<sup>ème</sup> minute. Ce qui indique le phénomène la conversion cristalline.



**Figure 67** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 100% obtenu par la méthode de l'infusion.

D'après la figure 67, l'origan 100% a un effet inhibiteur remarquable sur le nombre et la taille des cristaux. Le taux d'inhibition le plus élevé a été remarqué pour le nombre à la première minute (99.66%) et pour la taille à 15 minutes de cristallisation (71.73%)

**Tableau 60:** Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'origan préparé par la méthode de l'infusion

Concentration			<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>
Temps(min)									
10%	nombre		79.83	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille		0%	56.86%	36.57	73.59	70.56	44.82	60.06
25%	nombre		100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille		100%	68.54%	72.47%	84.83%	65.52%	58.79%	76.89%
50%	nombre		100%	60.99%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille		100%	59.16%	62.28%	79.23%	70.14%	67.24%	64.76%
75%	nombre		100%	96.83%	95.20%	96.59%	90.54%	94.96%	93.66%
	taille		100%	55.96%	60.93%	72.22%	58.74%	40.27%	43.57%
100%	nombre		99.60%	97.18%	85.47%	95.62%	84.79%	70.97%	80.28%
	taille		0%	56.93%	64.13%	71.73%	59.46%	54.89%	53.79%

Suite aux résultats affichés dans le tableau 60, on constate que les concentrations les plus élevées (75% et 100%) de l'origan préparé par infusion agit fortement sur le nombre des cristaux par rapport aux concentrations faibles dont on remarque un bon effet sur la germination mais dès la 5<sup>ème</sup> minute il perd totalement son effet inhibiteur. Par contre, l'origan agit moyennement sur la taille de cristaux et ceci sans différences entre les concentrations.

### I.B.1.3. L'origan extrait par la méthode de Soxhlet

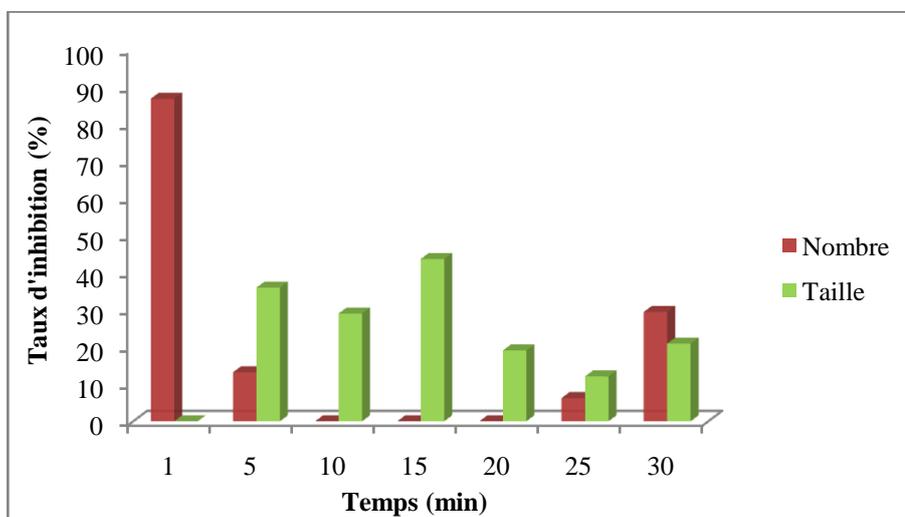
#### I.B.1.3.1. En présence de l'origan 10%

**Tableau 61:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 10% obtenu par la méthode de soxhlet.

Temps de cristallisation (min)			<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>
C1	Nbre	Cristaux	43	446.5	570	422.5	243	200	100
		Agrégats	46	130	188	132.5	157	123	100.5
		Total	<b>89</b>	<b>576.5</b>	<b>758</b>	<b>555</b>	<b>400</b>	<b>323</b>	<b>200.5</b>
		CV%	6.91	7.64	9.06	4.87	3.90	4.88	4.76
	Taille (µm)	Cristaux	2.5	3	2.5	3.25	2.75	2	1.75
		Agrégats	10	14.82	17.5	21.83	24.37	23.5	23.49
		Moyenne	<b>6.25</b>	<b>8.91</b>	<b>10</b>	<b>12.54</b>	<b>13.56</b>	<b>12.75</b>	<b>12.62</b>
		CV%	3.73	4.09	3.72	8.74	3.98	3.87	4.73
C2	Nbre	18.5	23	21	13	11	12	10	

D'après le tableau 61, le nombre total de cristaux et agrégats augmente de 89 au début de cristallisation à 758 après dix minutes de cristallisation. La taille moyenne s'élève au cours du temps pour atteindre sa valeur maximale de 13.65 à 20 minutes.

A cette concentration de 10% de l'origan extraite par soxhlet on constate une diminution du phénomène de conversion cristalline de la whewellite vers la weddellite et ceci suite à l'abaissement du nombre de weddellite au cours de la cristallisation.



**Figure 68:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 10% obtenu par la méthode de Soxhlet.

D'après la figure 68, on remarque que l'origan 10% préparé par soxhlet agit faiblement sur le nombre total des cristaux et des agrégats. Le taux d'inhibition le plus élevé a été remarqué à la première minute (86.75%). Quand à la taille, l'inhibition varie de 0 à 43.64%.

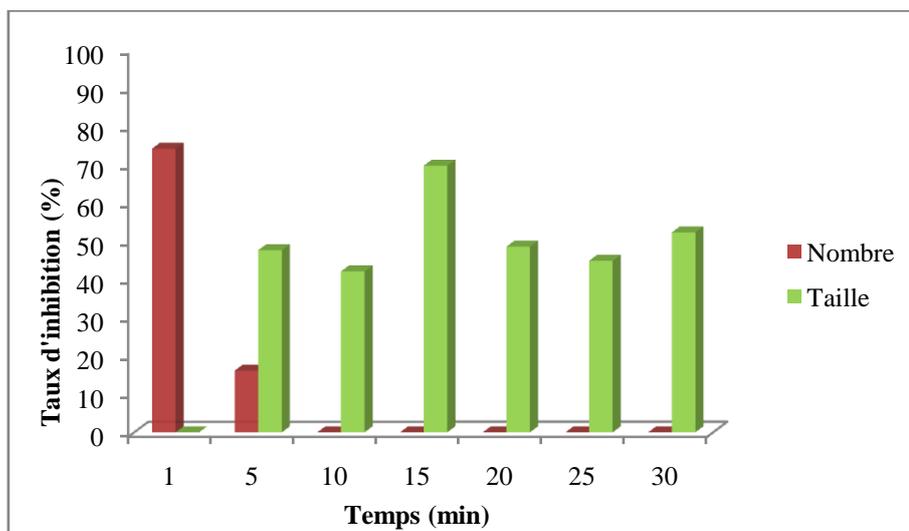
### I.B.1.3.2. En présence de l'origan 25%

**Tableau 62:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 25% obtenu par la méthode de soxhlet.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	129	345	456	333	298	290	212
		Agrégats	45	212	237	190.25	214	111.5	100
		Total	174	557	693	523.25	512	401.5	312
		CV%	9.63	5.43	8.7	3.5	3.32	6.54	9.32
	Taille (µm)	Cristaux	0.12	2.25	3.33	3	3	2	1.12
		Agrégats	10	12.33	13	10.5	14.25	14	14.12
		Moyenne	5.06	7.29	8.16	6.75	8.62	8	7.62
		CV%	8.64	5.63	4.83	4.64	2.93	4.32	10.51
C2	Nbre	23	16	8	12	6	10	3	

D'après les résultats regroupés dans le tableau 62, le nombre total des cristaux et agrégats atteint 693 après dix minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint 8.62µm à 20 minutes. Le nombre de cristaux de weddellite maximale a été enregistré au début de la cristallisation (23 cristaux), cette valeur diminue à 3 à la fin de la cristallisation. On déduit

que l'origan 25% préparé par soxhlet n'a pas provoqué la conversion de whewellite à la weddellite.



**Figure 69** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 25% obtenu par la méthode de Soxhlet.

Selon la figure 69, l'origan 25% préparé par soxhlet montre une inhibition importante sur le nombre de cristaux avec un taux de 74.10% à la première minute de cristallisation.

A 5 minutes, le taux d'inhibition diminue à 16% et dès la 10<sup>ème</sup> minute, l'origan ne montre aucun effet inhibiteur sur le nombre. Pour la taille, le taux d'inhibition varie entre 0 et 69% au tant que meilleur pouvoir inhibiteur.

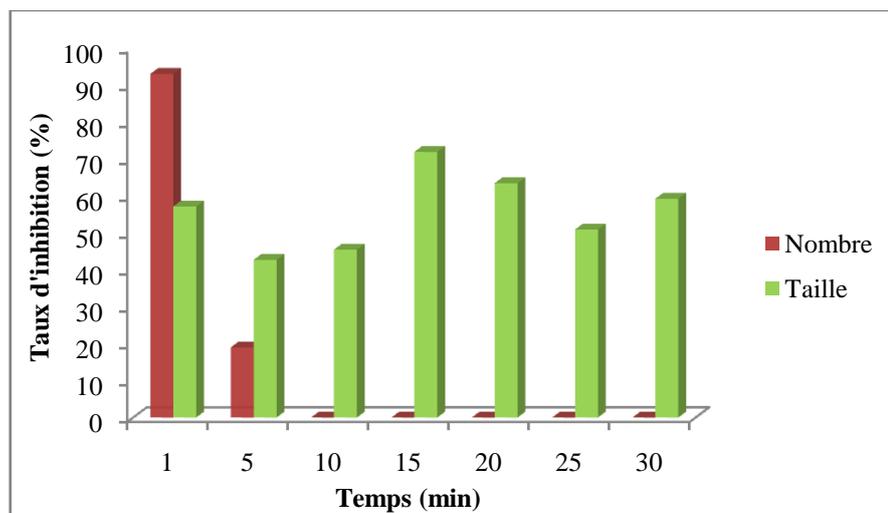
### I.B.1.3.3. En présence de l'origan 50%

**Tableau 63** : Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 50% obtenu par la méthode de soxhlet.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	47	440	523	637	500	430	212
		Agrégats	0	98	178	187.5	200.25	123	120
		Total	47	538	701	824.5	700.25	553	332
		CV%	9.61	7.65	7.43	2.94	6.64	5.74	8.76
	Taille (µm)	Cristaux	0.75	3.25	2.12	1.75	0.75	1.75	2
		Agrégats	—	12.33	13.25	10.75	11.5	12.5	11
		Moyenne	0.375	7.97	7.68	6.25	6.12	7.12	6.5
		CV%	7.42	4.93	10.33	5.64	7.54	6.33	7.55
C2	Nbre	68	220	198.5	112	78	70.25	65	

En présence de l'origan 50%, le nombre total de cristaux et agrégat atteint sa valeur maximale de 824.5 à 15 minutes de cristallisation. Pour la taille moyenne, la valeur

maximale était 7.97  $\mu\text{m}$  à 5 minutes de cristallisation. Le nombre de whewellite évolue au cours du temps et sa valeur maximale a été enregistrée à 5 minutes. (voir tableau 63)



**Figure 70:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 50% obtenu par la méthode de Soxhlet.

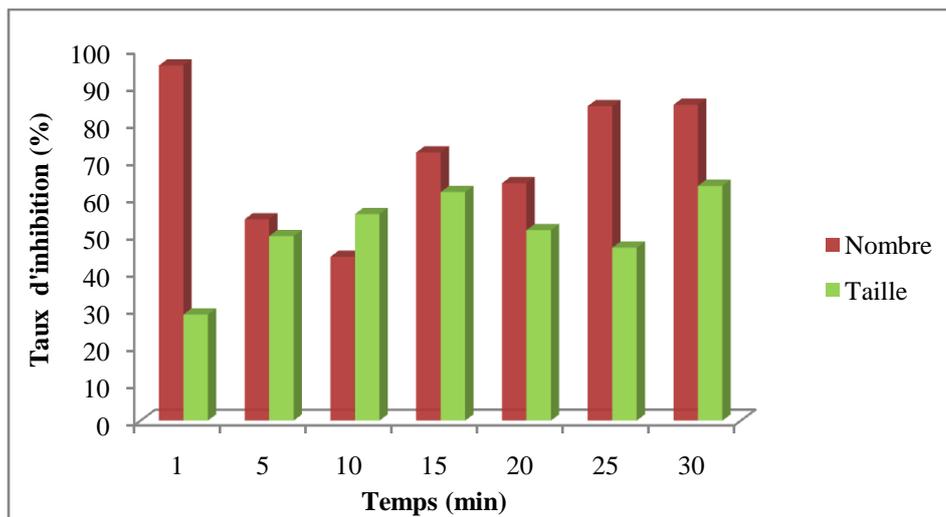
D'après la figure 70, on remarque que l'origan 50% a un effet inhibiteur important sur la taille des cristaux et des agrégats de whewellite. Le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré à 15 minutes de cristallisation (71.91%). Concernant le nombre, l'origan présente un effet inhibiteur dès la première minute mais il perd son effet totalement après 10 minutes de cristallisation.

#### I.B.1.3.4. En présence de l'origan 75%

**Tableau 64:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 75% obtenu par la méthode de soxhlet.

Temps de cristallisation (min)		1	5	10	15	20	25	30	
C1	Nbre	Cristaux	29.5	223	193.5	43	53	21	20.5
		Agrégats	0	81	63	71.25	53.75	31.75	22
		Total	29.5	304	256.5	114.25	106.75	52.75	42.5
		CV%	7.54	3.2	8.43	9.63	3.32	9.54	6.56
	Taille ( $\mu\text{m}$ )	Cristaux	1.25	1	2	2.12	2	2	2
		Agrégats	—	13	10.5	15	14.33	13.5	9.75
		Moyenne	0.625	7	6.25	8.56	8.16	7.75	5.87
		CV%	5.43	8.32	8.43	5.64	7.54	7.64	5.43
C2	Nbre	156	132	98	76	111	54	67	

Pour une concentration de 75% de l'origan, le nombre total atteint sa valeur maximale de 304, à 5 minutes de cristallisation. La taille moyenne augmente en fonction du temps et atteint 8.56 comme valeur maximale à 20 minutes de cristallisation. En plus d'une conversion cristalline suite à la présence de whewellite. (voir tableau 64)



**Figure 71** : Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 75% obtenu par la méthode de Soxhlet.

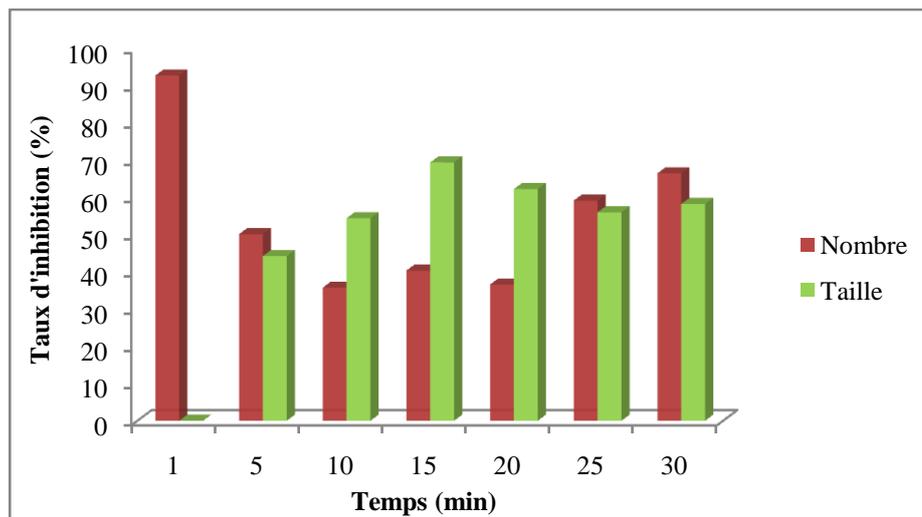
D'après la figure 71, pour une concentration de 75%, l'origan montre un effet inhibiteur important sur le nombre des cristaux et des agrégats. Le pouvoir d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la première minute de cristallisation avec un taux de 95.61%. Pour la taille, l'origan a aussi montré son action inhibitrice qui varie de 28.57% au début de la cristallisation à 63.19% à la fin de cristallisation.

#### I.B.1.3.5. En présence de l'origan 100%

**Tableau 65** : Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de wewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait de l'Origan 100% obtenu par la méthode de soxhlet.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	45	132	191.75	145	99.75	86.5	51
		Agrégats	3	198.75	103	100	87.83	54	44
		Total	48	330.75	294.75	245	187.58	140.5	95
		CV%	8.34	6.43	9.32	5.43	6.75	7.53	5.43
	Taille (µm)	Cristaux	0.75	3.25	2.5	2.25	2.12	1.75	1.12
		Agrégats	8.5	12.25	10.33	11.33	10.5	11	12
		Moyenne	4.62	7.75	6.41	6.79	6.31	6.37	6.56
		CV%	7.43	4.42	5.82	10.33	5.73	8.32	6.73
C2	Nbre	143	180	111	99	99.5	70	67.25	

D'après le tableau 65, Pour 100% de l'origan préparé par soxhlet, le nombre total de cristaux et agrégats atteint 330.75 après 5 minutes de cristallisation. La taille moyenne était de 7.75µm à cinq minutes de cristallisation.



**Figure 72:** Taux d'inhibition du nombre et taille des cristaux de whewellite en présence de l'origan 100% obtenu par la méthode de Soxhlet.

Selon la figure 72, on peut dire que l'origan 100% agit d'une façon générale sur le nombre comme la taille avec des taux qui varient entre 35% à 92% pour le nombre et 0% à 69% pour la taille.

**Tableau 66:** Comparaison entre les taux d'inhibitions des différentes concentrations de l'Origan extrait par la méthode de soxhlet.

La Concentration (%) \ Temps (min)		1	5	10	15	20	25	30
		<b>10%</b>	nombre	86.75%	13.17%	0%	0%	0%
	taille	0%	35.94%	28.97%	43.64%	19.04%	12.06%	20.87%
<b>25%</b>	nombre	74.10%	16.11%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	0%	47.59%	42.04%	69.66%	48.50%	44.82%	52.22%
<b>50%</b>	nombre	93.05%	18.97%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	57.14%	42.70%	45.45%	71.91%	63.46%	50.89%	59.24%
<b>75%</b>	nombre	95.61%	54.21%	44.11%	72.20%	63.93%	84.68%	85.03%
	taille	28.57%	49.67%	55.61%	61.52%	51.28%	46.55%	63.19%
<b>100%</b>	nombre	92.85%	50.18%	35.78%	40.38%	36.62%	59.21%	66.54%
	taille	0%	44.28%	54.47%	69.48%	62.32%	56.06%	58.30%

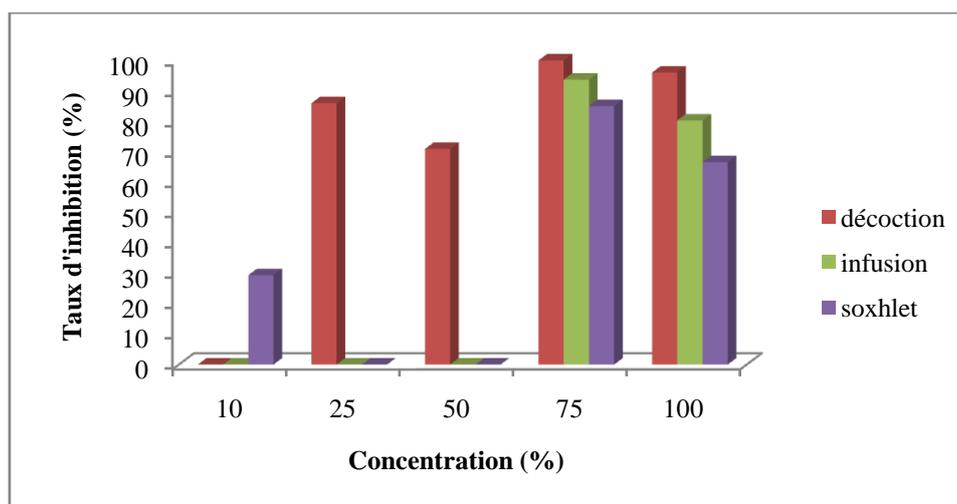
Suite aux résultats consignés dans le tableau 66, on constate que les concentrations les plus élevées sont toujours plus efficaces dans l'élimination des cristaux et des agrégats par rapport aux faibles concentrations et ceci pour le nombre comme pour la taille de whewellite formés lors de la cristallisation.

