

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BATNA 2

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE



THESE

Présentée par

BOUZID Wafa

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie Appliquée

Thème

Etude de L'activité Biologique de *Urospermum dalechampii* L. Schmidt et de *Celtis australis* L.

Soutenu publiquement devant le jury :

Président	Mr. LAROUÏ Salah	Professeur	Université Batna 2
Rapporteur	Mr. YAHIA Mouloud	Professeur	Université Batna 2
Co-encadreur	Mme. BENKIKI Naima	Maitre de conférences A	Université Batna 2
Examineur	Mr. BENNOUNE Omar	Professeur	Université Batna 1
Examineur	Mr. AYACHI Amar	Professeur	Université Batna 1
Examineur	Mr. YAHIA Abd Elouahab	Professeur	Centre Universitaire de Mila

Année universitaire : 2017-2018

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BATNA 2

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE



THESE

Présentée par

BOUZID Wafa

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie Appliquée

Thème

Etude de L'activité Biologique de *Urospermum dalechampii* L. Schmidt et de *Celtis australis* L.

Soutenu publiquement devant le jury :

Président	Mr. LAROUÏ Salah	Professeur	Université Batna 2
Rapporteur	Mr. YAHIA Mouloud	Professeur	Université Batna 2
Co-encadreur	Mme. BENKIKI Naima	Maitre de conférences A	Université Batna 2
Examineur	Mr. BENNOUNE Omar	Professeur	Université Batna 1
Examineur	Mr. AYACHI Amar	Professeur	Université Batna 1
Examineur	Mr. YAHIA Abd Elouahab	Professeur	Centre Universitaire de Mila

Année universitaire : 2017-2018

Remerciements

En premier lieu, Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant, qui m'a donné la patience et le courage pour accomplir ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement monsieur le professeur YAHIA Mouloud, directeur de thèse, pour son aide précieuse, sa grande disponibilité et ses encouragements. J'aurai voulu que vous assistiez avec nous mais ALLAH le tout puissant en a décidé autrement. Que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.

J'adresse mes sincères remerciements à madame BENKIKI Naima, maître de conférences à l'Université de Batna 2 pour sa disponibilité, sa gentillesse et ses encouragements.

Mes vifs remerciements vont également à monsieur LAROUI Salah, Professeur à l'Université de Batna 2, d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de thèse.

Je souhaiterais exprimer ma gratitude et mes vifs remerciements à monsieur YAHIA Abdelwahab, Professeur au Centre Universitaire de Mila ; à monsieur BENNOUNE Omar, Professeur à l'Université de Batna 1 ainsi qu'à monsieur AYACHI Amar, Professeur à l'Université de Batna 1 pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'étendent également à monsieur HACHEMI Messaoud, maître assistant à l'Université de Batna 2 et à monsieur KHETTAF Abdelkarim pour leur précieuse aide dans la réalisation des activités biologiques *in vivo*.

Ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements vont à Docteur DJAABA Saddek, spécialiste en anatomie et cytologie pathologique, pour sa contribution pour réaliser les coupes histologiques.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'intervention d'un grand nombre de personnes : MEZITI Asma, ALLAOUA Zina, BOUZID Hafida, BENAMMAR Leila, KHEBRI Souad, ATHAMENA Souad et MIHOUBI Mohamed Aymen.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à mes parents, qui m'ont aidé, encouragé et soutenu tout au long de la réalisation de ce travail de thèse.

Enfin, Je voudrais remercier aussi toutes les personnes qui d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'élaboration de ce travail de thèse.

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Introduction	P1

Etude Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les plantes étudiées

I.1. Données générales sur l' <i>Urospermum dalechampii</i> (L.) Scop. ex F.W.Schmidt.....	P 6
I. 1.1. Présentation.....	P 6
I.1.2. Etymologie.....	P 6
I.1.3. Description botanique.....	P 6
I.1.4. Position dans la systématique.....	P 7
I.1.5. Répartition géographique.....	P 7
I.1.6. Composition biochimique d' <i>U. dalechampii</i>	P 8
I.1.7. Utilisations thérapeutiques et alimentaires.....	P 9
I.2. Données générales sur <i>Celtis australis</i> (L.).....	P 10
I. 2.1. Présentation.....	P 10
I.2.2. Origine et étymologie.....	P 10
I.2.3. Description botanique.....	P 10
I.2.4. Position dans la systématique.....	P 11
I.2.5. Répartition géographique.....	P 11
I.2.6. Composition biochimique de <i>C. australis</i>	P 12
I.2.7. Différentes utilisations de <i>C. australis</i>	P 14

Chapitre II : Stress oxydant et antioxydants

II.1. Radicaux libres.....	P 16
II.2. Espèces réactives d'oxygène.....	P 16
II.3. Stress oxydant.....	P 17
II.4. Antioxydants.....	P 18
II.4.2. Classification des antioxydants.....	P 19

Chapitre III : Agents antimicrobiens

III.1. Notions sur les germes utilisés.....	P 21
III.1.1. Souches bactériennes.....	P 21
III.1.2. Souches fongiques.....	P 24
III.2. Antibiotiques (ATB).....	P 25
III.2.1. Classification des antibiotiques.....	P 25
III.2.3. Résistance aux antibiotiques.....	P 27

Chapitre IV : Réactions inflammatoires

IV.1. Définition.....	P 30
IV.2. Facteurs déclenchant l'inflammation.....	P 30
IV.3. Inflammation aiguë.....	P 31
IV.3.1. Phase vasculaire	P 32
IV.3.2. Phase cellulaire.....	P 34
IV.3.3. Phase de résolution et de cicatrisation.....	P 36
IV.4. Principaux effecteurs de la réaction inflammatoire.....	P 36
IV.4.1. Médiateurs plasmatiques de l'inflammation aiguë.....	p36
IV.4.2. Médiateurs solubles de l'inflammation aiguë.....	P 37
IV.4.3. Protéines de la phase aiguë de l'inflammation.....	P 38

Etude Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	P 42
I.2. Animaux.....	P 42
I.3. Obtention des extraits organiques.....	P 42
I.4. Analyse qualitative et quantitative.....	P 43
I.4.1. Criblage phytochimique.....	P 43
I.4.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP).....	P 45
I.4.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	P 47
I.4.4. Dosage spectrophotométrique.....	P 48
I.4.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)	P 48

I.4.4.2. Dosage des Flavonoïdes totaux (FT).....	P 49
I.4.4.3. Dosage des Tanins condensés(TC).....	P 49
I.5. Activités antioxydantes.....	P 49
I.5.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	P 49
I.5.1.1. Test <i>in vitro</i>	P 49
I.5.1.2. Test <i>in vivo</i>	P 50
I.5.2. Test de blanchissement du β -carotène.....	P 51
I.5.3. Chélation du fer ferreux.....	P 52
I.5.4. Réduction du fer ferrique.....	P 53
I.6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne.....	P 53
I.7. Evaluation de la toxicité aigüe et subaigüe.....	P 55
I.7.1. Test de toxicité aigüe.....	P 55
I.7.2. Test de toxicité subaigüe.....	P 56
I.8. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	P 60
I.8.1. Œdème de la patte induit par la carraghenane.....	P 60
I.8.2. Pleurésie induite par la carraghenane.....	P 61
I.8.3. Œdème de l'oreille induit par le xylène.....	P 62
I.9. Effet analgésique.....	P 62
I.9.1. Test du writhing.....	P 62
I.9.2. Test au formaldéhyde.....	P 63
I.10. Activité antipyrétique.....	P 64
I.11. Analyses statistiques.....	P 64

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Extraction.....	P 66
II.2. Analyse qualitative et quantitative.....	P 67
II.2.1. Screening phytochimique.....	P 67
II.2.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP).....	P 68
II.2.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	P 72
II.2.4. Dosage spectrophotométrique.....	P 74
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	P 78
II.3. 1. Effet scavenger du radical DPPH.....	P 78
II.3.1.1. Test <i>in vitro</i>	P 78

II.3.1.2. Test <i>in vivo</i>	P 83
II.3. 2. Test de blanchissement du β -carotène.....	P 85
II.3. 3. Chélation du fer ferreux.....	P 89
II.3.4. Réduction du fer (FRAP).....	P 94
II.4. Activité antimicrobienne.....	P 95
II.5. Evaluation de la toxicité aigüe et subaiguë.....	P 102
II.5.1. Test de toxicité aigüe.....	P 102
II.5.2. Test de toxicité Subaigu.....	P 104
II.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	P 111
II.6.1. Œdème de la patte induite par la carraghénane.....	P 111
II.6.2. Pleurésie induite par la carraghénane	P 113
II.6.3. Œdème de l'oreille induit par le xylène chez les rats.....	P 115
II.7. Effet analgésique.....	P117
II.7.1. Test du writhing.....	P117
II.7.2. Test au formaldéhyde	P 121
II.8. Activité antipyrétique.....	P 121
Conclusion.....	P125
Références bibliographiques.....	P129

Liste des abréviations

ALT :	Alanine transaminases
ANOVA :	Analysis of variance
AST :	Aspartate transaminases
ATB :	Antibiotique
ATCC :	American type culture collection
ATF :	Antifongique
BF3	Trifluorure de bore
BHT :	Butylated hydroxytoluen
CADM :	Extrait dichlorométhanique du <i>Celtis australis</i>
CAHX :	Extrait hexanique du <i>Celtis australis</i>
CAME :	Extrait méthanolique du <i>Celtis australis</i>
CAR :	Capacité antioxydante relative
<i>C. australis</i> :	<i>Celtis australis</i>
CE ₅₀ :	Concentration effective à 50%
CI ₅₀ :	Concentration inhibitrice à 50%
CLHP :	Chromatographie liquide à haute performance
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
DL ₅₀ :	Dose létale médiane (à 50 %)
DMSO :	Dimethyl sulfoxyde
DPPH :	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
DZIC :	Diamètre des zones d'inhibition de croissance microbienne
EDTA :	Ethylene diamine tetraacetic
FeCl ₃ :	Chlorure de fer (III)
E-EDTA :	Equivalent d'EDTA
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
Fe ²⁺ :	Fer ferreux
Fe ³⁺ :	Fer ferrique
FT :	Flavonoïdes totaux
H ₂ SO ₄ :	Acide sulfurique
KOH :	Hydroxyde de potassium
OCDE :	Organisation de coopération et de développement économiques
PAR :	Pouvoir anti-radicalaire relative

pH	Potentiel Hydrogène
PPT :	Polyphénols totaux
SEM:	Standard error of mean
sp :	Species
TBHQ :	Tert-butyl hydroquinone
TC :	Tanins condensés
<i>U.dalechampii</i> :	<i>Urospermum dalechampii</i>
UDDM :	Extrait dichlorométhanique d' <i>Urospermum dalechampii</i>
UDHX :	Extrait hexanique d' <i>Urospermum dalechampii</i>
UDME :	Extrait méthanolique d' <i>Urospermum dalechampii</i>
µg EAG / Mg :	Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait
µg EQ / Mg :	Microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait
µg EC / Mg :	Microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait

Liste des tableaux

I. Propriétés nutritionnelles d' <i>U. dalechampii</i>	P 8
II Propriétés nutritionnelles des fruits de <i>C. australis</i>	P 12
III Composition en métabolites secondaires de différentes parties de <i>C. australis</i>	P 13
IV Classification des antibiotiques	P 26
V. Programme et gradient d'éluion appliqué dans l'analyse des extraits et des standards par CLHP	P 47
VI. Masses et Rendement des différents extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i>	P 66
VII. Résultats des tests de caractérisation	P 67
VIII. Résultats de l'analyse par CLHP des extraits d' <i>U. dalechampii</i>	P 68
IX. Résultats de l'analyse par CLHP des extraits de <i>C. australis</i>	P 69
X. Composition en acides gras (%) de l'extrait hexanique d' <i>U. dalechampii</i>	P 72
XI Dosage des polyphénols totaux (PPT), des flavonoïdes totaux (FT) et des tanins condensés (TC) dans les extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i>	P 75
XII. Concentrations des extraits nécessaires pour une inhibition maximale du radical DPPH	P 79
XIII. Activité anti-radicalaire de TBHQ, des extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i> ..	P 79
XIV. Activité chélatrice de l'EDTA, de la quercétine et des extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i>	P 90
XV. Pouvoirs réducteurs des extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i>	P 94
XVI. Activité antimicrobienne des extraits d' <i>U. dalechampii</i>	P 96
XVII. Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>C. australis</i>	P 98
XVIII. Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique par les extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i>	P 101
XIX. Effet d'UDME et de CAME sur les paramètres biochimiques des rats	P 103
XX. Effet d'UDME et de CAME sur le poids corporel des rats (g)	P 105
XXI. Effet des extraits méthanolique d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i> sur les poids relatifs des organes	P 106
XXII. Effet des extraits UDME et CAME sur les paramètres hématologiques des rats	P 107
XXIII Effets d'UDME et de CAME sur les paramètres biochimiques des rats.	P 108

XXIV Effet anti-inflammatoire du diclofénac et des extraits d' <i>U. dalechampii</i> et de <i>C. australis</i> contre l'œdème de la patte induit par la carraghénane chez les rats	P 111
XXV Activité anti-inflammatoires et analgésiques de certains métabolites secondaires ..	P 119
XXVI Effet des extraits UDME et CAME et le paracétamol sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats	P 122

Liste des figures

1 <i>Urospermum dalechampii</i>	P 7
2 <i>Celtis australis</i>	P 11
3 Régulation de la production d'ERO.....	P 17
4 Schéma résumé de l'inflammation	P 32
5 Activation plaquettaire au cours de la phase vasculaire	P 33
6 Modification précoces de l'endothélium vasculaire au cours de la réponse inflammatoire	P 34
7 Recrutement de leucocytes aux sites d'infection	P 35
8 Rôle des anaphylatoxines C3a et C5a au cours de la réponse inflammatoire	P 37
9 Activateurs de la voie des kinines	P 37
10 Schéma d'extraction par épuisement successif par les solvants organiques	P 43
11 Chromatogramme obtenu à 280 des extraits d' <i>U. dalechampii</i>	P 70
12 Chromatogramme obtenu à 280 des extraits de <i>C. australis</i>	P 71
13 Profil en acides gras d'UDHX obtenu par CG / SM	P 73
14 Droite d'étalonnage de l'acide gallique	P 77
15 Droite d'étalonnage de la quercétine	P 77
16 Droite d'étalonnage de la catechine	P 78
17 Activité anti-radicalaire des extraits d' <i>U. dalechampii</i>	P 80
18 Activité anti-radicalaire des extraits de <i>C. australis</i>	P 82
19 La capacité antioxydante plasmatique des extraits méthanoliques vis-à-vis du radical DPPH	P 84
20 Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en absence et en présence des extraits d' <i>U. dalechampii</i> , de <i>C. australis</i> et du BHT	P 86
21 Capacité antioxydante relative des extraits d' <i>U. dalechampii</i> , de <i>C. australis</i> et du BHT dans le système β -carotène/acide linoléique	P 88
22 Activité chélatrice des extraits d' <i>U. dalechampii</i>	P 91
23 Activité chélatrice des extraits d' <i>U. de C. australis</i>	P 93
24 Pouvoir réducteur de l'acide gallique	P 95
25 Photomicrographie de l'histologie du foie des rats	p 109
26 Photomicrographie de l'histologie des reins des rats	P 110
27 Activité anti-inflammatoire d'UDME et de CAME à la dose de 400 mg / kg chez les rats ..	P 113

28	Effet d'UDME et de CAME sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les rats	P 116
29	Pouvoirs analgésiques l'UDME et de CAME sur les contorsions induites par l'acide acétique	P 118

Introduction

Introduction

À travers l'histoire et les cultures, les plantes ont été largement utilisées pour traiter et soigner toutes sortes de maladies (Barata et *al.*, 2016). A titre d'exemple, en Afrique, plus de 80 % de la population à recours aux préparations à base de plantes pour ce qui est des besoins de santé primaire. De même, le continent Africain est dotés d'une biodiversité très riche, en effet, parmi les 300,000 espèces végétales existants sur la planète, plus de 200,000 espèces vivent en Afrique et possèdent des propriétés médicinales (Bouyahya et *al.*, 2017).

L'Algérie, par sa bonne situation géographique, représente une véritable zone de diversité végétale (Ziani et *al.*, 2015) ; on compte approximativement 4000 espèces de plantes dont environ 300 sont considérées comme endémiques (Sadki, 2012). De plus, les algériens ont une longue connaissance sur la médecine traditionnelle et les plantes médicinales. Efficacement, les préparations à base de plantes sont largement utilisées pour traiter et soulager diverses maladies telles que les troubles gastro-intestinaux, les maladies inflammatoires, urinaires et respiratoires (Oulbani et *al.*, 2016).

Dans le présent travail, on propose d'étudier deux plantes médicinales ; *Urospermum dalechampii* et *Celtis australis*. Le choix de ces plantes repose simplement sur leur utilisation en médecine traditionnelle et le manque d'études scientifiques qui justifient ces utilisations.

Urospermum dalechampii (Asteracées) est une plante vivace amplement répandue en Afrique du Nord. En Algérie, elle est commune dans le Tell ; cette espèce se trouve sur le bord des chemins, les terrains incultes et les prairies sèches. Elle est connue localement sous les noms « Ras el hanech ou Belrhem ; شنحلا سار، مهربلب » (Guide illustré de la flore algérienne, 2012). Les parties aériennes de cette espèce sont utilisées dans la médecine populaire algérienne pour ses propriétés hypoglycémiantes et anti-inflammatoires.

Celtis australis (L.) (Cannabacées) est un arbre à feuilles caduques, il est surtout localisé dans l'Est de l'Algérie, connu localement sous les noms « *Nchim, Texgar* ; رازسكاظ، ميشن » (Quézel et Santa, 1962). Cette espèce est un remède important pour les fractures, les contusions, les entorses et les douleurs articulaires (El-Alfy et *al.*, 2011). En

outre, les parties aériennes de cette plante sont utilisées pour traiter l'aménorrhée, les coliques et pour réduire la pression artérielle (Magni et Caudullo, 2016).

L'utilisation des espèces végétales aux propriétés médicinales à accroître considérablement en raison de la conviction que tout ce qui est « naturel » n'induit pas d'effets nuisibles pour la santé. L'origine naturelle de ces plantes ne doit néanmoins pas garantir leur innocuité en absence d'études toxicologiques et biologiques pour soutenir les propriétés nutritionnelles ou thérapeutiques.

Beaucoup d'équipes de recherches à travers le monde ont rapporté l'innocuité et la toxicité potentielle, ainsi que les risques liés à l'utilisation de certaines espèces de légumes et de préparations à base de plante (Adewale et *al.*, 2016).

Aujourd'hui, des extraits bruts issus d'épices et d'herbes ont fait l'objet de nombreux travaux toxicologiques, chimiques et pharmacologiques pour estimer leur innocuité et leur efficacité (Traesel et *al.*, 2014). Dans ce contexte, s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'évaluer la toxicité et les activités biologiques d'*Urospermum dalechampii* et de *Celtis australis*.

Pour répondre à l'objectif fixé de ce travail, nous l'avons mené comme suit :

- ❖ Une synthèse bibliographique portant sur les différentes connaissances bibliographiques sur les deux plantes et les différentes activités biologiques étudiées.
- ❖ Dans la partie expérimentale, il s'agit de mettre au point :
 - La préparation des extraits organiques des feuilles et de la partie aérienne de *C. australis* et d'*U. dalechampii* respectivement ;
 - Analyse qualitative et quantitative du contenu des extraits organiques en utilisant différentes techniques (spectrophotomètre UV-Visible, chromatographie liquide à haute performance et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse).
 - Evaluation de l'activité antioxydante des extraits en utilisant différentes méthodes (pouvoir piègeur vis-à-vis du DPPH « *in vitro* et *in vivo* », effet anti-

lipoperoxydant, activité chélatrice du fer ferreux, pouvoir réducteur des ions ferriques) ;

- Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique ;
- Evaluation de la toxicité aigue et subaigüe des extraits méthanoliques des deux espèces;
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire par le biais de trois model d'inflammation aigue (œdème de la patte induite par la carraghénane, œdème de l'oreille induit par le xylène et la pleurésie induite par la carraghénane chez les rats) ;
- Evaluation de l'effet anti-nociceptif (test de writhing et le test au formaldéhyde) ;
- Evaluation de l'activité antipyrétique.



La dernière partie serait consacrée aux résultats obtenus.

Partie
Bibliographique

Chapitre I
Généralités Sur Les
Plantes Étudiées

I.1. Données générales sur l'*Urospermum dalechampii* (L.) Scop. ex F.W. Schmidt

I.1.1. Présentation

a) Nom scientifique

Urospermum dalechampii (L.) Scop. ex F.W. Schmidt.

b) Noms communs

Mediterranean daisy, Golden-fleece, Urosperme de Daléchamps.

c) Noms Vernaculaires

- **En Algérie** : Ras el hanech, Belrhem راس الحنش، بلرهم (Guide illustré de la flore algérienne, 2012).
- **En Italie** : Grugno, Boccionemaggiore, Lattugaccio, Cotecaccia, Grugnole ou Radicchione selvatico (Ranfa et *al.*, 2015).

I.1.2. Etymologie

Le nom *Urospermum* est originaire du grec « *oura* » et « *sperma* » signifiant « *queue* » et « *graine* », en référence au long bec qui surmonte l'akène ; *dalechampii* vient du nom d'un botaniste français, Jacques d'Alechamps (1513 - 1588) (Guide illustré de la flore algérienne, 2012).

I.1.3. Description botanique

L'*Urospermum dalechampii* (*U. dalechampii*) est une plante vivace multiflore, dressée de 10-60 cm de haut ; les fleurs solitaires, hermaphrodites et sont de couleur jaune pâle (soufre) à sommet finement denté et à contour pourpré ; les feuilles sont de 8-15 cm de long, gris / vert, finement velues, lobées et légèrement dentées (figure 1); la floraison de cette espèce est au printemps et en été (Quezel et Santa, 1963; Grey-Wilson et Balmey, 2000).



Figure 1 : *Urospermum dalechampii*

<http://www.genialvegetal.net/-Urosperme-de-Dalechamps-> (Consulté le : 13/10/2017)

I.1.4. Position dans la systématique

D'après Quezel et Santa (1962), la systématique de *U. dalechampii* est la suivante :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Asterales
Famille	<i>Asteracées</i>
Sous-famille	<i>Liguliflores</i>
Genre	<i>Urospermum</i>
Espèce	<i>Urospermum dalechampii</i>

I.1.4. Répartition géographique

I.1.4.1. Dans le monde

U. dalechampii a une distribution méditerranéenne, de l'Espagne à la Croatie, et en Afrique du Nord. Cette espèce se répartit aussi en Australie principalement dans le nord-ouest de la Tasmanie (Gouldthorpe, 2002).

I.1.4. 2. En Algérie

Cette plante est commune dans le Tell ; elle se plaît sur le bord des chemins, les prairies sèches et les terrains incultes (Guide illustré de la flore algérienne, 2012).

I.1.5. Composition biochimique d'*U. dalechampii*

I.1.5. 1. Métabolites primaires

U. dalechampiense se caractérise par la présence des acides : linoléique, linoléinique, laurique et par l'acide arachidique (Saa-Oteroa et *al.*, 2000).

En Italie, l'étude de Ranfa et son équipe (2015) ont révélé les propriétés nutritionnelles de cette plante (tableau I).

Tableau I. Propriétés nutritionnelles d'*U. dalechampii*

Fractions		Teneurs (mg / 100 g)
Eau		86,1 ± 1,03
Protéines		2,1 ± 0,07
Lipides		0,2 ± 0,03
Fibres alimentaires		5,1 ± 0,28
Sucres		5,0 ± 0,74
Eléments minéraux (ppm)	Fer	3,0 ± 0,91
	Calcium	174,9 ± 15,73
	Phosphore	29,5 ± 6,48
	Sodium	68,4 ± 2,47
	Potassium	287,5 ± 32,35
	Magnésium	15,3 ± 1,89

I.1.5. 2. Métabolites secondaires

Selon Rios et *al.* (1992), *U. dalechampii* renferme la luteoline 7-*O*- et le 4'-*O*-glucoside et la 3-*O*-arabinoside, le galactoside et le glucoside de la quercétine (Bohm et Stuessy, 2001). Marco et son équipe (1994) ont signalé l'isolement et l'identification de la naringénine, de la dihydroflavonol 3-*O*- methyltaxifolin, de l'aromadendrine et les sesquiterpènes lactones.

a. Huiles essentielles

L'huile essentielle d'*U. dalechampii*, collectées auprès de la localité d'Amouchas (Setif) dans l'est de l'Algérie, a été obtenue au laboratoire par un distillateur type Clevenger et étudiée pour sa composition chimique et son activité antibactérienne par Ramdani et ses

collaborateurs (2014). La composition chimique de cette huile est dominée par la présence des produits : l'acide palmitique (24,3%), l'hénocéane (10,1%), le 2-méthyl-Z, le Z-3,13-octadécadiénol (7,1%), le tricosane (6,73%), l'apiole d'aneth (5,25%), l'acide myristique (4,8%), la myristicine (4,7%), la 2-pentadécanone-6,10,14-triméthyle (4,4%), l'acide laurique (3,9%) et l'elemicine (3,3%). Ces mêmes auteurs ont également signalé la présence de composants en concentrations supérieures à 1%, le phlatate d'isobutyle, l'oxyde de caryophyllène, l'épicubéno-1, le β -guaiène, l' α -bisabolol et le 3,7-diméthyl-octa-1,6-diène.

I.1.6. Utilisations thérapeutiques et alimentaires

Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes d'*U. dalechampii* sont utilisées pour le soulagement de diverses maladies inflammatoires et pour sa propriété hypoglycémiante.

L'*U. dalechampii* et beaucoup d'herbes possèdent des principes amers, par exemple, les sesquiterpène lactones qui sont des stimulants gastriques et ayant une action cholagogue (Guarrera, 2003). Cette espèce est utilisée en Italie comme dépurative (Cornara et al., 2009), diurétique et tonique ; l'infusion de la plante est utilisée pour faciliter la digestion (Ranfa et al., 2015).

En Italie, les feuilles de cette espèce, cuites et mélangées avec d'autres herbes (par exemple, *Sonchus oleraceus*, *Tragopogon pratensis* ou *Apiumno diflorum*) sont utilisées de la même manière que les épinards (Ranfa et al., 2015). Les racines, qui ressemblent aux pommes de terre, sont également utilisées. Les feuilles bouillis et assaisonné à l'huile d'olive sont utilisées comme salade (Nebel et al., 2006 ; Cornara et al., 2009). Les bourgeons floraux sont conservés dans de la saumure et utilisés de la même manière que les câpres (Ranfa et al., 2015).

I.2. Données générales sur *Celtis australis* (L.)

I.2.1. Présentation

a) **Nom scientifique** : *Celtis australis* (L.)

b) **Noms communs**

Le Micocoulier, Mediterranean hackberry, nettle tree (Gilman et Watson, 1993; Iserin *et al.*, 2001 ; Demir *et al.*, 2002).

c) **Noms Vernaculaires**

- **En Algérie** : "Nchim" ou "Texgar" ، نشيم تاغزار (Quézel et Santa, 1962 ; Guide illustré de la flore algérienne, 2012) ;
- **Au Maroc** : Taghzaz, Taghzaza, Tughzaz, Ufras (Aafi *et al.*, 2002) ;
- **En Italie** : Bagolaro (Rameau *et al.*, 2008) ;
- **En Espagne** : Almez (Rameau *et al.*, 2008).

I.2.2. Origine et Etymologie

Le Micocoulier est originaire de la région méditerranéenne et le sud-ouest de l'Asie (El-alfy *et al.*, 2011). Le nom de cet arbre est originaire du grec « keltis » signifiant « celte », en référence à la forme et la taille de ses baies (Brosse, 2000 ; Couplan, 2000), le mot « *australis* » signifie « *du sud* » en référence à sa répartition au sud de l'Europe (Guide illustré de la flore algérienne, 2012).

I.2.3. Description botanique

Celtis australis (L.) (*C. australis*) est un grand arbre de 20 à 30 m de hauteur (Rameau *et al.*, 2008), il est caractérisé par son écorce grise et lisse et ses feuilles caduques et acuminées (Bean, 1981). Le Micocoulier se reconnaît grâce à ses feuilles vertes et fraîches au contact avec une base asymétrique. Ses fruits sont de petites drupes globuleuses violacés-noirâtres à maturation. Cet arbre a une grande longévité de 500 à 600 ans (Quézel et Santa, 1962; Bean, 1981; Iserin *et al.*, 2001; Aafi *et al.*, 2002; Fornell, 2003; Rameau *et al.*, 2008).

I.2.4. Position dans la systématique

D'après Quezel et Santa (1962), la systématique de *C. australis* est la suivante :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Urticales
Famille	<i>Ulmacées</i>
Genre	<i>Celtis</i>
Espèce	<i>Celtis australis</i>

Cette espèce a été précédemment placée dans la famille des *Ulmacées*, mais de nouvelles données morphologiques, cytologiques, moléculaires et phytochimiques ont confirmé sa reclassification aux *Cannabacées* (Spitaler et *al.*, 2009 ; Zehrmann et *al.*, 2010).



Figure 2 : *Celtis australis* (Thomé, 1885)

I.2.5. Répartition géographique

I.2.5.1. Dans le monde

Il existe à travers le monde plus de 80 espèces du genre *Celtis* aux formes arbustives ou arborescentes. Ces espèces présentent une amplitude écologique relativement large. *C. australis* pousse dans la région méditerranéenne entière depuis les îles atlantiques jusqu'au Caucase et en Perse (Aafi et *al.*, 2002; Peyer, 2003).

I.2.5.2. En Algérie

C. australis pousse à l'état sauvage et il est surtout localisé dans l'Est de l'Algérie (Quézel et Santa, 1962) et il est assez commun dans les forêts humides du Tell (Guide illustré de la flore algérienne, 2012).

I.2.6. Composition biochimique du *C. australis*

1.2.6.1. Métabolites primaires

La composition en métabolites primaires des différentes parties de *C. australis* n'est pas largement connue. En Turquie, l'étude de Demir et son équipe (2002) sur les fruits de *C. australis* a montré la richesse de ces fruits en protéines et en huile brute. Les travaux de Saadoudi et ses collègues (2012), réalisés en Algérie ont signalés des teneurs considérables en sucres. Le tableau I rapporte quelques résultats de ces travaux.