Afin de connaître la fiabilité des modes d'extraction utilisés dans notre travail, nous avons conçu à une étude comparative suite aux résultats obtenus des concentrations

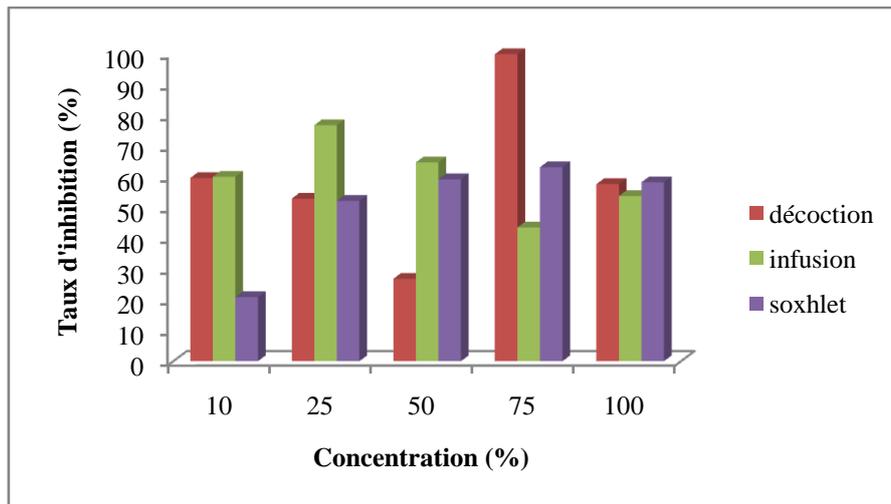
utilisées et des pouvoir inhibiteurs enregistrés à la fin de la cristallisation des oxalate de calcium monohydraté (whewellie).

**Tableau 67:** Taux d'inhibition de différents modes d'extraction de l'origan dans les différentes concentrations à la fin de la cristallisation.

Concentration (%)		10	25	50	75	100
Décoction	Nombre	656.66	40	82.66	0	11.33
	P.I (%)	0	85.91	70.89	100	96.01
	Taille (µm)	9.52	7.5	11.67	0	6.75
	P.I (%)	59.68	52.97	26.83	100	57.68
Infusion	Nombre	485.5	3182	1365	18	56
	P.I (%)	0	0	0	93.66%	80.28%
	Taille (µm)	6.37	3.68	5.62	9	7.37
	P.I(%)	60.06	76.89%	64.76	43.57%	53.79%
Soxhlet	Nombre	200.5	312	332	42.5	95
	P.I (%)	29.40	0	0	85.03	66.54
	Taille (µm)	12.62	7.62	6.5	5.87	6.56
	P.I (%)	20.87	52.22	59.24	63.19	58.30

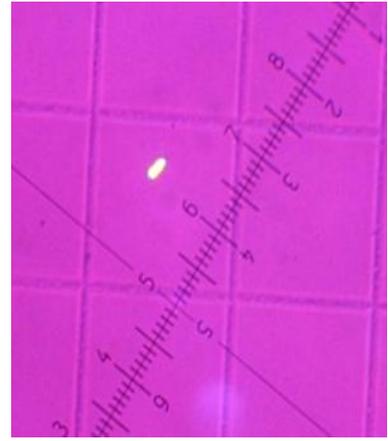
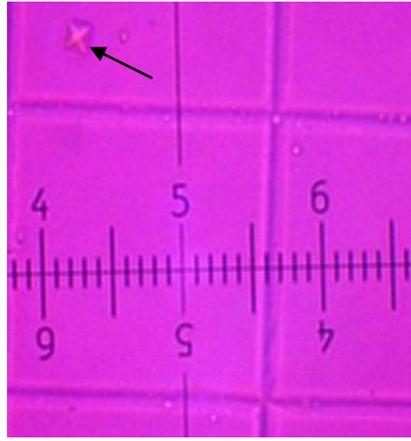


**Figure 73 :** Comparaison entre les trois modes d'extraction de l'Origan concernant le nombre des cristaux de whewellite à la fin de la cristallisation

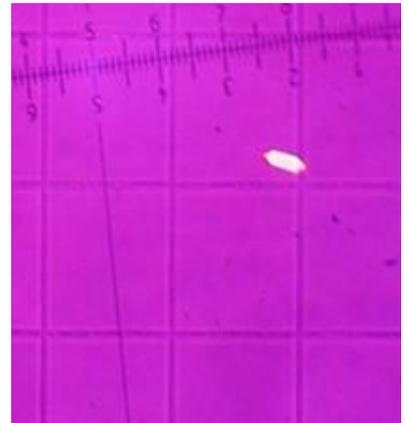
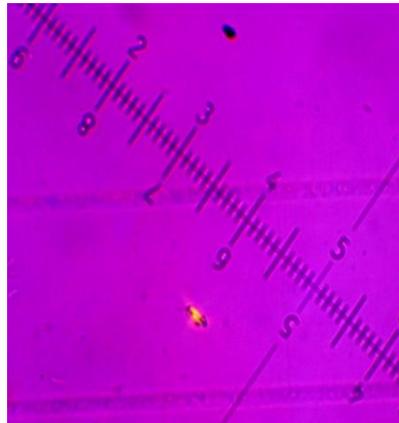
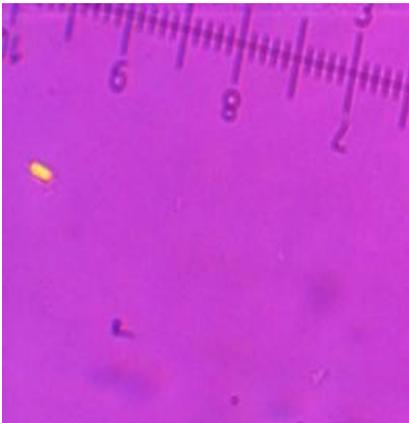


**Figure 74 :** Comparaison entre les trois modes d'extraction de l'Origan concernant la taille des cristaux de whewellite à la fin de la cristallisation

D'après le tableau 67 et les figures 73 et 74, on remarque que pour les concentrations les plus élevés (75% et 100%) la décoction semble être la meilleure méthode d'extraction de l'origan, suivi par l'infusion et soxhlet contrairement aux faibles concentrations (10% et 25%) où l'inhibition est presque nulle ceci est pour le nombre. Concernant l'effet inhibiteur de l'origan sur la taille on constate que les trois modes agissent de la même façon avec une perturbation des taux d'inhibition qui se diffère d'une concentration à une autre.



**Photo 34 :** [org]=75% décoc à 1min    **Photo 35=** [org]=75% infus à 1 min    **Photo 36 :** [org]=75% soxh à 1min



**Photo 37 :** [org]=25% décoc à 1 min    **Photo 38 :** [org]=25% infus à 1 min    **Photo 39 :** [org]=25% soxh à 1 min

[org]=75% décoc à 1min : En présence de l'organ 75% préparé par décoction à 1 minute de cristallisation

[org]=75% infus à 1 min : En présence de l'organ 75% préparé par infusion, à 1 minute de cristallisation.

[org]=75% soxh à 1min : En présence de l'organ 75% préparé par soxhlet, à 1 minute de cristallisation.

[org]=25% décoc à 1 min : En présence de l'organ 25% préparé par décoction à 1 minute de cristallisation.

[org]=25% infus à 1 min : En présence de l'organ 25% préparé par infusion, à 1 minute de cristallisation.

[org]=25% soxh à 1 min : En présence de l'organ 75% préparé par soxhlet, à 1 minute de cristallisation

La flèche sur les photos 34 et 35 indique la présence de la weddellite (oxalate de calcium dihydraté) issue de la conversion de la whewellite suite à la présence de l'organ comme inhibiteur.

## I.B.2.Effet de Gingembre

Les résultats obtenus en présence de Gingembre préparé par trois modes d'extraction (Décoction, infusion, soxhlet), sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

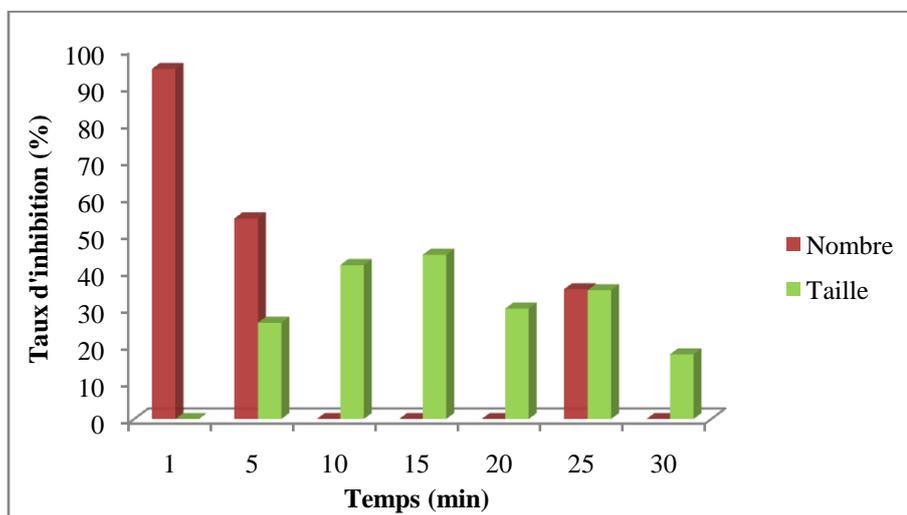
### I.B.2.1.Gingembre préparé par décoction

#### I.B.2.1.1.En présence de 10% de gingembre

**Tableau 68** : Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 10% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	30	176	450	344.5	287	120	534
		Agrégats	6	128	231	120	69	103.6	64
		Total	36	304	681	464.5	356	223.6	598
		CV%	9.32	6.64	8.76	2.83	7.43	8.32	7.21
	Taille (µm)	Cristaux	2.33	3.33	1.125	4.5	2.5	2.25	4.33
		Agrégats	10	17.25	15.33	20.25	21	16.66	22
		Moyenne	6.12	10.29	8.22	12.37	11.75	9.45	13.16
		CV%	12.32	5.84	2.83	7.65	9.83	6.04	6.53
C2	Nbre	4	22	16	28	30	11	9	

Selon le tableau 68, à 10% de gingembre extrait par décoction, le nombre total de cristaux et agrégats atteint 681 à dix minutes de cristallisation. La taille moyenne maximale a été enregistrée à la fin de cristallisation (13.16µm). On remarque aussi la formation d'un nombre très réduit de cristaux de weddellite pendant toute la période de cristallisation.



**Figure 75** : Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 10% obtenu par la méthode de décoction.

D'après la figure 75 on remarque que le gingembre 10% inhibe la formation de cristaux au début de cristallisation avec un taux de 94.64%. Ce pourcentage d'inhibition diminue à 54.21% à 5 minutes. Dès 10 minutes, le gingembre perd son effet inhibiteur jusqu'à la 25<sup>ème</sup> minute ou l'effet est réapparu de nouveau avec un taux de 35.09%. Pour la taille, le taux

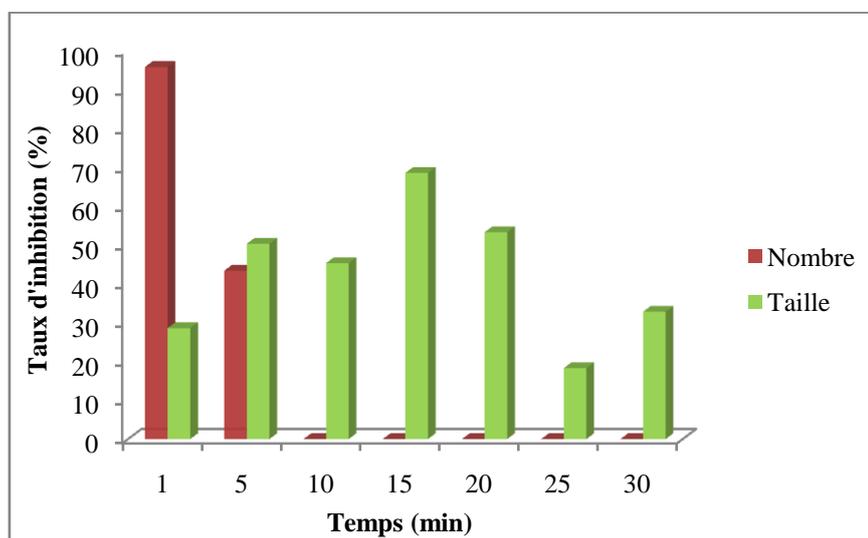
d'inhibition varie de 0 au début de cristallisation à 44.40% comme valeur maximale à 15 minutes de cristallisation.

### I.B.2.1.2. En présence de 25% de gingembre

**Tableau 69** : Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 25% obtenu par la méthode de décoction

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	28	256	340	433.5	265	198.25	200
		Agrégats	0	120	166.5	120	133	170.33	98.33
		Total	28	376	506.5	553.5	398	368.58	298.5
		CV%	6.32	9.32	5.41	7.82	6.84	10.22	11.54
	Taille (µm)	Cristaux	1.25	2.5	3.75	4.5	3.33	3.2	2.125
		Agrégats	—	11.33	11.66	9.5	12.33	20.5	19.33
		Moyenne	0.625	6.91	7.70	7	7.83	11.85	10.72
		CV%	4.92	9.52	9.31	5.93	3.93	8.53	4.63
C2	Nbre	12.33	24.12	30.33	28	13	15.55	25	

D'après les résultats obtenus pour la concentration 25% de gingembre préparé par décoction, affichés dans le tableau 69, on remarque l'absence des agrégats au début de la cristallisation et le nombre total maximal a été enregistré à 15 minutes de cristallisation. On remarque aussi que le nombre de whewellite formés ne dépasse pas 28 cristaux à 15 minutes.



**Figure 76**: Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 25% obtenu par la méthode de décoction.

Le taux d'inhibition du nombre de cristaux atteint 95.83% au début de la cristallisation et diminue à 43.37% après 5 minutes (figure 76). Au reste du temps, le gingembre ne montre

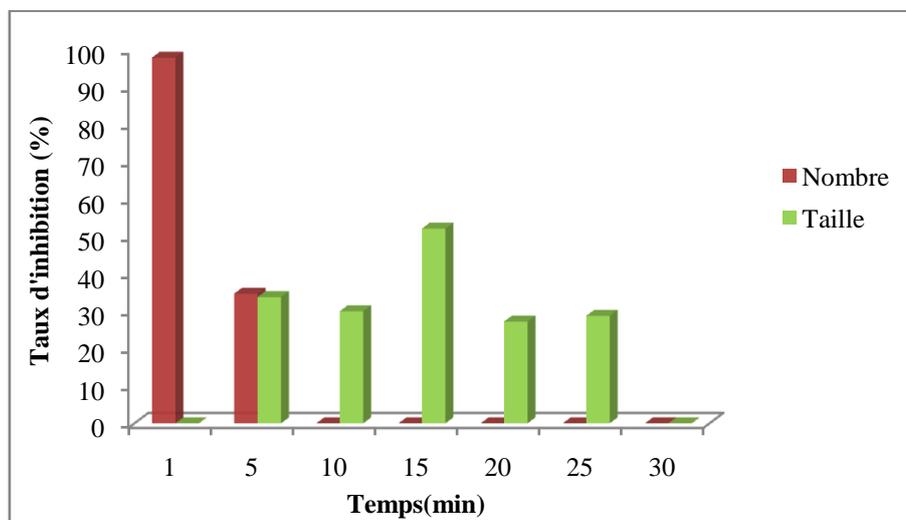
aucun effet inhibiteur sur le nombre de cristaux. Concernant la taille, le pourcentage d'inhibition varie de 18.27 à 68.53%.

### I.B.2.1.3. En présence de 50% de gingembre

**Tableau 70 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 50% obtenu par la méthode de décoction

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	14	319.67	437.5	290	380	239	256
		Agrégats	0.66	114	155.33	134.66	136	160.67	66
		Total	14.66	433.67	592.83	424.66	516	399.67	322
		CV%	6.43	2.98	8.94	5.64	3.02	5.92	8.94
	Taille (µm)	Cristaux	2	3.88	3.72	4.17	3.5	3.33	2.25
		Agrégats	6	14.55	16	17.16	20.88	17.33	40.4
		Moyenne	4	9.215	9.86	10.66	12.19	10.33	21.32
		CV%	6.27	4.92	6.02	9.62	10.83	4.91	9.76
C2	Nbre	3.33	27	58.67	43	15.67	24	11	

D'après le tableau 70, pour 50% de concentration en gingembre, le nombre total de cristaux atteint 592.83 à dix minutes et la taille moyenne atteint 21.32µm à la fin de cristallisation. On note aussi la présence de cristaux de weddellite.



**Figure 77 :** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 50% obtenu par la méthode de décoction.

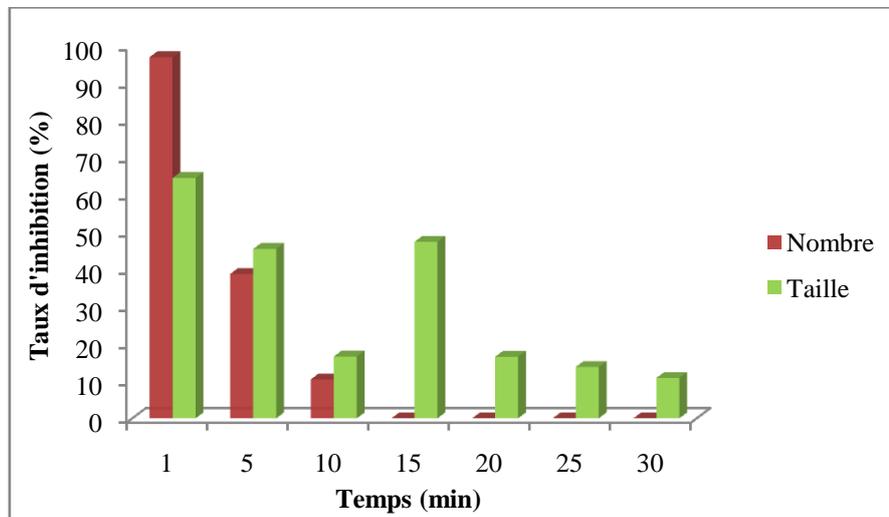
D'après la figure 77, on remarque que le gingembre 50% a inhibé les cristaux de whewellite avec un taux de 97.81% à la première minute de cristallisation et 34.68% à 5 minutes. Alors à 10 minutes jusqu'à la fin de la cristallisation le gingembre 50% perd son pouvoir inhibiteur sur le nombre des cristaux ce qui indique que cet inhibiteur a un effet sur la nucléation. L'effet du gingembre 50% sur la taille est manifesté dès la 5<sup>ème</sup> minute jusqu'à 25 minutes.

#### I.B.2.1.4. En présence de 75% de gingembre

**Tableau 71 :** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 75% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	20	300.5	265	325	266.66	285	184
		Agrégats	0	106	146	273	180.67	130	238
		Total	20	406.5	411	598	447.33	415	422
		CV%	6.74	5.83	8.92	2.93	9.84	7.84	7.84
	Taille (µm)	Cristaux	0.625	4.25	4.16	5	3.88	4.25	4.33
		Agrégats	—	10.91	19.33	18.41	24.08	20.75	24.125
		Moyenne	0.31	7.58	11.74	11.70	13.98	12.5	14.22
		CV%	4.83	9.83	8.64	5.84	9.84	8.44	6.74
C2	Nbre	0	153.33	147.33	150	100	33.33	77	

Selon les résultats regroupés dans le tableau 71, Le gingembre à 75% de concentration a fait retarder le temps d'apparition des agrégats à 5 minutes de cristallisation. Le nombre total atteint 598 à 15 minutes et la taille moyenne augmente de 0.31µm au début de la cristallisation à 14.22µm à la fin. On remarque l'absence de cristaux de weddellite au début de cristallisation, après cinq minutes, 153.33 cristaux de weddellite a été formés. Cette valeur diminue à 77 à la fin de cristallisation.



**Figure 78:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 75% obtenu par la méthode de décoction.

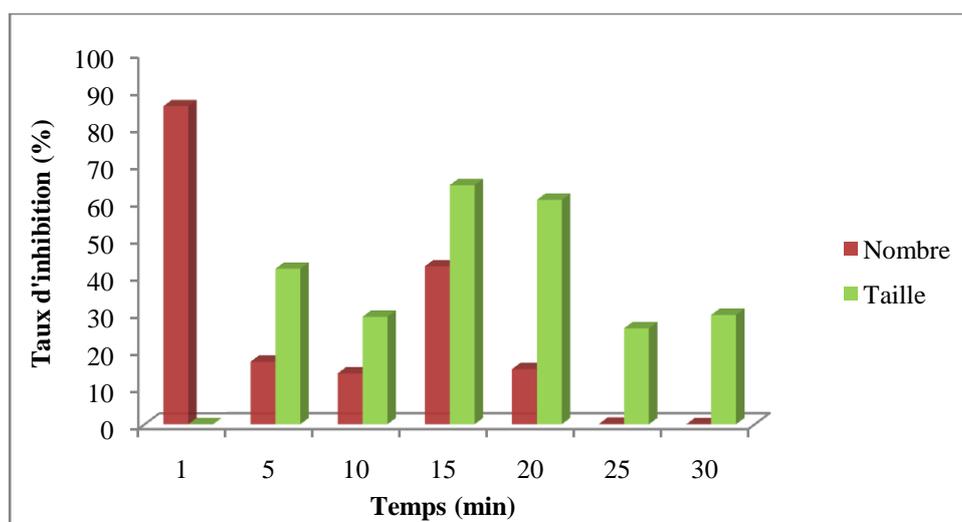
D'après les résultats des taux d'inhibition affichés dans la figure 78, on constate toujours que le gingembre même à la concentration 75% inhibe fortement la germination des cristaux de whewellite alors que sur la phase de croissance et agrégation son effet est nul.