Tableau II. Propriétés nutritionnelles des fruits de *C. australis*

Fractions	Teneur (%)	Références
Cendres	15,29	(Demir et <i>al.</i> , 2002)
Eau	17,96	
Protéines	19,32	
Huile brute	6,70	
Cellulose brute	5,08	(Saadoudi et <i>al.</i> , 2012)
Sucres totaux	16,71	
sucres réducteurs	13,91	
Sucrose	2,8	

I.2.6.2. Métabolites secondaires

Les travaux réalisés par plusieurs auteurs ont montré que les différentes parties de cet arbre sont caractérisées par la présence des acides phénoliques, des flavonoïdes, des terpenoïdes, des anthraquinones et des stéroïdes. Le tableau III. résume les résultats de ces études.

Tableau III. Composition en métabolites secondaires de différentes parties de *C. australis*.

Organe	Métabolites secondaires	Références
Feuilles	<p>Flavonoïdes</p> <p>Acacétin 7-<i>O</i>-glucoside ; vitexin ; isovitexine ; cytisoside ; orientine, isoorientine ; rutine ; 2''-α-rhamnopyranosyl-vitexine ; 2''-α-rhamno-pyranosyl-7-<i>O</i>-methylvitexine ; 4'''-α-rhamnosyl-2''-<i>O</i>-β-D galactopyranosyl-vitexine ; 2''-<i>O</i>-β-galactopyranosyl-vitexine et 2''-<i>O</i>-β- galactopyranosylorientine ;</p>	(Spitaler et <i>al.</i> , 2009) (Zehrmann et <i>al.</i> , 2010) (El-Alfy et <i>al.</i> , 2011) (Sommavilla et <i>al.</i> , 2012)
Fruits	<p>Terpenoïdes</p> <p>le (9b,31R)-9,25-cyclo-30-propylhopan-31-ol ; le (3b)-3-hydroxy-30 propylhopan-31-one, (3b)-oleanan-3-ol ; le (3b,9b)-9,25-cycloolean-12-en-3-yl b-d-glucofuranoside.</p>	(Badoni et <i>al.</i> , 2011)
	<p>Stéroïdes</p> <p>le (3b,9b,14b)-14-hydroxy-9,19-cyclocholan-3-yl b-d-glucopyranoside.</p>	
	<p>Anthraquinones</p> <p>le 6-hydroxy-5,7,8-trimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-yl acetate.</p>	
Ecorce	Acide betulin-3,3'-di- <i>O</i> -methylellagique ; acide gallic ; quebrachilole	(Badoni et <i>al.</i> , 2010)
Racines	<p>Terpenoïdes :</p> <p>le (9b,31R)-9,25-cyclo-30-propylhopan-31-ol ; le (3b)-3-hydroxy-30 propylhopan-31-one, (3b)-oleanan-3-ol ; le (3b,9b)-9,25-cycloolean-12-en-3-yl b-d-glucofuranoside.</p>	(Badoni et <i>al.</i> , 2011)
	<p>Stéroïdes :</p> <p>le (3b,9b,14b)-14-hydroxy-9,19-cyclocholan-3-yl b-d-glucopyranoside.</p>	
	<p>Anthraquinones</p> <p>le 6-hydroxy-5,7,8-trimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-yl acetate.</p>	

I.2.7. Différentes Utilisations de *C. australis*

I.2.7.1. Utilisations alimentaires

- Les racines et l'écorce sont utilisés comme colorants (substance tinctoriale jaune) (Rameau et al., 2008) ;
- La partie charnue des fruits est mangeable ;
- le feuillage (également dans certaines régions, l'écorce et les branches minces) peut être utilisé comme fourrage pour le bétail (Magni et Caudullo, 2016).

I.2.7.2. Utilisations thérapeutiques

- En médecine traditionnelle indienne, la plante est un remède important pour les fractures, les contusions, les entorses et les douleurs articulaires (El-Alfy et al., 2011) ;
- Les fruits sont utilisés pour le traitement de l'aménorrhée et les coliques, les feuilles pour réduire la pression artérielle. La décoction de feuilles et des fruits peut également être utilisée comme agent diurétique ou pour réduire le cholestérol. La partie interne de l'écorce est utilisée pour traiter les problèmes de foie (Magni et Caudullo, 2016) ;
- Les fruits sont astringents, lénitifs et stomachiques (Demir et al., 2002).

I.2.7.3. Autres utilisations

C. australis est un arbre ornemental, il est couramment utilisé comme un arbre d'alignement et d'ombrage. Son bois résistant et flexible est utilisé pour fabriquer les outils et pour le chauffage (Aafi et al., 2002 ; Fornell, 2003 ; Peyer, 2003).

Chapitre II

Stress Oxydant Et

Antioxydants

II.1. Radicaux libres

A l'état physiologique, une variété de composés chimiques est produite suite à l'action du métabolisme cellulaire normal ou pathologique. Parmi ces composés, on trouve les radicaux libres de différentes natures. Par définition, ce sont des atomes ou des molécules neutres ou chargées qui ont une couche externe instable (un ou plusieurs électrons non appariés). Ils sont extrêmement réactifs et doués d'un pouvoir oxydo-réducteur qui se fait par le transfert ou l'acquisition d'un électron ce qui crée un état d'équilibre (Dacosta, 2003 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Afonso *et al.*, 2007).

L'oxygène est un élément indispensable à la vie des organismes aérobies. Il est nécessaire pour la production d'ATP mitochondrial à partir des nutriments. Cependant, au cours de ce processus respiratoire, une infime quantité de l'oxygène qui est le récepteur final d'électrons dans l'organisme se transforme en molécules instables et fortement toxiques dites espèces réactives d'oxygène (ERO) qui sont donc la conséquence fatale de la consommation de l'oxygène moléculaire par l'organisme (Deby-Dupont *et al.*, 2002 ; Pincemail *et al.*, 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Valco *et al.*, 2007).

II.2. Espèces réactives d'oxygène

Les espèces réactives d'oxygène (ERO) sont les diverses formes de l'oxygène actif, englobent à la fois les radicaux libres tel que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) ou le radical hydroxyle ($\cdot OH$) et les dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'hydroperoxyde (ROOH) (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Dans une première étape, le radical libre « anion superoxyde » est formé le plus souvent suite à une fuite d'électrons au niveau de la mitochondrie, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, le radical hydroxyle, l'acide hypochloreux et des dérivés nitrés (Pincemail *et al.*, 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Valco *et al.*, 2007). En effet, les ERO en une concentration faible à modérée participent à de nombreuses fonctions cellulaires vitales comme la phagocytose, les effets bactéricides et la signalisation cellulaire (Pincemail *et al.*, 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Valco *et al.*, 2007).

II.3. Stress oxydant

A l'état physiologique normal, il existe des systèmes de défenses antioxydantes pour créer un équilibre parfait lors de la production d'ERO, en cas d'une surproduction de ces dernières, l'organisme se trouve face à une situation de déséquilibre. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines : déficit nutritionnel en antioxydants, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Favier, 1997 ; Pincemail et *al.*, 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006). La régulation de la production physiologique d'ERO se fait par des mécanismes préventifs à l'aide des enzymes (superoxyde dismutases, catalase, glutathion peroxydases, peroxyrédoxine...), de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, bilirubine...) et de protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine), ou bien des mécanismes antioxydants pour détoxifier les biomolécules oxydées accumulées à l'intérieur des cellules à l'intermédiaire des phospholipases, d'ADN endonucléases, ligases et de macroxyprotéinases (Pincemail et *al.*, 2002 ; Valco et *al.*, 2007)

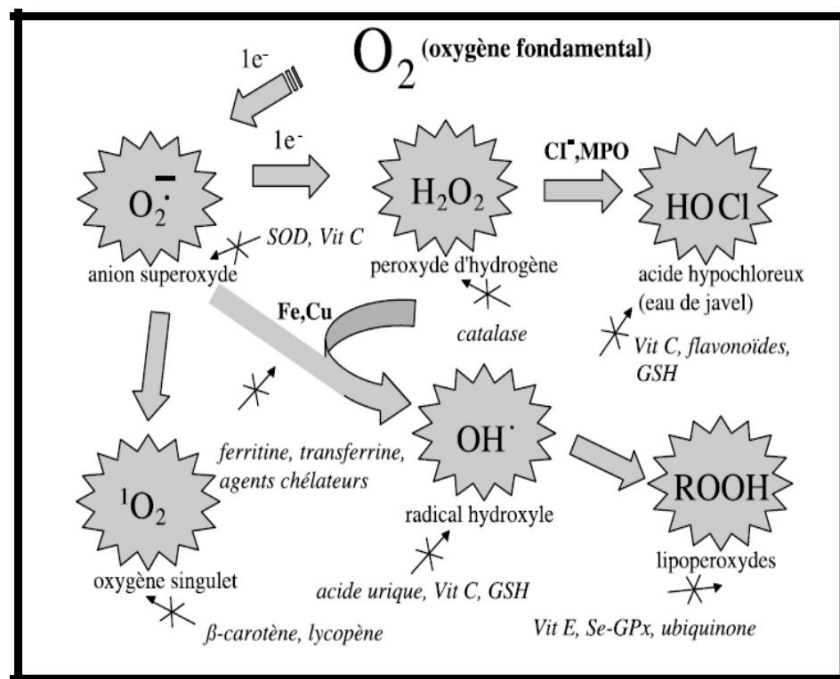


Figure 3. Régulation de la production d'ERO (Pincemail et *al.*, 2002).

Les ERO réagissent d'une manière non spécifique ; en présence d'une concentration trop élevée, plusieurs cibles cellulaires peuvent être atteintes ; la double liaison des lipides insaturés présents dans la membrane cellulaire peut être fortement oxydée ce qui aboutit à la désorganisation et la perturbation de différentes fonctions

membranaires (échange, information, barrière). Les ERO peuvent également attaquer certains acides aminés des protéines cellulaires en modifiant leur conformation et donc la formation des agrégats ou des fragments protéiques ce qui va perturber la signalisation cellulaire.

Les lésions au niveau de la molécule d'ADN (cassures chromosomiques, mutations, délétions...) provoquées par les ERO peuvent créer un dysfonctionnement métabolique (Deby-Dupont *et al.*, 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006). Tous les effets délétères au niveau moléculaire peuvent être exprimés sous plusieurs formes cliniques ; les maladies cardio-vasculaires, le diabète, la génotoxicité, les désordres neurologiques, la polyarthrite rhumatoïde, la cataractes, un déclin du système immunitaire, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, le cancer et même le vieillissement prématuré du corps (Deby-Dupont *et al.*, 2002 ; Amic *et al.*, 2003 ; Halliwell et Whiteman, 2004 ; Afonso *et al.*, 2007 ; Valco *et al.*, 2007).

Il a été aussi signalé que les ERO puissent provoquer des effets néfastes sur les denrées alimentaires. La peroxydation des lipides sous l'action d'ERO conduise à leur dégradation ce qui modifie les qualités organoleptiques des aliments et par conséquent la perte de la sécurité et la qualité alimentaire (Brand-Williams *et al.*, 1995 ; Adepapo *et al.*, 2009; Bourkhiss *et al.*, 2010).

II.4. Antioxydants

Par définition, toute substance qui peut agir en infime quantité par rapport au substrat oxydable et entre en compétition avec des radicaux libres afin de les neutraliser en empêchant ou retardant leur effet oxydant (Pincemail *et al.*, 2002; Halliwell et Whitman , 2004; Benbrook, 2005 ; Afonso *et al.*, 2007).

II.4.1. Effets des antioxydants

Il a été montré que les antioxydant sont un rôle principal comme protecteurs des cellules contre les dommages des radicaux libres (Pryor, 2000 ; Al-Agamey, 2004 ; Schrauzer, 2006). Il a été rapporté que les antioxydants participent aussi dans d'autres activités physiologiques telles que la régulation des signaux cellulaires, la lutte contre les infections bactériennes et virales, la régulation de la pression sanguine et la lutte contre la cariogénicité (Moure *et al.*, 2011).

Les antioxydants peuvent agir contre les cellules tumorales en inhibant leur angiogénèse et en diminuant l'expression d'oncogènes ce qui va améliorer la réponse immunitaire (Favier, 1997; Pincemail et al., 2002; Kang et al., 2003).

II.4.2. Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leur structure chimique en deux grands groupes : les antioxydants naturels et synthétiques.

II.4.2.1. Antioxydants naturels

Les sources majeures des antioxydants naturels sont les plantes supérieures (Kang et al., 2003; Locatelli et al., 2010). Les molécules les plus connues sont les vitamines A, C, E et les caroténoïdes (principalement : β -carotène, lycopène, lutéine, α -carotène) (Moure et al., 2011). Ces substances ont été évaluées pour leur rôle éventuel dans la prévention du stress oxydatif et les maladies apparentées comme les cancers (Middelton et al., 2000; Locatelli et al., 2010).

II.4.2.2. Antioxydants synthétiques

Ces molécules sont obtenues par synthèse chimique et caractérisées par un noyau phénolique. Les substances les plus utilisées en industrie alimentaire sont l'hydroxy anisole butylé (BHA), l'hydroxy toluène butylé (BHT) et le gallates de propyle, d'octyle et de dodécyle (Dacosta, 2003; Locatelli et al., 2010). D'autres antioxydants synthétiques ne sont pas autorisés en alimentation mais seulement dans des travaux de recherche ou d'analyse comme dans le cas de le tert butyle hydroquinone (TBHQ) et le Trolox (Dacosta, 2003). Des effets néfastes liés à l'utilisation des antioxydants synthétiques ont été signalés (effets cancérigènes, mutagènes et des lésions hépatiques chez les animaux du laboratoire) (Yu et al., 2000 ; Tepe et al., 2006 ; Bourkhiss et al., 2010 ; **Zhang et al., 2011** ; Boulekbache-Makhlouf et al., 2013 ; Haghparast et al., 2013).

Chapitre III

Agents

Antimicrobiens

III.1. Notions sur les germes utilisés

Les espèces bactériennes utilisées ont été choisies selon différents caractères : pathogénicité, résistance, pouvoir invasif et toxique. Les souches fongiques sont connues par leur toxicité pour l'homme et les animaux et sont aussi des agents incriminés dans la détérioration des aliments.

III.1.1. Souches bactériennes

III.1.1.1. Bactéries à Gram positif

- *Staphylococcus*

Ce genre de bactéries avec plus de 30 espèces appartient à la famille des *Staphylococcaceae* (Bes et Brun, 2002), sont des cocci avec un diamètre qui varie entre 0,5 à 1,5 μm , immobiles et asporulées, elles peuvent être regroupées en paire ou en amas (grappe de raisin), elles poussent en présence ou en absence d'oxygène (Harris *et al.*, 2002).

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, elle a été considérée parmi les premières espèces bactériennes à résister aux antibiotiques. Ce germe est incriminé dans la plupart des infections communautaires et nosocomiales à cause de son fort pouvoir invasif et toxigène (Nejjahet *et al.*, 2006; Doléans-Jordheim *et al.*, 2008; Tremblay, 2008; Michel, 2013).

Staphylococcus epidermidis est une bactérie qui colonise fréquemment la peau et les muqueuses chez l'homme. En milieu hospitalier, ce germe est présent sous forme d'une couche visqueuse sur les cathéters intra-vasculaires ou les prothèses d'articulation (Spicer, 2002 ; Vuong et Otto, 2002).

- *Streptococcus*

Les bactéries de ce groupe sont souvent dites commensales, présentes chez l'homme et l'animal en colonisant la peau et les différentes muqueuses. Sont des cocci avec une paroi complexe et qui poussent en formant des chaînes. Elles sont connues par leur exigence en nutriments, leur métabolisme est fermentatif mais elles peuvent pousser en présence d'oxygène (Schaechteret *et al.*, 1999; Moulinier, 2003).

III.1.1.2. Bactéries à Gram négatif

- *Escherichia coli*

Ce germe est un bacille mesurant de 2 à 4 µm de longueur et de 0,6 µm de diamètre, aérobie-anaérobie facultatif. Cette bactérie qui appartient à la famille des *Entérobactériaceae*, fait partie de la microflore intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud et peut être un indicateur de pollution des eaux. Elle a le pourcentage le plus élevé (75 à 90 %) lors des infections urinaires (Kaperet *al.*, 2004; Chahedet *al.*, 2006; Tenailon *et al.*, 2010). La fréquence de résistance aux antibiotiques est variable selon les souches ; la résistance la plus élevée a été décrite pour les amino-pénicillines (40%) (Bruyère *et al.*, 2008).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Cette espèce bactérienne appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. C'est un bacille aérobie strict et caractérisé par la sécrétion de la substance chromogène « Pyocyanine ». Cette bactérie est saprophyte des surfaces hydriques mais elle est douée d'un fort pouvoir d'adaptation aux différents milieux dont le milieu hospitalier où on trouve un pourcentage d'infection de 10 %. Elle peut résister naturellement à certains antibiotiques comme es pénicillines, macrolides, glycopeptides, céphalosporines de première et deuxième génération (Spicer, 2000; Bertrand *et al.*, 2011; Mérens *et al.*, 2012; Fustéet *al.*, 2013).

- *Salmonella typhimurium*

S. typhimurium est une bactérie anaérobie facultative de la famille des *Entérobacteriaceae*, elle peut être un agent incriminé dans les infections humaines et même animales. Le mode de transmission principale de ce germe est la voie orale (Rosenberger *et al.*, 2000; Whelan *et al.*, 2010; Van Parys *et al.*, 2012).

- *Acenitobacter baumannii*

C'est un cocco-bacille non mobile qui exige la présence de l'oxygène, retrouvée le plus souvent dans les environnements aqueux et humides (Fernández-Reyes *et al.*, 2009; Joshi et Litake, 2013; Antunes *et al.*, 2014). Ce bacille peut devenir un pathogène opportuniste chez les patients hospitalisés en causant des infections urinaires et pulmonaires (Abboet *al.*, 2005 ; Jaggiet *al.*, 2012 ; Longo *et al.*, 2014). Il présente une

résistance à plusieurs familles d'antibiotiques : les bêta-lactamines, les aminoglycosides et les fluoroquinolones (Jans *et al.*, 2004 ; Smith *et al.*, 2007).

- *Morganella morganii*

C'est une espèce qui fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, elle peut pousser même en absence d'oxygène et caractérisée par sa capacité de fermenter le glucose. L'appareil digestif de certains animaux constitue un milieu favorable pour sa croissance (Hart et Shears, 1996 ; Boussemart *et al.*, 2004). Cette bactérie résiste naturellement à la pénicilline et l'association amoxicilline/acide clavulanique (Stock et Wiedemann, 1998; Boussemart *et al.*, 2004).

- *Serratia marcescens*

Cette espèce a une forme bacillaire, connue pour sa production d'une pigmentation « la Prodigiosine ». Elle est la plus rencontrée parmi les autres espèces du même genre de la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette bactérie peut être trouvée parmi les bactéries commensales habituelles de la flore fécale chez l'homme et l'animale. En milieu hospitalier, ce bacille « pathogène opportuniste » peut causer de sévères infections : pneumonies, septicémies, infections cardiovasculaires, infections urinaires et méningites. Elle est résistante à une variété d'antibiotiques y compris les ampicillines et les céphalosporines de première et deuxième génération (Hart et Shears, 1996 ; Hejazi et Falkiner, 1997 ; Ktariet *al.*, 2010).

- *Chryseomonas luteola*

C. luteola est un germe mobile, d'une forme bacillaire, à croissance strictement aérobie et qui peut produire une pigmentation dans certains milieux de culture. L'eau, le sol et même d'autres milieux humides sont habituellement le réservoir de cette bactérie. En milieu hospitalier, cette espèce peut causer surtout chez les immunodéprimés des septicémies, des péritonites et même des endocardites (Chihabet *al.*, 2004; Ouriemchi, 2011; Patrilet *al.*, 2012). Elle résiste aux tetracyclines, trimethoprimes/sulfamethoxazoles et céphalosporines de première et deuxième génération (Tsakriset *al.*, 2002; Chihabet *al.*, 2004; Ouriemchi, 2011).

III.1.2. Souches fongiques

III.1.2.1. Moisissures

- *Aspergillus*

Les espèces qui appartiennent à ce genre sont des champignons filamenteux, saprophytes de matières organiques mais elles peuvent devenir des pathogènes opportunistes causant des atteintes oculaires, cutanées et pulmonaires comme dans le cas de l'espèce *Aspergillus niger*. Dans les cas cliniques graves, certains espèces sont responsable de l'aspergillose pulmonaire invasive (Moulinier, 2003 ; Chabasse *et al.*, 2009 ; Person *et al.*, 2010).

- *Rhizopus*

Les champignons de ce genre sont des *Zygomycètes*, leur critère d'identification est le sporangiophore, caractérisés par leur croissance rapide à différentes températures. Sont généralement des espèces phytopathogènes responsables des dégâts post-récoltes (*Rhizopus stolonifer*) mais également des pathogènes opportunistes chez l'homme (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2006 ; Abe *et al.*, 2007; Battaglia *et al.*, 2011; Omoifo, 2011).

- *Alternaria*

La plupart des champignons du genre *Alternaria* sont réputés saprophytes ou parasites des plantes. Dans certains cas chez l'homme, des infections cutanées, sous-cutanées et des kératites post-traumatiques sont rapportées (Moulinier, 2003; Chabasse *et al.*, 2009).

III.1.2.2. Levures

- *Candida albicans*

C'est l'espèce la plus isolée du genre *Candida* de la famille des *Deutéromycètes*. Généralement, elle colonise les muqueuses oro-pharyngées et gastro-intestinales comme un germe saprophyte. Lorsque son caractère pathogène est exprimé en présence de certains facteurs, elle peut causer de sévères candidoses cutanées et génito-urinaires (Moulinier, 2003; Spicer, 2003; Develoux et Bretagne, 2005; Chabasse *et al.*, 2009).

- *Rhodotorula*

Ce genre de levures qui appartient à la famille des *Deutéromycètes* est facilement identifié à cause de leur production d'une pigmentation rose à rouge sur le milieu de culture Sabouraud. Les espèces de ce genre sont commensales et colonisent la peau ou les muqueuses. Chez les immunodéprimés, leur pouvoir pathogène s'exprime en différents tableaux cliniques ; endocardites, méningites, péritonites et infections oculaires (Moulinier, 2003; Chabasse *et al.*, 2009).

III.2. Antibiotiques (ATB)

Antibiotique du grec, *anti* : contre et *biotikos* : concernant la vie. C'est un adjectif qui est à l'origine du nom « antibiose ». Ce mot a été utilisé pour la première fois en 1889 par Vuillemin pour désigner l'action antagoniste entre deux organismes vivants (Prasad, 2009 ; Muylalart et Mainil, 2012). Plus tard, sa définition a été précisée comme une substance chimique produite par un microorganisme et capable d'inhiber sélectivement la croissance ou même détruire d'autres microorganismes. Son spectre d'activité est défini par la liste des espèces bactériennes sensibles et celles ayant une résistance naturelle à l'antibiotique (Prasad, 2009 ; Muylalart et Mainil, 2012 ; Sanders et Laurentie, 2012). La découverte du premier antibiotique « La pénicilline » était en 1928 par Fleming, et résulte de l'observation de l'action antagoniste d'une colonie du champignon *Penicillium notatum*, vis-à-vis des colonies de *Staphylococcus aureus* lors d'une contamination accidentelle d'une boîte de Pétri (Fleming, 1929 ; Papp, 1954). Après cette molécule a été concentrée et purifiée vers 1940 et son usage clinique commença en 1943 lors du traitement des soldats des armées alliées (Chain *et al.*, 1940 ; Guillot, 1989).

Ce groupe de médicaments très répandus en thérapeutique humaine et même vétérinaire peut avoir des effets toxiques pour les organismes supérieurs qui varient selon les caractéristiques de l'antibiotique comme la famille chimique ou la structure de la molécule elle-même ; et ces effets secondaires peuvent être réversibles ou non (réaction d'hypersensibilité, troubles gastro-intestinaux, toxicité hépatique, insuffisance rénale, photosensibilisation, tendinites) (Dancer, 2004 ; Polard, 2005 ; Perriot, 2011).

III.2.1. Classification des antibiotiques

Les sources majeures des antibiotiques sont les actinomycètes (*Streptomyces*), les champignons microscopiques (*Penicillium* et *Aspergillus*) et les bactéries (*Pseudomonas*),

mais aussi les algues et les lichens jouent un rôle très important dans leur production (Berdy, 1974).

Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés selon différents critères qui sont parfois identiques : l'origine, les voies biochimiques de production, le mécanisme d'action, les propriétés physico-chimiques et la structure chimique (Berdy, 1974 ; Stora, 2013). En fonction de la cible pharmacologique, les antibiotiques peuvent se diviser en 5 groupes ciblant: la paroi, la membrane, l'acide nucléique, les ribosomes et le métabolisme intermédiaire des micro-organismes (Van-Bambeke et Tulkens, 2008).

Tableau IV. Classification des antibiotiques (Flandrois *et al.*, 1997; Meyer et Deiana, 2004).

Familles d'antibiotique	Cible bactérienne	Modes d'action
β-lactamine Glycopeptides Fosfomycines	Peptidoglycane	- Fixation sur les protéines membranaires (PLP); - Inhibition de l'action des transglycosylases; - Inhibition de la synthèse de l'acide UDP-N-acétylmuramique (bloquage de la pyruvyl-trasférase)
Polymyxines	Membrane externe	- Fixation sur les phospholipides en provoquant une perméabilité membranaire.
Quinolones Rifamycines Nitroimidazolés	Appareil nucléaire	- Blocage de l'activité des topo-isomérases. - Inhibition de l'ARN polymérase ADN dépendante. - Formation d'un complexe avec un brin d'ADN (coupure de l'ADN).

Suite tableau IV.

Familles d'antibiotique	Cible bactérienne	Modes d'action
Sulfamides Aminoptérines	Métabolisme	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibition de la synthèse de l'acide folique en bloquant la dihydrofolatesynthétase; - Inhibition de la synthèse de l'acide folique en bloquant la dihydrofolate réductase.
Phénicolés Tétracyclines Aminosides Macrolides Lincosamides Streptogramines	Ribosomes	<ul style="list-style-type: none"> - Fixation sur la sous-unité 50S (site aminoacyl); Inhibition de la liaison peptidique. - Fixation sur la sous-unité 30S (site aminoacyl et peptidyl); Inhibition de la liaison peptidique. - Fixation irréversible sur la sous-unité 30S; - Fixation irréversible sur la sous-unité 50S, inhibition de la fixation de la translocation.

III.2.3. Résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques depuis leur utilisation en thérapeutique se sont révélés très précieux dans la lutte contre les maladies d'origine bactérienne touchant l'homme et les animaux mais leur consommation immodérée a mené à l'adaptation et la sélection de populations microbiennes résistantes. Dès 1940, les scientifiques observent que les extraits des différentes bactéries ont la capacité de détruire la « pénicilline » qui n'avait pas été encore utilisée en thérapeutique (Guillot, 1989).

Chapitre IV
Réactions
Inflammatoires

IV.1. Définition

L'inflammation est la composante de la réaction immune innée qui sert à la protection des cellules ou des tissus du corps à des agressions quelconques soit leurs origines (chimiques, physiques ou biologiques). Elle est considérée comme une réaction de défense précoce et non spécifique qui peut être initiée par plusieurs facteurs qui dépendent de l'agent agresseur (Vasudavan *et al.*, 2006 ; Fablet et Madec, 2009 ; Ashley *et al.*, 2012). Le processus inflammatoire a été décrit par "Celsus" il y a 2000 ans, caractérisé par quatre signes locaux spécifiques au niveau de la lésion initiale : rougeur, douleur, chaleur et œdème. Des signes généraux caractérisant aussi ce phénomène ; l'état fébrile, anorexie et parfois un déséquilibre métabolique (Vogel, 2008 ; Fablet et Madec, 2009). Ces phénomènes réactionnels servent en premier lieu à éliminer l'agent agresseur qui est dans la majorité des cas une infection (Weill et Batteux, 2003 ; Ashley *et al.*, 2012).

IV.2. Facteurs déclenchant l'inflammation

Il existe plusieurs facteurs qui favorisent l'inflammation. Les infections microbiennes sont souvent les plus incriminées à déclencher le phénomène inflammatoire suivies par des agents chimiques ou physiques (irritants, blessures, traumatismes..., etc.) (Ashley *et al.*, 2012). En effet, la réaction inflammatoire peut être successive à l'intrusion d'un agent exogène (extérieur à l'organisme) ou à la production d'un agent endogène (produit par l'organisme lui-même) (Weill et Batteux, 2003 ; Le Gal et Jeanguiot, 2010).

IV.2.1. Agents exogènes

Les agents exogènes sont variés, ils peuvent être :

- Physique : par exemple, les traumatismes, les brûlures, les radiations (Blétry *et al.*, 2006), qui vont entraîner des lésions tissulaires et la libération de produits de dégradation comme le collagène (Weill et Batteux, 2003) ;
- Chimique : la pollution, les produits toxiques, l'intrusion d'un corps étranger (Le Gal et Jeanguiot, 2010) ;
- Biochimiques : les allergènes (Le Gal et Jeanguiot, 2010) ;
- Biologique : les agents infectieux (microorganismes et leurs toxines, produits de dégradation tissulaire) (Weill et Batteux, 2003 ; Le Gal et Jeanguiot, 2010).

IV.2.2. Agents endogènes

On distingue plusieurs types d'agents endogènes et dont les causes sont multiples :

- Causes trophiques : troubles de vascularisation, de l'innervation, lésions dégénératives ;
- Perturbations métaboliques : déséquilibre des taux de substances nécessaires au fonctionnement de l'organisme (urée, goutte) (Lioté, 2011) ;
- Conflit immunitaire : c'est-à-dire auto-immunité, déficit immunitaire ;
- Toutes lésions "non inflammatoire" y compris les tumeurs... (Le Gal et Favoro, 2012).

Le phénomène inflammatoire peut avoir des effets bénéfiques ou délétères. Selon la durée on peut trouver trois phases : aiguë, subaiguë et chronique. Les symptômes de l'inflammation sont caractérisés par la douleur, la chaleur, la rougeur et l'œdème (Weill et Batteux, 2003 ; Iwalewa *et al.*, 2007 ; Gebhart et Schmidt, 2013).

Les phases aiguë et subaiguë sont caractérisées par une augmentation de l'apport sanguin et des espaces intercellulaires (vasodilatation locale) et une perméabilité capillaire accrue conduisant à une infiltration de cellules phagocytaires de protéines et de fluides dans les régions enflammées (Iwalewa *et al.*, 2007). Quelle que soit la nature du stimulus, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes. C'est l'intensité des manifestations et leur durée qui changent et conditionnent les effets de la réaction inflammatoire (bénéfiques ou délétères) (Weill et Batteux, 2003).