### I.2.1.5. En présence de 100% de gingembre

**Tableau 72:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 100% obtenu par la méthode de décoction.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	96	278	148	54	87	144	78
		Agrégats	0	274	248	182	165	200	280
		Total	96	552	396	236	252	344	358
		CV%	7.53	8.93	3.01	8.73	4.92	8.92	4.02
	Taille (µm)	Cristaux	2	3.5	3	2.5	1.75	1.5	3
		Agrégats	—	12.66	17	13.33	11.5	20	19.5
		Moyenne	1	8.08	10	7.91	6.62	10.75	11.25
		CV%	8.7	7.84	9.83	4.93	2.02	4.84	6.75
C2	Nbre	550	204	206	86	188	298	36	

Selon le tableau 72, le gingembre à 100 % de concentration a fait retarder le temps d'apparition des agrégats à 5 minutes de la cristallisation. Le nombre total atteint 552 à 5 minutes et la taille moyenne augmente de 1µm au début de la cristallisation à 11.25µm à 30 minutes. On remarque toujours la présence de cristaux de whewellite .



**Figure 79 :** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 100% obtenu par la méthode de décoction.

D'après figure 79, le gingembre 100% a un effet remarquable sur le nombre et la taille des cristaux. Pour le nombre, l'effet inhibiteur le plus important a été remarqué à la première minute de la cristallisation avec un taux de 85.71%. Pour la taille, le taux le plus élevé était 64.44% à la 15<sup>ème</sup> minute.

**Tableau 73:** Comparaison entre les taux d'inhibitions de différentes concentrations du gingembre extrait par la méthode de décoction.

Concentration (%) / Temps (min)		1	5	10	15	20	25	30
<b>10%</b>	nombre	94.64%	54.21%	0%	0%	0%	35.09%	0%
	taille	0%	26.02%	41.61%	44.40%	29.85%	34.82%	17.49%
<b>25%</b>	nombre	95.83%	43.37%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	28.57%	50.32%	45.31%	68.53%	53.25%	18.27%	32.78%
<b>50%</b>	nombre	97.81%	34.68%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	0%	33.78%	29.97%	52.08%	27.22%	28.75%	0%
<b>75%</b>	nombre	97.02%	38.78%	10.45%	0%	0%	0%	0%
	taille	64.57%	45.50%	16.61%	47.41%	16.53%	13.79%	10.84%
<b>100%</b>	nombre	85.71%	16.86%	13.72%	42.57%	14.86%	0.14%	0%
	taille	0%	41.91%	28.97%	64.44%	60.47%	25.86%	29.46%

Toutes les concentrations agissent fortement sur la phase de germination où le taux d'inhibition se varie entre 85% et 97% ; La meilleure concentration qui inhibe bien les cristaux de whewellite presque pendant toute la période de la cristallisation était la concentration 100% alors que pour la taille la concentration 75% était meilleure par rapport aux autres concentrations.

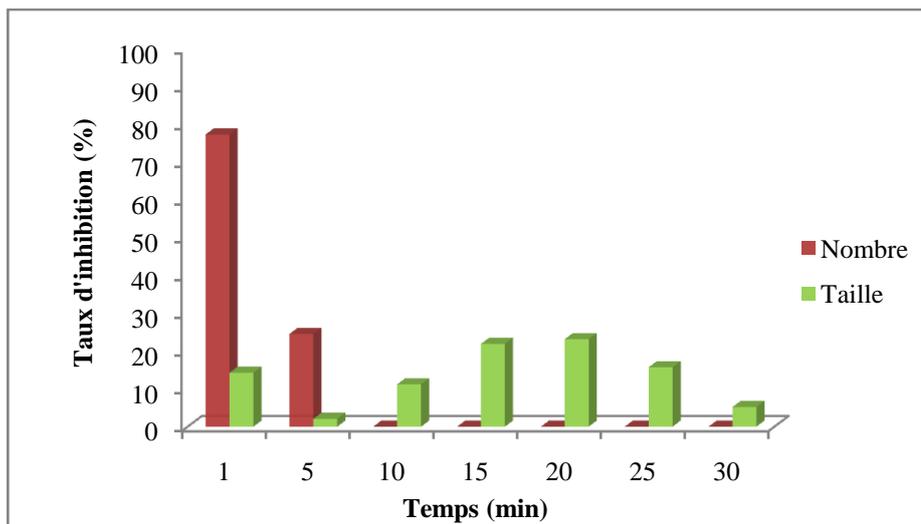
### I.B.2.2. Gingembre préparé par infusion

#### I.B.2.2.1. En présence du gingembre 10%

**Tableau 74:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 10% obtenu par la méthode de L'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	152	434	298.5	302	199.5	120	89
		Agrégats	0	67	223	320	120	340.5	210
		Total	152	501	521.5	622	319.5	460.5	299
		CV%	6.73	8.53	2.98	5.64	8.74	5.94	9.8
	Taille (µm)	Cristaux	1.5	4.25	3.75	4	3.12	4.12	4
		Agrégats	—	23	21.25	30.75	22.75	20.33	26.25
		Moyenne	0.75	13.62	12.5	17.37	12.87	12.22	15.12
		CV%	9.71	7.43	4.02	4.93	6.74	8.72	9.54
C2	Nbre	20	12.5	10	0	6	8.75	13	

On remarque d'après le tableau 74, à 10%, le gingembre a fait retarder l'apparition d'agrégats à 5 minutes de la cristallisation. Le nombre total de cristaux et des agrégats atteint 622 à 15 minutes, à la même minute, la taille moyenne était de 17.37 µm. On a enregistré un nombre réduit de cristaux de weddellite.



**Figure 80:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 10% obtenu par la méthode de l'infusion.

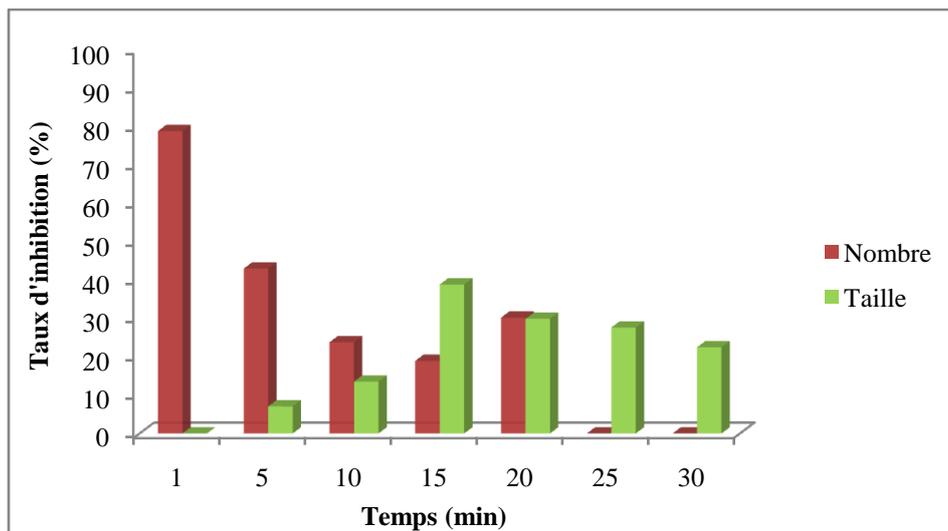
D'après la figure 80, on remarque que pour le nombre, le gingembre 10% agit sur la phase de germination dont il atteint 77.38% à la première minute. Pour la taille le gingembre 10% montre un effet très faible pendant toute la période de la cristallisation avec des taux d'inhibition qui varie de 2.08% à 23.16%.

#### I.B.2.2.2. En présence de gingembre 25%

**Tableau 75:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 25% obtenu par la méthode de L'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	143	291	230	200.5	120	98.5	76
		Agrégats	0	88	120	132.75	86.75	321	173
		Total	143	379	350	333.25	206.75	419.5	249
		CV%	6.98	10.32	8.93	7.63	9.02	10.7	7.62
	Taille (µm)	Cristaux	2	3.75	3.12	2.25	3.75	4	2.75
		Agrégats	—	22.12	21.25	25	19.75	17	22
		Moyenne	1	12.93	12.18	13.62	11.75	10.5	12.37
		CV%	4.32	4.98	6.31	7.63	9.01	10.32	5.63
C2	Nbre	16	15	7	33	45	14.5	46	

Selon le tableau 75, pour une concentration de 25% de gingembre en infusion, on remarque l'absence d'agrégats à la première minute de cristallisation. A cinq minutes, la formation de celles ci a commencé. Le nombre total des cristaux et des agrégats atteint 419 à 25 minutes de cristallisation. La taille moyenne augmente de 1µm au début de cristallisation à 13.62µm comme valeur maximale à 15 minutes. On constate la formation d'un nombre réduit de cristaux de whewellite qui donne signe de conversion cristalline.



**Figure 81:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 25% préparé par la méthode de l'infusion.

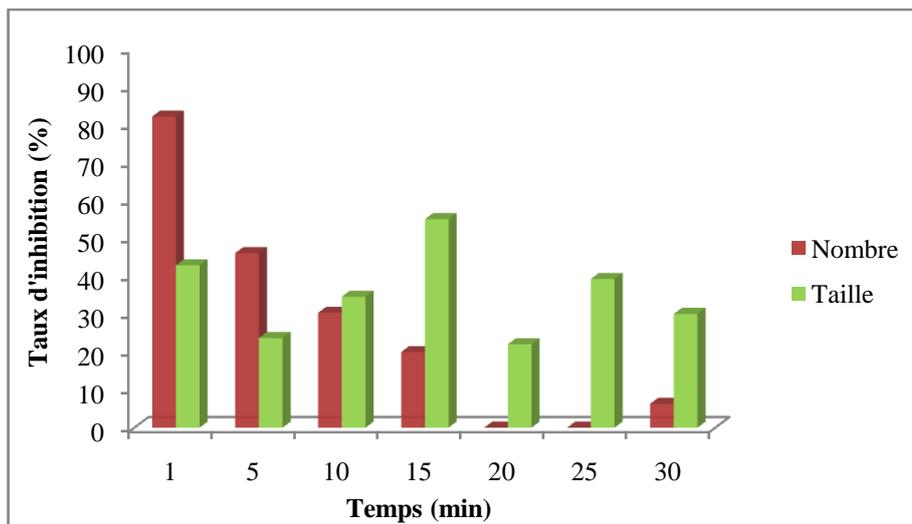
D'après la figure 81, le gingembre 25% en infusion montre un effet inhibiteur sur le nombre des cristaux. Le taux d'inhibition le plus élevé pour le nombre a été enregistré à la première minute de cristallisation (78.72%), l'inhibition diminue fur à mesure le temps et dès la 25<sup>ème</sup> minute le taux d'inhibition devenu nul. Par contre, l'inhibition des taille la lus élevée a été enregistrée à 15 minutes avec un taux de 38.78%.

#### I.B.2.2.3. En présence de gingembre 50 %

**Tableau 76:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 50% obtenu par la méthode de L'infusion.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	120	181.33	210	179.5	161	126.75	166.12
		Agrégats	0	177	109.75	149.5	150	275	100
		Total	120	358	319.75	329	311	401.75	266.12
		CV%	8.94	3.02	7.84	6.83	5.64	8.94	9.64
	Taille (µm)	Cristaux	1	2.5	2.75	2	3.12	1.12	2.33
		Agrégats	—	18.75	15.67	18	23	16.5	20
		Moyenne	0.5	10.62	9.21	10	13.06	8.81	11.16
		CV%	2.43	7.8	9.02	6.51	4.09	2.91	6.14
C2	Nbre	23	29.5	38	33.33	50	43.75	55	

D'après les résultats affichés dans le tableau 76, Pour une concentration de 50% de gingembre préparé par infusion, le temps de formation des agrégats a été retardé à 5 minutes. Le nombre total atteint 401.75 à 25 minutes, et la taille moyenne atteint 13µm à 20 minutes. Le nombre de weddellite formé augmente fur à mesure le temps de cristallisation.



**Figure 82:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 50% obtenu par la méthode de l'infusion.

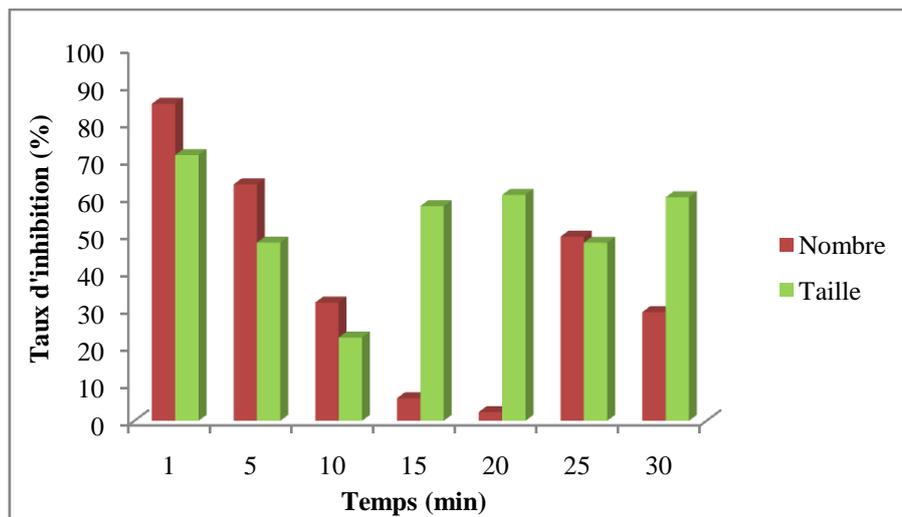
D'après la figure 82, l'effet inhibiteur du gingembre 50% en infusion sur le nombre et la taille est remarquable. Le taux le plus élevé a été enregistré à la première minute (82.14%) et ceci pour le nombre. Quant à la taille le taux d'inhibition atteint une valeur maximale de 55.05% à 15 minutes.

#### I.B.2.2.4. En présence de gingembre 75%

**Tableau 77:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 75% obtenu par infusion

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	99.5	122.12	224	298	193	74	104
		Agrégats	0	120	89	88	96	100	97
		Total	99.5	242.12	313	386	289	174	201
		CV%	6.74	3.93	8.94	4.02	5.84	9.83	6.22
	Taille (µm)	Cristaux	0.5	1	2.12	3.33	1.5	2.12	0.75
		Agrégats	—	13.5	19.75	15.5	11.67	13	12
		Moyenne	0.25	7.25	10.93	9.41	6.58	7.56	6.37
		CV%	5.94	7.94	7.84	9.02	4.92	6.84	6.94
C2	Nbre	40	35	67	45	56	40.5	36.12	

D'après le tableau 77, pour une concentration de 75% de gingembre, on remarque que le gingembre a fait retarder le temps d'apparition d'agrégats à 5 minutes. Le nombre total des cristaux et agrégats atteint 386 à 15 minutes de cristallisation et la taille moyenne était de 10.93µm à dix minutes. On constate toujours une formation de cristaux de wheddellite pendant toute la période de la cristallisation.



**Figure 83:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 75% préparé par la méthode de l'infusion.

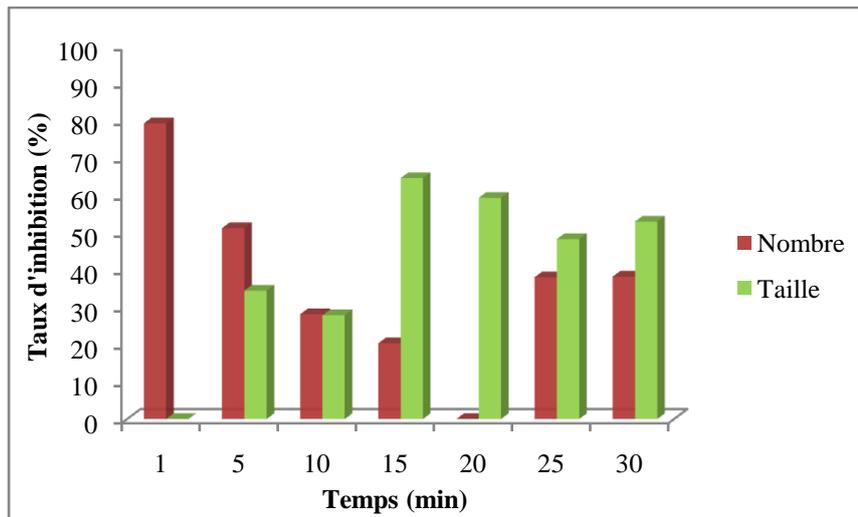
Suite aux résultats consignés dans la figure 83, on remarque que le gingembre 75% a un effet inhibiteur important qui atteint son maximum avec un taux de 85.19% pour le nombre et 71.42% pour la taille, à la première minute de cristallisation.

#### I.B.2.2.5. En présence de gingembre 100%

**Tableau 78:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 100% obtenu par la méthode de l'infusion.

Temps de cristallisation (min)		1	5	10	15	20	25	30
Nombre	cristaux	139	204	177	237	200	111.5	97.5
	agrégats	_	120	153	90.5	100	102	78
	Total	139	324	330	327.5	300	213.5	175.5
	CV%	7.42	8.11	10.34	4.61	8.94	9.02	11.23
Taille (µm)	cristaux	2	1.5	2.33	3.33	3.12	2.5	2
	agrégats	_	16.75	18	12.41	10.5	12.5	13
	Moyenne	1	9.12	10.16	7.87	6.81	7.5	7.5
	CV%	4.64	8.94	6.83	9.93	4.72	4.28	8.94
C2	Nombre	28.67	31	71.5	43	50.33	45	56

Le gingembre 100% en infusion a fait retarder le temps d'apparition d'agrégats à 5 minutes de cristallisation, mais le nombre atteint son maximum à 10 minutes de cristallisation en plus d'une conversion cristalline de whewellite vers la weddellite (tableau 78).



**Figure 84:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 100% préparé par la méthode de l'infusion.

D'après la figure 84, on remarque que le gingembre 100% en infusion montre un effet inhibiteur sur le nombre et la taille. Le taux d'inhibition le plus élevé pour le nombre a été enregistré à la première minute de cristallisation (79.31%). A la même minute le gingembre n'a aucun effet inhibiteur sur la taille. Le taux d'inhibition le plus élevé de la taille a été enregistré à 15 minutes de cristallisation.

**Tableau 79 :** Comparaison entre les taux d'inhibitions des différentes concentrations du gingembre extrait par la méthode de l'infusion.

Concentration (%) Temps (min)		1	5	10	15	20	25	30
		<b>10%</b>	nombre	77.38%	24.54%	0%	0%	0%
	taille	14.28%	2.08%	11.22%	21.93%	23.16%	15.72%	5.20%
<b>25%</b>	nombre	78.72%	42.92%	23.74%	18.91%	30.15%	0%	0%
	taille	0%	7.04%	13.49%	38.78%	29.85%	27.58%	22.44%
<b>50%</b>	nombre	82.14%	46.08%	30.33%	19.95%	0%	0%	6.29%
	taille	42.85%	23.65%	34.58%	55.05%	22.02%	39.24%	30.03%
<b>75%</b>	nombre	85.19%	63.53%	31.80%	6.08%	2.36%	49.49%	29.22%
	taille	71.42%	47.87%	22.37%	57.70%	60.71%	47.86%	60.06%
<b>100%</b>	nombre	79.31%	51.20%	28.10%	20.31%	0%	38.02%	38.20%
	taille	0%	34.43%	27.84%	64.62%	59.34%	48.27%	52.97%

Si on fait une constatation des résultats affichés dans le tableau 79, on peut dire que le gingembre agit bien sur la phase de germination par rapport à la croissance et l'agrégation et ceci pour toutes les concentrations sans différence. Pour la meilleure concentration on distingue que les concentrations très élevées (75% et 100%) ont un pouvoir inhibiteur très

important par rapport aux faibles concentrations et cela pour le nombre que pour la taille des cristaux.

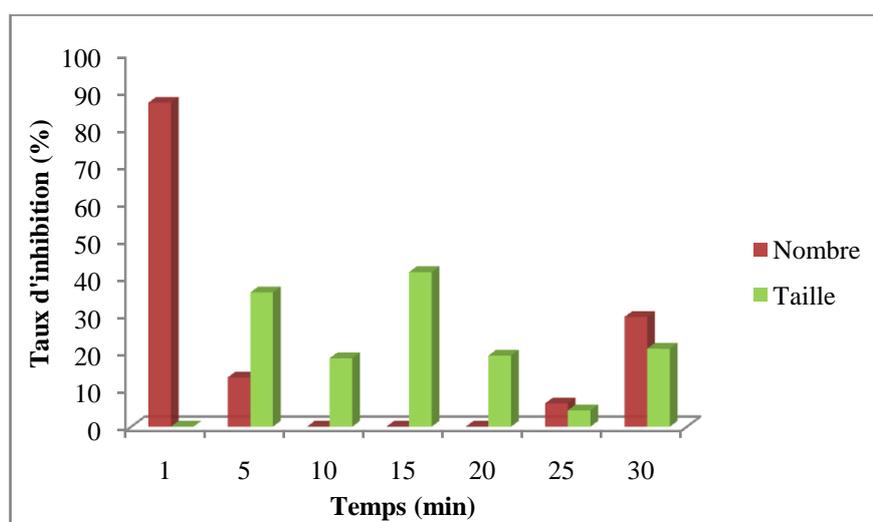
### I.B.2.3. Gingembre extrait par la méthode de Soxhlet :

#### I.B.2.3.1. En présence de gingembre 10%

**Tableau 80:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 10%.

Temps de cristallisation		1	5	10	15	20	25	30
Nombre	cristaux	87	342.5	446	312	200	213	102.5
	agrégats	2	234	312	243	200	110	98
	Total	89	576.5	758	555	400	323	200.5
	CV%	8.74	4.02	5.63	8.13	4.01	7.65	3.02
Taille (µm)	cristaux	2.5	4.5	4.25	4.83	2.125	5	5.125
	agrégats	10	13.33	18.75	21.25	25	22.75	20.12
	Moyenne	6.25	8.91	11.5	13.04	13.56	13.87	12.62
	CV%	7.54	7.21	2.13	8.76	4.53	5.66	8.92

D'après le tableau 80, le nombre total de cristaux et agrégats atteint sa valeur maximale de 567.5 à 5 minutes de cristallisation et la taille moyenne était de 13.87µm à 25 minutes.



**Figure 85:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 10% obtenu par la méthode de Soxhlet.

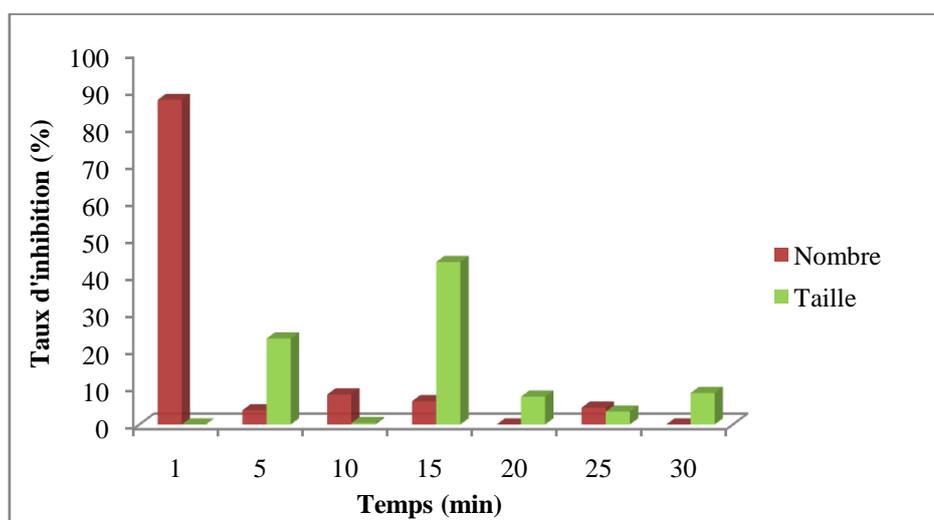
D'après la figure 85, on constate que pour le nombre le taux d'inhibition le plus élevé était 86.75% à la première minute. A la même minute le gingembre 10% ne montre aucun effet inhibiteur sur la taille des cristaux mais dès la 5<sup>ème</sup> minute il commence à avoir un effet plus important par rapport à celui sur le nombre. Le taux d'inhibition de la taille le plus élevé (41.39%) a été enregistré à 15 minutes de cristallisation.

### I.B.2.3.2. En présence de gingembre 25%

**Tableau 81:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 25% obtenu par la méthode de Soxhlet

Temps de cristallisation		1	5	10	15	20	25	30
Nombre	Cristaux	85	434.67	252.67	204	193	144	182
	Agrégats	–	204	169.33	181.33	211	185	246
	Total	85	638.67	422	385.33	404	329	428
	CV%	7.54	2.09	4.83	6.74	8.74	4.53	5.66
Taille (µm)	Cristaux	1.83	3.83	4.66	5.05	5	4.5	5
	Agrégats	–	17.55	23.61	20	26	23.5	23.33
	Moyenne	0.915	10.69	14.13	12.52	15.5	14	14.16
	CV%	5.16	9.43	7.64	8.94	4.53	8.23	4.63
C2	Nombre	13.33	114	166.66	48	86	20	100

D'après le tableau 81, pour une concentration de 25% de gingembre préparé par soxhlet, le gingembre a fait retarder le temps d'apparition d'agrégats à 5 minutes de cristallisation. Le nombre total des cristaux et agrégats atteint 638.67 à 5 minutes de cristallisation en présence toujours de cristaux de weddellite.



**Figure 86:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 25% obtenu par la méthode de Soxhlet.

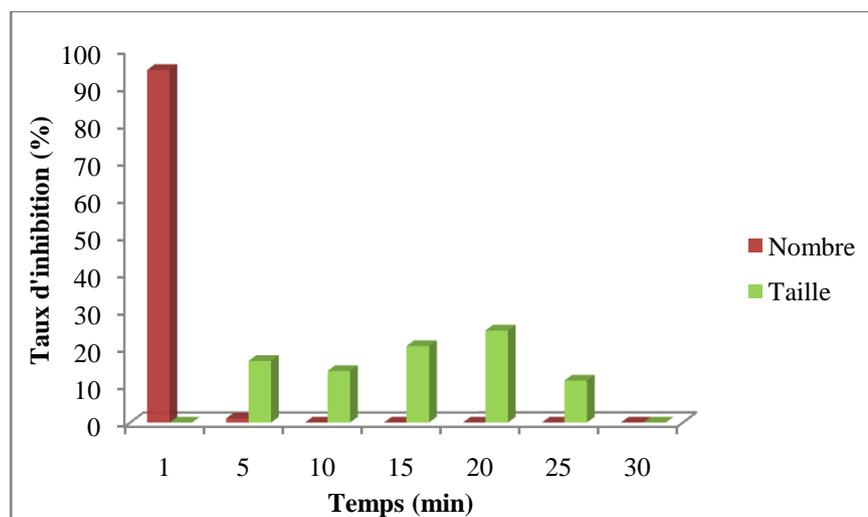
D'après la figure 86, on remarque que le gingembre 25% préparé par soxhlet provoque une inhibition sur le nombre des cristaux avec un taux qui atteint 87.35% à la première minute de cristallisation. Pour la taille, l'inhibition la plus importante était à 15 minutes avec un taux de 43.73%.

### I.B.2.3.3. En présence de gingembre 50%

**Tableau 82:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 50% obtenu par la méthode de Soxhlet

Temps de cristallisation		1	5	10	15	20	25	30
Nombre	Cristaux	36	492.67	406.67	300	252	216.67	200
	Agrégats	_	164	215.33	302.67	241.33	206.67	218
	Total	36	656.67	622	602.67	493.33	423.34	418
	CV%	7.54	4.03	7.66	2.09	4.93	4.87	6.13
Taille (µm)	Cristaux	1.875	5	5.25	5.36	4.5	4.25	4.83
	Agrégats	_	18.22	19.02	30	19.83	21.5	30.66
	Moyenne	0.93	11.61	12.13	17.68	12.16	12.87	17.74
	CV%	6.72	3.01	9.88	5.76	9.01	11.15	7.66
C2	Nombre	20	154.67	128	70.67	53.33	100	54

On remarque d'après le tableau 82, une absence totale des agrégats au début de cristallisation. Après 5 minutes les agrégats se forment et le nombre total des cristaux et des agrégats atteint 656.67. La taille moyenne atteint sa valeur maximale de 17.74 µm à la fin de la cristallisation en présence aussi de cristaux de weddellite.



**Figure 87:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 50% obtenu par la méthode de Soxhlet.

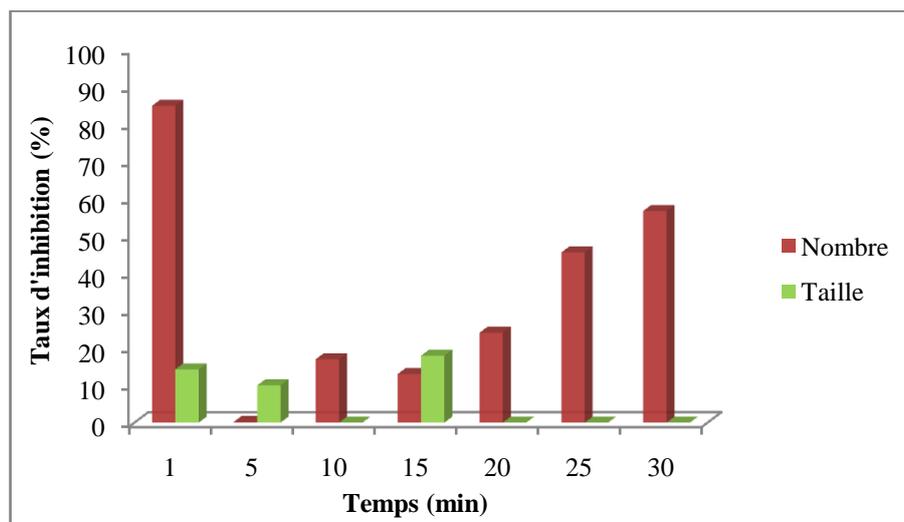
D'après la figure 87, le taux d'inhibition le plus élevé pour le nombre est de 94.64%, a été enregistré à la première minute de cristallisation. Dès la 10<sup>ème</sup> minute, le gingembre 50% n'a aucun effet inhibiteur sur le nombre. Pour la taille, le taux d'inhibition est faible varie entre 0 et 24.71% et ceci à 20 minutes de cristallisation.

#### I.B.2.3.4. En présence de gingembre 75%

**Tableau 83:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 75% obtenu par la méthode de Soxhlet.

Temps de cristallisation (min)			1	5	10	15	20	25	30
C1	Nbre	Cristaux	101.3	465.5	227.5	219.5	128.67	87.33	51.5
		Agrégats	_	197	153.5	138	96	100	71.33
		Total	101.33	662.5	381	357.5	224.67	187.33	122.83
		CV%	8.92	2.98	6.75	6.71	8.61	5.45	9.08
	Taille (µm)	Cristaux	1.5	5.04	4.37	4.5	4	4.33	3.37
		Agrégats	_	20	26.85	32.02	31.83	37.08	33.75
		Moyenne	0.75	12.52	15.61	18.26	17.91	20.7	18.56
		CV%	8.93	3.92	5.9	9.18	6.73	10.36	7.64
C2	Nbre	50.5	96	66.5	46	40	49.33	27.33	

D'après les résultats regroupés dans le tableau 83, en présence de gingembre 75% on remarque l'absence des agrégats à la première minute de cristallisation. Le nombre total atteint sa valeur maximale (662.5) à 5 minutes. La taille moyenne augmente au cours du temps pour atteindre 20.7 µm à 25 minutes de cristallisation.



**Figure 88 :** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 75% obtenu par la méthode de Soxhlet.

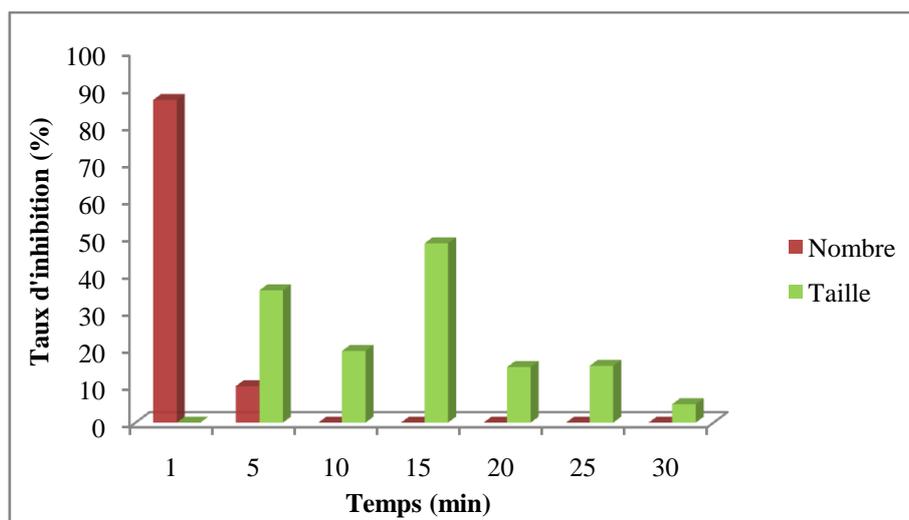
Le taux d'inhibition atteint 84.92% à la première minute de cristallisation pour le nombre. Pour la taille le taux le plus élevé est 17.93% enregistré à 15 minutes de cristallisation. Ce qui indique que l'action inhibitrice du gingembre 75% sur la taille des cristaux est très faible par rapport à celle sur le nombre (voir figure 88).

### I.B.2.3.5. En présence de gingembre 100%

**Tableau 84:** Evolution de la taille moyenne et du nombre de cristaux et agrégats de whewellite pendant 30 minutes de cristallisation en présence de l'extrait du gingembre 100%.

Temps de cristallisation		1	5	10	15	20	25	30
Nombre	Cristaux	83.33	469.5	308.5	283.5	278.5	184	224.5
	Agrégats	4	131.5	260.67	216	264.5	247	248.5
	Total	87.33	601	569.17	499.5	543	431	473
	CV%	7.9	4.02	4.83	8.74	7.82	5.66	9.32
Taille (µm)	Cristaux	3.17	3.83	4.44	3.5	5.23	6.16	5.62
	Agrégats	9	14.08	18.29	19.5	23.25	18.41	24.73
	Moyenne	6.08	8.95	11.36	11.5	14.24	12.28	15.17
	CV%	5.67	7.61	9.32	10.23	7.61	8.53	10.21
C2	Nombre	177.33	204.5	216	98.5	132.67	53.33	39.5

D'après les résultats obtenus dans le tableau 84, le nombre total des cristaux et des agrégats atteint 601 à cinq minutes de cristallisation. La taille moyenne atteint sa valeur maximal 15.17 µm à la fin de cristallisation. Le nombre de cristaux de weddellite formé était de 216 à 10 minutes de cristallisation.



**Figure 89:** Taux d'inhibition du nombre et de la taille des cristaux de whewellite en présence du gingembre 100% obtenu par la méthode de Soxhlet.

D'après la figure 89, l'effet inhibiteur du gingembre 100% sur le nombre au début de cristallisation est très important avec un taux égal à 87%. Dès la 10<sup>ème</sup> minute et jusqu'à la fin de la cristallisation, le gingembre perd cet effet inhibiteur. Pour la taille, le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré à 15 minutes de cristallisation.

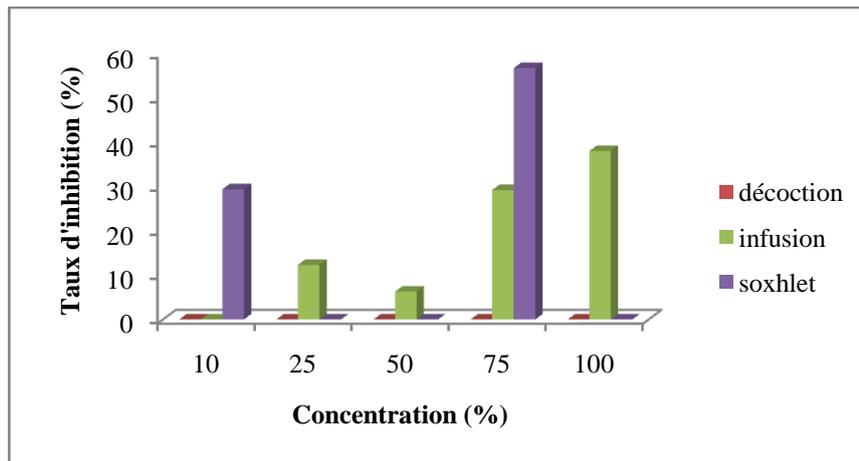
**Tableau 85** : Taux d'inhibition de différentes concentrations de gingembre extrait par soxhlet

Concentration (%)	Temps (min)	1	5	10	15	20	25	30
		10%	nombre	86.75	13.17	0%	0%	0%
	taille	0%	35.94	18.32	41.39	19.04	4.34	20.87
25%	nombre	87.35	3.81%	8.06%	6.24%	0%	4.49%	0%
	taille	0%	23.14%	0.35%	43.73%	7.46%	3.44%	8.46%
50%	nombre	94.64%	1.10%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	0%	16.53%	13.84%	20.53%	24.71%	11.24%	0%
75%	nombre	84.92%	0.22%	16.99%	13.01%	24.09%	45.62%	56.75%
	taille	14.28%	9.99%	0%	17.93%	0%	0%	0%
100%	nombre	87%	9.84%	0%	0%	0%	0%	0%
	taille	0%	35.65%	19.31%	48.33%	14.98%	15.31%	4.98%

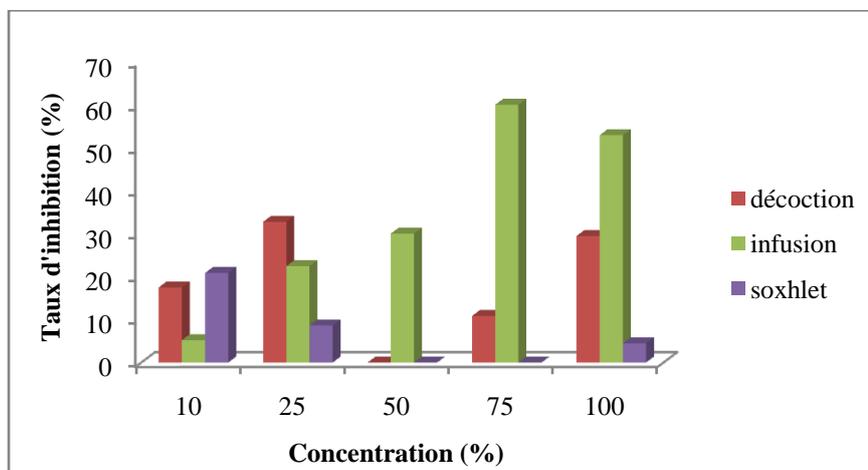
Selon le tableau 85 qui regroupe les taux d'inhibition enregistrés en présence de différentes concentrations de gingembre extrait par soxhlet, toutes les concentrations du gingembre utilisées autant qu'un inhibiteur naturel, agissent sur la phase de germination au niveau du nombre des cristaux de whewellite. Après 5 minutes de cristallisation, le gingembre extrait par soxhlet perd son action inhibitrice et cela demeure jusqu'à la fin de la cristallisation ce qui prouve que cet inhibiteur n'a pas vraiment d'effet sur les étapes de croissance et d'agrégation. Par contre le gingembre avec toutes les concentrations testées, agit faiblement sur la taille des cristaux et ceci au niveau de la croissance et de l'agrégation alors que son effet sur la germination est nul sauf à 75% où on a enregistré un taux de 14.28%.

**Tableau 86** : Taux d'inhibition de différents modes d'extraction du gingembre (Décoction, infusion et soxhlet), à la fin de la cristallisation

Concentration (%)		10	25	50	75	100
Décoction	Nombre	598	298.5	322	422	358
	P.I (%)	0	0	0	0	0
	Taille (µm)	13.16	10.72	21.32	14.22	11.25
	P.I (%)	17.49	32.78	0	10.84	29.46
Infusion	Nombre	299	249	266.12	201	175.5
	P.I (%)	0	12.32	6.29	29.22	38.20
	Taille (µm)	15.12	12.37	11.16	6.37	7.5
	P.I (%)	5.20	22.44	30.03	60.06	52.97
Soxhlet	Nombre	200.5	428	418	122.83	473
	P.I (%)	29.40	0	0	56.75	0
	Taille (µm)	12.62	14.6	17.74	18.56	15.17
	P.I (%)	20.87	8.46	0	0	4.98



**Figure 90:** Taux d'inhibition de différents modes d'extraction du gingembre sur le nombre de cristaux de whewellite à la fin de la cristallisation.



**Figure 91 :** Taux d'inhibition de différents modes d'extraction du gingembre sur la taille des cristaux de whewellite à la fin de la cristallisation.

D'après le tableau 86 et Les figure 90, 91, On remarque que le gingembre en décoction n'a aucun effet inhibiteur sur le nombre des cristaux, on remarque même qu'il a un effet inducteur. La meilleure inhibition a été enregistrée pour une concentration de 75% de gingembre obtenu par soxhlet. À la même concentration et en infusion, le gingembre avait une inhibition qui reste toujours moins importante par rapport au gingembre préparé par soxhlet.

A une concentration de 100%, le gingembre en infusion inhibe la cristallisation par un taux égale à 38.2%. A la même concentration mais en décoction et soxhlet, le gingembre n'a montré aucun effet inhibiteur sur le nombre des cristaux et ceci à la fin de cristallisation.