IV.3. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réponse rapide vise à rétablir une hémostasie tissulaire perturbée. Les étapes de ce phénomène bénéfique se caractérisent par une courte durée et consistent en première étape à reconnaître l'agent agresseur puis le diluer, amputer et détruire avec le tissu malade et peuvent se manifester en rougeur, chaleur, tuméfaction, douleur et parfois une perte de fonction de l'organe touché (Iwalewa *et al.*, 2007 ; Ashley *et al.*, 2012 ; Le Gal et Favoro, 2012)

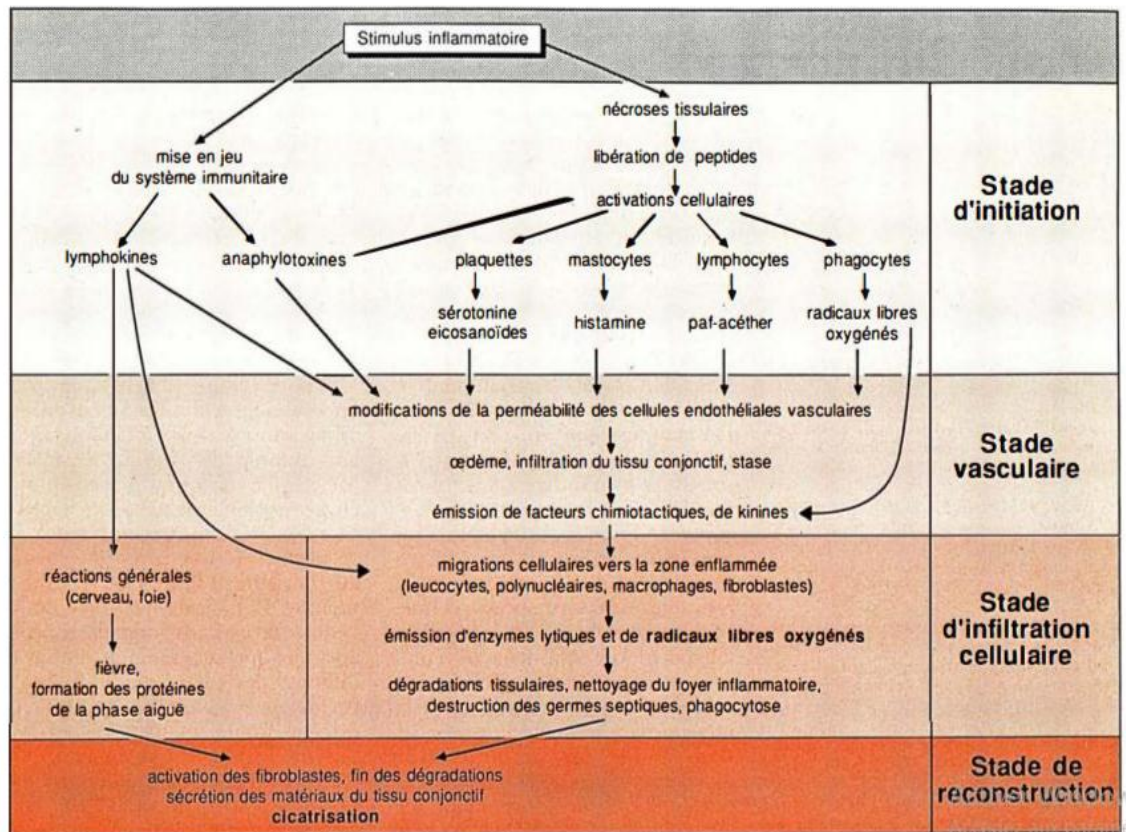


Figure 4. Schéma résumé de l'inflammation (Raymondjea, 2007)

La réponse inflammatoire aiguë fait intervenir différents systèmes d'adaptation comme le système immunitaire et le système neuro-endocrinien et elle est contrôlée par les systèmes régulateurs comme les protéines de la phase aiguë et l'axe corticotrope (Fablet et Madec, 2009). L'inflammation aiguë peut être divisée en trois phases : une phase vasculaire, une phase cellulaire et une phase humorale.

IV.3.1. Phase vasculaire

La phase vasculaire est la phase d'initiation de l'inflammation. Elle est immédiate, caractérisée par des modifications de la microcirculation ; une vasoconstriction artériolaire d'une durée extrêmement brève suivie par une vasodilatation (infiltration des composants plasmatiques) et une accélération du débit sanguin (Weill et Bateux, 2003 ; Brunner *et al.*, 2006).

Au cours de cette phase, une sécrétion importante de molécules pro-inflammatoires ; l'histamine et la sérotonine libérées par les basophiles et les plaquettes en premier lieu, jouent un rôle dans la constriction artériolaire. En deuxième lieu, les médiateurs dits « slow-reacting » ; l'activation des plaquettes va entraîner la production du thromboxane

A₂ qui a un fort pouvoir vasoconstricteur et stimule l'agrégation plaquettaire, le leucotriène et la prostaglandine issus des mastocytes et des basophiles provoquent une puissante vasodilatation (Rankin *et al.*, 2004). L'augmentation du débit sanguin avec la libération de toutes les molécules pro-inflammatoires favorisent un changement du gradient chimiotactique pour les neutrophiles ce qui conduit à leur activation et facilite la transmigration et l'adhérence au niveau du site lésé (Marsolais et Frenette, 2005).

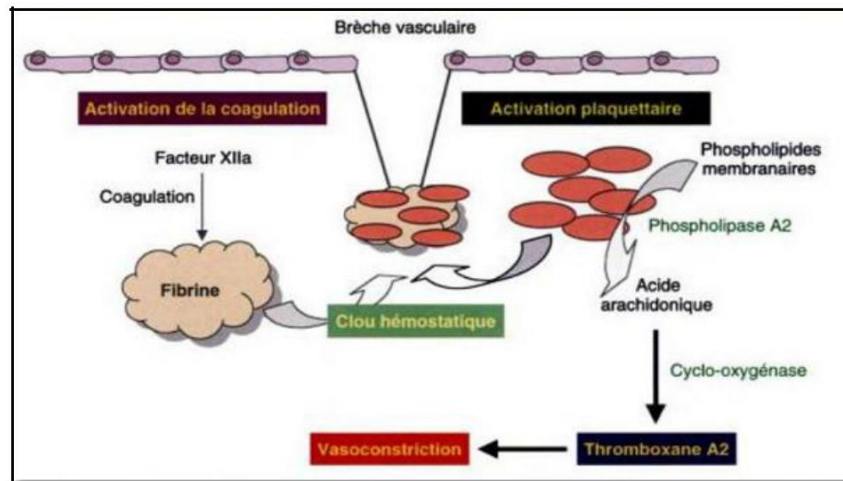


Figure 5. Activation plaquettaire au cours de la phase vasculaire (Weill et Batteux, 2003).

La vasoconstriction va entraîner l'activation des plaquettes qui sont capables de synthétiser le thromboxane A₂ qui est doué d'un pouvoir agrégant puissant et par la suite colmater les brèches vasculaires spontanées ou provoquées (Weill et Batteux, 2003). D'autres médiateurs chimiques jouent aussi un rôle important en permettant l'extravasation des cellules et des protéines plasmatiques vers les tissus. Les principales substances chimiques libérées au cours de cette phase sont l'histamine, les kinines, les prostaglandines (PG), les leucotriènes, le facteur d'activation plaquettaire (PAF) et les anaphylatoxines C_{3a} et C_{5a} générées par l'activation du complément (Janeway *et al.*, 2003 ; Male, 2005 ; Brunner *et al.*, 2006 ; Aymeric et Le Franc, 2009).

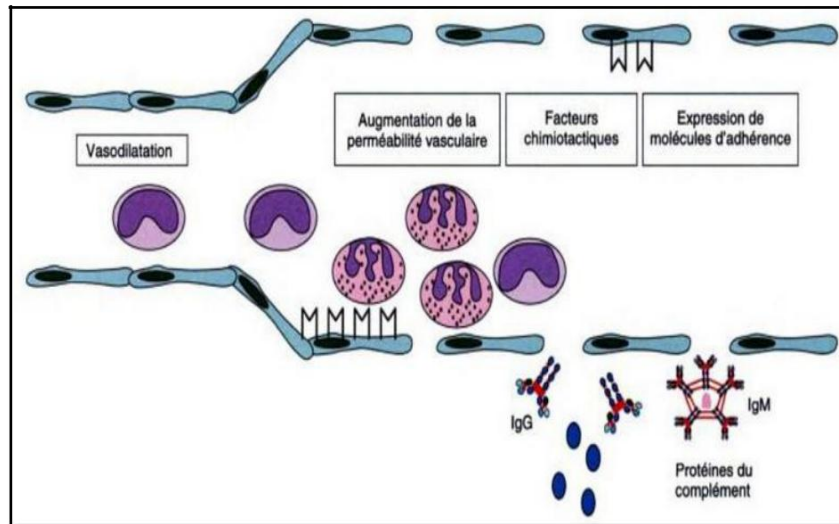


Figure 6. Modification précoce de l'endothélium vasculaire au cours de la réponse inflammatoire (Weill et Batteux, 2003).

L'altération des parois vasculaires va entraîner l'apparition de nouveaux récepteurs des cellules endothéliales comme ELAM-1 (endothelial leucocyte adhesion molecule-1), VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) accentuant les phénomènes d'extravasation et de margination des cellules vers les tissus lésés. Ce phénomène est amplifié sous l'effet de la sécrétion de chimiokines par les cellules des parois vasculaires altérées (Weill et Batteux, 2003).

Outre son rôle dans l'hémostase primaire, dans le cas d'une infection la phase vasculaire peut participer à l'isolement du microorganisme pathogène susceptible de pénétrer dans l'organisme via la plaie (Weill et Batteux, 2003).

IV.3.2. Phase cellulaire

La phase cellulaire succède à la phase d'exsudation plasmatique. Elle est caractérisée essentiellement par l'infiltration des cellules immunitaires (les mastocytes dégranulés, les monocytes, les macrophages, les polynucléaires neutrophiles, les lymphocytes). Les polynucléaires neutrophiles circulant dans les veinules post-capillaires qui sont caractérisées par un débit sanguin lent sont marginalisés et entrent en contact avec les cellules de l'endothélium vasculaire suite à la forte concentration des substances chimiotactiques. Leur activation se traduit par la production de protéinases et de radicaux libres et d'autres molécules permettant le recrutement des monocytes. L'endothélium vasculaire joue un rôle important dans l'interaction entre les cellules circulantes et le site

lésé en synthétisant des molécules d'adhésion intercellulaire (ICAM, VCAM) et en permettant l'infiltration à travers la paroi vasculaire. La forte concentration des molécules chimiotactiques induit à l'apparition d'un ensemble de molécules de la famille des selectines sur la surface des cellules endothéliales (P-selectine, E-selectine, le ligand de L-selectine) ainsi que sur la surface des leucocytes (L-selectine). Ces protéines d'adhérence vont arrêter les neutrophiles et les monocytes ce qui entraîne une adhésion ferme et la diapédèse (Russo-Marie, 1998 ; Weill et Batteux, 2003 ; Blétry *et al.*, 2006 ; Raymondjea, 2007).

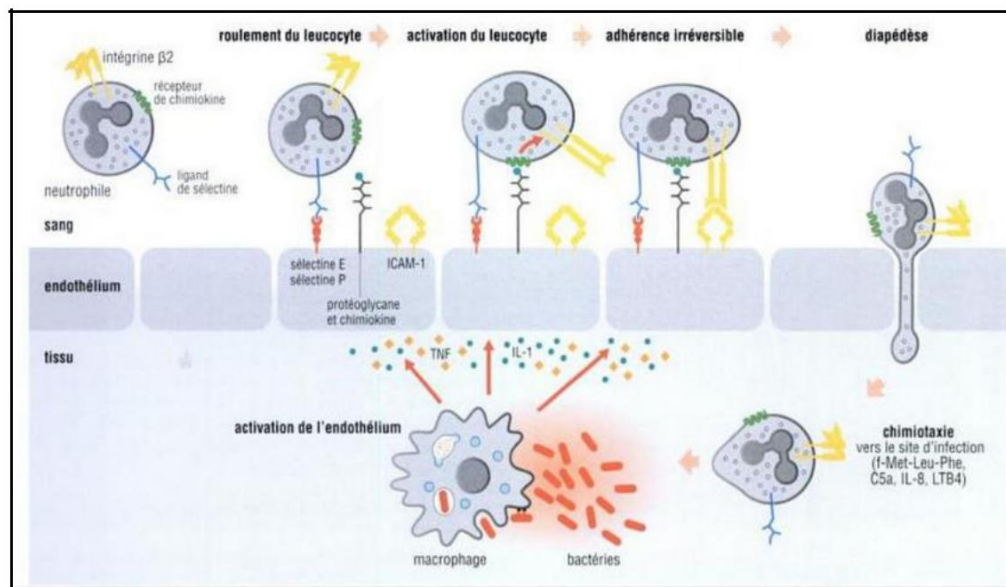


Figure 7. Recrutement de leucocytes aux sites d'infection (De Franco *et al.*, 2009).

La nature et le nombre des cellules migrant se diffèrent selon le temps et l'agent pathogène. Les polynucléaires, les monocytes et les leucocytes après l'adhésion sur l'endothélium, provoquent la perforation de la membrane basale et la pénétration dans l'espace extravasculaire qui a une nature qui favorise le déplacement cellulaire (fibre de collagène, fibre élastique, protéoglycane). Une altération plus marquée des éléments extravasculaire induit la synthèse de facteurs chimiotactiques activateurs appartient à quatre familles : chimiokines (IL-8, facteur plaquettaire 4, RANTES, *macrophage chemotactic protein* (MCP1)), dérivés lipidiques (PAF, LTB4), agents chimiotactiques (C5a), protéines d'adhérence (ligand de la E-selectine, CD44). Les macrophages agissent à leurs tours dans l'amplification de l'inflammation en libérant des médiateurs de nature glycoprotéique comme IL-1 et le TNF (*tumeur necrosis factor*) ou cachectine. Sous l'action de ces médiateurs, plusieurs intégrines vont apparaître sur la surface des

leucocytes ($\beta 1$, $\beta 2$, p150, p95... etc) ainsi que leurs ligands (membres de la famille des immunoglobulines) sur les cellules endothéliales (Russo-Marie, 1998 ; Weill et Batteux, 2003 ; Blétry *et al.*, 2006 ; Raymondjea, 2007)

IV.3.3. Phase de résolution et de cicatrisation

C'est l'étape finale de la réponse inflammatoire où l'apoptose jouerait un rôle important. La libération de radicaux libres de l'oxygène et de l'azote ainsi que certains métabolites des leucocytes qui diminuent le pH local, provoque la destruction de l'agent pathogène mais aussi elle peut entraîner des dommages aux cellules propres du tissu lésé (Marsolais et Frenette, 2005).

Après un certain moment, les phénomènes cataboliques (la phagocytose du foyer inflammatoire et destruction de l'agent causal) s'interrompent et la restauration des tissus commence par la déposition de matrice extracellulaire par les fibroblastes. Le TGF (*transforming growth factor*) est l'un des facteurs qui paraissent capables de participer à la constitution du granulome cicatriciel. Les cellules épithéliales participent à la cicatrisation car elles recouvrent les zones remaniées. La réaction inflammatoire prend fin spontanément (Raymondjea, 2007 ; Weill et Batteux, 2003 ; Blétry *et al.*, 2006 ; Gouilly et Petitdant, 2006).

IV.4. Principaux effecteurs de la réaction inflammatoire

Les étapes de l'inflammation sont médiées par des substances d'origine plasmatique qui jouent un rôle majeur dans les changements au niveau de la partie endommagée (en produisant des médiateurs pro-inflammatoires) et qui dépend de la durée et la gravité de l'agression. A la fin de l'inflammation, de nouvelles molécules bénéfiques qui agissent comme anti-inflammatoires doivent être produites. Afin de mettre fin à ce phénomène (Iwalewa *et al.*, 2007 ; Zeghal et Sahnoun, 2013).

IV.4.1. Médiateurs plasmatiques de l'inflammation aiguë

Il s'agit des enzymes d'origines plasmatiques (protéases) qui sont constituées de trois systèmes interdépendants (Zeghal et Sahnoun, 2013).

- Système du complément : Les compléments C3a et C5a jouent un rôle dans la perméabilité vasculaire, le chimiotactisme et l'opsonisation ;

- Système des kinines : Il joue un rôle dans la perméabilité vasculaire, l'activation du complément et la sensation de douleur ;
- Système de coagulation : Il participe au chimiotactisme et favorise la perméabilité vasculaire.

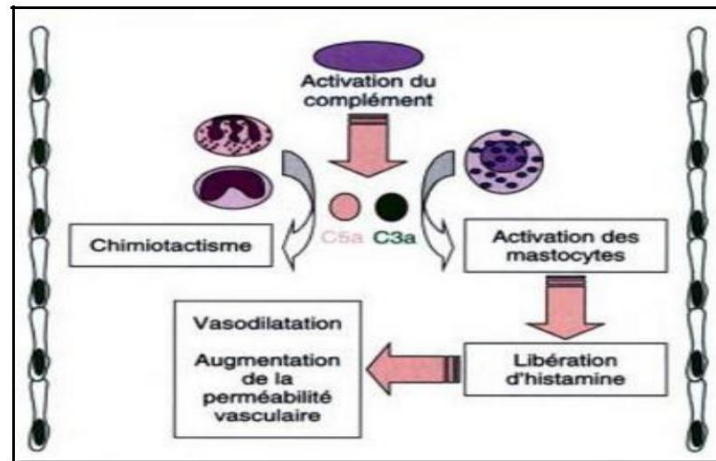


Figure 8. Rôle des anaphylatoxines C3a et C5a au cours de la réponse inflammatoire (Weill et Batteux, 2003).

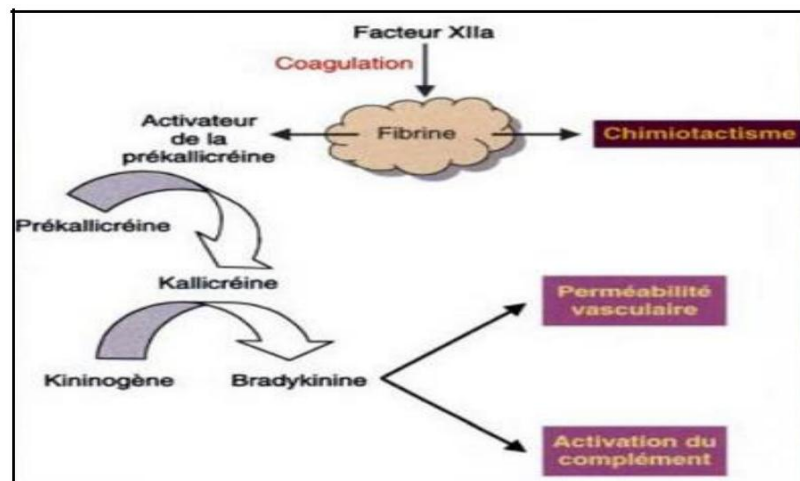


Figure 9. Activateurs de la voie des kinines (Weill et Batteux, 2003).

IV.4.2. Médiateurs solubles de l'inflammation aiguë

Ils sont produits par plusieurs populations cellulaires (Sahnoun *et al.*, 1998). Les polynucléaires neutrophiles sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence de médiateurs précoces chimiotactiques de l'inflammation (leucotriènes, C5a) (Zeghal et Sahnoun, 2013).

Des médiateurs lipidiques sont responsables de fièvre, d'œdèmes et de douleurs. Ils sont représentés essentiellement par les prostaglandines, les leucotriènes, le facteur d'activation des plaquettes (PAF) (Zeghal et Sahnoun, 2013).

Différents amines comme l'histamine et la sérotonine et des neuropeptides participent également à la réaction inflammatoire (Zeghal et Sahnoun, 2013). Le recrutement des cellules immunitaires sur le site inflammatoire assuré par la sécrétion de cytokines et de chimiokines par les cellules de l'immunité innée (Weill et Batteux, 2003).

➤ **Cytokines**

Les cytokines sont des polypeptides solubles (Blétry *et al.*, 2006) jouent un rôle dans la communication intercellulaire et permettent l'activation de différents systèmes (Weill et Batteux, 2003). Elles exercent des actions locales ou systémiques (Weill et Batteux, 2003). Les cytokines comme IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , TGF- β , GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor) sont formés essentiellement par les monocytes et les macrophages. Ces cytokines peuvent se définir en deux catégories: les médiateurs pro-inflammatoires (IL-1, le TNF- α et l'IL-6) et les médiateurs anti-inflammatoires (TGF- β , IL-10) contribuer à la résolution de la réaction inflammatoire et à la restauration de l'intégrité tissulaire (Weill et Batteux, 2003 ; Revuz, 2009).

➤ **Chimiokines**

Les chimiokines sont des petites protéines dont le rôle est d'attirer et de diriger les leucocytes circulants vers les sites d'inflammation (Lacolley *et al.*, 2007). Elles peuvent être produites par divers types cellulaires (Weill et Batteux, 2003 ; Delves *et al.*, 2008).

IV.4.3. Protéines de la phase aiguë de l'inflammation

Les cytokines inflammatoires (L'IL-1, l'IL-6 et l'IL-8) déclenchent une production accrue de certaines protéines sériques par le foie, qui sont appelées protéines de phase aiguë de l'inflammation (Chapel *et al.*, 2004).

➤ **Protéine C-réactive (CRP)**

La CRP est une protéine de la famille des pentraxines. Lorsque la CRP est fixée sur la bactérie, elle peut agir de deux façons. La première correspond à une opsonisation simple du micro-organisme favorisant sa phagocytose. La deuxième consiste en une

activation de la voie classique du complément par fixation de la CRP sur le composé C1q avec lequel elle a une certaine parenté structurale (Weill et Batteux, 2003).

➤ **Mannan Binding Lectin (MBL)**

Cette protéine joue un rôle dans l'activation du complément et peut même agir en opsonisant le micro-organisme par la fixation sur les résidus mannose (Weill et Batteux, 2003).

Partie
Expérimentale

Chapitre I

Matériel Et

Méthodes

I.1. Matériel végétal

La partie aérienne d'*U. dalechampii* et les feuilles de *C. australis* constituent le matériel végétal à étudier. Ils ont été récoltés au mois d'avril à la wilaya de Batna (Est de l'Algérie) et identifiés par monsieur OUDJEHIIH Bachir, Professeur à l'université de Batna 1. Les matières végétales des deux espèces ont été séchées individuellement à l'ombre (le matériel végétal devrait être protégé de la lumière du soleil pour éviter la transformation chimique résultant de l'exposition aux rayonnements ultraviolets) (Jones et Kinghorn, 2005) et à température ambiante ensuite broyées et stockées dans l'obscurité à un endroit sec et non humide.

I.2. Animaux

Des rats Wistar Albinos de poids compris entre 155 et 250g ont été utilisés pour réaliser les activités biologiques *in vivo*. Les animaux ont été obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Alger (Algérie). Ils ont été logés dans des cages de polypropylène dans un environnement standardisé avec une température de 22 ± 2 ° C, d'humidité relative de 50% et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12h/12h, l'aliment et l'eau ont été fournis *ad libitum*. Les rats ont été mis à jeun 16 à 17 heures avant chaque expérimentation avec accès libre à l'eau. Avant de commencer les expériences, les animaux ont été acclimatés aux conditions de laboratoire au moins une semaine.

I.3. Obtention des extraits organiques

La macération successive par trois solvants de polarité croissante (Diallo et *al.*, 2004 ; Jones et Kinghorn, 2005) a été utilisée pour préparer les extraits organiques des deux plantes. Cinq cent grammes de poudre sèche a été d'abord macéré dans 3000 ml d'hexane et mis en agitation mécanique à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 h. Le mélange obtenu est filtré et concentré en utilisant un évaporateur rotatif sous pression réduite à 30 ° C (40° C pour évaporer les extraits méthanoliques). Le marc a été repris avec 3000 ml de dichlorométhane puis avec 3000 ml de méthanol (conformément à la méthode décrite ci-dessus) ; la figure 10 illustre les étapes de l'extraction. Les extraits bruts obtenus ont été stockés à l'obscurité à 4 °C dans des flacons en verre fermés jusqu'à leur utilisation. Le rendement (%) des extraits secs a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = 100 \times PE / PP$$

(Falleh et al., 2008)

Où :

PE : est le poids de l'extrait sec après évaporation du solvant ;

PP : est le poids de la poudre soumise à l'extraction.

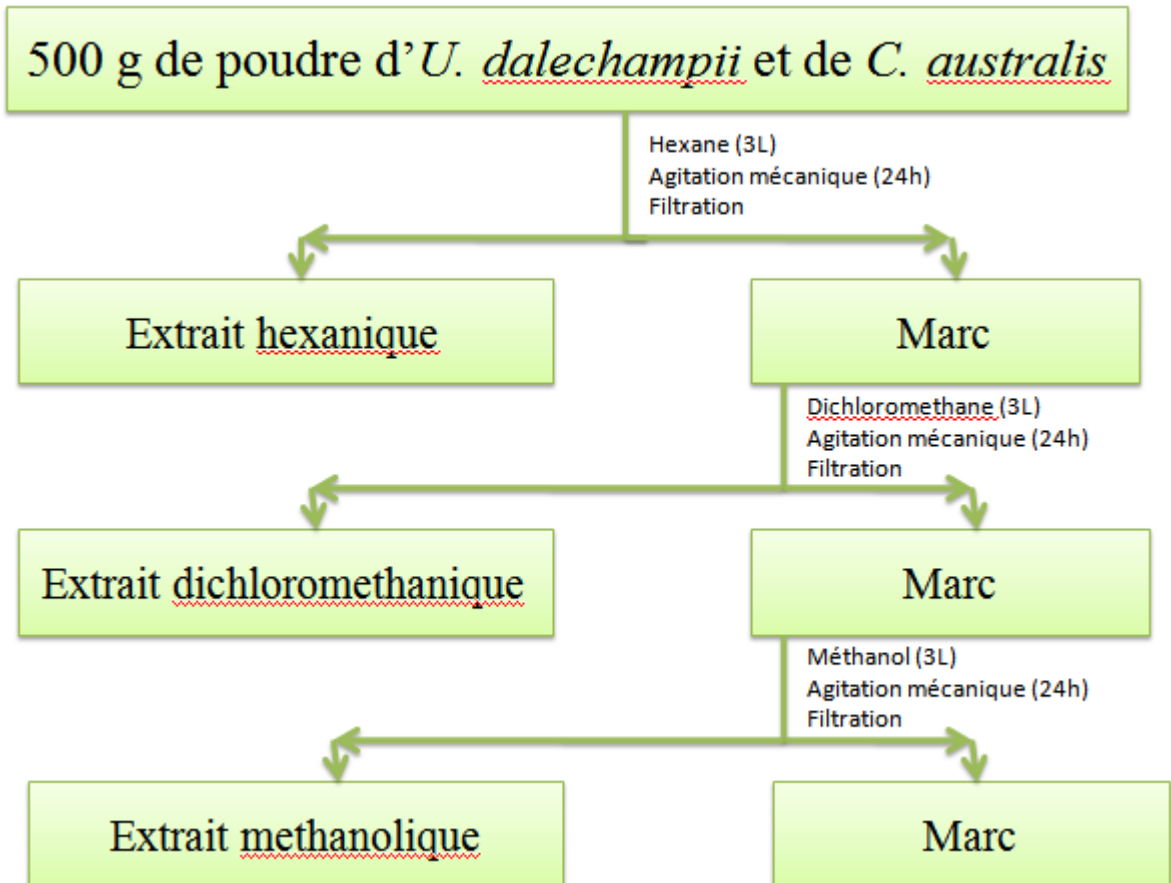


Figure 10 : Schéma d'extraction par épuisement successif par trois solvants.

I.4. Analyse qualitative et quantitative

I.4.1. Criblage phytochimique

U. dalechampii et *C. australis* ont été soumis à un criblage phytochimique préliminaire de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les saponines, les anthraquinones, les triterpénoïdes, les stéroïdes et les mucilages. Cette investigation a été déterminée selon les tests phytochimiques standards

donnés dans la littérature ;les résultats sont classés en :(+) : Réaction positive ;(- / +) : Réaction douteuse ;(-) : Réaction négative.

a) Détection des flavonoïdes

Quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) diluée ont été ajoutées à l'extrait aqueux des deux plantes (0,5 ml). Une couleur jaune intense est apparue, et qui est devenu incolore lors de l'addition de quelques gouttes d'acide sulfurique(H₂SO₄) dilué, cela montre la présence de flavonoïdes (Alabri *et al.*, 2013).

b) Détection des tanins

La poudre (0,5 g) de chaque plante est bouilli dans 20 ml d'eau distillée ; après filtration, quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ (0,1%) ont été ajoutées aux extraits filtrés et observé pour une couleur noire bleuâtre ou verte brunâtre, qui prouve la présence des tanins (Chugh *et al.*, 2012).

c) Détection des coumarines

A 10 mg du matériel végétal, 5 ml de méthanol et quelques gouttes de l'hydroxyde de potassium (KOH) alcoolique à 10% ont été ajoutées. L'apparition de la couleur jaune qui disparut après l'ajout de quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré indique que le résultat est positif (Hindumathy, 2011).

d) Détection des saponines

Dans un bain-marie, 2 g de matière végétale rendue en poudre de chaque plante ont été bouillis avec 20 ml d'eau distillée. Dix millilitres de l'extrait filtré sont mélangés avec 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai et secoués énergiquement. L'obtention d'une mousse stable et persistante démontre la présence des saponines (Chugh *et al.*, 2012).

e) Détection des alcaloïdes

La poudre sèche (0,5 g) de chaque plante a été mise dans un tube à essai et 1,5 ml d'une solution d'ammoniaque y ont été ajoutés. Après quelques minutes, 10 ml du chloroforme a été additionné. Le mélange a été secoué et filtré. Ensuite, le chloroforme a été évaporé en utilisant un bain-marie et 1ml du réactif de Mayer a été additionné. Un précipité de couleur blanchâtre se produit immédiatement si la plante renferme les alcaloïdes (Alabri *et al.*, 2013).

f) Détection des stéroïdes

Les échantillons de poudre (1 g) ont été mixés avec 2 ml de chloroforme ; H₂SO₄ concentré a été ajouté doucement sur la paroi des tubes à essai. Si la couleur de la couche supérieure a viré au rouge, cela indique la présence de stéroïdes (Njoku *et al.*, 2009).

g) Détection des triterpénoïdes

La matière végétale de chaque plante (5 mg) a été macérée dans 2 ml du chloroforme, puis 1 ml de l'anhydride acétique y a été ajouté. Un millilitre de H₂SO₄ concentré a été additionné à la solution précédente. La formation d'une couleur violet rougeâtre montre la présence des triterpénoïdes (Alabri *et al.*, 2013).

h) Détection des mucilages

Un gramme de poudre de chaque espèce a été ajouté à 100 ml d'eau distillé, le tout a été porté à ébullition pendant 15 min. après filtration, l'eau distillé a été ajouté au filtrat (ajusté à 100 ml). A 1 ml de ce filtrat, 5 ml d'éthanol absolu est additionné. Un précipité floconneux est observé si les mucilages sont présents dans la plante (Daoudi *et al.*, 2016).

i) Détection des anthraquinones

À l'extrait chloroformique (macération) de chacune des deux plantes a été ajoutée une solution aqueuse de KOH à 10 %. Après agitation, un virage de la couleur de la phase aqueuse au rouge démontre la présence des anthraquinones (Dohou *et al.*, 2003).

I.4.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) occupe une position de leader dans la séparation, la caractérisation et le dosage des composés phénoliques extraits de plantes (Robbins, 2003; Marston et Hostettmann, 2006; Mišan *et al.*, 2011).

Presque exclusivement, les séparations sont réalisées sur des colonnes en phase inverse (C18) de 100 à 250 mm de longueur et de diamètre interne allant de 2,1 à 5 mm en utilisant un gradient de solvant binaire (Robbins, 2003 ; Marston et Hostettmann, 2006; Stalikas, 2007 ; Mišan *et al.*, 2011). La plupart des analyses CLHP des composés phénoliques sont effectuées à une température ambiante de la colonne (Stalikas, 2007). Les solvants les plus couramment utilisés dans la phase mobile sont les mélanges méthanol-eau ou acétonitrile-eau, sans ou avec petits volumes d'acide (Merken et Beecher, 2000 ; Marston et Hostettmann, 2006).

La chromatographie liquide à phase inversée utilisant un gradient d'acétonitrile et une solution aqueuse d'acide est une pratique courante dans la séparation d'échantillons complexes (Mišan et *al.*, 2011). L'acétonitrile mène à une meilleure résolution dans une durée d'analyse plus courte par rapport au méthanol, en plus, ce solvant donne des pics de formes plus nettes (Stalikas, 2007).

La gamme du pH recommandée pour la méthode CLHP est comprise entre 2 à 4 (pour éviter l'ionisation des analytes durant l'analyse en vue d'améliorer la résolution et la reproductibilité) ; la valeur du pH est ajustée en ajoutant de petits volumes d'acides à la phase mobile (Robbins, 2003; Marston et Hostettmann, 2006; Stalikas, 2007).

I.4.2.1. Préparation des extraits

Un fractionnement et une séparation des extraits méthanoliques bruts d'*U. dalechampii* et de *C. australis* a été effectué en réalisant une chromatographie liquide sous vide. L'élution a été réalisée au moyen des différents gradients de chloroforme et du méthanol. Douze grammes de chaque extrait sont repris dans un mélange de chloroforme – méthanol puis filtré sous vide sur un creuset de verre frité rempli de gel de silice, éluée par un gradient chloroforme- méthanol : chloroforme (100%) jusqu'au méthanol (100%). Les fractions obtenues d'UDME et de CAME ont été analysées par chromatographie sur couche mince (CCM) et une fraction pour chaque extrait a été dissoute dans du méthanol / eau (80:20) ; les mélanges obtenus ont été filtrés en utilisant des filtres millipores de 0,45 µm.

o Colonne

La séparation a été effectuée sur une colonne de type phase inversée Agilent Zorbax SB-C18 (150 × 4,6 mm), de porosité de 5 µm.

o Conditions opératoires

La phase mobile était constituée d'acétonitrile (solvant A) et une solution à 0,2 % d'acide sulfurique dans l'eau ultra-pure (solvant B). Le débit de phase mobile a été fixé à 0,5 ml / min et l'analyse a été effectuée à 27° C. Le volume d'injection a été fixé à 20 µl ; la détection a été suivie à 280 nm et le temps total de l'analyse était 28 min. Les pics des chromatogrammes ont été identifiés par comparaison des temps de rétention des extraits par rapport à ceux des standards analysés dans les mêmes conditions ; les analyses ont été effectuées en triplicatas. Le programme CLHP des extraits des deux plantes étudiées a été

effectué selon le procédé de Falleh et *al.* (2008), le programme de gradient est rapporté dans le tableau V. Cette analyse a été réalisée au niveau du centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) à Alger (Algérie).

Tableau V. Programme et gradient d'élution appliqué dans l'analyse des extraits et des standards par CLHP

Temps	Solvant A (%)	Solvant B(%)
0–12 min	15	85
12–14 min	40	60
14–18 min	60	40
18–20 min	80	20
20–24 min	90	10
24–28 min	100	-

I.4.3. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG / SM) est la technique analytique la plus utilisée pour l'identification et le dosage des substances organiques dans les mélanges complexes ; elle est indispensable dans divers domaines : recherches biologiques, environnementales et médicales, industries des arômes et des parfums, ...etc. La CG / SM est une combinaison synergique de deux techniques miro-analytiques très puissantes; la chromatographie en phase gazeuse sépare les composants de l'extrait, et la spectrométrie de masse donne des informations qui aident à identifier la structure de chaque constituant (Sparkman et *al.*, 2011).

La CG / SM a été utilisée pour analyser la composition des extraits hexaniques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. Cette analyse a été effectuée au niveau du centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) à Alger (Algérie).

I.4.3. 1. Préparation des esters butyliques par la méthode au trifluorure de bore (BF₃)

Dans un ballon, 10 µl de BF₃-butanol (14 %) et 0,2 ml de n-hexane a été ajouté aux extraits hexaniques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*, le mélange a été chauffé pendant une heure à 70 ° C ensuite refroidi à température ambiante. Par la suite, 0,2 ml d'eau saturée en chlorure de sodium a été ajouté pour neutraliser l'excès de BF₃ et le mélange réactionnel a été incubé pendant 2 min. Après incubation, 0,5 ml de n-hexane a été additionné au tube du mélange, puis le tube a été fermé hermétiquement et agité pendant 3 min. La couche organique a été transférée dans un tube de 2,5 ml et réduite à siccité sous un courant d'azote de haute pureté. Enfin, 100 µl de n-hexane et 5 µl de solution de n-hexadécane (à 0,5 ng /µl, en tant qu'étalon interne d'injection) ont été ajoutés, puis 2 µl de l'échantillon ont été injectés dans le CG.

I.4.3. 2. Conditions d'analyse

UDHX et CAHX ont été analysés par CG/SM en utilisant un spectromètre de masse TOFMS DANI à impact électronique. Le chromatographe Master GC DANI est équipé d'une colonne type HP-5MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm. La phase stationnaire constituée de 5% de groupements phényles et 95% dimethyl polysiloxane. L'hélium pur est le gaz vecteur (débit GV 0,5 ml / min). La température du four était programmée à 60 °C pendant 8 min, 2°/min jusqu'à 240°C, isotherme pendant 10min ; le temps total de l'analyse était 108 min. Le volume de l'extrait (les esters butyliques d'UDHX ou de CAHX) injectée a été fixé à 0,2 µl. L'injection a été effectuée en mode Splitless; les températures de l'interface, de la source et de l'injecteur ont été portées à 200°C, 230°C et à 250° C respectivement.

I.4.4. Dosage spectrophotométrique

I.4.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour estimer la concentration de polyphénols totaux dans les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. La procédure décrite par Li et ses collègues (2007) a été suivie pour réaliser ce dosage. Deux cent microlitres de chaque extrait ou standard (préparés dans le méthanol à des dilutions convenables) a été ajouté à 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué (1:10 v / v). Après 4 min, 800 µl d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (75 g / L) a été additionnée a la solution précédente. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été lu à 765 nm, en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.

Une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (20 – 200 µg/ml) a été préparée dans les mêmes conditions et les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ± écart-type (µg EAG/ mg extrait).

I.4.4.2. Dosage des Flavonoïdes totaux (FT)

La concentration des flavonoïdes totaux des extraits des deux plantes a été mesurée selon la méthode colorimétrique décrite par Bahorun et *al.* (1996). Un millilitre de chaque extrait a été mélangé avec le même volume d'une solution aqueuse du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2%. Après 10 min d'incubation, l'absorbance du mélange a été déterminée à 430 nm. La concentration des flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (1,75-40 µg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ± écart type (µg EQ / mg extrait).

I.4.4.3. Dosage des tanins condensés(TC)

La quantité de procyanidines dans les différents extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* a été estimée spectrophotométriquement selon le protocole de Heimler et ses collaborateurs (2006) avec modification (la modification réside dans le volume de l'échantillon). Pour chaque 400 µl d'extraits ou de standard, 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol) et 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés. Le mélange a été incubé pendant 15 minutes et l'absorbance a été déterminée à 500 nm. Une courbe d'étalonnage de la catéchine (10-300 µg/ml) a été préparée et les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ± écart-type (µg EC / mg d'extrait).

I.5. Activités antioxydantes

I.5.1. Effet scavenger du radical DPPH

I.5.1.1. Test *in vitro*

Le diphénylpicrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable qui peut réagir directement avec des antioxydants (Haghpourast et *al.*, 2013). Le test DPPH est décrit comme un test simple, stable, rapide et suffisamment sensible pour détecter les composés actifs à de faibles concentrations ; c'est une méthode pratique pour le dépistage de l'activité anti-radicalaire de nombreux échantillons (substances antioxydantes pures, fruits et extraits végétaux) indépendamment de leur polarité (Halliwell et *al.*, 2004 ; Yi et *al.*, 2008 ; Saha et *al.*, 2013).

Le test DPPH a été effectué selon la méthode rapportée par Mansouri et *al.* (2005). Les extraits secs d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et l'antioxydant de référence, le TBHQ, ont été préalablement dissous dans du méthanol pur et dilués de manière appropriée, ensuite 25 µl de ce mélange a été ajoutés à 975µl de DPPH (2,4 mg dans 100 ml de méthanol). La solution résultante a été bien agitée au vortex et incubée à l'obscurité pendant 30 min, les absorbances ont été mesurées à 517 nm. Le pourcentage d'activité anti-radicalaire (AA) a été calculé en utilisant la formule suivante (Lu et *al.*, 2011) :

$$AA (\%) = [(Abs(DPPH) - Abs(Ech)) / Abs (DPPH)] \times 100$$

Où :

Abs(DPPH) est l'absorbance de la solution de DPPH en absence des extraits après 30 min d'incubation ; et Abs(Ech) est l'absorbance de l'échantillon (extrait ou standard) après 30 min.

Pour mieux caractériser l'effet anti-radicalaire des différents extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*, trois paramètres ont été calculés (Kroyer, 2004) :

- **La concentration inhibitrice à 50% (CI50)**

Ce paramètre est largement appliqué pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. La CI50 représente la concentration d'échantillon requis pour abaisser la concentration initiale du radical DPPH à 50%.

- **La concentration effective à 50% (CE50)**

La CE50 est exprimée en fonction de la concentration d'extrait utilisé pour le test (µg / ml) et de la quantité d'extrait par rapport à la quantité de DPPH initialement utilisée (µg / µg de DPPH) : $CE_{50} = (CI_{50}/mg \text{ de DPPH/ml})$. Plus les valeurs CE50 sont basses, plus la capacité anti-radicalaire est importante.

- **Pouvoir anti-radicalaire (PAR)**

Les pouvoir anti-radicalaires ont été déterminés selon l'équation suivante :

$$PAR = 1 / CE_{50} \times 100$$

I.5.1.2. Test *in vivo*

L'effet des extraits méthanolique d'*U. dalechampii* et de *C. australis* sur la capacité antioxydante plasmatique vis-à-vis du radical DPPH a été déterminé, cette capacité a été évaluée après avoir testé la toxicité aiguë et subaiguë des deux extraits.

a) Répartition et traitement des rats

Les rats ont été répartis selon l'homogénéité de leurs poids en cinq lots expérimentaux de 5 animaux chacun, ils ont été gavés quotidiennement pendant 28 jours par :

- **Groupe I** : 10 ml/kg d'eau physiologique ;
- **Groupe II et III** : 200 et 400 mg / kg p.c de CAME respectivement ;
- **Groupe IV et V** : 200 et 400 mg / kg p.c d'UDME respectivement.

b) Prélèvement sanguin

Après 28 jours de traitement quotidien, le prélèvement sanguin a été réalisé, une centrifugation du sang (3000 tpm pendant 10 min) a été effectuée et les plasmas obtenu sont été aliquotés dans des eppendorfs et conservé à -20°C pour la réalisation du test au DPPH.

c) Test au DPPH

En se basant sur le même principe du test réalisé *in vitro*, la capacité du plasma des rats à piéger le radical DPPH a été déterminée (Hasani et *al.*, 2007). Cinquante microlitres du plasma a été ajoutés à 950 μl d'une solution éthanolique de DPPH (2,4 mg / 100 ml), le mélange réactionnel a été agité brièvement au vortex. Après une incubation pendant une demi-heure à température ambiante, l'absorbance de cette solution a été déterminée à 517 nm (une centrifugation est indispensable avant la mesure de l'absorbance, car des précipités ont été formé dans tous les mélanges réactionnels) (Janaszewska et Bartosz, 2002).

I.5.2. Test de blanchissement du β -carotène

L'activité antioxydante des différents extraits a été également évaluée à l'aide du système β -carotène-acide linoléique selon la méthode décrite par Tepe et *al.* (2006).

Une solution de β -carotène a été préalablement préparée en solubilisant 0,5 mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme, puis 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 (mono-palmitate de polyoxyéthylènesorbitane) ont été ajoutés. Ensuite, le chloroforme a été complètement éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif, par la suite 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène a été ajoutés. L'émulsion résultante est agitée vigoureusement ; 2,5 ml de cette émulsion a été transférés dans une série de tubes contenant 350 μ l de solution des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* (2 mg/ml dans le méthanol) puis incubé pendant 48 h à température ambiante et l'absorbance à 490 nm a été enregistrée à différents intervalles de temps. Le même processus a été répété avec l'antioxydant synthétique (BHT) qui représente le contrôle positif, et le contrôle négatif contenait tous les réactifs à l'exception de l'extrait ou de l'antioxydant standard). La capacité antioxydante relative (CAR) a été calculée en utilisant la formule suivante:

$$CAR = (Abs(t = 48h) \text{ extrait} / Abs(t = 48h) \text{ BHT}) \times 100$$

Où :

Abs(t = 48h) extrait est l'absorbance de l'extrait après 48h d'incubation et *Abs(t = 48h) BHT* est l'absorbance du BHT après 48h.

I.5.3. Chélation du fer ferreux

Pour mieux évaluer le potentiel antioxydant des deux plantes, la capacité chélatrice a été étudiée selon la méthode de Le et ses collègues (2007). Brièvement, 500 μ l de différentes concentrations des extraits, de la quercétine et du chélateur standard EDTA (Ethylene diamine tetraacetic) ont été ajoutés à 100 μ l de $FeCl_2$ (0,6 mM dans de l'eau distillée) et 900 μ l de méthanol ; le mélange obtenu a été secoué vigoureusement et laissé à la température ambiante pendant 5 minutes. Cent microlitre d'une solution méthanolique de ferrozine (5 mM) a été ensuite ajouté au mélange réactionnel, une agitation a été effectuée puis une incubation à température ambiante pendant 10 minutes pour complexer l'ion Fe^{2+} résiduel. Le control négatif contenait tous les réactifs du mélange réactionnels à l'exclusion de l'extrait ou de l'antioxydant standard.

L'absorbance du complexe fer (II) -ferrozine a été mesurée par spectrophotomètre à 562 nm. Les résultats ont été finalement exprimés en CI50 qui représente la concentration de l'échantillon (extrait ou antioxydant synthétique) qui a provoqué la chélation de 50% du fer ferreux. L'activité chélatrice des métaux (ACM) a été calculée comme suit (Esmaeili et *al.*, 2015) :

$$ACM (\%) = [(Abs\ contrôle - Abs\ échantillon) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Où : Abs contrôle est l'absorbance du mélange réactionnel contrôle sans l'échantillon, et Abs l'échantillon est l'absorbance en présence des extraits ou de standard.

I.5.4. Réduction du fer ferrique : Méthode FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le pouvoir réducteur du fer ferrique des extraits a été testé selon le protocole de Benmeddour et son équipe (2013). Cinq cent microlitres des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* ont été ajoutés à 1,25 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium à 1%. Les mélanges ont été incubés à 50 ° C pendant 20 min, puis on a ajouté 1,25 ml de solution d'acide trichloroacétique à 10% a été ajouté. 1,25 ml du mélange réactionnel a été combiné avec 1,25 ml d'eau distillée et 0,25 ml de FeCl₃ (1%). L'absorbance a été mesurée à 700 nm. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique pour 100 g d'extrait (mg EAG / 100 g).

I.6. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

Les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* ont été testés individuellement contre un groupe de microorganismes. La méthode utilisée est la diffusion sur milieu gélosé ou méthode des disques (pour les bactéries et les levures) et la méthode de dilution en milieu gélosé pour les moisissures.

I.6.1. Souches microbiennes testées

Des souches bactériennes et des souches fongiques (levures et moisissures) ont été utilisées pour dépister l'activité antimicrobienne des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. Les souches bactériennes de références (American Type Culture Collection « ATCC ») : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* Mec A+ ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 et *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, ont été obtenues auprès du laboratoire de microbiologie, centre hospitalo-universitaire (CHU Batna). Cinq souches cliniques ont été également testées : *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* sp., *Morganella morganii*, *Chryseomonas luteola*, *Serratia marcescens*, ces souches ont été isolées à partir de prélèvement de malades (laboratoire de microbiologie, CHU Batna). Les levures (*Candida albicans* et *Rhodotorula* sp.) et les moisissures (*Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. et *Alternaria* sp.) ont été obtenues du laboratoire de Mycologie et de Parasitologie (CHU de Batna).

I.6.2. Préparation des extraits

Les extraits organiques d'*U. dalechampii* et de *C. australis* ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), ensuite, des dilutions géométriques allant de 15 à 500 mg / ml ont été préparées et stérilisés par filtration à travers un filtre à membrane de 0,45 µm.

I.6.3. Préparation de l'inoculum

Les bactéries et les levures sont été cultivées dans la gélose nutritive, après 18 h d'incubation, une à deux colonies identiques et bien isolées ont été raclées et diluées dans 5ml d'eau distillée stérile, les suspensions obtenues ont été agitées au vortex (homogénéisation), l'opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland pour les bactéries et à 2 Mc Farland pour les levures. Quant aux moisissures à tester, ils ont été obtenus à partir des cultures de 7 jours sur milieu Sabouraud.

I.6.4. Technique de diffusion en milieu gélosé

Des boîtes de Pétri contenant 60 ml de gélose Mueller-Hinton stérile (souches bactériennes) ou de milieu Sabouraud (levures) ont étéensemencées avec les suspensions appropriées. Un disque de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre a été imprégné avec 10 µl d'extrait (Ngameni *et al.*, 2009), et tapoté doucement pour éliminer l'excès de liquide et placé dans les boitesensemencées ; trois disques ont été préparés pour chaque extrait. Des disques vierges stériles imprégnés par le DMSO, ont été utilisés comme témoins négatifs. Les boîtes chargées ont été tout d'abord maintenues dans un réfrigérateur (4°C) pendant 1h pour garantir une bonne diffusion des échantillons (Falleh *et al.*, 2008). Par la suite, les boites ont été incubées dans l'étuve pendant 18 à 24 h à 37 ° C pour les bactéries et 48h pour les levures (Hussien *et al.*, 2011), Après incubation, toutes les boites ont été observées, des zones d'inhibition de croissance microbienne se produisent autour des disques si l'extrait possède une activité antimicrobienne, et les diamètres de ces zones ont été mesuré en utilisant un pied à coulisse digital. Le test a été répété trois fois et les résultats ont été donnés en tant que moyenne ± écart-type.

I.6.5. Technique de dilution en milieu gélosé

L'activité antifongique des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* a été dépistée par la méthode du contact direct. Les extraits purs (0,5 mg) (Laib, 2012) des deux plantes ont été ajoutés dans des tubes contenant 20 ml du milieu Sabouraud stérile encore liquide (Mohammedi et Atik, 2011). Chaque mélange est homogénéisé par une agitation manuelle, ensuite son contenu est immédiatement coulé dans des boîtes de Pétri. Parallèlement, des milieux Sabouraud sans extraits servent de contrôle négatif pour chaque souche. Après la solidification de la gélose, un disque mycélien, de 6 mm de diamètre pris d'une culture jeune de 7 jours est déposé au centre des chaque boite (Mohammedi et Atik, 2011). L'incubation a été réalisée à une température de 25 ± 2°C et l'estimation de l'inhibition de la croissance a été suivie quotidiennement pendant 7 jours.

En comparant avec le témoin « sans extrait », le pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons a été calculé en utilisant la formule suivante (Djabali et Barkat, 2012) :

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = \frac{D.Tem - D.Es}{.} \times 100$$

Où :

D.Tem : diamètres en millimètre (mm) de la croissance fongique dans la boîte témoin et

D.Es : diamètres en millimètre (mm) de la croissance fongique dans la boîte essai.

I.7. Evaluation de la toxicité aigüe et subaigüe

I.7.1. Test de toxicité aigue

Des rats femelles ont été utilisés pour évaluer la toxicité aiguë, par voie orale, des extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* (UDME) et de *C. australis* (CAME) en suivant les recommandations de la ligne directrice de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques⁴²³ (OCDE, 2001). Les extraits ont été dissous dans l'eau physiologique et sont administrés via gavage (en utilisant une sonde gastrique) à une dose unique (la dose initiale choisie est de 500 mg / kg jusqu'à 2000 mg / kg, 10 ml / kg p.c) après un jeûne d'une nuit avec un accès libre à l'eau.

Les animaux ont été répartis en 3 lots de 5 rats chacun :

- ✓ **Lot I (témoin)** : recevant par voie intra gastrique une solution d'eau physiologique à la dose de 10 ml / kg p.c ;
- ✓ **Lot II (traité)** : les rats ont reçu par voie intra gastrique UDME (2000 mg / kg, p.c) ;
- ✓ **Lot III (traité)** : les rats de ce groupe ont reçu par voie intra gastrique CAME (2000 mg / kg, p.c).

Tous les rats ont été observés de façon continue le jour de gavage pour noter les signes cliniques de toxicité, de morbidité et de mortalité. L'observation a été effectuée également durant les 14 jours qui suivent l'administration d'UDME et de CAME pour détecter d'éventuels effets toxiques des extraits. Après 14 jours, tous les animaux survivants ont été mis à jeun pendant une nuit et anesthésiés avec le chloroforme. Les échantillons de sang ont été recueillis pour analyser les paramètres biochimiques.

I.7.2. Test de toxicité subaiguë

Le test de toxicité subaiguë d'UDME et de CAME a été effectué en suivant les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé et à la Ligne directrice de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (407) pour l'examen des produits chimiques cités par Das et *al.* (2015).

Les animaux ont été répartis en 5 lots de 5 rats chacun :

- ✓ **Lot I (témoin)** : recevant par voie orale une solution NaCl 0,9% à la dose de 10 ml / kg p.c ;
- ✓ **Lot II et III**: les rats ont reçu par voie orale l'UDME aux doses de 200 et 400 mg / kg, p.c respectivement toutes les 24 h pendant 28 jours ;
- ✓ **Lot IV et V**: les rats de ce groupe ont reçu par voie orale CAME aux doses de 200 et 400 mg / kg, p.c respectivement toutes les 24 h pendant 28 jours.

Au cours de la période de traitement par UDME et CAME, tous les animaux ont été observés quotidiennement une fois avant l'administration, immédiatement après l'administration et jusqu'à quatre heures après l'administration. Les manifestations toxiques, comme les changements pathologiques des poids corporels et des poids des organes prélevés des rats, l'alimentation, la consommation d'eau, une altération possible de la coloration des selles et de l'urine et la mortalité ont été notées chaque jour (Malone and Robichaud, 1962 ; Das et *al.*, 2015).

1.7.2.1. Effet d'UDME et de CAME sur le poids corporel des rats

Les poids corporels de chaque rat ont été pris pendant la période d'acclimatation, une fois avant le début de l'administration des extraits, une fois par semaine pendant la période de traitement et une fois le jour du sacrifice (Das et *al.*, 2015) .

1.7.2.2. Effet d'UDME et de CAME sur les poids relatifs des organes prélevés

Le 29^{ème} jour, tous les animaux ont été sacrifiés et les organes (foie, cœur et les reins) ont été soigneusement disséqués et pesés en grammes. Les poids relatifs des organes de chaque rat a été ensuite calculé en utilisant la formule (Das et *al.*, 2015):

$$\text{Poids relatif des organes} = P.A.O \times 100 / P.C. S$$

Où :

P.A.O : Poids absolu de l'organe (g) et *P.C. S* : Poids corporel du rat au jour du sacrifice (g).

I.7.2.3. Evaluation de quelques paramètres biochimiques, hématologiques et histologiques

a) Prélèvement sanguin

Après 28 jours, tous les animaux survivants ont été mis à jeun pendant une nuit et anesthésiés avec le chloroforme. Le prélèvement du sang des rats ayant reçu UDME et CAME a été réalisé à travers les sinus rétro-orbitaux au niveau de la veine orbitale des animaux. Le sang a été recueilli dans des tubes EDTA pour la numération formule sanguine (NFS), et dans des tubes héparinés pour le bilan biochimique (Das et *al.*, 2015)..

b) Effet des extraits sur les paramètres biochimiques

L'analyse biochimique a été effectuée sur le plasma après centrifugation (3000 rpm pendant 10 min) du sang recueilli et les paramètres (aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), phosphatase alcaline, cholestérol, glycémie, triglycéride, urée et créatinine) ont été déterminés (automate type KENZA Biochimis Try cod.RM 2030-18 ; kits commerciaux Spinreact, Espagne) pour le groupe témoin et les groupes traités par les extraits.

- **Dosage du cholestérol**

Un volume de 1 ml du réactif (solution préparée de : phenol, PIPES pH 6.9, cholestérol estérase, cholestérol oxidase, peroxydase, 4—Aminophenazone) a été additionné à 10µl du plasma, le mélange a été incubé à 37°C pendant 10 min. L'absorbance a été mesurée à 505nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

- **Dosage des triglycérides**

Un millilitre du réactif (solution préparée de : GOOD pH 7.5, p-Chlorophenol, lipoprotéine lipase, glycérol kinase, glycérol-3-oxidase, peroxydase, 4—Aminophenazone, ATP) a été ajouté à 10µl du plasma. Après 10 min d'incubation à température ambiante, la lecture de l'absorbance a été effectuée en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible à 505 nm.

- **Dosage de l'aspartate transaminase**

Un millilitre du réactif (solution préparée de : L-Aspartate, TRIS pH 7.8, NADH, lactate déshydrogénase, malate déshydrogénase, α -cetoglutarate) a été mélangé avec 100 μ l du plasma, la lecture de l'absorbance a été effectuée à 340 nm.

- **Dosage de l'alanine transaminase**

Un millilitre du réactif (solution préparée de : TRIS pH 7.8, L-Alanine, NADH, lactate déshydrogénase, α -cetoglutarate) a été ajouté à 100 μ l du plasma, l'absorbance du mélange a été déterminée à 340 nm.

- **Dosage de l'urée**

Dix microlitres du plasma a été additionné à 1 ml du réactif A (solution préparée de : salicylate de sodium, nitroprussiate de sodium, tampon phosphate, uréase) après 5 à 7 min d'incubation au bain marie, 1 ml du réactif B (solution : hypochlorite de sodium, hydroxide de sodium) a été additionné et une deuxième incubation a été réalisée. La lecture de l'absorbance a été effectuée à 600 ± 20 nm.

- **Dosage de la créatinine**

Cinq cent microlitres du réactif 1 (acide picrique) a été mélangé avec le même volume du réactif 2 (hydroxyde de sodium) et 100 μ l du plasma, ensuite la lecture de l'absorbance du mélange a été faite immédiatement à 492 nm.

- **Dosage du glucose plasmatique**

Un millilitre du réactif (solution de : phenol, TRIS pH 7.4, glucose oxidase, peroxidase, 4—Aminophenasone) a été mélangé avec 10 μ l du plasma, une incubation pendant 10min au bain marie a été effectuée. L'absorbance du milieu réactionnel a été déterminé à 505 nm.

- **Dosage de la phosphatase alcaline**

Deux millilitres du réactif (solution : diethanolamine pH 10.4, magnésium chloride, p-Nitrophenylphosphate) ont été ajoutés à 20 μ l du plasma, la lecture de l'absorbance (à 405 nm) de la première et de la troisième minute a été enregistrée. La teneur en phosphatase alcaline a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$DO1ere\ min - DO3eme\ min \times 3300$$

Où:

DO1ere min: l'absorbance de la première minute du milieu réactionnel et DO3eme min:

l'absorbance de la troisième minute du milieu réactionnel.

c) Effet des extraits sur les paramètres hématologiques

En utilisant un automate d'hématologie type Genius KT-6400, différents paramètres hématologiques tels que les globules rouges (GR), les globules blancs (GB), les plaquettes (PLT), l'hémoglobine (HGB), Hématocrite (HCT), volume globulaire moyen (MCV), teneur corpusculaire en hémoglobine (MCH), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (MCHC), les neutrophiles, les basophiles, les lymphocytes, les éosinophiles et les monocytes ont été mesurés.

d) Examen histologique

Le 29^{eme} jour, les animaux ont été sacrifiés et les organes internes (reins et foie) ont été prélevés, soigneusement lavés en utilisant l'eau physiologique et observés pour les lésions grossières. Les organes internes ont été conservés dans une solution de formaldéhyde à 10%.

Des coupes en paraffine du foie et des reins ont été préparées, colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine et observées en utilisant un microscope (Optica Microscopes Italy DM-25). Des images numériques ont été obtenues en utilisant une caméra (Cam Optica 4083. B5) associée au microscope

I.8. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire aigue

Afin d'estimer l'activité anti-inflammatoire par voie orale d'UDME et de CAME, trois méthodes ont été réalisées *in vivo*.