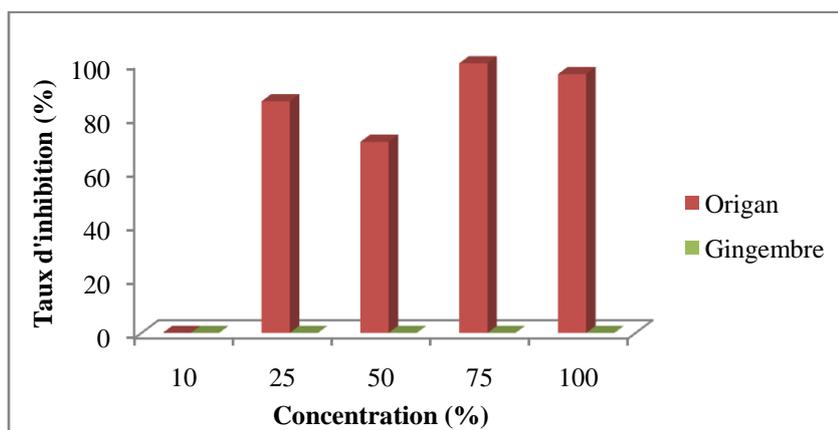
Pour l'inhibition de la cristallisation de whewellite, la méthode de soxhlet semble être la meilleure méthode d'extraction de gingembre au niveau du nombre. Par contre l'infusion semble être meilleure méthode pour la taille des cristaux.

### I.B.3.Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et l'origan selon le mode d'extraction utilisé

Suite aux résultats obtenus lors de notre étude on peut dire que les deux plantes testées (Origan et Gingembre) avaient un effet inhibiteur remarquable sur la cristallisation des oxalates de calcium monohydratés que soit pour la phase de germination ou sur la croissance et l'agrégation.

#### I.B.3.1. Mode de décoction

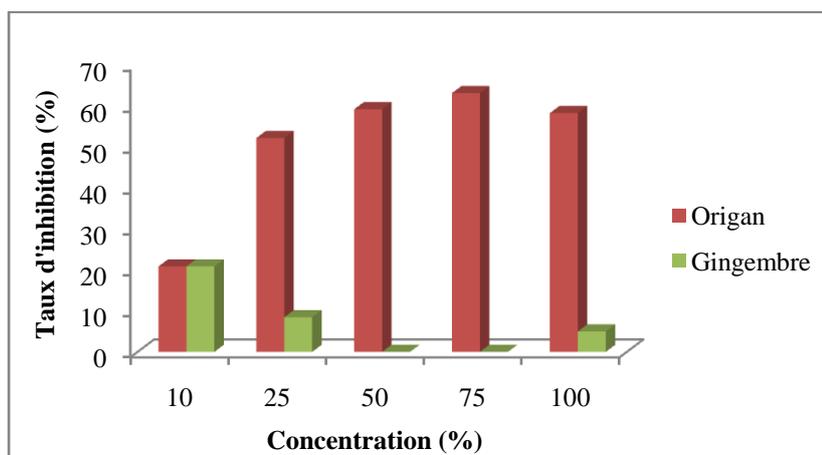
##### I.B.3.1.1. Selon le nombre des cristaux



**Figure 92** : Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et de l'origan extraits par décoction sur le nombre des cristaux à la fin de la cristallisation.

Selon la figure 92, En décoction, le gingembre n'a aucun effet inhibiteur sur le nombre des cristaux, contrairement à l'Origan, qui a montré une bonne inhibition dès la concentration 25%.

##### I.B.3.1.2.Selon la taille des cristaux

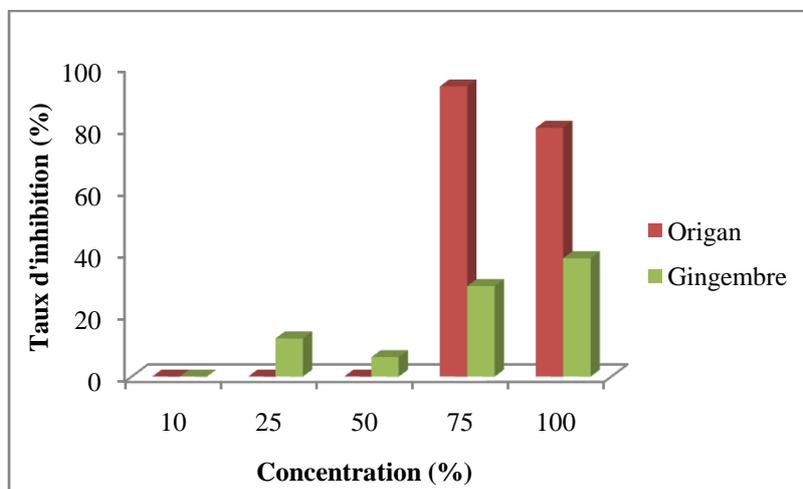


**Figure 93** : Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et de l'origan extraits par décoction sur la taille des cristaux à la fin de la cristallisation.

L'Origan en décoction est un bon inhibiteur de la taille de cristaux contrairement au gingembre extrait par le même mode. (Voir figure 93)

### I.B.3.2. Mode de l'infusion

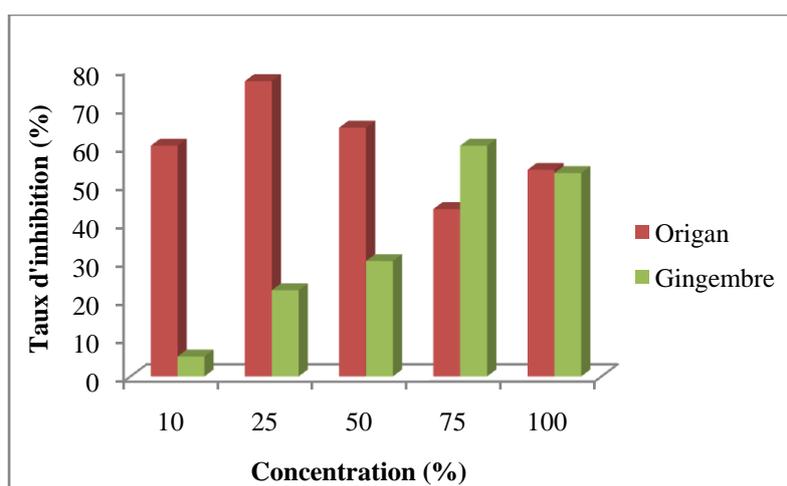
#### I.B.3.2.1. Selon le nombre



**Figure 94** : Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et de l'origan extraits par infusion sur le nombre des cristaux à la fin de la cristallisation

D'après la figure 94, à 10% de concentration, le gingembre et l'origan n'ont pas un effet inhibiteur sur le nombre des cristaux. À 25% et 50% le gingembre montre une inhibition alors que l'origan reste sans effet. A75% et 100% l'effet inhibiteur de l'origan est plus élevé que celui de gingembre.

#### I.3.2.2. Selon la taille

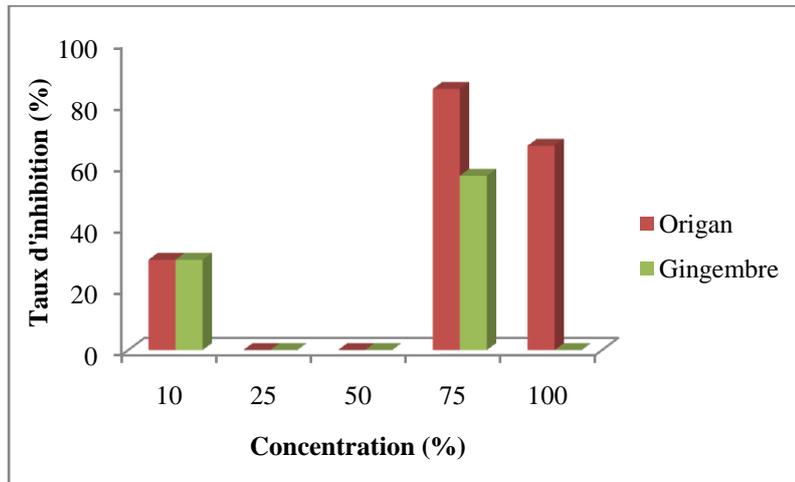


**Figure 95** : Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et de l'origan extraits par infusion sur la taille des cristaux à la fin de la cristallisation.

D'après la figure 95, l'Origan réduit mieux la taille des cristaux par rapport au gingembre et ceci pour toutes les concentrations utilisées sauf à 75% où le gingembre avait un taux d'inhibition plus élevé que celui de l'origan.

### I.B.3.3.Mode de soxhlet

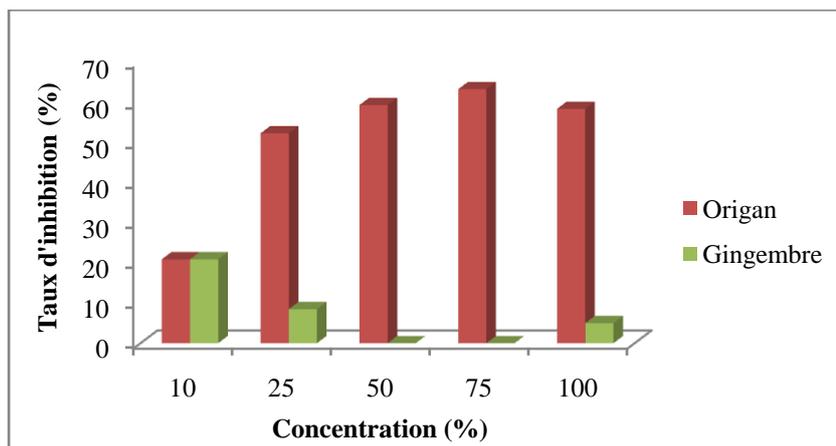
#### I.B.3.3.1. Selon le nombre des cristaux



**Figure 96:** Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et de l'origan extraits par Soxhlet sur le nombre des cristaux à la fin de la cristallisation

D'après la figure 96, à 10% l'origan et le gingembre ont le même effet inhibiteur sur le nombre des cristaux et des agrégats. A 25% et 50% les deux plantes n'ont aucun effet inhibiteur sur le nombre à la fin de cristallisation. Pour la concentration 75% l'origan montre une action inhibitrice plus importante que celle du gingembre. A 100% le gingembre n'a aucun effet sur le nombre alors que l'origan montre une inhibition importante qui dépasse les 60%.

#### I.B.3.3.2.Selon la taille des cristaux



**Figure 97 :** Comparaison entre l'effet inhibiteur du gingembre et de l'origan extraits par Soxhlet sur la taille des cristaux à la fin de la cristallisation

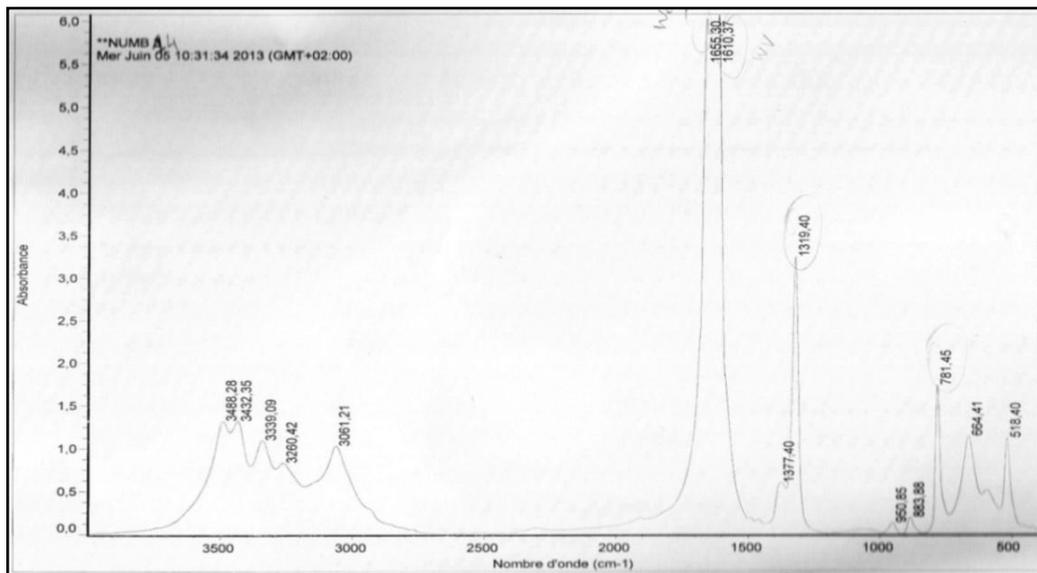
L'Origan préparé par soxhlet, à 10% montre une inhibition égale à celle de gingembre préparé par le même mode d'extraction. Pour les autres concentrations, l'effet inhibiteur de l'origan est plus important que celui du gingembre. Pour les concentrations 50% et 75% le

gingembre n'a pas d'effet inhibiteur sur la taille de cristaux. Aux mêmes concentrations, l'origan montre un effet inhibiteur très important. (voir figure 97)

### I.C. Etude par IRTF

L'étude microscopique en présence de gingembre 50%, 75% et 100% préparés par décoction a été confirmée par une analyse IRTF du culot recueilli à la fin des expériences (figure 98, 99,100). L'identification avec les spectres de référence (figure 22 et 23) montre que les cristaux formés sont de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) et dihydraté (weddellite). Ce qui nous mène à conclure que malgré l'addition de concentrations élevées de gingembre en décoction, la whewellite persiste toujours comme composés majoritaire. On note que la weddellite observée est issue de la conversion cristalline de la whewellite.

L'étude par IRTF des culots recueillis en présence des concentrations 75% et 100% de gingembre extrait par soxhlet, montre à son tour que le gingembre n'inhibe pas totalement la whewellite mais il favorise une conversion de cette dernière à l'oxalate de calcium dihydraté (weddellite). (figure 101 et 102)

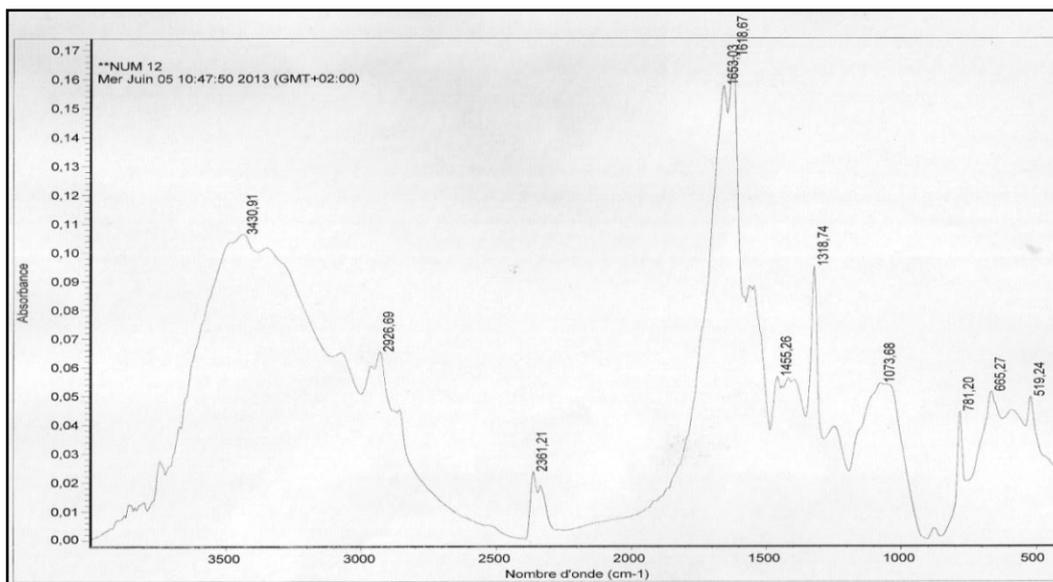


**Figure 98:** Spectre IRTF en présence de 50% de gingembre en décoction

Les fréquences des bandes caractéristiques de whewellite et la weddellite sont consignées dans le tableau 87.

**Tableau 87** : Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
1319 781 1610 950, 518, 664,883	vibration C-O déformation de H2O vibration de C=O Pics secondaires	Whewellite CaC2O4.H2O
1655 1319 518, 781	Bandes secondaires	Weddellite CaC2O4.2H2O

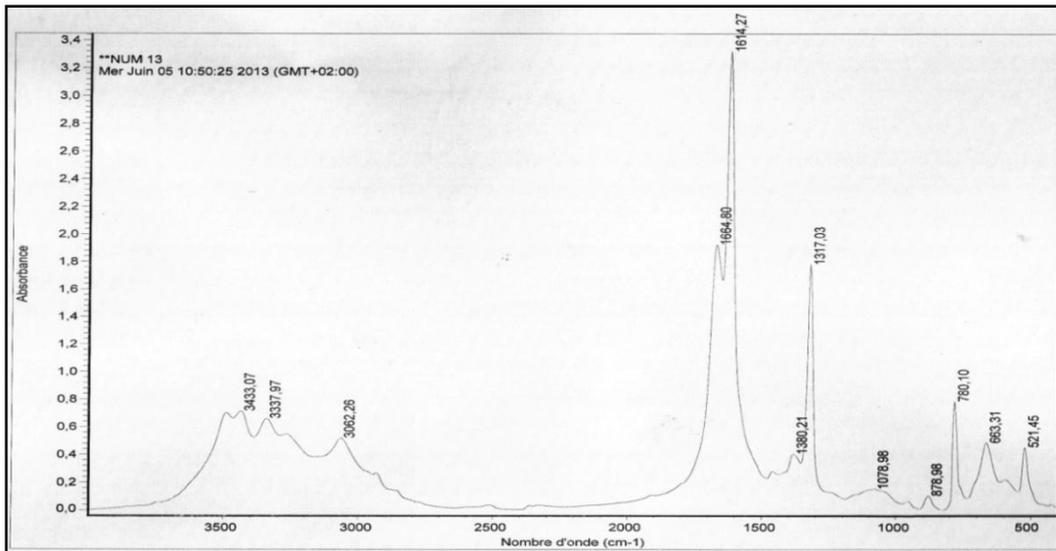


**Figure 99** : Spectre IRTF en présence de 75% de gingembre en décoction

Les fréquences des bandes caractéristiques de whewellite et la weddellite sont consignées dans le tableau 88.

**Tableau 88** : Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
1318 781 1618 665	vibration C-O déformation de H2O vibration de C=O Bande secondaire	Whewellite CaC2O4.H2O
1653 519, 781	Bandes secondaires	Weddellite CaC2O4.2H2O

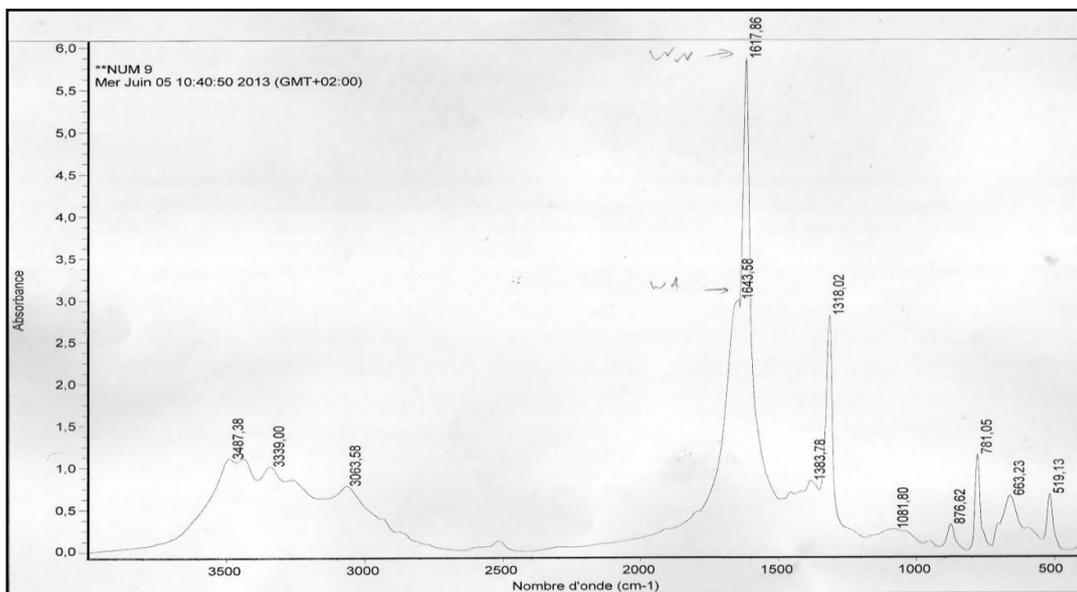


**Figure 100:** Spectre IRTF en présence de 100% de gingembre en décoction

Les fréquences des bandes caractéristiques de whewellite et la weddellite sont consignées dans le tableau 89.