I.8.1. Œdème de la patte postérieure induit par la carraghénane

Cette méthode a été réalisée en suivant le protocole d'Awaad et son équipe (2011). Les rats ont été divisés aléatoirement en 6 groupes contenant chacun 5 rats.

- ✓ **Groupe I (témoin)** : ont reçu l'eau physiologique per os (10 ml / kg) ;
- ✓ **Groupe II (anti-inflammatoire de référence)** : ont reçu le diclofénac (30 mg / kg) par voie orale ;
- ✓ **Groupes III à IV** : ont été traités oralement par UDME (200 et 400 mg / kg) respectivement ;
- ✓ **Groupes V à VI** : ont été traités oralement par CAME (200 et 400 mg / kg) respectivement.

Après une demi-heure de l'administration des différents traitements, une inflammation aiguë a été induite par injection sous-plantaire de 100 µl d'une solution de carraghénane type lambda (1%, P / V dans l'eau physiologique) dans la patte arrière gauche de tous les rats (la solution aqueuse de la carraghénane doit subir une agitation au vortex avant l'injection). L'épaisseur de la patte de chaque rat a été mesurée en utilisant un pied à coulisse digital (Delaporte et *al.*, 2004) avant et 1, 3, et 5 h après l'injection de carraghénane. Le pourcentage d'inhibition de l'épaisseur de la patte induite par le diclofénac et les extraits testés a été calculé par rapport au groupe contrôle (100 %).

I.8.2. Pleurésie induite par la carraghénane chez les rats

Pour réaliser cette activité, les rats ont été repartit en 7 groupes contenant chacun 6 rats.

- ✓ **Groupes I et II (témoins)** : ont reçu l'eau physiologique 10 ml / kg ;
- ✓ **Groupe III (médicament)** : ont reçu l'anti-inflammatoire de référence : le diclofénac (10 mg / kg p.c) ;
- ✓ **Groupes (IV et V)** : ont reçu respectivement des doses de 200 et 400 mg / kg p.c d'UDME ;
- ✓ **Groupes (VI et VII)** : ont reçu CAME aux doses de 200 et 400 mg / kg p.c respectivement.

Une heure après le traitement par administration orale des différents produits, les animaux du groupe I ont été injectés avec 0,2 ml d'eau physiologique stérile, les autres groupe sont été injectés avec le même volume d'une solution aqueuse de carraghénane type lambda (1% P / V dans l'eau physiologique, la solution aqueuse de la carraghénane doit subir une agitation au vortex avant injection). Quatre heures plus tard, tous les animaux ont été euthanasiés, et leurs cages thoraciques ont été prudemment ouvertes et la cavité pleurale a été rincée avec 1 ml de solution d'eau physiologique tamponnée au phosphate hépariné (PBS).

La solution d'exsudat et de rinçage a été récupérée par aspiration et le volume total du liquide a été mesuré en soustrayant le volume injecté à partir du volume total récupéré, tout exsudat contenant du sang a été jeté (Moore, 2003 ; Nardi et *al.*, 2007 ; Batista et *al.*, 2014).

Le nombre de neutrophiles dans l'exsudat a été compté par le biais d'un microscope optique (Optica Microscopes Italy DM-25) en utilisant une cellule de comptage après dilution des exsudats dans la solution Türk. Les résultats ont été présentés en tant que nombre de neutrophiles par ml d'exsudat pleural.

I.8.3. Œdème de l'oreille induit par le xylène

Pour évaluer l'effet anti-œdémateux d'UDME et de CAME, l'œdème de l'oreille a été induit par le xylène en suivant le protocole d'Adeyemi et ses collaborateurs (2008).

Les animaux ont été répartis en 6 lots de 6 rats chacun :

- ✓ **Lot I (témoin)** : recevant par voie intra gastrique une solution de NaCl à 0,9 % à la dose de 10ml /kg p.c ;
- ✓ **Lot II (médicament de référence)** : ont reçu par voie orale une solution de diclofénac (10 mg/kg p.c) ;
- ✓ **Lot III et IV** : ont reçu par voie intra gastrique UDME (200 et 400 mg / kg, p.c) respectivement ;
- ✓ **Lot V et VI** : ont reçu par voie intra gastrique CAME (200 et 400 mg / kg, p.c) respectivement,

Trente minutes après l'administration des différents traitements et à l'aide d'une micropipette, l'œdème de l'oreille a été induit par une application locale (à l'aide d'une micropipette) de 0,03 ml de xylène sur la face interne et externe de l'oreille droite de chaque rat pour tous les groupes. L'épaisseur de l'oreille a été mesuré avant et 2 h après l'induction de l'inflammation en utilisant un pied à coulisse digital (Delaporte et *al.*, 2004). Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'œdème (\%)} = (\text{Témoin} - \text{Traité} / \text{Témoin}) \times 100$$

Où :

Témoin : la différence de l'épaisseur de l'oreille des rats du groupe témoin avant et après l'application du xylène et *Traité* : la différence de l'épaisseur de l'oreille des rats du groupes traités (lots médicament et lots expérimentaux) avant et après l'application du xylène.

I.9. Effet antalgique

I.9.1. Test du writhing

L'activité anti-nociceptive périphérique des extraits des deux plantes a été évaluée selon la méthode de comptage du nombre d'étirements ou de contorsion (Carino-Cortés et *al.*, 2010) comptés pendant une période de 15 minutes, en commençant 5 min après l'administration intra-péritonéale de l'acide acétique 0,6% (v / v) à une dose de 10 ml / kg. Tous les produits ont été administrés par voie orale 30 min avant l'injection de l'acide acétique ; les animaux ont été répartis en 6 groupes de 6 rats chacun :

- **Groupe I** : Un lot témoin recevant par voie orale l'eau physiologique à la dose de 10mg/kg ;
- **Groupes II** : ont reçu une solution d'acide acétyle salicylique (200 mg / kg p.c).
- **Groupes III et IV** : ont reçu l'UDME aux doses 200 et 400 mg / kg, p.c) respectivement ;
- **Groupes V et VI**: ont reçu CAME (200 et 400 mg / kg, p.c) respectivement ;

Immédiatement après l'injection d'acide acétique, le nombre de contorsions par rat a été compté. Le nombre de contorsions et d'étirement a été enregistré et permet d'exprimer le pourcentage de protection en appliquant la formule suivante (Dongmo, et *al.*, 2005) :

$$\frac{(\text{Contrôle} - \text{Traités})}{\text{Contrôle}} \times 100$$

Où :

Contrôle : le nombre de contorsions des rats gavés avec l'eau physiologique et *Traité* : le nombre de contorsions des rats traités avec les extraits ou le médicament.

I.9.2. Test au formaldéhyde

La méthode utilisée était celle décrite par Adebisi et *al.* (2006). Les rats males ont été divisés en 6 lots contenant 5 animaux chacun.

- ✓ **Groupe I (témoin)** a reçu de l'eau physiologique (10 ml / kg) par voie orale.
- ✓ **Groupe II** a reçu le médicament de référence 5 mg / kg (p.o.) du diclofénac.
- ✓ **Groupes III et IV** ont été chacun prétraités avec 200 et 400 mg / kg (p.o.) de l'extrait méthanolique d'*U. dalechampii*, respectivement.
- ✓ **Groupes V et VI** ont été gavés par l'extrait méthanolique de *C. australis* aux doses de 200 et 400 mg / kg, respectivement.

Une heure après le traitement des rats par les différents produits, 20 μ l d'une solution aqueuse de formaldéhyde (1 %, V / V) a été injecté dans la surface dorsale de la patte arrière gauche des rats. Immédiatement après l'injection, les animaux ont été observés et le temps passé à lécher ou à mordre (Sudo et *al.*, 2015) la patte injectée a été compté (en utilisant un chronomètre numérique) pendant les premières cinq minutes (phase précoce). Vingt minutes après le début de l'expérience, le temps de léchage a été également compté pendant 5 autres minutes (phase tardive).

I.10. Activité antipyrétique

L'activité antipyrétique a été évaluée par le modèle de pyrexie induite par la levure de bière chez les rats (Ashok Kumar et *al.*, 2011).

La température corporelle normale des rats a été prélevée en introduisant un thermomètre dans le rectum. La fièvre a été induite par injection sous-cutanée (20 ml / kg p.c) d'une suspension aqueuse (20 % P / V dans l'eau physiologique) de levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*).

Des rats males ont été divisés en 6 groupes contenant 6 animaux chacun.

- ✓ **Groupe I (témoin)** a reçu, par voie orale, de l'eau physiologique (10 ml / kg).
- ✓ **Groupe II** a reçu leparacétamol (150 mg / kg, p.o) ;
- ✓ **Groupes III et IV** ont été chacun prétraités avec 200 et 400 mg / kg (p.o.) de l'extrait méthanolique d'*U. dalechampii*, respectivement.
- ✓ **Groupes V et VI** ont été gavés par l'extrait methanolique de *C. australis* aux doses de 200 et 400 mg / kg, respectivement.

Les températures rectales de tous les rats ont été notées et comparées après 19 h, immédiatement avant l'administration des extraits (UDME et CAME) ou du véhicule ou du paracétamol, et de nouveau à 1 h d'intervalle jusqu'à 24 h après les traitements.

I.11. Analyse statistique

Les résultats des activités effectuées *in vitro* et *in vivo* sont exprimés en moyenne \pm écart-types et en moyennes \pm erreur-types de la moyenne respectivement. Les concentrations inhibitrices à 50% sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. Le test ANOVA univariée suivie du test de Dunnett / Tukeya été utilisé pour déterminer la différence entre le témoin et les différents échantillons. Les valeurs de $p < 0,05$ sont considérées comme statistiquement significatives. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel Graph-pad prism 5.

Chapitre II

Résultats Et

Discussion

II.1. Extraction

Afin d'estimer les activités biologiques d'une plante, la première étape essentielle et indispensable est l'extraction. Ce faisant, il existe de nombreux avantages et certains inconvénients, en comparant à l'isolement des molécules pures. Lorsque l'extrait brut est utilisé pour évaluer une activité, il existe de bonnes opportunités de synergie entre les constituants actifs, cette synergie pourrait être perdue lorsque chacun de ces composants est isolé. Bien au contraire, des effets inhibiteurs pourraient être observés dans un extrait brut renfermant des composants différents (un constituant pourrait diminuer l'activité biologique d'un autre) (Azab et *al.*, 2016).

Dans le présent travail, la préparation des extraits organiques a été effectuée à partir de la partie aérienne et des feuilles d'*U. dalechampii* et de *C. australis* respectivement. L'extraction a été réalisée par des solvants de polarité croissante ; il s'agit de l'hexane, le dichlorométhane et le méthanol. Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits: l'extrait hexanique, l'extrait dichlorométhanique et l'extrait méthanolique. Le rendement (%) de chaque extrait est représenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI. Masses et rendement des différents extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*.

Plantes	Masse de la matière végétale (g)	Extraits	Masse de l'extrait (g)	Rendement (%)
<i>U. dalechampii</i>	500	hexanique (UDHX)	0,9	0,18
		dichlorométhanique (UDDM)	3,5	0,7
		méthanolique (UDME)	50	10
<i>C. australis</i>	500	hexanique (CAHX)	16,51	3,30
		dichlorométhanique (CADM)	12,89	2,57
		méthanolique (CAME)	20,5	4,1

D'après les résultats obtenus, les rendements les plus élevés ont été obtenus en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

Il est difficile de comparer les rendements des deux plantes avec ceux obtenus par d'autres équipes de recherche, car le rendement n'est que relatif et dépend de plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction, le solvant, la température, le temps ainsi que l'origine géographique de la matière végétale soumise à l'extraction (Hayouni et *al.*, 2007 ; Pratima et Pratima, 2011).

II.2. Analyse qualitative et quantitative

II.2.1. Screening phytochimique

La détermination préliminaire de la composition chimique des deux plantes été déterminée selon les tests phytochimiques standards basés sur l'apparition de précipitation, de trouble, la formation de mousse, la formation de complexes colorés ou par la disparition de couleur. Les résultats sont classés en : (+) : Réaction positive ; (-/+): Réaction douteuse et (-) : Réaction négative.

Tableau VII. Résultats des tests de caractérisation

Métabolites	Résultats	
	<i>U. dalechampii</i>	<i>C. australis</i>
Flavonoïdes	+	+
Tanins	+	+
Coumarines	+	-
Saponosides	+	+
Triterpènes	+	+
Stéroïdes	+	+
Alcaloïdes	+	-
Mucilages	+	-
Anthraquinones	-	(+/-)

D'après le tableau **VII**, la poudre d'*U. dalechampii* renferme différents grands groupes de métabolites secondaires. En effet, les réactions ont été franchement positives dans le cas des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des saponines, des triterpènes, des stéroïdes, des alcaloïdes et des mucilages. En revanche la réaction était négative dans le cas des anthraquinones. Quant à la poudre de *C. australis*, on note l'absence des coumarines, des alcaloïdes et des mucilages.

II.2.2. Chromatographie liquide a haute performance (CLHP)

Nous avons opté pour la technique CLHP pour caractériser et doser certains composés phénoliques dans les extraits dicloromethaniques et les fractions issues des extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. La phase mobile utilisée dans cette analyse était constituée d'acétonitrile (solvant A) et d'une solution à 0,2 % d'acide sulfurique dans l'eau (solvant B). Des solutions mères de standards ont été préparées individuellement dans le méthanol grade CLHP et analysée dans les mêmes conditions que les extraits. Les pics des chromatogrammes obtenus ont été identifiés par comparaison des temps de rétention des extraits par rapport à ceux des standards. Les chromatogrammes sont représentés dans les figures 11 et 12 ; les temps de rétention et les concentrations de chaque composé phénolique sont rapportés dans les tableaux VIII et IX.

Tableau VIII. Résultats de l'analyse par CLHP des extraits d'*U. dalechampii*.

Extraits	Composés	Temps de rétention (min)	Concentration
UDDM	Luteoline	9,675	1,052
	Apigénine	10,881	7,618
	Ladaneine	19,821	2,284
	7-methoxy-5-hydroxyflavanone	23,006	6,085
UDME	Acide Hydroxycafeique	7,117	4,341
	Rutine	8,665	4,977
	Luteoline	9,922	1,326
	Apigénine	10,784	1,021

	Ladaneine	19,697	3,993
	7-methoxy-5-hydroxyflavanone	22,920	3,539

Tableau IX. Résultats de l'analyse par CLHP des extraits de *C. australis*

Extraits	Composés	Temps de rétention (min)	Concentration
CADM	Luteoline	9,720	T (*)
	Ladaneine	19,961	1,4067
	7-Methoxy-5- Hydroxy-Flavanone	22,940	7,91
CAME	Acide Procatechique	5,022	4,041
	Acide Hydroxycafeique	7,136	9,190
	Rutine	8,571	1,781
	Luteoline	9,856	1,462
	Apigénine	10,927	6,979
	Ladaneine	19,742	2,508
	7-methoxy-5 -hydroxyflavanone	22,919	T (*)

(*) Le composé existe en traces

L'analyse CLHP réalisée sur les extraits d'*U. dalechampii* a conduit à la révélation de la présence probable de 4 flavonoïdes dans l'UDDM (luteoline, apigénine, ladaneine et 7-methoxy-5 hydroxyflavanone). Quant à la fraction issue de l'UDME, il s'agit de l'acide hydroxycafeique) et 5 flavonoïdes (rutine, luteoline, apigénine, ladaneine et 7-methoxy-5 hydroxyflavanone).

Cette technique nous a permis également de révéler la présence éventuelle de trois flavonoïdes (luteoline, ladaneine et 7-methoxy-5 hydroxyflavanone) dans CADM. Sept composés phénoliques ont été révélés dans la fraction issue du CAME, il s'agit de deux acides phénoliques (acide procatechique et acide hydroxycafeique) et cinq flavonoïdes (rutine, luteoline, apigénine, ladaneine et 7-methoxy-5 hydroxyflavanone).

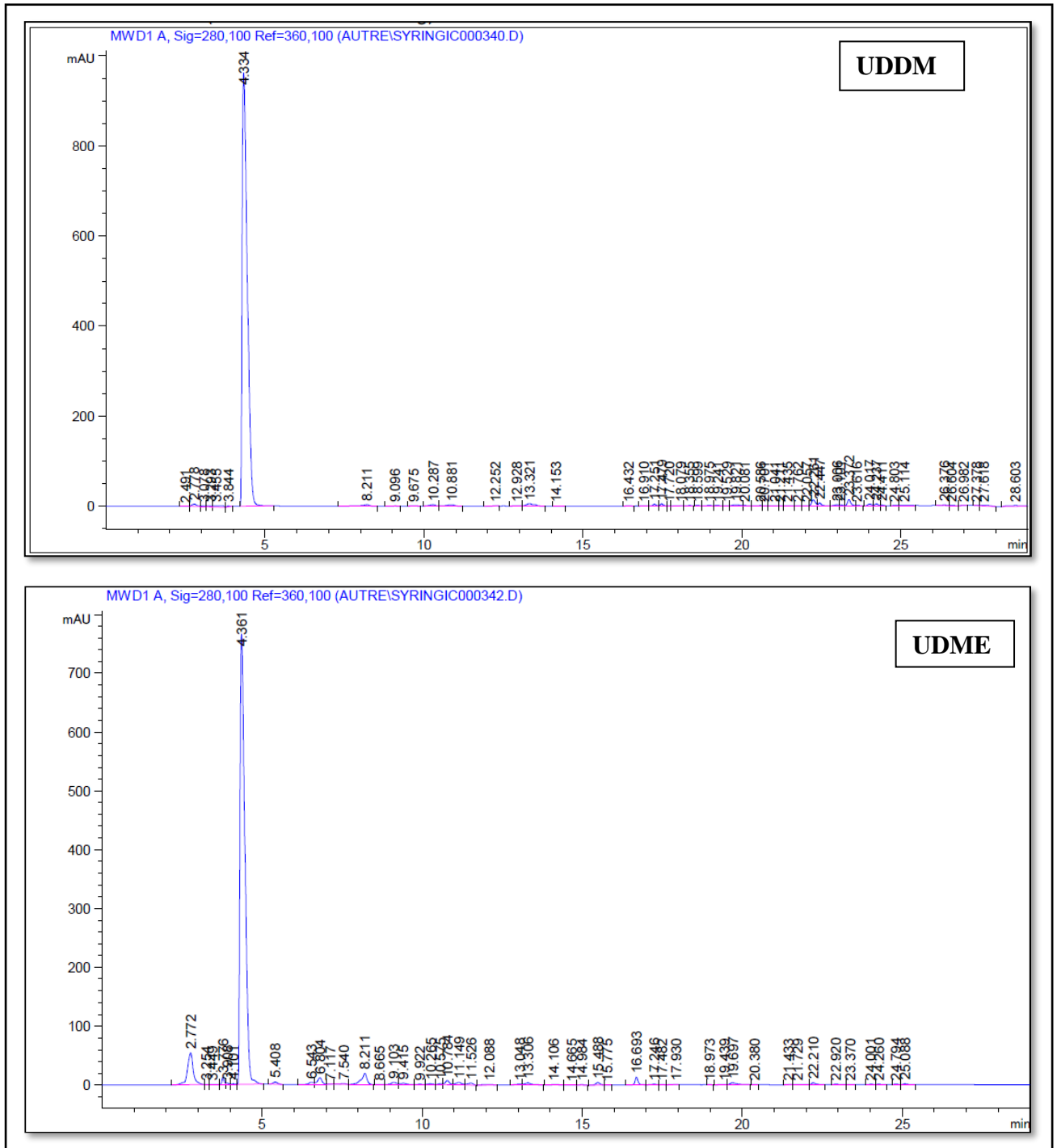


Figure 11 : Chromatogramme obtenu à 280 des extraits d'*U. dalechampii*.

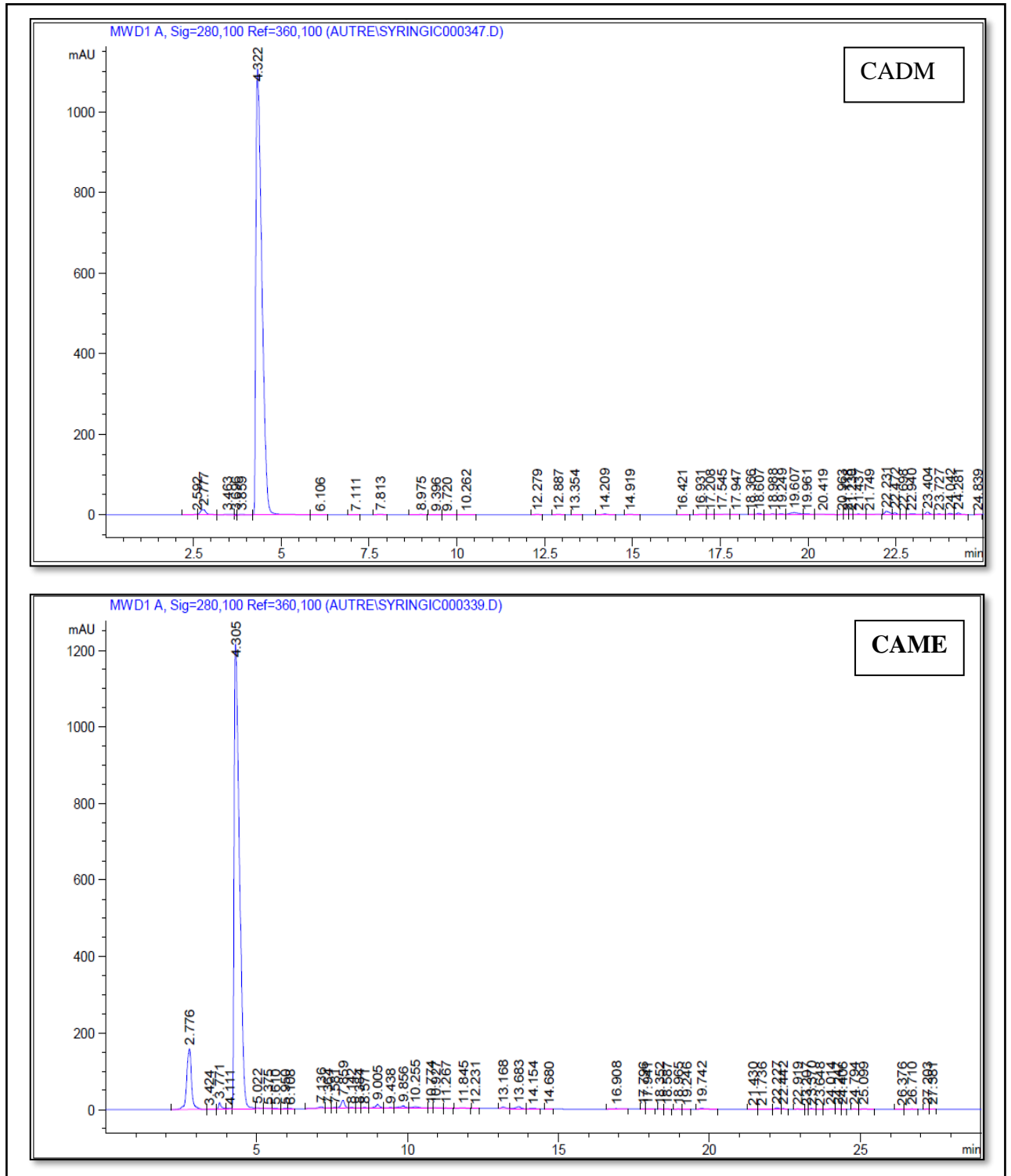


Figure 12 : Chromatogramme obtenu à 280 des extraits de *C. australis*.

II.2.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'extrait hexanique d'*U. dalechampii* a été analysé par CG / MS, les résultats sont présentés dans le tableau X et le chromatogramme dans la figure 13.

Tableau X : Composition en acides gras (%) de l'extrait hexanique d'*U. dalechampii*

N°	Composés		Temps de rétention (min)	Concentration (%)
	Noms systématiques	Noms communs		
1	Tétradécanoïque (C14 :0)	Acide myristique	61,55	0,13
2	6,10,14-triméthyl-2-pentadécanoïque	/	65,05	2,06
3	Hexadécanoïque (C16 :0)	Acide palmitique	71,82	15,89
4	Acide eicosanoïque (C20 :0)	Acide arachidique	72,55	0,06
5	Heneicosanoïque (C21 :0)	/	77,35	29,58
6	Phytol	/	77,85	0,94
7	acide 12-hydroxy-9-cis-octadécénoïque (C18 : Δ 9)	Acide ricinoléique (Dérivé hydroxylé de l'acide oléique)	78,83	0,84
8	9-12-Octadécadiénoïque (C18 : 2 Δ 9, 12)	Acide linoléique	79,62	16,55
9	9-12-15 Octadécatriénoïque Acide α -linoléique (C18 : 3 Δ 9, 12, 15)	Acide α linoléique	80,19	9,23

Les résultats de la CG / SM révèle la présence, dans l'UDHX, des acides gras insaturés : α -linoléique (9,23%) et linoléique (16,55%), ce qui pourrait conférer à cet extrait des effets hypocholestérolémiants et anti-athérogènes et pourrait limiter l'incidence des maladies vasculaires. L'acide linoléique, chef de file de la famille « *Omega 6* » est un acide gras essentiel qui joue un rôle important dans l'équilibre cardiovasculaire, la régénération des membranes cellulaires, la protection de la peau, dans l'inflammation et dans l'immunité (Armougom et *al.*, 1998 ; Romon et *al.*, 2003 ; Riché , 2008 ; Jean, 2013). On note aussi la présence de l'acide palmitique (C16 :0) en proportion très élevées (15,89 %) ; l'acide myristique et l'acide arachidique représentent 0,13 % et 0,06 % respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux du Saa-Oteroa et son équipe (2000) qui ont signalé également la présence des acides linoléique, linoléique et l'acide arachidique dans l'*U. dalechampii*.

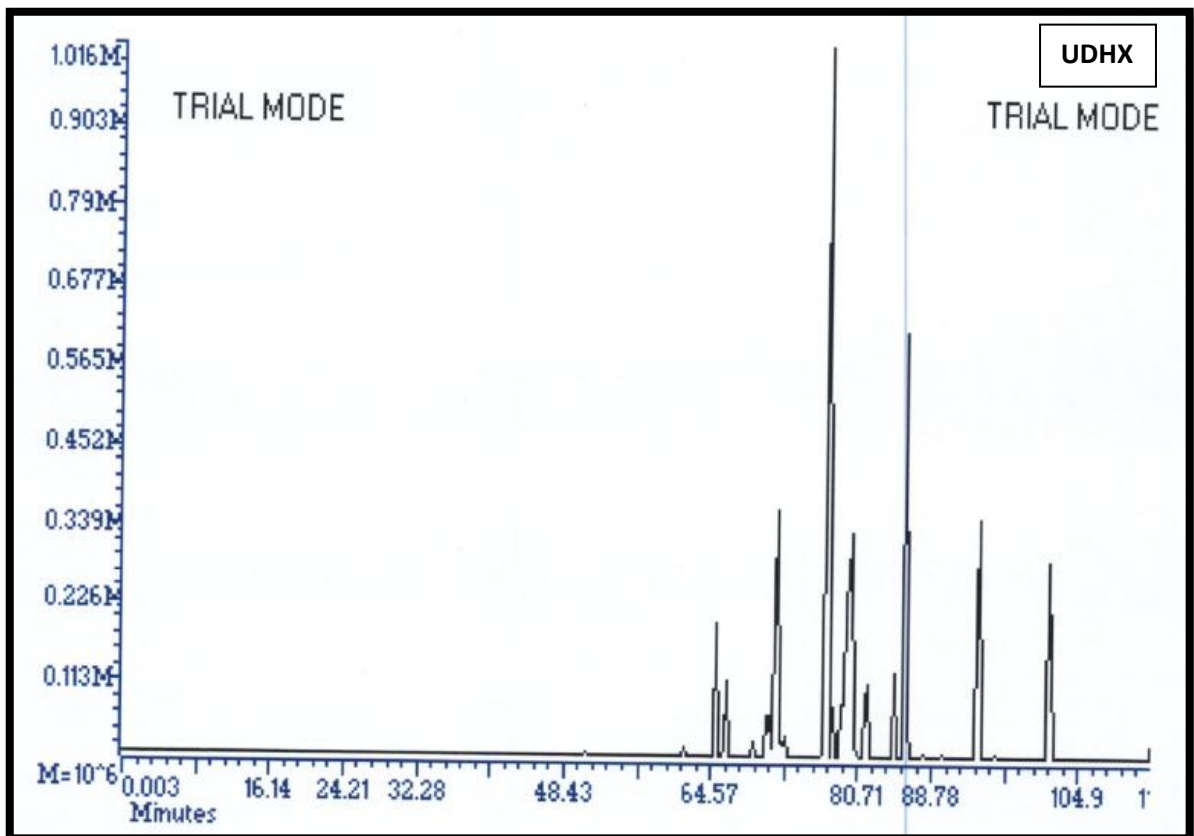


Figure 13: Profil en acides gras d'UDHX obtenu par CG/SM.

II.2.4. Dosage spectrophotométrique

II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT), des flavonoïdes totaux (FT) et des tanins condensés (TC)

Les composés phénoliques sont généralement présents dans les plantes et ont été rapportés pour présenter des propriétés biologiques multiples, comme anti-inflammatoire, anti-allergique, anti-microbienne, antioxydante, anti-thrombotique (Balasundram et *al.*, 2006 ; Wojdyło et *al.*, 2007). Ces molécules jouent un rôle probable dans la prévention de diverses maladies liées aux stress oxydatif (Dimitrios, 2006).

L'estimation quantitative des polyphénols totaux des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* a été déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard. La quantité des polyphénols a été exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EAG} / \text{mg}$ d'extrait).

La teneur en flavonoïdes a été effectuée selon la méthode au trichlorure d'aluminium, la quercétine a été utilisée comme standard. Les résultats ont été reportés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait).

La quantité de tanins condensés ou proanthocyanidines a été estimée selon la méthode à la vanilline en milieu acide, la catéchine a été utilisée comme standard. Les résultats ont été exprimés en microgramme d'équivalent de catéchine par milligramme de poids sec de l'extrait ($\mu\text{g EC} / \text{mg}$ d'extrait).

Les résultats du dosage sont représentés dans le tableau XI et les gammes d'étalonnages dans les figures 14, 15 et 16.