**Tableau 89 :** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
1317 780 1614	vibration C-O déformation de H2O vibration de C=O	Whewellite CaC2O4.H2O
1317 521, 780	Bandes secondaires	Weddellite CaC2O4.2H2O

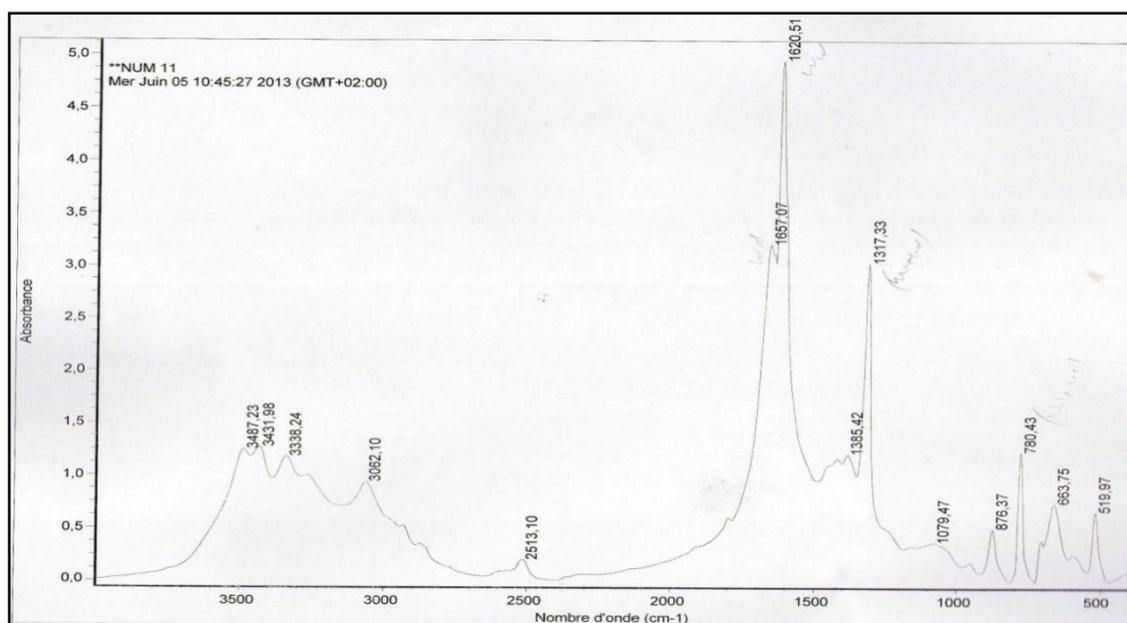


**Figure 101:** Spectre IRTF en présence de 75% de gingembre préparé par soxhlet

Les bandes caractéristiques du spectre IRTF sont consignées dans le tableau 90.

**Tableau 90 :** Principales fréquences de vibrations des bandes observées

Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
1617 781 1318	vibration de C=O déformation de H2O vibration de C-O	Whewellite CaC2O4.H2O
1643		Weddellite CaC2O4.2H2O



**Figure 102:** Spectre IRTF en présence de 100% de gingembre en soxhlet

Les bandes caractéristiques du spectre IRTF sont consignées dans le tableau 91.

**Tableau 91:** Principales fréquences de vibrations des bandes observées

Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1620 780 1317	vibration de C=O déformation de H2O vibration de C-O	Whewellite CaC2O4.H2O
1317 1657	Vibration de C-O	Weddellite CaC2O4.2H2O

## Discussion :

Notre étude s'est basée sur le test des plantes médicinales dans l'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté. On s'est intéressé par trois modes d'extraction, la décoction, l'infusion, et l'extraction par l'appareil de soxhlet

Les plantes utilisées sont *Zingiber officinale Roscoe* (gingembre) et *Origanum vulgare* (l'origan)

L'Origan en décoction agit sur les trois phases de cristallisation. Son pouvoir inhibiteur sur le nombre et la taille augmente en fonction de concentration. A la concentration 75% on a enregistré une meilleure inhibition ; un retardement de nucléation de whewellite, réduction du nombre et de la taille en phase de croissance et à la fin de cristallisation, une absence totale des cristaux et agrégats convertie en oxalate de calcium dihydraté qui se trouvent en abondance. Cette propriété peut être importante dans la prévention de la formation de calcul oxalocalcique et sur l'hyperoxalurie. En effet des études [Wesson JA, 1998 ; Atmani F, 2004] réalisées sur l'adhérence des cristaux de l'oxalate de calcium sur les cellules épithéliales ont montré que les cristaux de weddellie sont moins liés aux cellules épithéliales qu'étaient les cristaux de whewellite. Ainsi, un pas crucial dans la genèse du calcul rénale peut être empêché. De plus les cristaux de weddellite obtenus sont de petite taille, ce qui réduit leur chance d'être retenus dans les voies urinaires.

En infusion l'origan montre une inhibition moins importante que celle enregistré en décoction. Cette inhibition augmente en fonction de la concentration et 75% reste la concentration où on a enregistré les meilleurs taux d'inhibition.

Pour l'extraction par soxhlet l'inhibition était moins importante que les deux autres modes d'extraction, à 75% l'inhibition était meilleur concernant le nombre (95.16%) et à 50% de concentration on a enregistré le taux le plus élevé d'inhibition de la taille (57.14%).

Le gingembre montre à son tour un pouvoir inhibiteur non négligeable mais il est moins important que l'Origan. Il paraît qu'il agit surtout sur la nucléation et la croissance cristalline, mais son effet sur l'agrégation est minime.

Le gingembre préparé par soxhlet réduit mieux la taille moyenne des cristaux que celui préparé en infusion et en décoction, alors que pour le nombre des cristaux et agrégats, le gingembre en infusion paraît mieux que les deux autres modes d'extraction

## II. Étude de l'effet inhibiteur des substances naturelles (Origan et Gingembre) sur la cristallisation des phosphates amoniaco-magnésien hexahydraté (struvite)

### II.A. Étude sans inhibiteur

**Tableau 92:** Evolution de la taille moyenne et du nombre des cristaux et des agrégats de la struvite pendant 240 minutes de cristallisation en absence d'inhibiteur.

Temps (min)		5	10	20	30	40	50	60	120	180	240
Nb	Cristaux	376	366	475	498	523	434	389	285	421	320
	Agrégats	105.75	95.33	104	120.5	123.5	119	99.25	120	114	87
	Total	481.75	461.33	579	618.5	646.5	553	488.25	405	535	407
	CV %	8.6	7.7	11.8	6.5	6.4	9.12	7.9	9.3	2.9	10
Taille (µm)	Cristaux	7.23	6.25	8.5	8.72	7.43	9.12	9.67	9.21	8.36	8
	Agrégats	11.12	13.25	16.93	17	16.75	17.12	18.43	20.12	22.2	22
	Moyenne	9.17	9.75	12.71	12.86	12.09	13.12	14.05	14.66	15.28	15
	CV %	8.7	5.9	7.7	8.3	8.1	9.02	10.2	8.7	6.7	4.5

### II.B. Etude avec inhibiteur

#### II.B.1. Effet de l'Origan (*Origanum vulgare*)

##### II.B.1.1. L'origan préparé par la méthode de décoction

**Tableau 93 :** résume le nombre de struvite en présence de différentes concentrations de l'origan préparé par décoction

Temps (min)	Nombre de cristaux de struvite en mm <sup>3</sup> d'urine artificiel				
	10%	25%	50%	75%	100%
5	+++	+++	++	+++	+++
10	20+++	+++	++	20	+++
20	33.12	9.7	+	++	+++
30	+++	+++	++	+++	+++
40	++	+++	7.25	++	+++
50	++	++	++	++	+++
60	+	+	++	++	+++
120	+	++	++	++	+++
180	+++	++	++	++	+++
240	+++	++	++	++	+++

+++ : Abondance de granulation

++ : Nombre moyen de granulation

+: Peu de granulations

D'après les résultats regroupés dans le tableau 93, on remarque une élimination totale de cristaux de struvite en présence de l'origan 100% préparé par décoction et ceci durant toute la période de la cristallisation. Pour les autres concentrations utilisées, on a enregistré la présence de quelques cristaux de struvite. En revanche, un taux de granulations élevé a été enregistré pour toutes les concentrations, identifiées et confirmées par IRTF comme étant de la carapatite.

### II.B.1.2. L'origan préparé par la méthode de l'infusion

**Tableau 94:** résume le nombre de struvite en présence de différentes concentrations de l'origan en infusion

Temps (min)	Nombre de cristaux de struvite en mm <sup>3</sup> d'urine artificiel				
	10%	25%	50%	75%	100%
5	+	++	++	++ 41	++ 55
10	+	+	+++	++ 24	++ 76.8
20	++ 15.75	++ 23	++	+ 33.77	++ 23
30	++	++	++	+	+ 14
40	++53	++12	++	+	++ 21
50	+	++	++	+++	++
60	++	+++	++	++	++
120	+++	++	++	++	++
180	++23	+	+++	++	++ 10
240	++	++	++	+++	+++

D'après les résultats regroupés dans le tableau 94, on remarque l'absence totale de Struvite pour la concentration 50%. Pour 10, 25, 75% et 100% on observe quelques cristaux de struvite. On constate toujours la présence massive de granulations de carbapatite.

### II.B.1.3. Origan extrait par soxhlet

**Tableau 95:** résume le nombre des cristaux de struvite et les granulations en présence de différentes concentrations de l'Origan.

Temps (min)	Nombre de cristaux de struvite en mm <sup>3</sup> d'urine artificiel				
	10%	25%	50%	75%	100%
5	++	+++	++	++	+++
10	+	+	+++	++	+++
20	++ 2	++	++	+	+++
30	++	++	++	+	++
40	++ 5.76	++	++	+	++
50	+	++	++	+++	++
60	++	+++	++	++	+++
120	+++	++	++	++	++
180	++	++	+++	++	++
240	++	++	++	+++	+++

L'Origan extrait par soxhlet, selon le tableau 95, montre une inhibition totale de Struvite pour toutes les concentrations utilisées sauf à 10% où on a remarqué la présence de quelques petits cristaux à 20 et 40 minutes de cristallisation.

## II.B.2. Effet du Gingembre :

### II.B.2.1. Gingembre préparé par décoction

**Tableau 96** : Evolution du nombre des cristaux et des agrégats de struvite pendant 240 minutes de cristallisation en présence de gingembre à différentes concentration

Temps (min)	Nombre de cristaux de struvite en mm <sup>3</sup> d'urine artificiel				
	10%	25%	50%	75%	100%
5	5.12	++	++	++	++
10	3.33	+	+++	++	++
20	++	12.75	++	+	++
30	+++	++	++	+	+
40	12	++	++	+	++
50	+	++	++	+++	++
60	++	+++	++	++	++
120	+++	++	++	++	++
180	++	+	+++	++	++
240	4	++	++	+++	+++

En décoction, le gingembre montre une inhibition totale de struvite et la présence d'un taux élevé de granulations pour toutes les concentrations utilisées. A 10% on remarque la présence de struvite au début et à la fin de cristallisation. (tableau 96)

### II.B.2.2 Gingembre préparé par Infusion :

**Tableau 97** : Evolution du nombre des cristaux et des agrégats de struvite pendant 240 minutes de cristallisation en présence de gingembre en infusion à différentes concentration

Temps (min)	Nombre de cristaux de struvite en mm <sup>3</sup> d'urine artificiel							
	10%	CV%	25%	CV%	50%	CV%	75%	100%
5	30.75	10.3	++	_	++	-	++	++
10	21	8.7	8.7	9.9	+++	-	++	++
20	++	-	++	-	++	-	+	++
30	4.87	3.2	2	2.3	++	-	+	+
40	++	-	++	-	6.75	9.1	+	++
50	+	-	4.5	4.3	++	-	+++	++
60	++	-	8.12	9.01	++	-	++	++
120	2.3	5.8	++	-	++	-	++	++
180	++	-	+	-	+++	-	++	++
240	++	-	++	-	++	-	+++	+++

En infusion, d'après le tableau 97, le gingembre a un effet inhibiteur très important. Pour la concentration 100%, et 75% l'inhibition de struvite est totale avec la présence de granulations de carapatite issus de la conversion de struvite. Aux 10%,25% et 50% de concentration, on remarque la présence de struvite accompagnée de carapatite comme composant majoritaire.

### II.2.3. Gingembre extrait par Soxhlet

**Tableau 98** : Evolution du nombre des cristaux et des agrégats de struvite pendant 240 minutes de cristallisation en présence de gingembre à différentes concentration

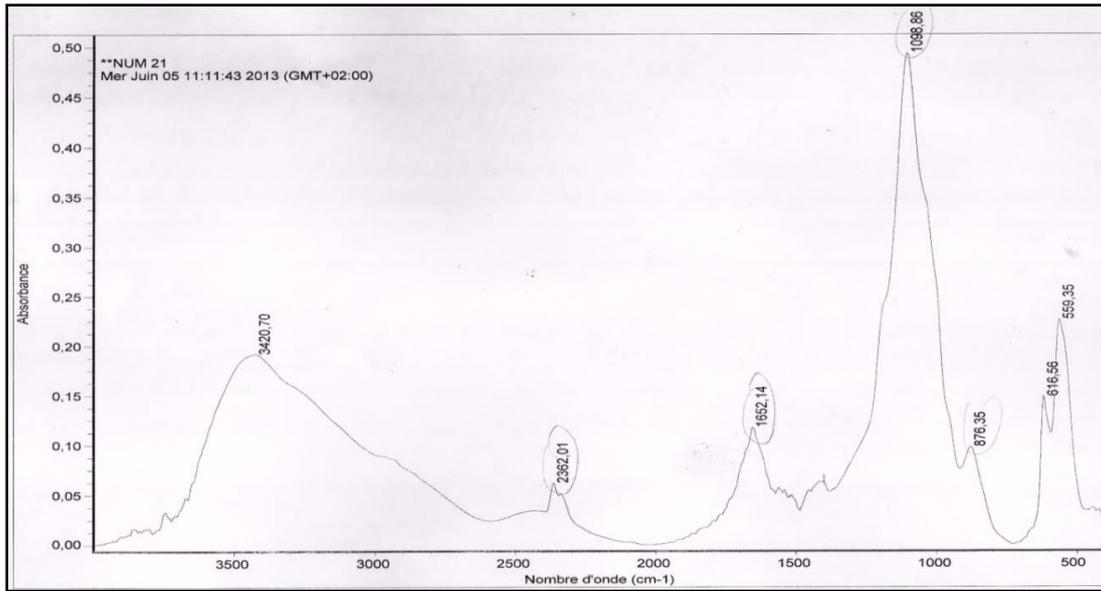
Temps (min)	Nombre de cristaux de struvite en mm <sup>3</sup> d'urine artificiel							
	10%	CV%	25%	CV%	50%	CV%	75%	100%
5	28.5	2.4	++	-	++	-	++	+
10	20.3	5.1	+	-	+++	-	++	++
20	++	-	5.18	6.7	++	-	+	++
30	++	-	3.71	9.9	++	-	+	+
40	++	-	1.2	9.4	8.5	6.01	+	++
50	+	-	++	-	6.83	11.33	+++	++
60	++	-	+++	-	4	4.6	++	++
120	++	-	++	-	1	7.5	++	++
180	++	-	2	1.0	1	9.2	++	++
240	2	1.01	+++	-	2	1.2	+++	+++

Le gingembre préparé par soxhlet, a montré une inhibition totale de struvite pour 75% et 100% de concentration. Pour les autres concentrations : nous avons remarqué l'apparition de struvite au début de cristallisation pour la concentration 10%. A 25% de concentration, la struvite apparaît à 20 minutes et son nombre se diminue jusqu'à 1.2 à 40 minutes pour disparaître au court du temps. A 50% les cristaux de struvite apparaissent de nouveau à 40 minutes de cristallisation.

### II.C. Etude par IRTF

Selon l'étude par IRTF en présence de l'origan 25% en décoction, on constate la présence de deux espèces cristallines, la struvite et la carapatite issue de la conversion de la struvite (figure 103). Par contre, l'analyse spectrale en présence de l'origan 100% montre la présence unique de la carapatite (figure104). Cette concentration élevée de l'origan en décoction a inhibé totalement la struvite par conversion cristalline. Le même résultat a été remarqué en présence de la concentration 50% de l'origan préparé par infusion (figure105).

Avec la présence des concentrations élevées (75% et 100%) de l'origan en infusion, l'analyse spectrale a montré la présence de struvite accompagnée de la carapatite issue de la conversion de cristaux de struvite (figure 106, 107). Ce qui confirme les résultats trouvés par l'étude microscopique.

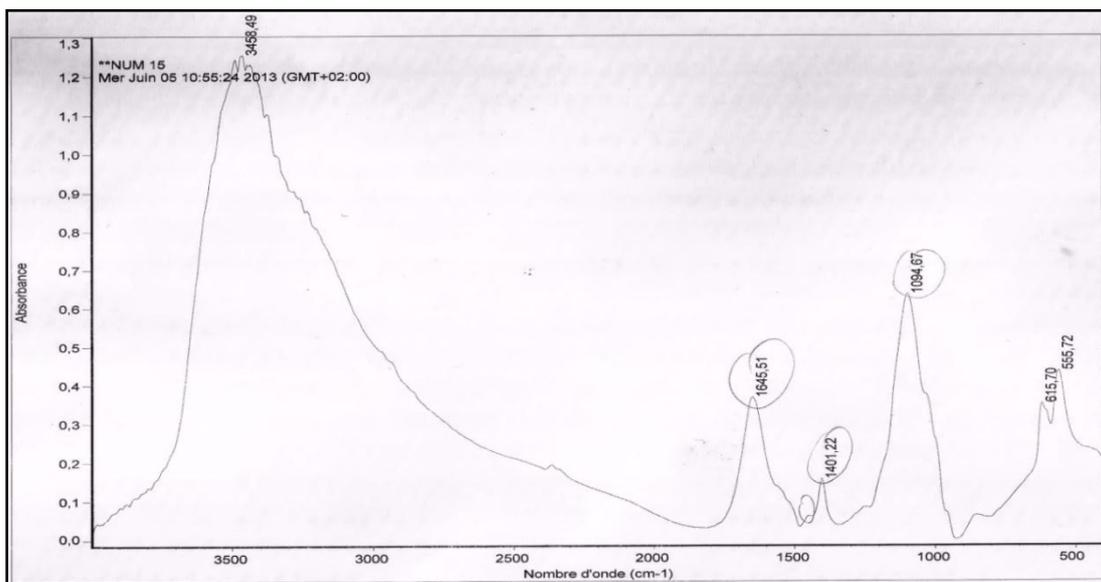


**Figure 103:** Spectre IRTF en présence de 25% de l'Origan en décoction

Les fréquences des bandes caractéristiques de la carbapatite et la struvite sont consignées dans le tableau 99.

**Tableau 99:** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

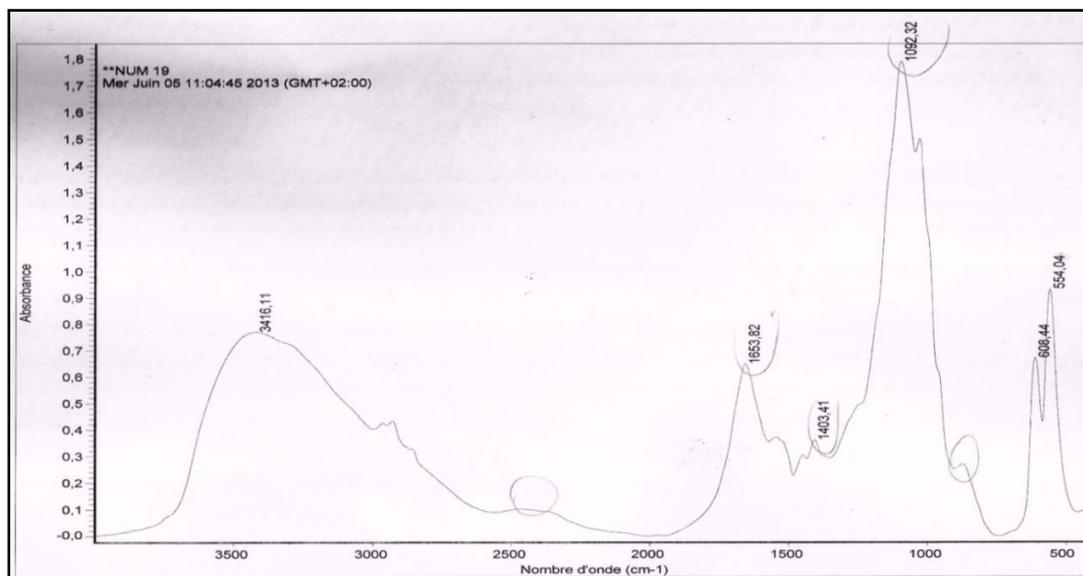
Pics observés (cm <sup>-1</sup> )		
3420f ; 1652f ; 1098TF ; 876f ; 616 ; 559m ; 2362m		
Fréquences (cm-1)	Attributions	Constituant
1098	Valence asymétrique PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> forte, asymétrique à gauche épaulée à 1100 cm <sup>-1</sup>	Carbapatite
616, 559, 1652, 3420	Bandes secondaires	
2362	Plateau des molécules H <sub>2</sub> O + ion NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Struvite MgNH <sub>4</sub> PO <sub>4</sub> , 6H <sub>2</sub> O



**Figure 104:** Spectre IRTF en présence de 100% de l'Origan en décoction.

**Tableau 100 :** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1401	Vibration des CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Carbapatite
1094	Vibration des PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	
555, 615, 1645,3458	Vibrations secondaires	

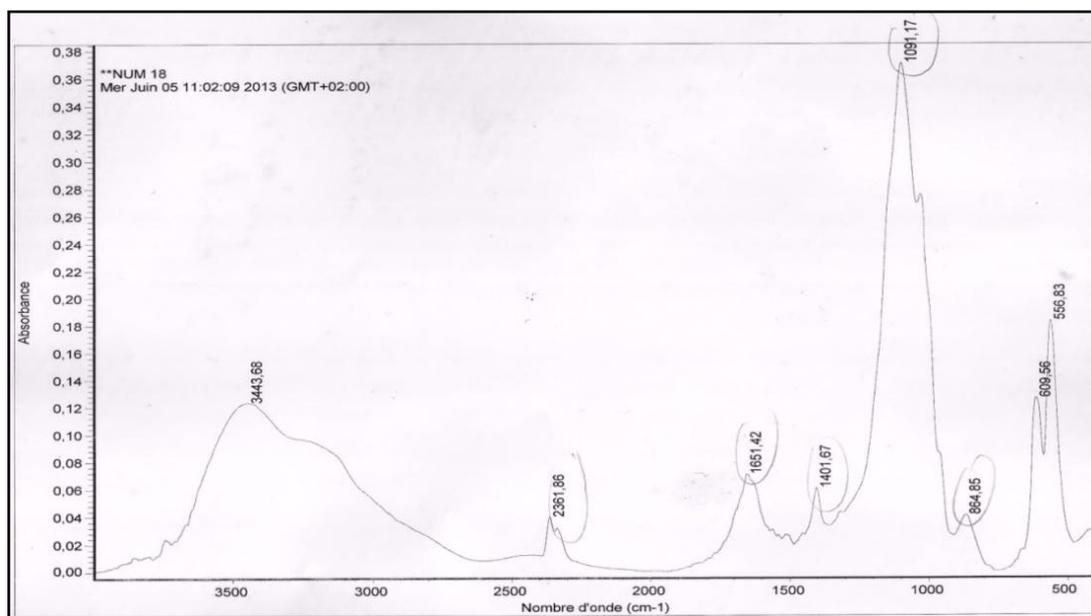


**Figure 105:** Spectre IRTF en présence de 50% de l'origan en infusion.

Les fréquences des bandes caractéristiques de la carbapatite sont consignées dans le tableau 101.