Tableau XI. Dosage des polyphénols totaux (PPT), des flavonoïdes totaux (FT) et des tanins condensés (TC) dans les différents extraits d'*U. dalechampi* et de *C. australis*

Plantes	Extraits	PPT (a)	FT (b)	TC (c)
<i>U. dalechampi</i>	UDHX	43,53 ± 7,44	20,95 ± 2,06	ND
	UDDM	66,99 ± 1,6	54,12 ± 4,34	0,83 ± 0,68
	UDME	154,91 ± 11,4	29,96 ± 0,48	09,65 ± 0,15
<i>C. australis</i>	CAHX	70,39 ± 7,12	12,75 ± 0,13	ND
	CADM	59,45 ± 17,88	25,67 ± 0,14	9,88 ± 0,46
	CAME	158,82 ± 7,20	33,76 ± 0,31	19,62 ± 1,35

(a) µg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ; (b) µg d'équivalent de quercétine par mg d'extrait ; (c) µg d'équivalent de catéchine par mg d'extrait. Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± écart type. ND : non déterminé.

Pour l'*U. dalechampi*, les quantités les plus élevées de PPT et en TC ont été trouvées dans l'UDME (154,91 µg EAG / mg ; 09,65 µg EC / mg), suivie de l'UDDM (66,99 µg EAG / mg ; 0,83 EC / mg), l'UDHX contient 43,53 µg EAG / mg de PPT et 20,95 µg EQ / mg de FT. L'UDDM renferme la teneur la plus élevée en flavonoïdes (54,12 µg EQ / mg).

L'examen des résultats obtenus permet de mettre en évidence une corrélation linéaire très faible et non significative entre la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes ($R^2 = 0,004710$, $P \geq 0,05$).

Megdiche-Ksouri et son équipe (2014) ont estimé la quantité de PPT, de FT et de TC dans l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* (Asteracées), les résultats ont montré que la méthode d'extraction qu'ils ont adoptée a donné des quantités plus élevées de flavonoïdes (175,232 µg QE / mg) par rapport à UDME. Cependant, les quantités des composés phénoliques et des tanins condensés rapportés par ces auteurs (158,75 µg EAG / mg et 8,7 µg EC / mg respectivement) sont similaires à celles trouvées dans l'extrait méthanolique d'*U. dalechampi*.

En Italie, Une étude réalisée par Ranfa et ses collaborateurs (2015) a révélé que la teneur en PPT d'*U. dalechampi*, était très faible (1,43 µg EAG / mg) par rapport à celle trouvée dans l'UDME. De même, le présent travail montre que la teneur en composés phénoliques trouvée dans l'*U. dalechampi* était plus élevée que celles rapportées pour

certaines plantes de la même famille qui renferment des teneurs allant de 12,3 à 34,6 μg EAG / mg (Tawaha et *al.*, 2007).

Concernant les extraits de *C. australis*, CAME est le plus riche en PPT, en FT et en TC avec des teneurs (158,82 μg EAG / mg), (33,76 μg EQ / mg) et (19,62 μg EC / mg) respectivement, suivi par CADM qui renferme (59,45 μg EAG / mg), (25,67 μg EQ / mg) et (9,88 μg EC / mg) respectivement. CAHX contient une teneur élevée en PTT estimée à 70,39 μg EAG / mg et une teneur considérable en flavonoïdes (12,75 μg EQ / mg). L'examen des résultats obtenus permet de mettre en évidence une corrélation linéaire significative entre la teneur en PPT et les FT ($R^2 = 0,5079$, $P < 0,05$).

Dans une étude réalisée par Wojdyło et ses collègues (2007), le contenu en composés phénoliques dans l'extrait méthanolique d'*Hulmus lupulus*, une espèce appartenant à la même famille de *C. australis* (*Cannabacées*) était estimé à 7,14 mg EAG / 100 g, alors que nos résultats montrent une teneur en PPT beaucoup plus élevée.

La différence trouvée entre les résultats du dosage du présent travail et ceux des travaux antérieurs pourrait être expliqué par :

- 1) La technique d'extraction, le temps, la température et les solvants utilisés (la nature, la concentration et la polarité) qui influencent considérablement la teneur en métabolites secondaires tel que les polyphénols totaux (Hayouni et *al.*, 2007; Ncube et *al.*, 2008).
- 2) La méthode utilisée pour réaliser le dosage : La méthode de Folin-Ciocalteu est l'une des plus anciennes méthodes visant à déterminer le contenu total des composés phénoliques dans les aliments ou les plantes médicinales (Abdel-Hameed, 2009), elle est considérée comme la meilleure pour l'estimation de la teneur totale des polyphénols (y compris les tanins) (Djeridane et *al.*, 2007). Néanmoins cette méthode donne une teneur brute en composés phénoliques totaux existants dans un extrait; elle n'est pas spécifique aux polyphénols, mais de nombreux composés tels que les sucres, les acides organiques, les amines aromatiques et autres substances organiques non phénoliques qui peuvent réagir avec le réactif utilisé, ce qui donne des teneurs apparentes élevées. De plus, divers composés phénoliques réagissent différemment avec ce réactif, en fonction du nombre de groupes phénoliques qu'ils renferment (Tawaha et *al.*, 2007 ; Mišan et *al.*, 2011).

- 3) Les conditions de l'environnement telles que la position géographique, la salinité et le pH du sol, le climat et la température. Ces facteurs influencent la synthèse des substances actives de la plante (Ksouri et *al.*, 2008 ; Rached et *al.*, 2010) ; En outre, d'autres facteurs tels que l'infestation par les insectes, les blessures physiques et l'exposition aux rayons UV peuvent impliquer une réponse de défense et augmenter de ce fait les teneurs en métabolites secondaires (Jood et *al.*, 1995 ; Babar Ali et *al.*, 2007).

La teneur élevée en composés phénoliques dans les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* pourrait être liée aux conditions climatiques relativement difficiles telles que le déficit hydrique et les températures élevées (Ksouri et *al.*, 2008 ; Trigui et *al.*, 2013).

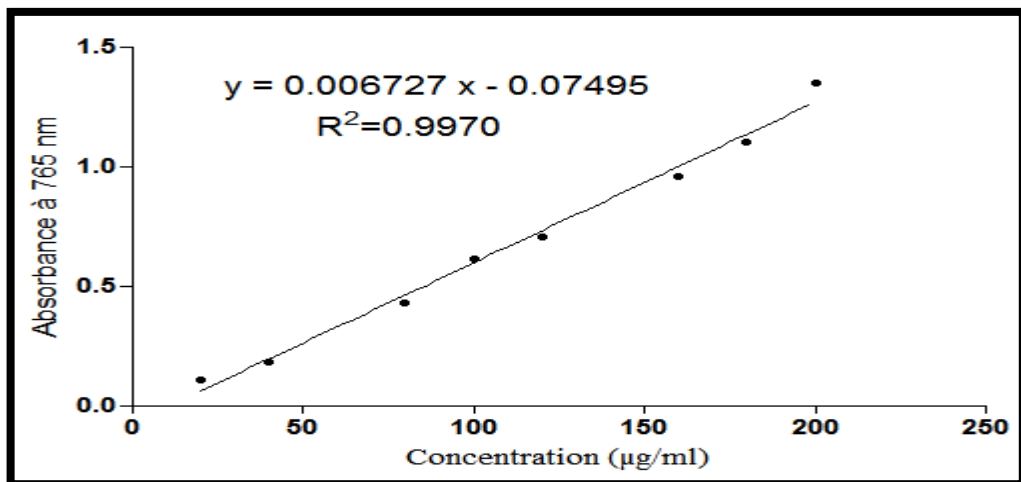


Figure 14: Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne de trois essais).

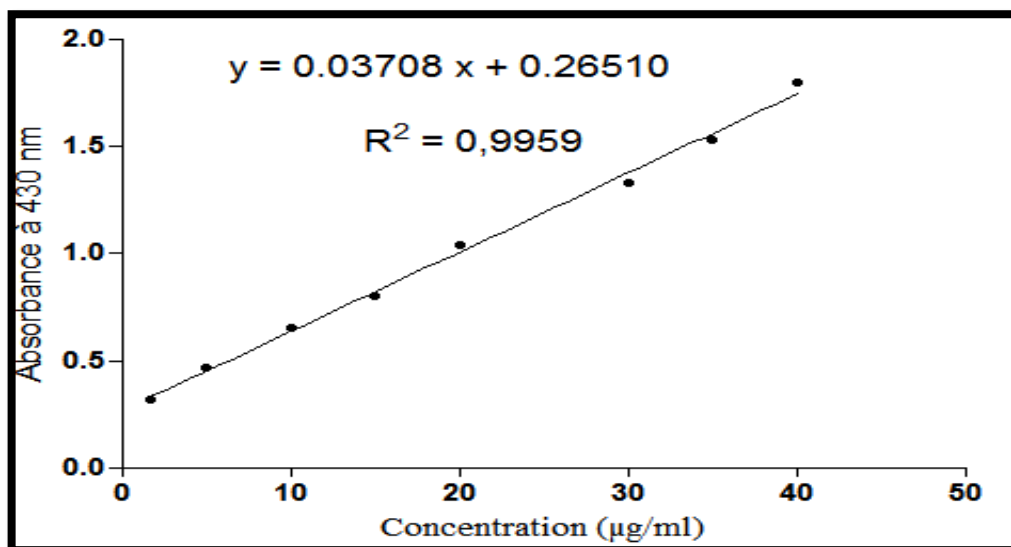


Figure 15 : Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne de trois essais).

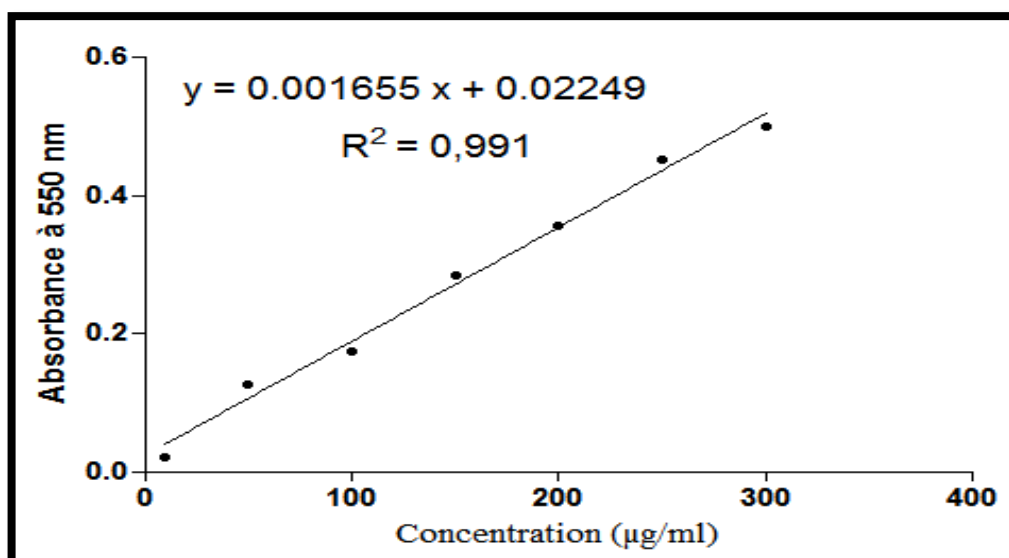


Figure 16 : Droite d'étalonnage de la catechine (moyenne de trois essais)

II.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Afin d'évaluer les effets antioxydants totaux d'une matière végétale, il est essentiel d'utiliser deux ou plusieurs méthodes en raison de la nature complexe des substances phytochimiques (Nuutila et *al.*, 2003 ; Chanda et Dave, 2009). Dans le présent travail, quatre méthodes (pouvoir piègeur *vis-à-vis* du radical DPPH « *in vitro* et *in vivo* », effet anti-lipoperoxydant, activité chélatrice du fer ferreux, et le pouvoir réducteur des ions ferriques) ont été utilisés pour estimer la capacité antioxydante des extraits d'*U. dalechampi* et de *C. australis*.

II.3.1. Effet scavenger du radical DPPH

II.3.1.1. Test *in vitro*

Cette méthode est basée sur la réduction des solutions méthanoliques du radical DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (Baydar et Baydar, 2013). Les profils d'activité anti-radicalaire obtenus (Figure 17 et 18) révèlent que tous les extraits d'*U. dalechampi* et de *C. australis* possèdent une activité anti-radicalaire concentration dépendante :

- UDHX : $R^2 = 0,954$; UDDM : $R^2 = 0,970$, UDME : $R^2 = 0,995$, $P < 0,001$.
- CAHX : $R^2 = 0,989$; CADM : $R^2 = 0,976$, CAME : $R^2 = 0,966$, $P < 0,001$.

Le tableau XII illustre les concentrations des différents extraits requises pour l'inhibition maximale du radical DPPH.

Tableaux XII : Concentrations des extraits nécessaires pour une inhibition maximale du radical DPPH.

Plantes	Extraits	Concentrations (mg / ml)	Inhibition maximale (%)
<i>U. dalechampii</i>	UDHX	01,75	83,79
	UDDM	02,37	89,95
	UDME	0,15	91,21
<i>C. australis</i>	CAHX	0,27	95,95
	CADM	0,60	85,65
	CAME	0,25	90,87

Comme représenté sur les figures 17 et 18, on note la présence des phases stationnaires dans les profils d'activité anti-radicalaire de la plupart des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* signifiant que ces derniers ont réduit presque totalement le radical DPPH· en molécule non radicalaire DPPH-H.

A des fins comparatives, le TBHQ a été utilisé, il a montré une inhibition maximale de 98,56 % du radical DPPH à la concentration de 13,5 µg / ml. Tous les extraits des deux plantes étaient nettement moins efficaces que l'antioxydant synthétique utilisé.

Le tableau **XIII** rapporte les CI₅₀, les CE₅₀ ainsi que les PARs de chacun des différents extraits d'*U. dalechampii*, du *C. australis* et du TBHQ.

Tableau XIII. Activité anti-radicalaire des extraits d'*U. dalechampii*, de *C. australis* et du TBHQ.

Plantes	Standard et Extraits	CI ₅₀ (µg / ml)	CE ₅₀ (µg / µg DPPH)	PAR
	TBHQ	3,606 ± 0,059	0,157 ± 0,002	635,1 ± 10,4
<i>U. dalechampii</i>	UDHX	625,963 ± 73,591	27,334 ± 3,213	3,69 ± 0,4
	UDDM	906,095 ± 8,025	39,683 ± 0,661	2,5 ± 0,00
	UDME	45,422 ± 4,121	1,983 ± 0,179	50,6 ± 4,4
<i>C. australis</i>	CAHX	128,285 ± 3,652	5,601 ± 0,159	17,86 ± 0,516
	CADM	232,255 ± 6,467	10,142 ± 0,282	9,86 ± 0,27
	CAME	65,336 ± 0,53847	2,853 ± 0,023	35,05 ± 0,287

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± Ecart type

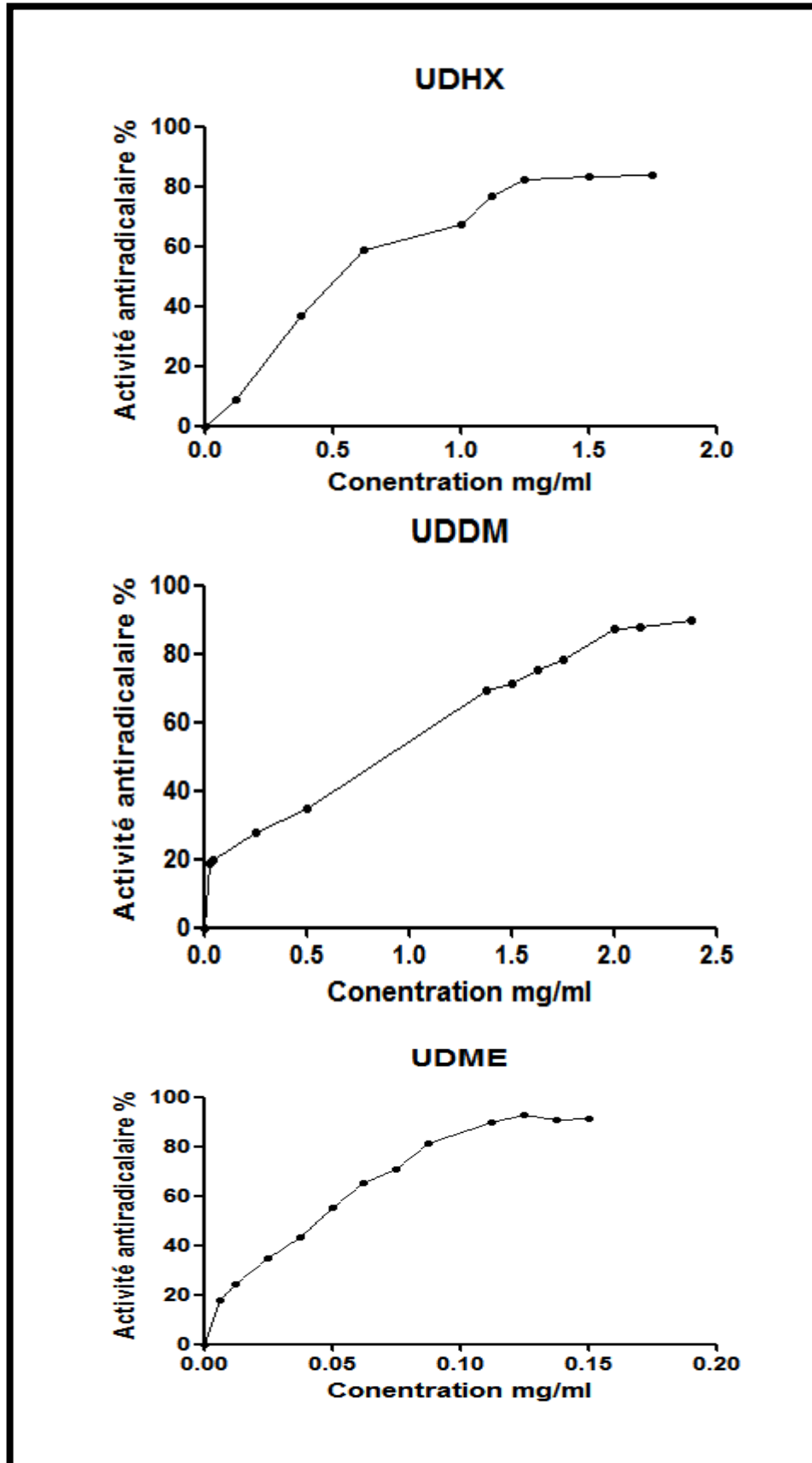


Figure 17 : Activité anti-radicalaire des extraits d'*U. dalechampii* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

On peut résumer l'ordre décroissant des extraits testés en termes de capacité de piégeage du radical DPPH comme suit :

TBHQ > UDME > UDHX > UDDM.

TBHQ > CAME > CAHX > CADM.

Plusieurs études ont signalé que la capacité de différentes substances phénoliques à éliminer divers types de radicaux initiateurs d'oxydation a été rapportée dans la phase polaire (Tepe et *al.*, 2006). En effet, Les extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis* étaient plus efficaces que les extraits dichlorométhanique et hexanique, ces résultats sont en accord avec ceux d'Othman et son équipe (2007) qui ont révélé une activité antioxydante maximale dans l'extrait méthanolique préparé à partir des sous-produits de cacao (poudre, nacre et coquille de cacao). En plus, Przybylski et ses collègues (1998) ont rapporté que l'activité antioxydante des extraits de sarrasin variait avec la polarité du solvant, ceux extraits avec du méthanol étant les plus actifs (Moure et *al.*, 2001). Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que le changement de polarité du solvant modifie sa capacité à dissoudre les composés antioxydants et par conséquent influence grandement l'estimation de l'activité anti-radicalaire (Brand-Williams et *al.*, 1995). En outre, les fractions polaires peuvent renfermer plus de composés phénoliques poly-hydroxylés, tels que les tanins, qui peuvent agir en synergie avec d'autres composés (Hayouni et *al.*, 2007).

Les résultats obtenus indiquent l'existence d'une corrélation linéaire et positive entre l'activité anti-radicalaire d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et la teneur en composés phénolique ($R^2 = 0,7255$ et $0,7203$ respectivement, $P < 0,01$). Ces résultats suggèrent qu'environ 72 % de la capacité antioxydante des extraits est due à la contribution des composés phénoliques. Une corrélation similaire a été rapportée par Djeridane et *al.* (2006) qui ont trouvé 0,7931 comme facteur de corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques totaux de 11 plantes médicinales algériennes.

D'autre part, une corrélation très faible et non significative existe entre l'activité de piégeage du radical DPPH d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et les teneurs en flavonoïdes totaux ($R^2 = 0,1538$ et $R^2 = 0,0942$ respectivement, $p \geq 0,05$) ; impliquant que ces métabolites peuvent ne pas être les principaux composants responsables de ce pouvoir anti-radicalaire, ce qui indique que d'autres molécules contribuent à piéger le radical DPPH (Falleh et *al.*, 2008).

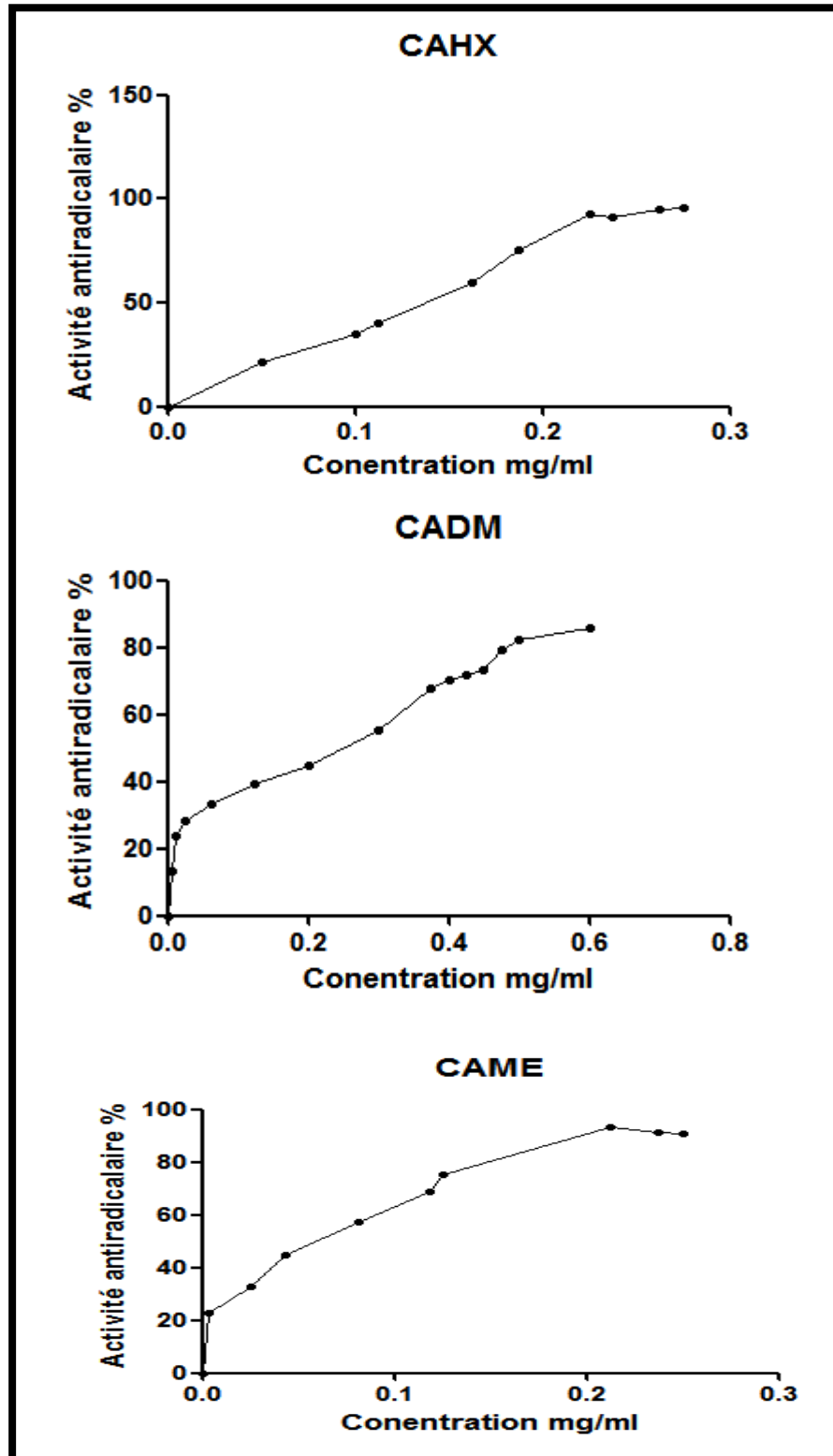


Figure 18 : Activité anti-radicalaire des extraits de *C. australis* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions)

Certains auteurs ont signalé une corrélation positive entre la teneur en flavonoïdes et la capacité antioxydante, mais ce type de corrélation n'a pas été observé par plusieurs autres équipes de recherches (Nikolova et Dzhurmanski, 2009).

Le dosage des substances phénoliques est une indicative de l'activité anti-radicalaire car ces molécules sont très réactives *vis-à-vis* les radicaux libres (Loizzo et *al.*, 2012). Mais il convient de noter que les interactions synergiques entre les antioxydants présents dans un extrait brut rendent l'activité antioxydante non seulement dépendante de la concentration mais aussi de la structure et de la nature des antioxydants présents dans l'extrait (Djeridane et *al.*, 2006 ; Dimitrios, 2006 ; Rached et *al.*, 2010). Selon Heim et *al.* (2002), et à titre d'exemple, l'activité antioxydante des flavonoïdes réalisée *in vitro* dépend du nombre total des groupes hydroxyles et de la disposition des groupes fonctionnels sur la structure de base, ces éléments exercent une grande influence sur le mécanisme de cette activité (Procházková et *al.*, 2011).

Les résultats de plusieurs travaux antérieurs démontrent que le comportement antioxydant des composés phénoliques présente des variations basées sur le type de solvant d'extraction et sa polarité, le pH d'extraction, le mécanisme de la réaction, les paramètres de solubilité ainsi que sur les propriétés structurales ; certains composés réagissent très rapidement avec les radicaux libres comme le DPPH réduisant un certain nombre de ces molécules correspondant au nombre de groupes hydroxyle disponibles. Cependant, pour la majorité des composés, le mécanisme est très complexe (Brand-Williams et *al.*, 1995 ; Moure et *al.*, 2001 ; Öztürk et *al.*, 2007 ; Çelik et *al.*, 2010).

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux des travaux antérieurs car le test DPPH n'est pas autant standardisé, ce qui pourrait expliquer la divergence des résultats obtenus d'une étude à l'autre et réduire de ce fait la fiabilité de toute comparaison (Scherer et Godoy, 2009).

II.3.1.2. Test *in vivo* : Effet des extraits méthanolique d'*U. dalechampii* et de *C. australis* sur la capacité antioxydante plasmatique *vis-à-vis* du radical DPPH

Les méthodes spectrophotométriques semblent être les plus amplement applicables et les plus souvent utilisées pour dépister la capacité antioxydante totale des fluides biologiques (Janaszewska et Bartosz, 2002).

L'effet scavenger du radical DPPH est la méthode utilisée pour estimer la capacité antioxydante plasmatique des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*, elle est exprimée en pourcentage d'inhibition de décoloration d'une solution éthanolique contenant uniquement le DPPH en présence du plasma des rats (traités préalablement aux extraits méthanoliques des deux plantes).

Les résultats obtenus indiquent que l'administration journalière pendant 28 jours par voie orale d'UDME et CAME aux doses 200 et 400 mg / kg n'a pas amélioré l'activité de piégeage du radical DPPH dans le plasma (Figure 19), contrairement à l'importance de l'activité anti-radicalaire de ces deux extraits déterminés *in vitro* ou cette activité a été attribuée à leur contenu en composés phénoliques. Ce résultat pourrait être expliqué par le fait qu'il existe différents facteurs qui peuvent limiter fortement la capacité des polyphénols alimentaires à agir comme antioxydants dans le plasma (Lotito et Frei, 2006) :

- Après l'apport d'aliments riches en composés phénoliques, ces métabolites sont peu bio-disponibles et n'atteignent que de faibles concentrations micromolaires dans le plasma humain ;
- les flavonoïdes sont mal absorbés, et sont largement métabolisés dans l'intestin et le foie, leurs demi-vies sont courtes dans le plasma humain (quelques heures) ce qui pourrait affecter leur activité antioxydante *in vivo*.

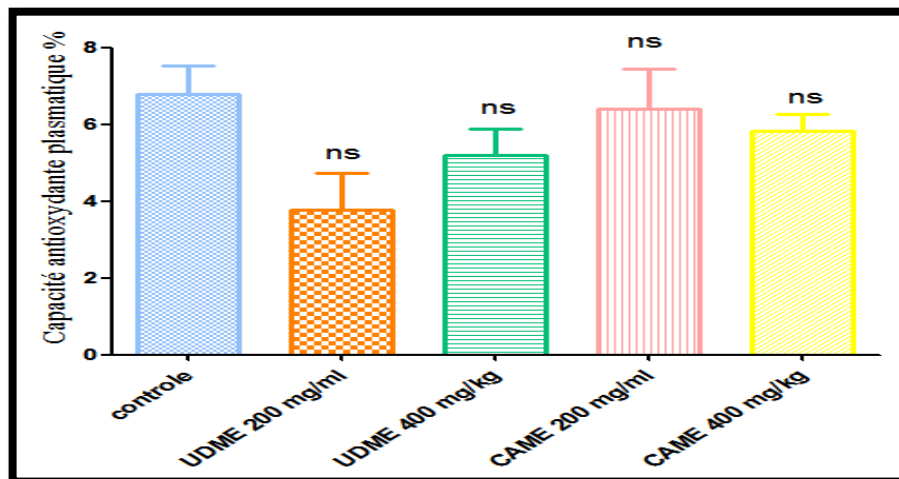


Figure 19: La capacité antioxydante plasmatique d'UDME et de CAME *vis-à-vis* du radical DPPH. Les valeurs sont les moyennes \pm SEM (n = 5) ; ns : différences non significatives par rapport au groupe contrôle (rats ayant reçu l'eau physiologique).

II.3.2. Test de blanchissement du β -carotène

L'objectif de ce test est d'estimer la capacité des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* à prévenir la peroxydation lipidique.

Il est connu que l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui provoquent la disparition de la couleur rouge-orangé caractéristique du β -carotène qui est suivie en utilisant un spectrophotomètre à 490nm. Néanmoins, la présence des antioxydants dans le mélange réactionnel pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Liu et al., 2015).

D'après les résultats présentés dans la figure 20, il est évidemment clair que tous les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et l'antioxydant utilisé étaient capables de réduire l'oxydation de β -carotène en piégeant les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique.