**Tableau 101:** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

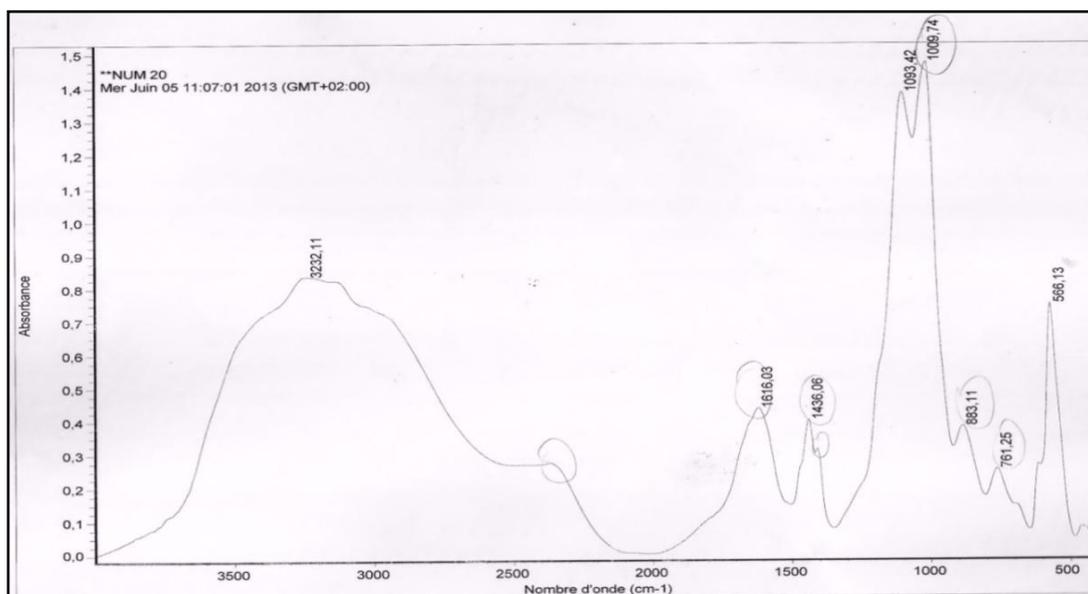
Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1403	Vibration des CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Carbapatite
1092	Vibration des PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	
1653, 608,554	Vibrations secondaires	



**Figure 106:** Spectre IRTF en présence de 75% d'Origan en infusion

**Tableau 102:** Fréquences des bandes caractéristiques des constituants

Fréquences (cm <sup>-1</sup> )	Attributions	Constituant
1401 1092 1651, 609,556	Vibration des CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> Vibration des PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> Vibrations secondaires	Carbapatite
2361	Plateau des molécules H <sub>2</sub> O + ion NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Struvite



**Figure107 :** Spectre IRTF en présence 100% d'Origan en infusion

## Discussion

La médecine traditionnelle à base de plantes, trouve un accueil favorable auprès des populations fortement paysannes, non seulement du fait qu'elle est héritée des ancêtres, mais parce qu'elle a prouvé son efficacité au fil du temps. De nombreuses préparations simples et composées de fines herbes ont été employées dans la thérapie de la lithiase urinaire comme les parties aériennes de *Herniaria hirsuta* L. mais aucune étude à ce jour n'a montré l'effet du gingembre et Origan sur la prévention ou le traitement de la lithiase urinaire. Pour ce faire, le gingembre et l'Origan ont été choisis dans le but de tester leur potentiel pouvoir inhibiteur sur la cristallisation de phosphate de calcium amoniac-magnésien.

L'effet de ces deux plantes utilisées dans l'inhibition de la cristallisation des phosphates amoniac-magnésiens, est très important.

L'Origan en décoction a pu convertir la struvite de façon totale à des granulations de carapatite pour les concentrations 75, 100%. L'analyse par IRTF confirme les résultats trouvés par microscopie.

A 10, 25,50% on a remarqué une formation de quelques cristaux de struvite avec la présence dominante de carapatite. En infusion la meilleure concentration était 50% où on a remarqué une absence totale de struvite, on ne voit que des granulations (conversion cristalline). En soxhlet, l'inhibition de struvite est totale pour les concentrations élevées en Origan ,75% et 100%. Pour les concentrations faibles, on a constaté une formation d'un nombre réduit de cristaux de struvite avec une présence abondante des granulations de carapatite issus d'une conversion de cristaux de struvite.

Le gingembre à son tour, montre un pouvoir inhibiteur sur la struvite mais il est moins important par rapport à l'origan. La décoction est la meilleure mode de préparation où on a enregistré une inhibition plus importante que celle remarquée pour les autres modes.

## ***Conclusion générale.***

La lithogénèse se traduit par une cascade d'événements parfois très espacés dans le temps, parfois au contraire très rapprochés, et souvent d'expression intermittente, ce qui peut rendre difficile la compréhension des processus lithiasiques observés. L'étude *in vitro* et le déclenchement de la cristallisation a permis de mieux étudier les différentes étapes ainsi que l'effet des inhibiteurs et l'étape où ils peuvent agir.

Notre étude est basée en premier point sur la cristallurie de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) et la struvite, en absence de toute substance qui puisse y influencer. Ça nous a permis de comprendre plus ou moins le déroulement et le mécanisme de la lithogénèse.

L'étude de l'effet des substances chimiques (magnésium et citrate) sur la cristallisation a constitué notre deuxième partie de notre travail. Le modèle qu'on a adapté a prouvé son fiabilité. Les résultats obtenus montrent une inhibition remarquable que ce soit pour la whewellite ou la struvite. Le magnésium a montré un pourcentage d'inhibition de 99% de nombre de cristaux pour une concentration de 7mmol/l et une inhibition de 90.82% de la taille des cristaux et agrégats pour une concentration de 2mmol/l de magnésium mais en comparant le pouvoir inhibiteur des différentes concentrations de magnésium à la fin de cristallisation on trouve que la concentration de 2 mmol/l était meilleure que ce soit pour le nombre ou la taille.

L'acide citrique à son tour avait un rôle inhibiteur sur la nucléation et l'agrégation de la whewellite avec un pourcentage d'inhibition de 98.15%, 83.40 % de nombre et taille des cristaux respectivement, à la phase de nucléation pour une concentration de 0.5mmol/l. à la fin de la cristallisation, 66.80 % d'inhibition a été enregistré pour le nombre et 22.06 % pour la taille, pour cette même concentration (0.5mmol/l).

L'effet du citrate et de magnésium sur la cristallisation des phosphates amoniacomagnésien n'était pas moins important que celui enregistré pour la whewellite, surtout pour le citrate qui montre une relation linéaire entre le pouvoir inhibiteur et la concentration utilisée. Le pouvoir inhibiteur est important sur l'agrégation et la taille des cristaux mais n'inhibe pas totalement l'espèce cristalline.

L'étude que nous avons effectuée en troisième partie porte sur le rôle inhibiteur des plantes médicinales tel que : le gingembre et l'origan sur la cristallisation oxalo-calcique ainsi que sur la struvite. Pour la whewellite, l'origan préparé par la méthode de décoction montre une inhibition totale des cristaux et des agrégats à la concentration 75%. Une inhibition par conversion a été remarquée où les whewellites ont totalement transformé en weddellite (oxalate de calcium dihydraté). L'origan préparé par infusion, à 10% et 25% de concentration, montre une inhibition du nombre des cristaux, 79.83% et 100% à la phase de nucléation mais il n'avait aucun effet sur le nombre après la première minute de cristallisation, contrairement à la taille où nous avons enregistré des pourcentages d'inhibition importants durant toutes les phases.

Comme pour l'origan préparé par décoction, l'origan préparé par infusion montre une inhibition meilleure par rapport aux autres concentrations, à 75%.

Pour l'origan préparé par la méthode de soxhlet, à partir de la concentration 50%, on a pu remarquer une inhibition importante du nombre et de la taille des cristaux. Par contre la méthode de l'extraction qui semble être la plus efficace reste la décoction.

Le gingembre en décoction montre aussi une inhibition du nombre et de la taille des cristaux et des agrégats. Mais son effet sur la taille est plus important. En infusion, l'inhibition a suivi une relation linéaire, où on a remarqué l'augmentation de l'inhibition en fonction de concentration surtout en ce qui concerne la taille. Le gingembre préparé par soxhlet a montré aussi une inhibition de la taille et du nombre des cristaux. Les taux d'inhibition les plus élevés ont été enregistré sous le gingembre préparé par infusion.

Pour la cristallisation des phosphates amoniac-magnésiens hexahydratés (struvite), l'Origan préparé par les 3 modes d'extraction a pu convertir la struvite de façon totale à des granulations de carbapatite.

Le gingembre a montré aussi une inhibition très élevée mais qui reste moins importante par rapport à celle enregistrée par l'origan.

On peut conclure que les deux plantes testées ont prouvé un effet non négligeable sur la cristallisation oxalo-phosphocalcique. Les deux plantes étudiées nécessitent encore plus d'études pour bien apprécier leur rôle inhibiteur et pour déterminer les constituants minérales et organique exactes (principes actifs) afin de pouvoir expliquer l'action de ces dernières sur les différentes phases de la cristallisation dans le but d'élargir l'utilisation de ces deux plantes dans le traitement préventif de la lithiase urinaire.

## Références bibliographiques

ABDELMALEK F, HARRACHE.D,TALEB S, ADDOU A, SEMOUD A..Etude par turbidimétrie de la cristallisation oxalocalcique de quelques inhibiteurs. *Physical and Chemistry News*, 2001; 1-(4)p 96-107.

ABRAHAM PA, SMITH CL. –Evaluation of factors involved in calcium stone formation. *Miner Electrolyte Metal*. 13: 201-208.

ACHILLES W.1991. Microphotometric quantification of crystal growth in gels for the study of calcium oxalate urolithiasis. *Scanning, Microsc*, 1987;5: 1001-1017.

Adjanohoun JE, Aké assi L, Floret JJ, Guinko S, Koumare M, Ahyi A. Médecine traditionnelle et pharmacopée. *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Malie ACCT*. Paris, 1979,291.

ANTINOZZI P, BROWN CM, KHAN SR. and PURICH D. - Inhibitory action of citrate on calcium oxalate monohydrate crystal nucleation and growth In: *Proceeding of the VIIth. International symposium on urolithiasis Cairns*, 1992; 115: 24-28.

Asplin J.R., Lingeman J., Kahnoski R., Mardis H., Parks J.H., Coe F.L..Metabolic urinary correlates of calcium oxalate dihydrate in renal stones. *J Urol*,1998;159:664-668.

Asplin J.R., Arsenault D;, Parks J.H., Coe F.L., Hoyer J.R.: Contribution of human uropontin to inhibition of calcium oxalate crystallization. *Kidney Int*, 1998 ;53:194-199.

Atmani F., Opalko FJ., Khan SR.Cellular membranes present in the whole human urine promote heterogeneous nucleation of calcium oxalate crystals. In: Jungers P, Daudon M (eds). Renal Stone Disease. Crystallization process, pathophysiology, metabolic disorders and prevention. *Paris, Elsevier*, 1997; pp. 143-144

Bataille P, Charransol G, Gregoire I, Daigre JL, Coevoet B, Makdassi R, Pruna A, Locquet P, Sueur JP, Fournier A.. Effect of calcium restriction on renal excretion of oxalate and the probability of stones in the various pathophysiological groups with calcium stones. *J Urol*,1983 ;130:218–23.

BATAILLE P, FINET M, FOURNIER A, GREGOIRE I, LACOUR B, ROULLET JB.. Pyrophosphaturie dans la lithiase calcique: un facteur de risque lithogène dans l'hypercalciurie idiopathique aggravé par la restriction calcique. *Néphrologie*, 1984 ;5: 87-98

BAUMANN JM, BISAZ S, FELIX R, FLEISCH H, GANZ U, RUSSEL RGG.. The role of inhibitors and other factors in the pathogenesis of recurrent calcium containing renal stones. *Clin, Sci, Mol, Med*, 1977 ; 53: 141-148.

BEAUFAYS JP., BOUCHE R., BOISTELLE R.. Modèle d'étude de la lithogénèse oxalo-calcique par cinétique par cinétique turbidimétrique. *Néphrologie*, 1993 ;14, 271-281

BELAND Y, BOISTELLE R, OLMER M.. Urinary supersaturation with respect to brushite in patients suffering calcium oxalate lithiasis. *Nephrol, Dial, Transplant*, 1990;5: 179-184.

Berland Y., Dussol B: Les inhibiteurs glycoprotéiques de la formation des calculs urinaires. *Néphrologie*, 1999 ; 14 : 183-187.

- BELLANGER H.. Lithiase cystinique. Essai de traitement par les alcalins. *J, Urol*, 1950 ;56: 695-699.
- Berland Y.La lithiase urinaire oxalocalcique idiopathique: nouvelles approches physiopathologiques. *Néphrologie*, 1999 ;20: 363-369.
- Bigi A, Falini G, Foresti E, Gazzano M, Ripamonti A, Roveri N. Magnesium influence on hydroxyapatite crystallization. *J Inorg Biochem* ,1993; 49 :69-78.
- BIZAS S, FELIX R, NEWMAN WF and FLEISCH H.. Quantative dermination of inhibitors of calcium phosphate precipetation in whole urine. *Miner Electrolyte Metab*, 1978; 1: 74-83.
- Bisaz S, Felix R, Nelman WF, Fleesch. Quantitative determination of inhibitors of calcium phosphate precipitation in whole urine. *Nephrologie*,1984;5 :175-179.
- Bouzidi .H ; Lacour .B ; Daudon .M. Lithiase de 2,8-dihydroxyadénine : du diagnostic à la prise en charge thérapeutique. *Ann Biol Clin*,2007 ; 65 (6) : 585-92.
- BRUNETON, J., *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*, 3<sup>ème</sup> édition, Paris, Editions TEC & DOC Lavoisier,. 1999
- Bigi A, Falini G, Foresti E, Gazzano M, Ripamonti A, Roveri N. Magnesium influence on hydroxyapatite crystallization. *J Inorg Biochem*,1993 ; 49 :69-78.
- Boistelle R, Abbona F, Berland Y, Granvullemin M, Olmer M. Les domaines de nucléations du phosphate ammoniacomagnésien dans les urines stériles, alcalines ou acides. *Néphrologie* 1984 ; 5 : 217-221.
- Boisteller. Concepts de la cristallisation en solution. *Actual Nephrol Necker Hosp* 1985;15:159-202.
- Brown L.F., Berse B., Van de Water L., Papadopoulos-Sergio A., Perruzzi C.A., Manseau E.J., Dvorak H.F., Senger D.R. : Expression and distribution of osteopontin in human tissues : widespread association with luminal epithelial surfaces. *Mol. Biol. Cell*, 1992, 3 : 1169-1180.
- CARLIER,V.,2006- *Herbier médical, 35 pantes de santé à herboriser,édition Aubanel*, p 224.
- Caudarella R, Rizzoli E, Malavolta N, Severi B, Vasi V, Biagini G. Cristallurie urinaire. Un problème à débattre. *Act Urol Belg* 1986 ; 54 : 49-56.
- CLAVELJ, LACOUR B, BUNEAU M, ROULLET JB et ULMANN A.,Elimination urinaire de substances lithogènes chez des lithiasiques calciques hospitalisés. Signification physiopathologiques et valeurpronostique. *Presse, Med*, 1983 : 12: 27-30.
- COE FL, PARKS JH, NAKAGAWA Y. Inhibitors and promoters of calcium oxalate crystallisation. Their relationship to the pathogenesis and treatment of nephrolithiasis. In: COE FL. FAVUS MJ. Disorders of bone and mineral metabolism. *New york, Raven, Press, Ltd*, 1992, 757-799.
- Frassetto L, Morris Jr. RC, Sellmeyer DE, Todd K, Sebastian A. Diet, evolution and aging--the pathophysiologic effects of the post-agricultural inversion of the potassiumto- sodium and base-to-chloride ratios in the human diet. *Eur J Nutr* 2001;40:200–13.
- CONTE A, ROCAP, GRASES F.. Uric acid and its relation-ship with glycosaminoglycans in normal and stone former subjects. *Nephron*, 1989: 52: 162-165.
- Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ. A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N Engl J Med* 1993;328: 833–8.

Curhan GC, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. Twentyfour- hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men. *Kidney Int* 2001;59:2290–8.

Daudon M, Reveillaud RJ. Typage morphologique des calculs oxalocalciques et données etiopathogéniques. *Ann Urol*. 1985, 19, 299-308.

DAUDON M, HERMEQUIN C, JUNGERS P, LACOUR B et DRUEK T. 1994. Inhibiteurs de cristallisation dans l'urine. *Activités Néphrologiques*.

Daudon M., Réveillaud R.J. Whewellite et weddellite : vers des étiopathogénies différentes. Intérêt du typage morphologique des calculs. *Nephrologie* 1984;5:195-201

DAUDON M.. Mécanismes de la lithogénèse. In: JUNJERS P, DAUDON M, LEDUC A. Lithiase urinaire. Paris, Flammarion, Médecine, Sciences : 1989. 114-157.

Daudon M, Bader CA, Jungers P. Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. *Scanning Micros*. 1993, 7 1081-1106.

DAUDON M. critères d'interprétation d'une cristallurie. *L'urobiologiste* Tome XXXVII, N°203.

Daudon M. Épidémiologie actuelle de la lithiase rénale en France. *Ann Urol* 2005;39:209—31.

Daudon M ; Traxer.O ; Lechevallier.E ; Saussine.C. Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie* (2008) 18, 802—814.

Daudon M., Jungers P., Lacour B. Intérêt clinique de l'étude de la cristallurie. *Ann Biol Clin* 2004;62:379-393.

Daudon M, Doré JC, Jungers P, Lacour B(b). Changes in stone composition according to age and gender of patients: a multivariate epidemiological approach. *Urol Res* 2004;32:241—7.

Daudon M, Bounxouei B, Santa Cruz F, Leite da Silva S, Diouf B, Angwafoo 3rd FF, et al.<sup>(a)</sup> Composition des calculs observés aujourd'hui dans les pays non industrialisés. *Prog Urol* 2004;14:1151–61.

Daudon M. Épidémiologie actuelle de la lithiase rénale en France. *Ann Urol* 2005;39:209—31.

De Mendonca CO, Martini LA, Baxmann AC, Nishiura JL, Cuppari L, Sigulem DM, Heilberg IP. Effects of an oxalate load on urinary oxalate excretion in calcium stone formers. *J Ren Nutr* 2003;13:39–46.

Donsimoni R, Hennequin C, Fellahi S, Troupel S, Moel GL, Paris M, Lacour B, Daudon M. New aspects of urolithiasis in France. GERBAP : groupe d'évaluation et de recherche des biologistes de l'assistance publique des hôpitaux de Paris. *Eur Urol* 1997;31:17–23.

DE MARTINO, L., DE FEO, V., FORMISANO, C., MIGNOLA, E. and SENATORE, F., Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart growing wild in Campania (Southern Italy), *Molecules*, 2009, 14, 2735-46.

DESMARS JF, TAWASHI R.. Dissolution and growth of calcium oxalate monohydrate. I. Effect of magnesium and ph. *Biochim, Biophys, Acta*, 1973: 313: 256-267.

Drriouch Aouatef .2005. Etude de l'inhibition des cristaux oxalo-calcique dans l'urine artificiel thèse de doctorat en science option chimie. Université de Mostaganem.