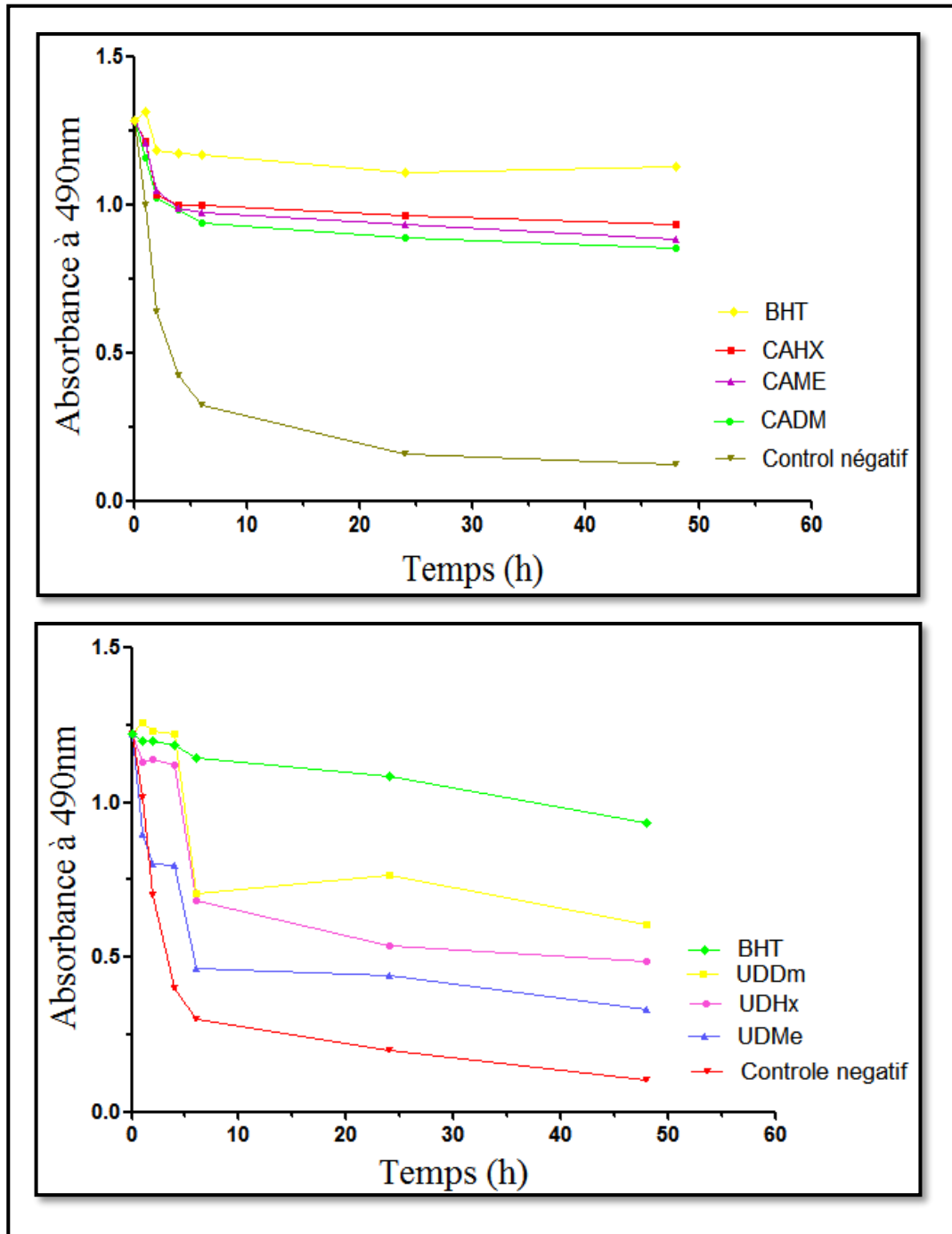


Figure 20 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence et en absence des extraits d'*U. dalechampii*, de *C. australis* et du BHT (chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

Les capacités antioxydantes relatives (CAR) des différents extraits et du BHT sont présentées dans la Figure 21. D'après les résultats obtenus, il est évident que le BHT et les extraits des deux plantes avec les concentrations de 2 mg / ml inhibent d'une manière très significative ($p < 0,001$) l'oxydation du β carotène par rapport au contrôle négatif. Les extraits UDHX (51,9%) et UDDM (65 %) montrent les plus grandes activités inhibitrices, statistiquement, il n'existe pas de différence significative entre ces deux extraits ($P \geq 0,05$), la valeur moyenne des CARs de ces derniers est estimée à 58,45 %, mais cette activité reste significativement inférieure ($P < 0,01$) à celle du BHT (95,86%). UDME (35,54%) représente l'extrait le moins actif.

En comparaison avec le BHT, UDHX et UDDM sont 1,64 fois moins actifs. L'UDME est 1,6 fois moins actif que l'UDHX et l'UDDM et 2,6 fois moins actif que le BHT.

On peut résumer l'ordre croissant des extraits d'*U. dalechampii* en termes de capacité antioxydante relative comme suit : UDME < UDHX = UDDM. La faible activité de l'extrait méthanolique d'*U. dalechampii* s'explique probablement par sa grande polarité (Frankel et Meyer, 2000).

Quant aux extraits de *C. australis*, CAHX, CADM et CAME montrent une grande activité inhibitrice (82,69 %), (76,42 %) et (77,21 %) respectivement (figure 21). statistiquement, il n'existe pas une différence significative entre ces trois extraits ($p \geq 0,05$), la valeur moyenne des CARs est de 78,77 %, mais cette activité reste significativement inférieure ($p < 0,001$) à celle du BHT, ces trois extraits sont 1,26 fois moins actifs.

Une corrélation linéaire et significative a été mise en évidence entre la capacité antioxydante relative des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et leurs teneurs en composés phénoliques ($R^2 = 0,6042$, $p < 0,05$ et $R^2 = 0,9332$, $P < 0,001$ respectivement) ; ceci est logique étant donné que les composés phénoliques jouent un rôle important dans la prévention de la peroxydation lipidique (Yen et al., 1993). Le même type de corrélation linéaire a été obtenue entre la teneur en flavonoïdes des extraits de *C. australis* et la capacité antioxydantes relatives ($R^2 = 0,5258$, $P < 0,05$). Mais ce type de corrélation n'a pas été observé dans les extraits d'*U. dalechampii* ($R^2 = 0,4206$, $P \geq 0,05$).

D'après Liyana-Pathirana et Shahidi (2006), tous les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* peuvent être considérés comme des agents piègeurs de radicaux libres et comme des antioxydants primaires car ils sont capables de retarder ou d'empêcher la décomposition oxydante du β -carotène.

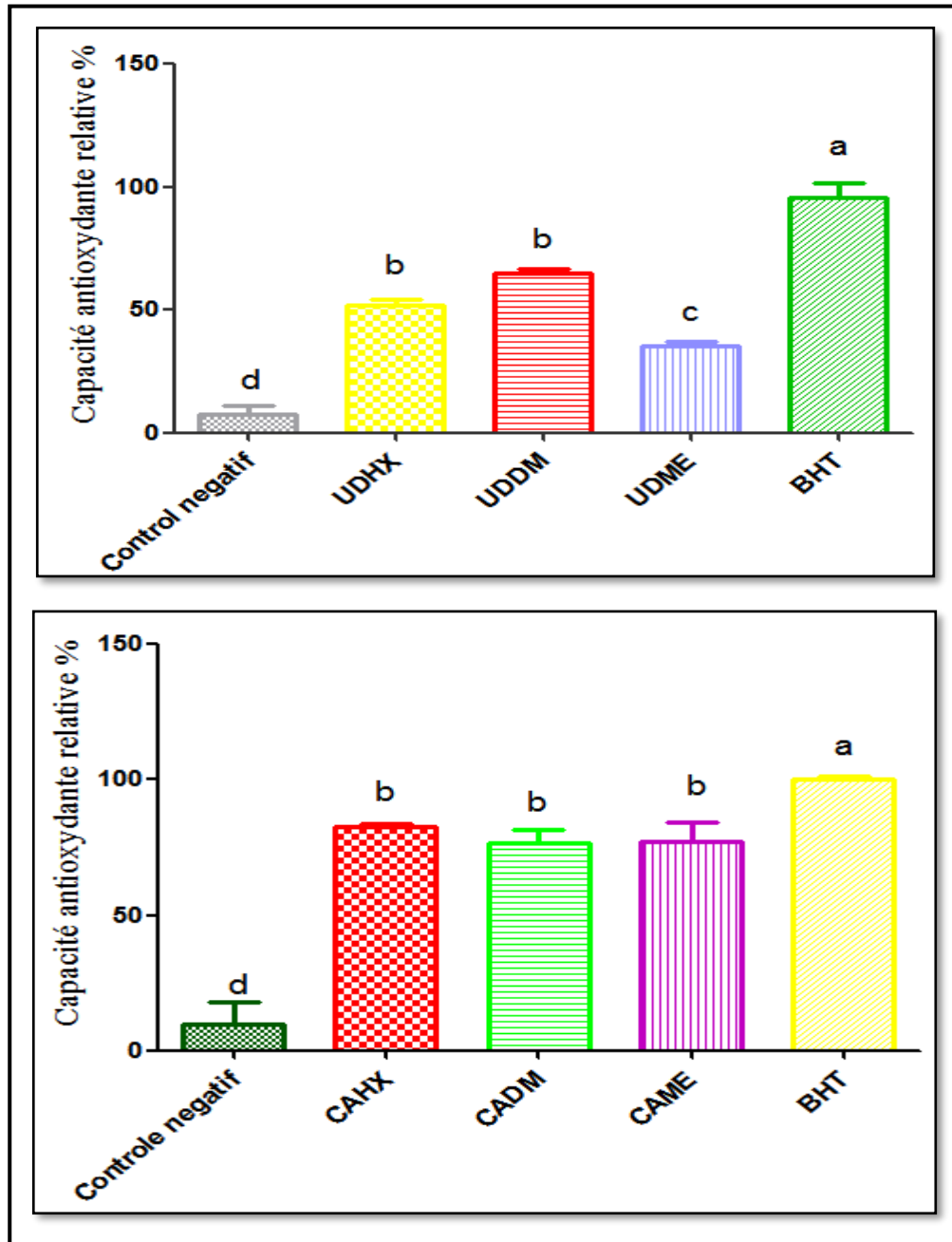


Figure 21 : Capacité antioxydante relative des extraits d'*U. dalechampii*, de *C. australis* et du BHT dans le système β -carotène / acide linoléique (les valeurs sont la moyenne de trois répétitions \pm écart type), les barres avec des lettres différentes désigne des activités significativement différentes ($p < 0,001$).

II.3.3. Chélation du fer ferreux

Il est bien évident que le fer est un élément indispensable pour toutes les cellules vivantes. Cependant, un excès de cet élément sous forme libre pourrait être potentiellement toxique ; sa toxicité réside dans son pouvoir à participer, par la réaction de Fenton, comme catalyseur dans la formation de radical hydroxyle (HO^\cdot), une espèce très réactive capable d'induire l'oxydation des protéines, des lipides et de l'acide désoxyribonucléique (Gulcin, 2012). Un composé qui est capable de chélater les ions ferreux offrent une protection efficace contre ces dommages oxydatifs (Gulcin, 2012 ; Islam et *al.*, 2016). En plus, plusieurs équipes de recherche ont signalé que les agents chélateurs qui forment des liaisons σ avec les métaux, réduisent le potentiel redox, en stabilisant la forme oxydée des ions métalliques, et sont considérés de ce fait efficaces comme antioxydants secondaires (Gordon, 1990 ; Elmasta et *al.*, 2006 ; Kumar et *al.*, 2008)

La capacité de chélater les métaux de transition comme le fer est un mécanisme important du pouvoir antioxydant d'un extrait (Manian et *al.*, 2008). Ainsi, il a été considéré comme important d'examiner la capacité des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* à chélater le fer ferreux. Cette capacité a été évaluée selon la méthode décrite par Le et *al.* (2007) dans laquelle la ferrozine forme un complexe stable et hautement coloré (chromophore violet ayant un maximum d'absorbance à 562 nm) avec le fer ferreux « Fe^{2+} » libre (la ferrozine ne forme pas un complexe avec le Fe^{2+} lié à d'autres chélateurs et elle possède une très faible affinité *vis à vis* le fer ferrique « Fe^{3+} »). En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée, diminuant ainsi l'intensité de la couleur du complexe Fe^{2+} -ferrozine. La mesure (par spectrophotomètre UV/ Visible) de cette variation de couleur permet donc d'estimer l'activité chélatrice des composants existants dans les extraits testés (Meir et *al.*, 1995 ; Gulcin, 2012 ; Elmasta et *al.*, 2006).

Dans ce test, les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et les molécules antioxydantes standards (EDTA et quercétin) ont entravé la formation du complexe Fe^{2+} -ferrozine, suggérant qu'ils ont un pouvoir chélateur en capturant l'ion ferreux avant de pouvoir former un complexe avec de la Ferrozine.

Le tableau XIV rapporte les valeurs de CI_{50} obtenues avec l'EDTA, la quercétine et les extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* ainsi que les activités chélatrices exprimées en mg d'équivalent d'EDTA / g de chaque extrait. Les profils de l'activité chélatrice sont représentés dans les figures 22 et 23.

Tableau XIV. Activité chélatrice de l'EDTA, de la quercétine et des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*

Plantes	Extraits / standards	CI ₅₀ Mg / ml	Activité chélatrice mg d'équivalent d'EDTA/g d'extrait
	EDTA	7,00 ± 0,13 (*)	
	Quercetine	0,57 ± 0,01	12,20 ± 0,29
<i>U. dalechampii</i>	UDHX	0,23 ± 0,00	29,83 ± 1,07
	UDDM	1,29 ± 0,11	5,42 ± 0,41
	UDME	0,54 ± 0,02	12,84 ± 0,68
<i>C. australis</i>	CAHX	0,54 ± 0,00	12,80 ± 0,31
	CADM	0,24 ± 0,18	29,02 ± 0,49
	CAME	0,74 ± 0,03	9,38 ± 0,44

(*)µg/ml

L'effet chélateur du Fe²⁺ des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et les standards suit cet ordre :

EDTA > UDHX > quercetine = UDME > UDDM ;

EDTA > CADM > CAHX = quercetine > CAME.

En comparant l'UDHX avec la quercétine, cet extrait s'avère 2,47 fois plus actif, tandis que l'UDDM s'avère 2,14 moins actif que la quercetine. L'effet chélateur de l'UDME est statistiquement similaire à celui de la quercetine ($P \geq 0,05$).

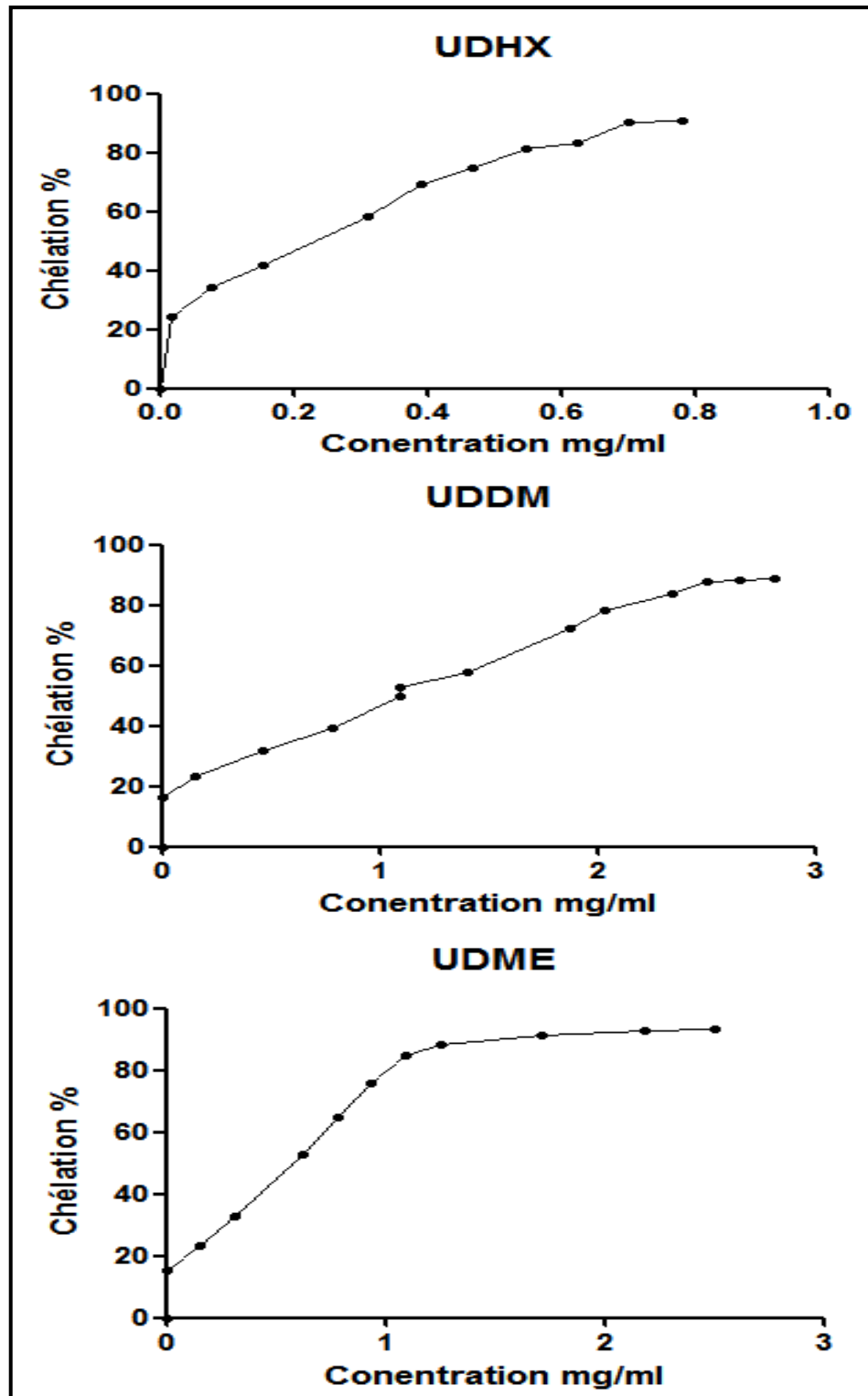


Figure 22: Activité chélatrice des extraits d'*U. dalechampii* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

La présente étude montre que la capacité chélatrice du fer ferreux des extraits d'*U. dalechampii* est bien corrélée au contenu en flavonoïdes totaux ($R^2 = 0,9920$, $P < 0,001$). Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes sont de bons chélateurs du fer ce qui est un des mécanismes de leur activité antioxydante (Cillard et Cillard, 2006). Par contre une

corrélation très faible et non significative ($R^2 = 0,000817$, $p \geq 0,05$) a été mise en évidence entre les teneurs en composés phénoliques des extraits d'*U. dalechampii* et leurs pouvoirs chélateurs. Une telle corrélation a été rapportée par Esmaeili et al. (2015) dans une étude menée sur des extraits de trèfle rouge (*Trifolium pratense* L.). Ces résultats suggèrent que les composés phénoliques ne sont pas les principaux chélateurs présents dans les extraits de cette plante. Les tests phytochimiques de caractérisation révèlent la présence de mucilages dans la poudre d'*U. dalechampii*, ces métabolites peuvent contribuer à la chélation des métaux de transition (Watanabe et al., 2008).

Selon Gulcin (2012), les composés avec des structures contenant deux ou plusieurs des groupes fonctionnels suivants: -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C = O, -NR₂, -S- et -O- dans une configuration structure-fonction favorable peut montrer une activité de chélation des métaux.

Quant aux extraits de *C. australis*, CADM s'avère 2,36 fois plus actif, tandis que CAME s'avère 1,3 moins actif que la quercétine. L'effet chélateur de CAHX est statistiquement similaire à celui de la quercétine ($P \geq 0,05$).

Une corrélation significative a été obtenue entre le contenu phénolique total et les capacités chélatrices des extraits de *C. australis* ($R^2 = 0,6890$, $P < 0,01$), suggérant que les composés phénoliques ont contribué considérablement à l'activité chélatrice des extraits de *C. australis* (68,90 %). Une corrélation similaire ($R^2 = 0,685$) a été obtenue par Benmedour et son équipe (2013), entre le contenu en polyphénols et les extraits des différents cultivars de date.

D'autre part, une corrélation très faible et non significative ($R^2 = 0,07115$, $p \geq 0,05$) a été mise en évidence entre le pouvoir chélateur des extraits de *C. australis* et la teneur en flavonoïdes totaux. D'après Zhao et al. (2006), de nombreux flavonoïdes, tels que les chalcones prénélés et non prénylés et les flavanones trouvés dans la bière et le houblon ne chélatent pas les ions de cuivre *in vitro*.

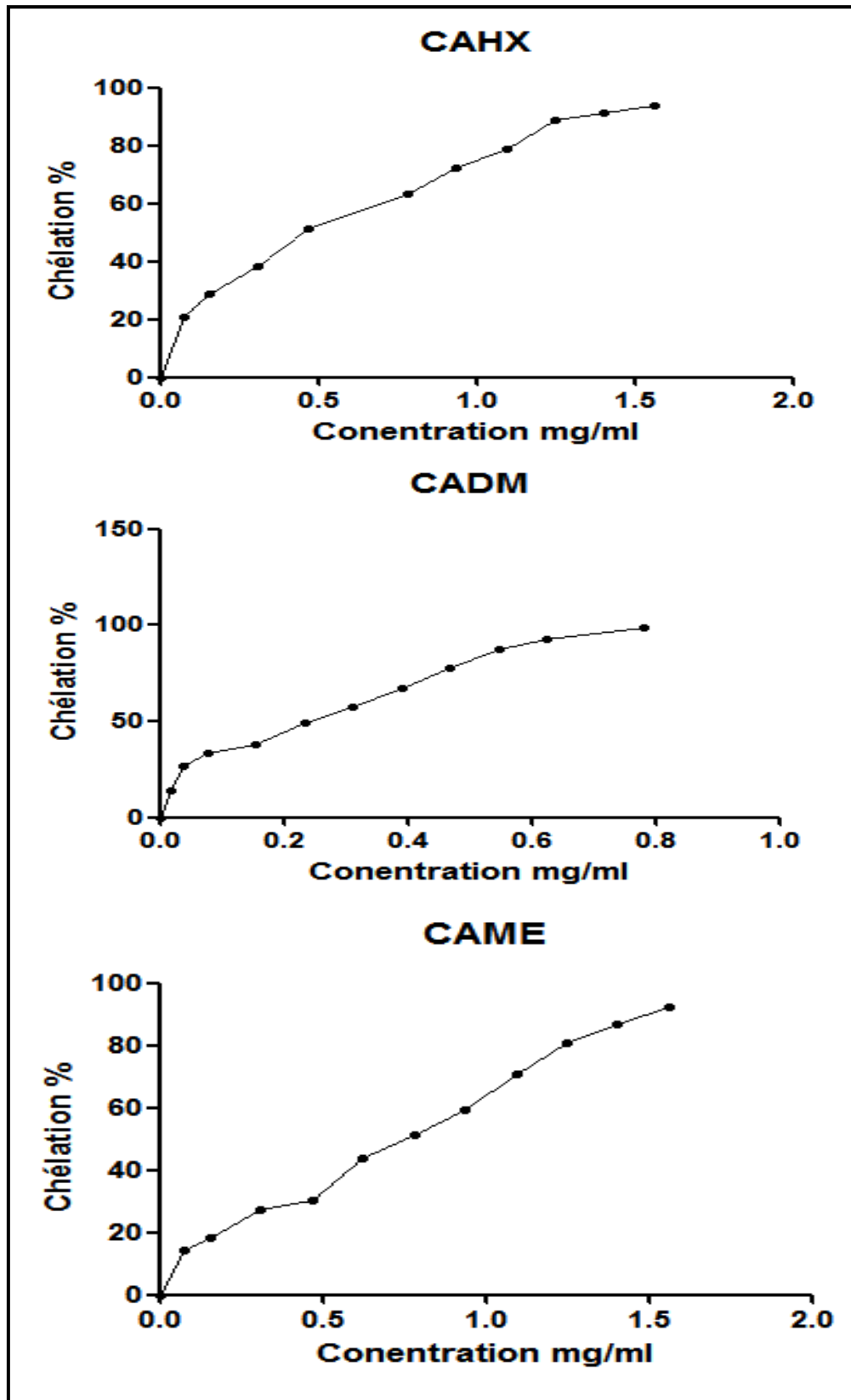


Figure 23. Activité chélatrice des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* (Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions).

II.3.4. Méthode FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

La méthode de réduction de ferricyanure de potassium est souvent utilisée pour évaluer le pouvoir réducteur des extraits de plantes (Zhang et *al.*, 2011), ce pouvoir réducteur total dépend de la quantité et de l'activité intrinsèque des agents réducteurs présents dans les extraits, qui est déterminée par leur capacité à réduire, *in vitro*, le Fe^{3+} en Fe^{2+} (Meir et *al.*, 1995). En utilisant un spectrophotomètre (700 nm), le Fe^{2+} résultant pourrait être ensuite mesuré, l'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel reflète une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Zhang et *al.*, 2011).

La capacité des différents extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* à réduire le Fe^{3+} a été estimée. L'acide gallique a été utilisé comme standard (0 - 200 $\mu g / ml$) (figure 24), son pouvoir réducteur a été estimé à 100% à la concentration de 200 $\mu g / ml$ (Lin et *al.*, 2011) ; les pouvoirs réducteurs des différents extraits ont été calculés (tableau XV).

Tableau XV. Pouvoirs réducteurs des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*

Plantes	Extraits	Absorbances à 700 nm (1 mg / ml)	FRAP (mg EAG / 100 g)	Absorbances à 700 nm (200 $\mu g / ml$)	Pouvoirs réducteurs relatifs (%)
<i>U. dalechampii</i>	UDHX	0,835 \pm 0,167	8,884 \pm 2,327	0,167 \pm 0,03	9,57 \pm 0,01
	UDDM	0,721 \pm 0,234	7,079 \pm 3,064	0,144 \pm 0,04	8,26 \pm 0,02
	UDME	1,052 \pm 0,160	11,559 \pm 2,220	0,210 \pm 0,03	12,05 \pm 0,01
<i>C. australis</i>	CAHX	0,658 \pm 0,094	6,750 \pm 1,140	0,131 \pm 0,01	7,54 \pm 1,07
	CADM	0,707 \pm 0,022	7,337 \pm 0,270	0,141 \pm 0,00	8,10 \pm 0,25
	CAME	1,060 \pm 0,164	11,605 \pm 1,963	0,212 \pm 0,03	12,14 \pm 1,87

A 200 $\mu g / ml$, l'UDME a montré le pouvoir réducteur le plus puissant, ce qui était significativement plus élevé que celui de l'UDDM et l'UDHX ($P < 0,05$). A la même concentration, CAME a montré le pouvoir de réduction le plus fort qui était statistiquement plus élevé que celui de CADM et CAHX.

Une corrélation très faible et non significative a été mise en évidence entre la teneur en composés phénolique et en flavonoïdes et les pouvoirs réducteurs des extraits d'*U.*

dalechampii ($R^2 = 0,1027$ et $0,09907$ respectivement, $P \geq 0,05$) et des extraits de *C. australis* ($R^2 = 0,1499$ et $0,1085$, respectivement, $P \geq 0,05$). Cela indique la présence de composés non phénoliques qui peuvent contribuer à la capacité antioxydante (Sikder et al., 2010 ; Chellaram et al., 2014).

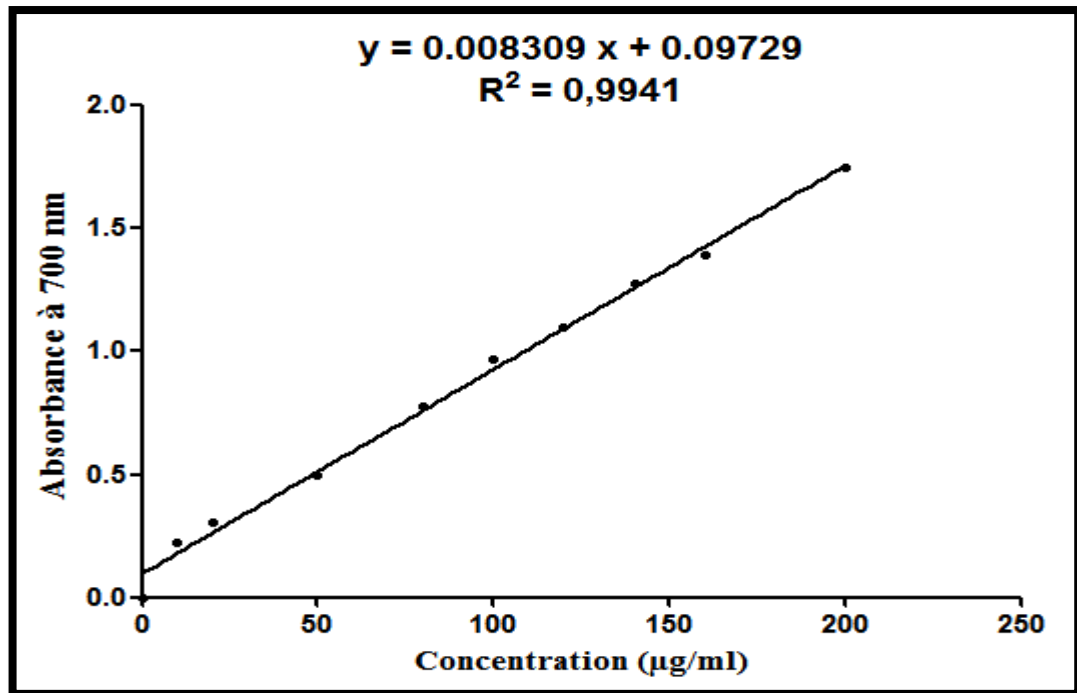


Figure 24 : Pouvoir réducteur de l'acide gallique (les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions).

II.4. Activité antimicrobienne

Dans le présent travail nous avons utilisé la méthode des disques et la méthode de dilution en milieu gélosé (contact direct) pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. Cette activité a été révélée sur six souches bactériennes de référence (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 43300, *S. aureus* Mec A+ ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028 et *A. baumannii* ATCC 19606), six souches bactériennes issue à partir des prélèvements de malade (*Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Chryseomonas luteola*, et *Streptococcus* sp.) et cinq souches fongiques (levures : *Candida albicans* et *Rhodotorula* sp. et trois moisissures : *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. et *Alternaria* sp.)