Dussol B., Berland Y. : Urinary kidney stone inhibitors. *Where are we? Nephrol. Dial. Transplant*, 1996, 11 : 1222-1224.

Estepa L, Daudon M. Biospectroscopy (1997); 3,34769.

Fan J, Chandhoke PS. Examination of crystalluria in freshly voided urines of recurrent calcium stone formers and normal individuals using a new filter technique. *J Urol* 1999 ; 161 : 1685-8.

Felidj M, Bouazza M, Ferouani T. note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila (verticillata)* dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale). 2010, 34 : 147-154.

FLEISCH H., Inhibitors and promoters of stone formation. *Kidney, In*, 1978 :13: 361-371.

G. Brien, G. Schubert, C. Bick, Eur. *Urol.*, 1982; 8: 251-256.

GARTI N, TIBIKA F, SARIG S and PERLBERG. The inhibitory effect of polymeric carboxylic amino acids and urine on calcium oxalate crystallization, *Biochem, Biophys, Res, Commun*, 1980: 97: 1154-1162.

GRASES F, GIL JJ. And CONTE A. - Urolithiasis inhibitors and calculus nucleation. *Urol, Res*, 1989: 17: 163-166.

GRASES F. and COSTA-BAUZA A. - Study of factors affecting calcium oxalate crystalline aggregation. *B, J, Urol*, 1990 : 66: 240-244.

Grases F, Söhnel O, Vilacamp A.I, March J.G. Phosphates precipitating from artificial urine and fine structure of phosphate renal calculi. *Clinica Chimica Acta* 244 ,1996:45-67.

Griffith D.P., Osborne C.A. Infection (urease) stones. *Miner Electrolyte Metab* 1987;13:278-285.

HALSSON PC, ROSE GA, SULAIMAN S. 1982. Magnesium reduces calcium oxalate crystal formation in human. *Clin, Sci*, 62: 17-23.

Handa SS, Rakesh DD, Vasisht K. compendium of medicinal and aromatic plants Asia. 2006. Earth, environmental and marine sciences and technologies sics-unido. Area Science Park.

HENNIQUIN C, LALAME V, DAUDON M, LACOUR B et DREUKE T. 1993. A new approach to studying inhibitors of calcium oxalate crystal growth.

Hesse, H. J. Schneider, S. Schroder, R. Wegler, *Zschr. Urol. Nephrol.*, 1976; 69: 1-9.

HESS A, BERGW, SCHNEIDER HJ, HIENZSCH E. A contribution to the formation mechanism of calcium oxalate urinary calculi. I. Stabilizing urinary constituents in the formation of weddelite. *Urol, Res* 1976, 4: 125-128.

Hesse A, Schneeberger W, Engfeld S, Von Unruh GE, Sauerbruch T. Intestinal hyperabsorption of oxalate in calcium oxalate stone formers: application of a new test with [<sup>13</sup>C<sup>2</sup>] oxalate. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(suppl14):S329- 33.

HESS B. The role of tamm-horsfall glycoprotein and nephrocalcin in calcium oxalate monohydrate crystallization processes. *Scanning Microscopy*, 1991;5: 689-696.

Hess B. Tamm-Horsfall glycoprotein: inhibitor or promoter of calcium oxalate monohydrate crystallization processes ?. *Urol Res* 1992;20:83-86.

Hess B., Jordi S., Zipperle L., Ettinger E., Giovanoli R. Citrate determines calcium oxalate crystallization kinetics and crystal morphology: studies in the presence of Tamm-Horsfall protein of a healthy subject and a severely recurrent calcium stone former. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:366-374.

HEUGHEBAERT JC. Relation entre les phosphates de calcium et les oxalates des calculs urinaires. *Nephrologie*, 1984, 5: 163-170.

HOWARD JE, THOMAS WC, BARKER LM, SMITH LH, WADKINS CL. The recognition and isolation from urine and serum of a peptide inhibitor to calcification *JOHNS HOPKINS.Med, J*, 120: 1967: 119-136.

Hostettman K, Hamburger H. *Phytochemistry* 1991, 30 (12), 3874.

Hostettman K, Potterat O, Wolfender JL. *Chimia*. 1998. 52, 10-17.

Houghton P. J. and Raman A.. Laboratory Hand book for Fractionation of Natural Extracts. *Chapman et Hall, Londres, 1ère éd.*, 1998: 29-31.

HOWARD JE, THOMAS WC, SMITH LH, BARKER LM, WADKINS CL. A urinary peptide with extra ordinary inhibitory powers against biological calcification (deposition of hydroxyapatite crystals). *Trans, Assoc, Am, Physicians*, 1966,7: 137-147.

Hoyer J.R., Otvos L., Urge L. : Osteopontin in urinary stone formation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1995, 760 : 257-265.

Jungers P., Daudon M., Conort P. Lithiase rénale. Diagnostic et traitement, Chap.2: Mécanisme de la lithogénèse. *Paris, Flammarion Médecine-Sciences*, 1999, pp. 17-34.

Kacem B ; Belouatek.A ; Benahmed.A ; Semmoud.A ; Addou.A. Study of spontaneous crystalluria for the lithiasic patients before and after surgical treatment. *Biosciences, Biotechnology Research Asia* 4 ,2007: 49-54.

Khan S.R., Hackett R.L. Role of organic matrix in urinary stone formation: an ultrastructural study of crystal matrix interface of calcium oxalate monohydrate stones. *J Urol*1993:150:239-245.

Kleinman J.G., Beshensky A., Worcester E.M., Brown D. : Expression of osteopontin, a urinary inhibitor of stone mineral crystal growth, in rat kidney. *Kidney Int.*, 1995, 47 : 1585-1596.

KOHRI K, GARSIDE J, BLCKLOK NJ.. The role of magnesium in calcium oxalate urolithiasis. *Br, J, Urol*, 61, 1988: 107-115.

KOK DJ, PAPAPOULOS SE and BUVOETO LM. Crystal agglomeration is a major elements in calcium oxalate urinary stone formation. *Kidney, Int*, 1990: 37: 51-56.

LAMIASKI NA, MEYERS AM, SONNEKUS MI and SMITH AE. Prevalence of hypocitraturia and pyrophosphaturia in recurrent calcium stone formers: as isolated defects or associated with other metabolic abnormalities. *Nephron*, 1990. 56: 379-386.

Lemann Jr. J, Pleuss JA, Worcester EM, Hornick L, Schrab D, Hoffmann RG. Urinary oxalate excretion increases with body size and decreases with increasing dietary calcium intake among healthy adults. *Kidney Int* 1996;49:200-8.

LEWIS AM, THOMAS WC and TOMITA A. 1966. Pyrophosphate and the mineralizing potential of urine. *Clin, Sci*, 30: 123-125.

LI MK, BLACKLOCK NJ, GARSIDE J. 1985. Effects of magnesium on calcium oxalate crystallization. *J, Urol*, 133: 123-125.

Lieske J.C., Toback F.G. : Interaction of urinary crystals with renal epithelial cells in the pathogenesis of nephrolithiasis. *Semin. Nephrol.*, 1996, 16-5 : 458-473.

Lieske J.C., Deganello S., Toback F.G. : Cell-crystal interactions and kidney stone formation. *Nephron*, 1999, 81 : 8-17.

Lopez M., Nakagawa Y., Coe F.L., Tsai C., Michael A.F., Scheinman J.I. Immunochemistry of urinary calcium oxalate crystal growth inhibitor (CGI). *Kidney Int* 1986;29:829-833.

Maurice-Estepa L., Levillain P., Lacour B., Daudon M. Crystalline phase differentiation in urinary calcium phosphate and magnesium phosphate calculi. *Scand J Urol Nephrol* 1999;33:299-305.

McGuffin M, Kartesz JT, Leung AY, Tucker AO, éditeurs. Herbs of Commerce, 2<sup>e</sup> édition. Silver Spring (MD): *American Herbal Products Association*; 2000.

Mills S, Bone K. Principles and Practice of Phytotherapy. Toronto (ON): *Churchill Livingstone*; 2000.

Min W., Shiraga H., Chalko C., Goldfarb S., Krishna G.G., Hoyer J.R. : Quantitative studies of human urinary excretion of uropontin. *Kidney Int.*, 1998, 53 : 189-193.

MINERO C, MAGGIORITI P, BARBEENI M, TIZANI G. and PIANA C, -Effect of inhibitors on the crystal growth of calcium oxalate. *Contrib, Nephrol*, 1987; 58: 65-72.

Mittal RD, Kumar R, Mittal B, Prasad R, Bhandari M. Stone composition, metabolic profile and the presence of the gut-inhabiting bacterium *Oxalobacter formigenes* as risk factors for renal stone formation. *Med Princ Pract* 2003; 12:208-13.

Mittal RD, Kumar R. Gut-inhabiting bacterium *Oxalobacter formigenes*: role in calcium oxalate urolithiasis. *J Endourol* 2004;18:418-24.

Nakagawa Y., Margolis H.C., Yokoyama S., Kezdy F.J., Kaiser E.T., Coe F.L. Purification and characterization of a calcium oxalate monohydrate crystal growth inhibitor from human kidney tissue culture medium. *J Biol Chem* 1981;256:3936-3944.

Nakagawa Y., Abram V., Kezdy F.J., Kaiser E.T., Coe F.L. Purification and characterization of the principal inhibitor of calcium oxalate monohydrate crystal growth in human urine. *J Biol Chem* 1983;258:12594-12600.

OURY RA, GOLDWASSER B, WAX Y, PERLBERG S, GARTI N, SARIG S. Evaluation of the relative inhibitory potential of fractionated urinary macromolecules, *Urol, Re*, 1985;13: 199-205.

Pak CY, Kaplan R, Bone H, Townsend J, Waters O. A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive and renal hypercalciurias. *N Engl J Med* 1975;292:497-500.

Pak CYC. Potential etiologic role of brushite in the formation of calcium (renal) stones. *J Crystal Growth* 1981; 53 : 202-208.

Pak CY. Medical management of nephrolithiasis. *J Urol* 1982;128:1157-64. *Pharmaceutique*, 1993 ; 44 : 231-50. *Forum Méd. Suisse*. 2007 ; 7 : pp 708-12.

Pascal PAULHAC (1), François DESGRANDCHAMPS (2), Jean-Philippe DUMAS (1), Pierre TEILLAC (2), Alain LE DUC (2), Pierre COLOMBEAU (1) (1) *Service de Chirurgie Urologique et*

*Andrologie, CHRU Dupuytren, Limoges, France, (2) Service de Chirurgie Urologique, Hôpital Saint-Louis, Paris, France Prog Urol, 2002, 12, 1, 114-117*

Randall A. An hypothesis for the origin of renal calculus. *N Engl J Med* 1936; 214: 234-237

Robertson W.G, Peacock M, Nord in B.E. Activity products in stone -forming and non-stone-forming urine. *Clin Sci* 1968; 34 :579-594.

Robertson WG, Heyburn PJ, Peacock, Hanes F, Swaminathan R. The effect of a high animal protein intake on the risk of calcium stone formation in the urinary tract. *Clin Sci* 1979 ; 57 :285-288.

ROSATO, A., VITALI, C., PIARULLI, M., MAZZOTTA, M., ARGENTIERI, M. P. and MALLAMACI, R., In vitro synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of *Origanum vulgare* and *Pelargonium graveolens* against some Candida species, *Phytomedicine*, 2009, 16, 972-5.

RUSSEL RGG, BIZAS S and FLEISCH H.. The influence of orthophosphate on the renal handling of inorganic pyrophosphate in man and dog. *Clin, Sci, Mol, Med*, 1976; 51: 435-443.

Ryall R.L., Chauvet M.C., Grover P.K. Intracrystalline proteins and urolithiasis: a comparison of the protein content and ultrastructure of urinary calcium oxalate monohydrate and dihydrate crystals. *BJU Int* 2005;96:654-663.

SAVINI, I., ARNONE, R., CATANI, M. V. and AVIGLIANO, L., *Origanum vulgare* induces apoptosis in human colon cancer caco2 cells, *Nutr Cancer*, 2009, 61, 381-9.

Cerini C., Geider S., Dussol B., Hennequin C., Daudon M., Veessler S., Nitsche S, Boistelle R, Berthezene P, Dupuy P, Vazi A, Berland Y, Dagorn JC, Verdier JM. Nucleation of calcium oxalate crystals by albumin: Involvement in the prevention of stone formation. *Kidney Int* 1999;55:1776-1786.

Scurr D.S., Robertson W.G. Modifiers of calcium oxalate crystallization found in urine. III. Studies on the role of Tamm-Horsfall mucoprotein and of ionic strength. *J Urol* 1986;136:505-507.

Sidhu H, Schmidt ME, Cornelius JG, Thamilselvan S, Khan SR, Hesse A, Peck AB. Direct correlation between hyperoxaluria/oxalate stone disease and the absence of the gastrointestinal tract-dwelling bacterium *Oxalobacter formigenes*: possible prevention by gut recolonization or enzyme replacement therapy. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(suppl14):S334-40.

Shiraga H., Min W., Van Dusen W., Clayman M.D., Miner D., Terrell C.H., Sherbotie J.R., Foreman J.W., Przywiecki C., Neilson E.G., Hoyer J.R. : Inhibition of calcium oxalate crystal growth in vitro by Uropontin : another member of the aspartic acid-rich protein superfamily. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1992, 89 : 426-430.

SMITH H, MEYER JL. Urinary inhibitors of calcium oxalate crystal growth. In: FINLAYSON B, THOMAS WC. Colloquium on renal lithiasis . *Gainesville university press of Florida* 1975 .

Sorensen S., Justesen S.J., Johnsen A.H. : Identification of a macromolecular crystal growth inhibitor in human urine as osteopontin. *Urol. Res.*, 1995, 23-5 : 327-34.

SRIHARI, T., SENGOTTUVELAN, M. and NALINI, N., Dose-dependent effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) on lipid peroxidation and antioxidant status in 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis, *J Pharm Pharmacol*, 2008, 60, 787-94.

Taylor EN, Stampfer MJ, Curhan GC. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men: new insights after 14 years of follow-up. *J Am Soc Nephrol* 2004;15: 3225-32.

TICLI, B., *Les herbes médicinales les plus puissantes et les plus efficaces*, Milan, Editions De Vecchi S.A., 1999.

Traxer O, Huet B, Poindexter J, Pak CY, Pearle MS. Effect of ascorbic acid consumption on urinary stone risk factors. *J Urol* 2003;170:397–401.

USDA 2008: ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network (GRIN). *Zingiber officinale* Roscoe. *National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville (MD)*. [Consulté le 14 janvier 2008].

RYALL RL, HARNETT RM and MARSHALL VR,. The effect of urine, pyrophosphate, citrate, magnesium and glycosaminoglycans on the growth and aggregation of calcium oxalate crystals in vitro. *Clin, Chim, Acta*, 1981; 112: 349-356

Young B.A., Burdmann E.A., Johnson R.J., Alpers C.E., Giachelli C.M., Eng E., Andoh T., Bennett W.M., Couser W.G. : Cellular proliferation and macrophage influx precede interstitial fibrosis in cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.*, 1995, 48 : 439-448.

Werness PG, Bergert JH, Smith LH. Crystalluria. *J Crystal Growth* 1981 ; 53 : 166-81.

Wesson J.A., Worcester E.M., Wiessner J.H., Mandel N.S., Kleinman J.G. : Control of calcium oxalate crystal structure and cell adherence by urinary macromolecules. *Kidney Int.*, 1998, 53, 952-957.

Worcester E.M. : Inhibitors of stone formation. *Semin. Nephrol.*, 1996, 16-5, 474-486.

Worcester E.M., Beshensky A.M. : Osteopontin inhibits nucleation of calcium oxalate crystals. *Ann NY Acad. Sci.*, 1995, 760 : 375-377.

Worcester E.M., Blumenthal S.S., Beshensky A.M., Lewand D.L. : The calcium oxalate crystal growth inhibitor protein produced by mouse kidney cortical cells in culture is osteopontin. *J. Bone Miner. Res.*, 1992, 7 : 1029-1036.

Zarembski PM, Hodgkinson A. Some factors influencing the urinary excretion of oxalic acid in man. *Clin Chim Acta* 1969;25:1–10.

## Résumé

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente et multifactorielle complexe qui nécessite la compréhension des mécanismes impliqués dans la lithogénèse. La sursaturation du milieu urinaire est l'étape initiale du processus lithogène qui engendre la phase insoluble primitive constituée de cristaux et en assure la croissance. En effet, lorsque la sursaturation est suffisante, elle conduit à la nucléation de cristaux puis à leur croissance qui, suite à une agrégation, peuvent entraîner une formation de calculs. Toutefois une meilleure connaissance des étapes du processus de cristallisation, est une bonne définition des moyens thérapeutiques susceptibles de réduire la formation des cristaux dans l'urine, permettent une prévention efficace afin d'éviter le risque de récurrence auquel praticien et patient sont confrontés. Parmi les moyens thérapeutiques préventifs, on trouve le recours aux inhibiteurs de cristallisation. De ce point de vue nous avons testés quelques substances chimiques (**magnésium, citrate**) et naturelles (**Origan, Gingembre**) sur la cristallisation oxalocalcique (**whewellite**) et phosphocalcique (**struvite**) afin d'empêcher, de réduire ou de ralentir le phénomène de cristallisation, la cinétique a été suivie en fonction du temps à 37 °C et sous agitation constante. L'analyse est faite par microscope à lumière polarisée est confirmée par **IRTF**. Les résultats trouvés indiquent que les inhibiteurs chimiques tels que le Mg et le citrate, agissent fortement sur la phase de germination de la **whewellite** avec un taux d'inhibition qui dépasse 83% et ceci pour le nombre et les tailles, pour la **struvite** la concentration 7 mmol/l du Mg a fait retarder totalement l'apparition de cristaux à 30 minutes de cristallisation, la concentration 2.5 mmol/l du citrate avait un pouvoir inhibiteur sur le nombre avec 87% et sur la taille avec 60%. Pour les inhibiteurs naturels et leurs actions sur la **whewellite**, l'**origan** extrait par décoction semble être le meilleur inhibiteur aux concentrations très élevées (75%, 100%) avec un taux de 100% au début de la cristallisation, par contre le **gingembre** a un effet moins important sur le nombre et la taille des cristaux de **whewellite** et ceci pour toutes les concentrations et les modes d'extraction utilisés. Enfin pour l'action inhibitrice de l'**origan** et du **gingembre** sur la cristallisation phosphocalcique (**struvite**) on a constaté qu'elle était fortement très efficace dans l'élimination totale des cristaux formés. En conclusion les inhibiteurs chimiques ou naturels testés avaient un pouvoir inhibiteur non négligeable sur l'urine artificielle de type oxalocalcique et phosphocalcique, ce qui donne signe d'être rentabilisé au futur dans la prévention des lithiases urinaires.

**Mots clés:** cristallisation, Inhibition, whewellite, struvite, *Origanum vulgare*, *Zingiber officinale* *Roscoe*, magnesium, citrate.

## ***Abstract***

Urolithiasis is a common and multifactorial complex that requires an understanding of the mechanisms involved in the pathology lithogenesis. Supersaturation of urinary medium is the initial stage of lithogenic process that generates primitive phase consisting of insoluble crystals and ensures growth. Indeed, when supersaturation is sufficient, it leads to nucleation and crystal growth in which, following aggregation, may cause stones formation. However, a better understanding of the stages of crystallization, is a good definition of therapeutic ways to reduce the formation of crystals in the urine, allow effective prevention to avoid the risk of recurrence in which the practitioner and patient face. Among the preventive therapeutic measures, we find the use of crystallization inhibitors. From this point of view we tested some chemicals (magnesium citrate) and natural (**Origano**, **Ginger**) on calcium oxalate (**whewellite**) and calcium phosphate (**struvite**) crystallization to eliminate, reduce or slow down the phenomenon of crystallization, kinetics was followed with time at 37 °C and under constant stirring. The analysis is done by polarized light microscope is confirmed by **FTIR**. The obtained results indicate that the effect of chemical inhibitors such as Mg and the citrate acts strongly on the germination phase of **whewellite** with an inhibition ratio exceeds 83 % and that for this the number and size, for struvite concentration of 7 mmol/l Mg was completely delay the onset of crystal 30 minutes crystallization concentration 2.5 mmol/l citrate had inhibitory effects on the number with 87% and 60% size. For natural inhibitors and their actions on the **oregano** extract **whewellite** decoction inhibitor seems to be the best at very high concentrations (75 %, 100 %) with a rate of 100 % at the beginning of the crystallization, **ginger** against has less effect on the number and size of crystals **whewellite** and this for all concentrations and extractions used modes. Finally for the inhibitory action of **oregano** and **ginger** on the phosphate crystallization (**struvite**) was found which was highly very effective in elimination of the crystals formed. In conclusion, the natural or chemical inhibitors tested had a significant inhibitory potency on artificial urine calcium oxalate and phosphate type, which gives signs of being profitable future in the prevention of urolithiasis.

**Keywords:** crystallization, Inhibition, whewellite, struvite, *Origanum vulgare*, *Zingiber officinale* *Roscoe*, magnesium, citrate.