Dans nos conditions expérimentales, tous les extraits d'*U. dalechampii* n'ont montré aucun pouvoir antimicrobien pour la totalité des souches testées (tableau XVI).

Tableau XVI. Activité antimicrobienne des extraits d'*U. dalechampii*

Souches	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance (DZIC) microbienne (mm)*						ATB / ATF
	UDHX, UDDM et UDME (mg / ml, 10 µl/ disque)						1mg / ml
	500	250	125	60	30	15	
<i>S. aureus</i> ATCC43300	-	-	-	-	-	-	25
<i>S. aureus</i> Mec A+ ATCC25923	-	-	-	-	-	-	28
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	24
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	25,60
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-	27,06
<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	-	-	-	-	-	-	28,03
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	13,33
<i>Streptococcus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	20,95
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	24,10
<i>Morganellamorganii</i>	-	-	-	-	-	-	11,19
<i>Chryseomonas luteola</i>	-	-	-	-	-	-	21,64
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	15,16
<i>Rhodotorula</i> sp.	-	-	-	-	-	-	13,24

(*) Diamètre du disque inclus ; (-) Pas d'inhibition de la croissance microbienne.

La raison probable de l'absence de bio-activité des extraits de cette plante est la présence des quantités insuffisantes des composés à activité antimicrobienne (Aneja et al. , 2011).

García-Ruiz et son équipe (2008), ont noté que les plantes appartenant à la même famille devraient présenter des activités antimicrobiennes comparables car ces plantes possèdent des constituants actifs semblables. En effet, une étude menée par Kurdelas et ses collègues (2010) sur l'activité antibactérienne des différents extraits de *Baccharis darwinii* (*Asteracées*), révélait que l'extrait méthanolique n'a montré aucune activité antibactérienne (MIC > 1000 µg / ml), l'extrait etheropetrolique n'a montré qu'une activité marginale (MIC ≥ 1 000 µg / ml) et l'extrait dicloromethanique a montré une très faible activité contre seulement deux bactéries (MIC = 750 µg / ml) et une activité marginale ou nulle contre le reste des bactéries testées. Nos résultats concordent également avec ceux d'autres travaux précédents, qui ont signalé que certains extraits de plantes médicinales (appartenant à différentes familles) n'ont montré aucune activité antibactérienne *vis-à-vis* des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) (Ali-Shtayeh et al., 1998 ; Essawi et Srour, 2000 ; Karaman et al., 2003; Guesmi et Boudabous, 2006).

Les extraits CAHX et CADM ont révélé un pouvoir antibactérien seulement contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* avec des DZIC estimé à $9 \pm 0,3$ et $8 \pm 1,2$ respectivement à la concentration de 500 mg / ml. CAME exerce un effet inhibiteur non dose dépendant sur la croissance bactérienne des souches *S. aureus* et *P. aeruginosa* avec des DZIC de 10,6 et 11,8 respectivement (à la concentration de 500 mg / ml) (tableau XVII).

Des résultats similaires ont été observés dans des études antérieures sur l'activité antimicrobienne de différents extraits de plantes, qui montre que les extraits méthanoliques possèdent une activité plus élevée que les autres extraits (Askun et al., 2009 ; Tekwu et al., 2012). Selon ces auteurs, l'activité des différents extraits peut dépendre des substances étant extraites par chaque solvant et leur activités biologiques intrinsèques.

Ahmad et ses collaborateurs (2012), ont rapportés que l'extrait méthanolique des feuilles de *C. australis* à différentes concentrations a montré une activité antibactérienne contre les souches : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). L'activité antibactérienne la plus forte a été observée contre la souche *S. aureus* à une concentration de 200 mg / ml avec un DZIC de $10,5 \pm 0,57$ mm. Une zone d'inhibition de $9,00 \pm 1.00$ mm a été obtenue contre la souche *P. aeruginosa* à la même concentration.

Tableau XVII. Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *C. australis*.

Souches	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance (DZIC) microbienne (mm)*							ATB / ATF 1mg/ ml
	Concentrations de CAME (mg / ml ; 10 µl / disque)							
	500	250	125	50	30	15		
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	10,6 ± 1,2	9,5 ± 0,7	8 ± 0,81	-	-	-	25	
<i>S. aureus</i> Mec A+ ATCC25923	-	-	-	-	-	-	28	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	11,8± 0,4	10,4±0,11	9,83 ±0,98	-	-	-	24	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	25,6	
<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-	27,06	
<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	-	-	-	-	-	-	28,03	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	13,33	
<i>Streptococcus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	20,95	
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	24,10	
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-	-	11,19	
<i>Chryseomonas luteola</i>	-	-	-	-	-	-	21,64	
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	15,16	
<i>Rhodotorula</i> sp.	-	-	-	-	-	-	13,24	

Les valeurs des DZIC représentent la moyenne ± écart type ; (*) Diamètre du disque inclut ; (-) Pas d'inhibition de la croissance microbienne.

En utilisant la méthode des puits, Badoni et ces collègues (2010) ont signalé un pouvoir antibactérien très important de l'extrait éthanolique des fruits du *C. australis* à la concentration de 100 mg / ml sur les trois souches *S. aureus* (DZIC = 18,2 mm), *P. aeruginosa* (DZIC = 9,6 mm) et *E. coli* (DZIC = 19,4 mm).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries à Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Ali-Shtayeh, 1998 ; Shan et al., 2007 ; Hayouni et al., 2007 ; Dada-Adegbola et al., 2010). La résistance des bactéries à Gram (-) aux substances antibactériennes réside dans la surface hydrophile de leur membrane externe qui est riche en molécules lipopolysaccharidiques, présentant ainsi un obstacle ou une barrière qui empêche la pénétration de nombreuses molécules à effet antibactérien. Cette résistance est également liée à la présence des enzymes dans l'espace périplasmique qui sont capables de détruire les molécules introduites de l'extérieur (Shan et al., 2007). Les bactéries à Gram (+) sont dépourvues de telle structure, par conséquent, les substances antibactériennes peuvent facilement détruire la paroi cellulaire bactérienne et la membrane cytoplasmique et entraîner de ce fait une fuite du cytoplasme et sa coagulation (Shan et al., 2007 ; El Youbi et al., 2010). Cependant, CAME n'a pas complètement suivi la tendance décrite ci-dessus. Bien qu'une bactérie à Gram (+) (*S. aureus*) soit plus sensible à cet extrait qu'une bactérie à Gram (-) (*P. aeruginosa*), statistiquement, les activités inhibitrices de CAME contre *P. aeruginosa* étaient similaires à celles exercées sur *S. aureus* ($P \geq 0,05$). Cela suggère qu'il pourrait y avoir des substances anti-Gram (-) particulières dans cet extrait (Shan et al., 2007). Ce résultat est en accord avec plusieurs études antérieures (Omer et Elnima, 2003 ; Badoni et al., 2010). Parekh et Chanda (2007) ont signalé que l'extrait méthanolique brut de *Woodfordia fruticosa* contient certains constituants tels que les tanins ayant des propriétés antibactériennes importantes, ce qui permet à l'extrait de surmonter la barrière dans une paroi cellulaire à Gram (-) (Askun et al., 2009).

Généralement, les substances phénoliques exercent leurs effets antimicrobiens en modifiant la structure et la fonction de la membrane cytoplasmique (Sikkema et al., 1995) ; le nombre et la position des groupes hydroxyles sur le noyau phénol pourrait être lié à leur toxicité relative *vis-à-vis* les micro-organismes, l'augmentation du nombre des groupements hydroxyles pourrait augmenter la toxicité de ces molécules (Cowan, 1999 ; Falleh et al., 2008).

L'analyse CLHP et les tests de caractérisation ont révélé la présence probable des tanins, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des saponines et des triterpénoïdes dans CAME qui pourraient être responsable de ses propriétés antibactériennes observées (Essawi et Srouf 2000 ; Kukić *et al.*, 2008 ; Ngameni *et al.*, 2009 ; Hossain *et al.*, 2013 ; Makhloufi *et al.*, 2014).

Il convient de noter qu'il est difficile d'attribuer l'activité d'un extrait brut pour un seul ou un composant particulier. En fait, L'efficacité optimale d'un extrait issu d'une plante médicinale peut ne pas être due à un constituant actif principal mais à l'action combinée de différents composés présents dans la plante (Essawi et Srouf 2000 ; Cushnie et Lamb, 2005 ; Ncube *et al.*, 2008 ; Cavaret *et al.*, 2012; Imelouane *et al.*, 2012). En effet, dans une étude menée par Yi *et al.* (2008), l'extrait de flavonoïdes préparé à partir de l'épicarpe de *Citri reticulatae* (FEPCR) a montré un large spectre antimicrobien. Cependant, les deux flavonoïdes (Tangeretin et Nobiletin) purifiés à partir de cet extrait ont présenté une très faible activité antimicrobienne.

Il est important de signaler que l'activité antimicrobienne est influencée par différents facteurs :

- 1) La technique et le solvant d'extraction (Hayouni *et al.*, 2007 ; Tekwu *et al.*, 2012)
- 2) Le volume d'inoculum, la composition du milieu de culture, la température d'incubation, le volume de l'extrait déposé sur le disque (Rios *et al.*, 1988 ; Rasooli *et al.*, 2008).
- 3) Les solvants de solubilisation tels que le DMSO peuvent diminuer l'activité intrinsèque de l'extrait testé de telle sorte que le résultat obtenu n'a qu'une valeur relative (Balansard, 1990).
- 4) La nature de la matière végétale et son origine (Tekwu *et al.*, 2012).
- 5) La méthode utilisée pour évaluer l'activité : Plusieurs travaux publiés ont montré que la méthode des puits est la plus convenable pour évaluer l'activité des extraits hydro-éthanoliques, organiques et aqueux que la méthode des disques (Pellecuer *et al.*, 1976 ; Natarajan *et al.*, 2005 ; Fazeli *et al.*, 2007). Cela pourrait s'expliquer très probablement, par le fait que de plus grands volumes de l'extrait peuvent influencer la croissance bactérienne, ce qui démontre que des volumes plus importants sont probablement nécessaires (Essawi et Srouf 2000) ; en plus, Hayouni et son équipe (2007) ont signalé que la zone d'inhibition de croissance microbienne dépend de la

capacité du composé (présent dans l'extrait à tester) à diffuser de manière uniforme à travers la gélose.

- 6) pour évaluer le pouvoir antibactérien, seulement des tests *in vitro* sont appliqués. Des lors, les plantes dont l'activité est liée à une biotransformation *in vivo* ne peuvent pas manifester d'activité *in vitro* (Balansard, 1990).

II. Activité antifongique

L'activité antifongique a été révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne des souches testées. Dans nos conditions expérimentales, tous les extraits organiques d'*U. dalechampi* et de *C. australis* ont été inactifs contre les trois souches testées ; *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., et *Aspergillus niger* (**TableuXVIII**). Ceci pourrait être expliqué par l'absence de substances à activité antifongique.

Tableau XVIII. Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique par les entrants d'*U. dalechampi* et de *C. australis*.

Plantes Souches		Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne					
		<i>U. dalechampi</i>			<i>C. australis</i>		
		UDHX (100%)	UDDM (100%)	UDME (100%)	CAHX (100%)	CADM (100%)	CAME (100%)
<i>Rhizopus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	
<i>Alternaria</i> sp.	0	0	0	0	0	0	
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0	0	0	

De nombreux travaux antérieurs ont rapporté l'activité antioxydante et antimicrobienne des épices et des plantes, néanmoins nos résultats sont difficilement comparables avec ceux des travaux antérieurs en raison des différences existants dans :

- Les protocoles d'extraction adoptés (plus particulièrement les solvants d'extraction) ;
- Les méthodes de détermination des activités et la différence des souches microbiennes testées.

II.5. Evaluation de la toxicité

En raison de leurs effets toxiques négligeables, les préparations naturelles issues de plantes sont largement utilisées par la population algérienne. Cependant, il existe un manque d'études toxicologique de ces composés naturels; pour cette raison, les connaissances scientifiques à l'égard d'une étude de toxicité par voie orale sont essentielles, ce qui permettra d'une part de révéler les signes de toxicité possibles provoqués par l'administration des substances étudiées et d'autre part de déterminer la dose qui pourrait être administrée (Das et *al.*, 2015).

II.5.1. Test de toxicité aigue

Les animaux (rats femelles), répartis en 3 lots de 5 rats chacun, ont reçu par voie orale les extraits méthanolique d'*U.dalechampii* (UDME) et de *C. australis* (CAME) à une dose unique ; les rats du groupe témoins reçoivent seulement l'eau physiologique (10 ml / kg) dans les mêmes conditions. Une demi-heure après le gavage, l'aspect extérieur, le comportement ainsi que les fonctions telles que la respiration des animaux a été notés. Les résultats ont montré que l'administration des extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*, n'a présenté aucun effet indésirable ; aucune mortalité (à des doses allant jusqu'à 2000 mg / kg p.c) n'a été comptabilisée durant la période d'observation, cela suggère que la DL₅₀ des deux extraits est supérieure à 2000 mg / kg. Selon Buck et son équipe (1976), les substances possédant une DL₅₀ supérieure à 50 mg / kg sont considérées comme non toxiques (Awaad et *al.*, 2011).

D'après le Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH) 2003, les extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*, administrés par voie orale, sont non toxiques chez les rats.

II.5.1. Effet des extraits sur les paramètres biochimiques

L'administration d'UDME et de CAME n'a pas induit des modifications significatives des paramètres biochimiques des rats : glycémie, AST, ALT, phosphatase alcaline et créatinine (tableau XIX), qui sont de bons indicateurs des fonctions hépatiques et rénales, suggérant que l'administration orale et aiguë de ces extraits n'a altéré les hépatocytes et les reins ni le métabolisme normal de ces animaux (Diallo et *al.*, 2010).

Tableau XIX. Effet d'UDME et de CAME sur les paramètres biochimiques des rats

Paramètres	Groupe témoin	Groupe traités par l'UDME (2g / kg)	Groupe traités par CAME (2g / kg)
Urée (mg / dL)	27,24 ± 2,29	32,88 ± 2,72 ns	31,14 ± 1,63 ns
Glucose (mg / dL)	109,40 ± 7,33	94 ± 8,09 ns	105,35 ± 5,56 ns
Créatinine (mg / dL)	0,43 ± 0,04	0,48 ± 0,01 ns	0,41 ± 0,09 ns
AST (U / L)	102,43 ± 3,19	108,80 ± 5,63 ns	
ALT (U / L)	45,38 ± 3,48	43,98 ± 2,75 ns	43,13 ± 4,22 ns
Phosphatase alcaline (U/L)	216,01 ± 10,30	211,09 ± 5,86 ns	218,73 ± 27,16 ns
Cholestérol (g / L)	0,47 ± 0,01	0,51 ± 0,01 ns	0,54 ± 0,12 ns
Triglycéride (g / L)	0,37 ± 0,05	0,39 ± 0,04 ns	0,4 ± 0,01 ns

Ns : différences non significative par rapport au groupe témoin ($P \geq 0,05$), les valeurs représentent les moyennes ± SEM (n=5).

Une étude de toxicité aiguë menée par Semwal et Semwal (2012) révèle que les extraits éthanoliques de l'écorce et les fruits de *C. australis*, administrés par voie orale aux animaux expérimentaux, ne présentaient pas de létalité ou de signes de toxicité jusqu'à la dose de 1000 mg / kg. Par contre, les animaux prétraités avec une dose de 2000 mg / kg, p.o, ont montré une diminution de l'activité motrice et, par conséquent, la sédation. Pour cette raison, la dose de 2000 mg / kg, p.o était considéré par ces auteurs comme une dose toxique. On peut en partie expliquer de telles variations entre les résultats du présent travail et ceux du Semwal et Semwal (2012) par les différences qui résident entre la structure chimique des substances des différents organes. Ces différences peuvent affecter la capacité des substances à perturber la structure et le fonctionnement d'un organisme (Lapointe, 2004).

II.5.2. Test de toxicité subaigu

Dans l'étude de toxicité subaiguë, impliquant l'administration orale et quotidienne pendant 28 jours d'UDME et de CAME à des doses de 200 et 400 mg / kg, il n'y a pas eu de décès ou de signe de toxicité externe et le comportement des animaux n'a pas présenté de changement dans tous les groupes traités et dans le groupe témoin, confirmant ainsi l'hypothèse de la faible toxicité des deux extraits testés.

II.5.2.1. Effet sur le poids corporel et les poids des organes des rats

Les changements dans les poids corporel et des organes des animaux expérimentaux constituent un indice clair des dommages causés par l'extrait administré (Traesel et *al.*, 2014). Il a été rapporté que les animaux qui perdent 10 % du poids corporel initial pourraient ne pas survivre, ce qui est une indication des effets secondaires indésirables de la substance administrée (Adewale et *al.*, 2016).

Dans le présent travail, le poids corporel des rats a été déterminé au 1^{er}, 9^{eme}, 18^{eme} et 29^{eme} jour. Comme le montre le tableau **XX.**, le poids corporel dans le groupe traité par l'eau physiologique a montré une augmentation progressive pendant la période de traitement jusqu'à (194,4 ± 7,16) g de gain de poids. En revanche, l'administration d'UDME (200 et 400 mg / kg / jour) et de CAME (200 et 400 mg/kg/jour) a montré respectivement [(180,2 ± 4,19) g et (179,6 ± 8,20) g] et [(176,3 ± 5,78) g et (184,4 ± 6,07) g] de gain de poids.

Les résultats observés ont montré un gain tangible similaire à celui des rats du lot témoin ($P \geq 0,05$). La différence non significative observée dans le poids corporel des rats prétraités par UDME et CAME aux doses de 200 et 400 mg / kg / jour pendant 28 jours peut indiquer que les animaux avaient une croissance saine en fonction de leur consommation alimentaire, ainsi que les extraits d'*U. dalechampi* et de *C. australis*.

Tableau XX. Effet d'UDME et de CAME sur le poids corporel des rats (g)

Groupes	Poids corporel			
	1 ^{er} jour	9 ^{eme} jour	18 ^{eme} jour	29 ^{eme} jour
Témoin	177,6 ± 8,57	184,6 ± 8,81	187 ± 8,10	194,4 ± 7,16
UDME 200 mg / kg	166,6 ± 5,10 ns	172,2 ± 4,30 ns	175 ± 4,57 ns	180,2 ± 4,19 ns
UDME 400 mg / kg	165,6 ± 9,51 ns	169,2 ± 7,85 ns	174,2 ± 9,07 ns	179,6 ± 8,20 ns
CAME 200 mg / kg	163 ± 5,39 ns	168,4 ± 5,43 ns	172 ± 5,69 ns	176,3 ± 5,78 ns
CAME 400 mg / kg	161,6 ± 6,65 ns	178,2 ± 5,88 ns	177,8 ± 6,28 ns	184,4 ± 6,07 ns

Les valeurs représentent les moyennes ± SEM (n=5) ; ns : différences non significatifs par rapport au groupe témoin ($P \geq 0,05$),

II.5.2.2. Effet des extraits sur le poids relatif des organes

Il existe une très grande possibilité que, lorsque des extraits à base de plantes sont administrés, ils peuvent être toxiques pour les organes comme le rein, le foie, la rate, le cœur et le cerveau (Adewale et *al.*, 2016).

En général, les changements de poids des organes sont des indices de toxicité chez les animaux qui sont facilement déterminés par des tests de toxicité, les modifications du poids corporel des animaux traités, ainsi que des organes vitaux sont des indicateurs de la toxicité d'une plante (Tarkang et *al.*, 2012).

Comme indiqué dans le tableau XXI, le poids intact des organes prélevés (foie et rein) a été converti en un poids relatif de 100 g de poids corporel. Le résultat a montré que les extraits UDME et CAME aux doses de 200 et 400 mg / kg / j administré pendant 28 jours n'a pas d'effet significatif sur le poids du foie, du rein et du cœur par rapport au groupe des rats témoins.

Sur la base des résultats obtenus des poids corporels, ainsi que de l'augmentation non significative des poids des organes (reins, foie et cœur), on peut suggérer que CAME et UDME sont des extraits non toxiques pour les rats.

Tableau XXI. Effet des extraits méthanolique d'*U. dalechampii* et e *C. australis* sur les poids relatifs des organes

Groupes	Poids du foie	Poids des reins	Poids du cœur
Temoin	2,78 ± 0,22	0,26 ± 0,01	0,33 ± 0,01
UDME 200 mg / kg / j	2,79 ± 0,22 ns	0,27 ± 0,03 ns	0,36 ± 0,02 ns
UDME 400 mg / kg / j	3,02 ± 0,19 ns	0,31 ± 0,02 ns	0,35 ± 0,01 ns
CAME 200 mg / kg / j	2,77 ± 0,24 ns	0,26 ± 0,02 ns	0,36 ± 0,01 ns
CAME 400 mg / kg / j	3,13 ± 0,19 ns	0,30 ± 0,00 ns	0,37 ± 0,02 ns

Les valeurs représentent les moyennes ± SEM (n=5) ; ns : différences non significatives par rapport au groupe témoin (P ≥ 0,05).

II.5.2.3. Effet des extraits sur les paramètres hématologiques

L'effet des extraits UDME et CAME sur les paramètres hématologiques a été examiné à la fin du traitement (le 29^{ème} jour).

L'analyse hématologique est très importante en raison du fait que le système hématopoïétique est l'un des cibles les plus sensibles aux composés toxiques et est un indice important du statut physiologique et pathologique chez les animaux et l'être humain (Traesel et *al.*, 2014 ; Das et *al.*, 2015 ; Adewale et *al.*, 2016).

Puisque l'administration de CAME et d'UDME n'a pas induit de modifications significatives dans les paramètres hématologiques mesurés par rapport aux rats du groupe témoins (tableau **XXII**), ce qui implique que les extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et *C. australis* peuvent être suggérée comme non toxique (Adewale et *al.*, 2016).

Tableau XXII. Effet des extraits UDME et CAME sur les paramètres hématologiques des rats

Paramètres	Groupe témoins	Groupe traité par UDME (400 mg / kg / J)	Groupe traité par CAME (400 mg / kg / J)
Globules blancs ($10^9/L$)	1,86 ± 0,23	3,26 ± 0,36 ns	3,06 ± 0,71 ns
Lymphocytes ($10^9 / L$)	1,4 0,14	2,24 ± 0,26 ns	1,98 ± 0,44 ns
MID ($10^9 / L$)	0,14 0,02	0,24 ± 0,05 ns	0,32 ± 0,08 ns
Neutrophiles ($10^9 / L$)	0,32 0,06	0,78 ± 0,16 ns	0,76 ± 0,20 ns
Globules rouges ($10^{12} / L$)	7,09 ± 0,26	7,36 ± 0,24 ns	6,26 ± 0,97 ns
Hémoglobine (g /dL)	14,34 ± 0,61	15,06 ± 0,41 ns	12,4 ± 2,55 ns
Hématocrite (%)	44,16 ± 3,14	45,82 ± 1,06 ns	39,38 ± 6,35 ns
Volume globulaire moyen (fL)	62,28 ± 0,90	62,4 ± 0,99 ns	62,32 ± 1,38 ns
Teneur corpusculaire en hémoglobine (pg)	20,14 ± 0,36	20,42 ± 0,23 ns	18,42 ± 2,30 ns
Corpusculaire moyenne en hémoglobine (g / dL)	32,4 ± 0,16	32,82 ± 0,45 ns	29,4 ± 3,28 ns
Plaquettes ($10^9 / L$)	464,6 ± 30,19	548 ± 63,50 ns	916 ± 444,2 ns
Volume plaquettaire moyen (fL)	7,46 ± 0,06	7,74 ± 0,14 ns	7,7 ± 0,13 ns

Les valeurs sont la moyenne ± SEM (n = 5); ns : différences non significative par rapport au témoin ($P \geq 0,05$).

II.5.2.4. Effet des extraits sur les paramètres biochimiques

L'administration orale des extraits UDME et CAME aux doses de 200 et 400 mg/kg pendant 28 jours n'a pas montré de différences significatives des niveaux de glucose, de créatinine, AST, ALT et de la phosphatase alcaline en comparaison avec le groupe témoin (**tableau XXIII**), ces paramètres sanguins sont l'indice de fonction hépatique et rénale (Das et al., 2015 ; Brondani, 2017). La phosphatase alcaline est le plus souvent mesuré pour indiquer l'obstruction des voies biliaires (Adewale et al., 2016). Ce résultat pourrait indiquer que *U. dalechampii* et *C. australis* peuvent contenir des composés possédants des propriétés hépato-protectrices et un effet protecteur sur les reins (Adewale et al., 2016).

L'activité hépato-protectrices pourrait être justifiée par la composition chimique révélée par CLHP ; puisque la rutine et la luteoline sont connues comme des substances protectrices du foie. De plus, l'acide caféique et l'apigénine se sont révélés avoir des effets hépatoprotecteurs synergiques (Brondani et *al.*, 2017). Il est possible de supposer que les tanins peuvent contribuer également à l'activité anti-hépatotoxique (Macáková et *al.*, 2014). Néanmoins, d'autres études sont nécessaires pour établir scientifiquement cet effet spéculatif d'UDME et de CAME.

Tableau XXIII. Effets d'UDME et de CAME sur les paramètres biochimiques des rats.

Paramètres	Groupe témoins	Groupe traité par CAME (400 mg / kg p.o)	Groupe traité par UDME (400 mg / kg p.o)
Glycémie (mg / dL)	87,80 ± 8,64	87,8±8,58ns	87±6,67 ns
Urée (mg / dL)	30,8 ± 5,80	35,8 ± 5,76 ns	33,6 ± 6,18 ns
Creatinine (mg / dL)	0,792 ± 0,123	0,854 ± 0,084 ns	0,88 ± 0,16 ns
AST (U/L)	67±14,15	80,6 ± 38,53 ns	61,2±31,65ns
ALT (U/L)	84± 23,44	101,52±42,77 ns	67,2±29,61ns
Phosphatase alcaline (U/L)	174,62±20,41	185,34±50,64 ns	176,48±77,57ns

Les données sont exprimées en moyenne ± S.D ; (n = 5) ; aspartateaminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT) ; ns= différences non significative en comparant avec le témoin (P ≥ 0,05).

II.5.2.5. Histologie du foie et des reins des rats

L'analyse histologique du foie et des reins a été réalisée chez les rats du groupe témoin ainsi que chez les rats traités par CAME et UDME administrés aux doses de 400 mg / kg pendant 28 jours. Comme représenté dans les figures 25 et 26, l'examen au microscope optique des sections de foie et des reins a révélé une histologie normale des organes et les tissus ont maintenu leur aspect histologique.

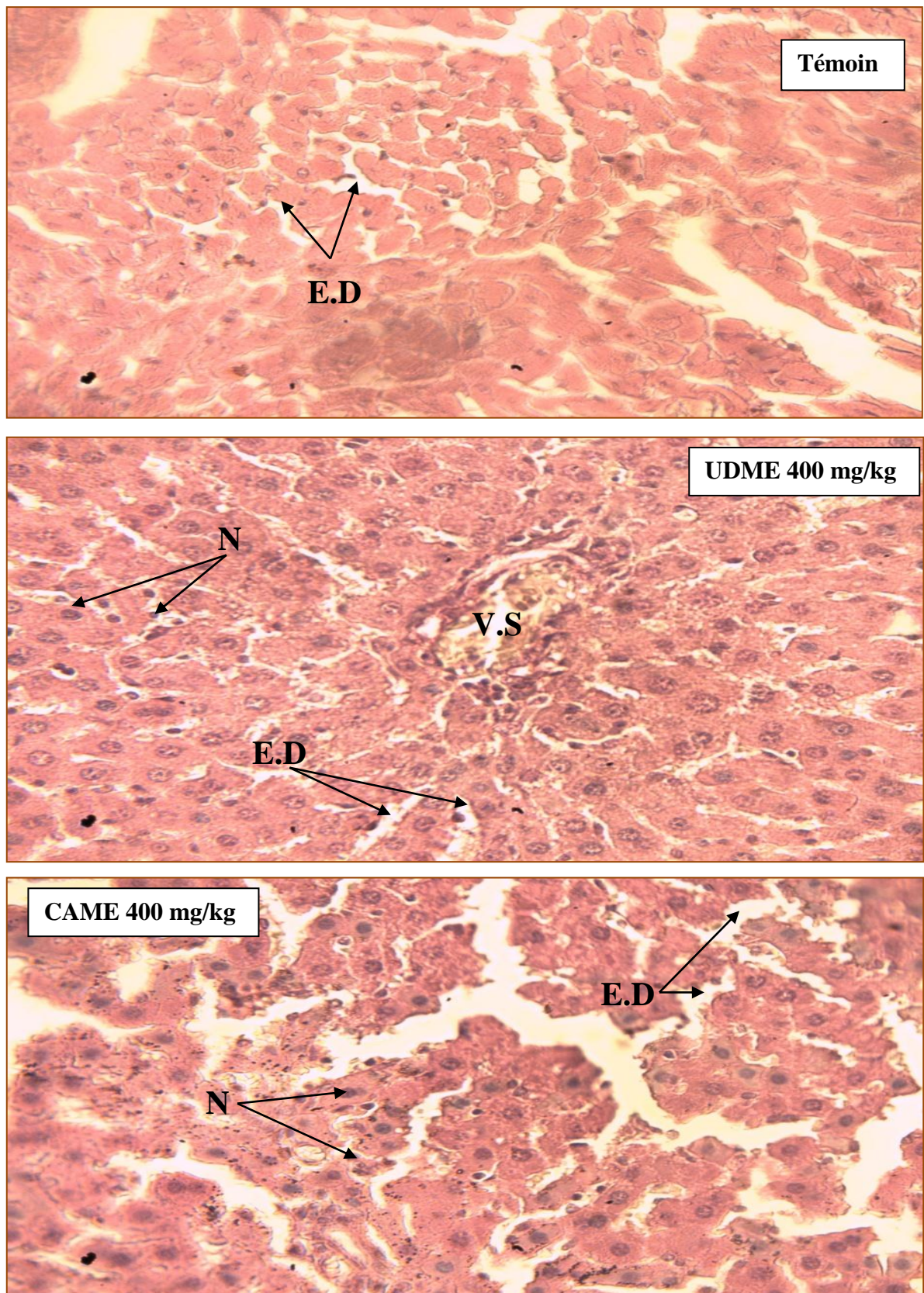


Figure 25 : Photomicrographie de l'histologie du foie des rats (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine, $\times 40$). **V.S** : vaisseau sanguin ; **E.D** : espace de Diss ; **N** : noyau

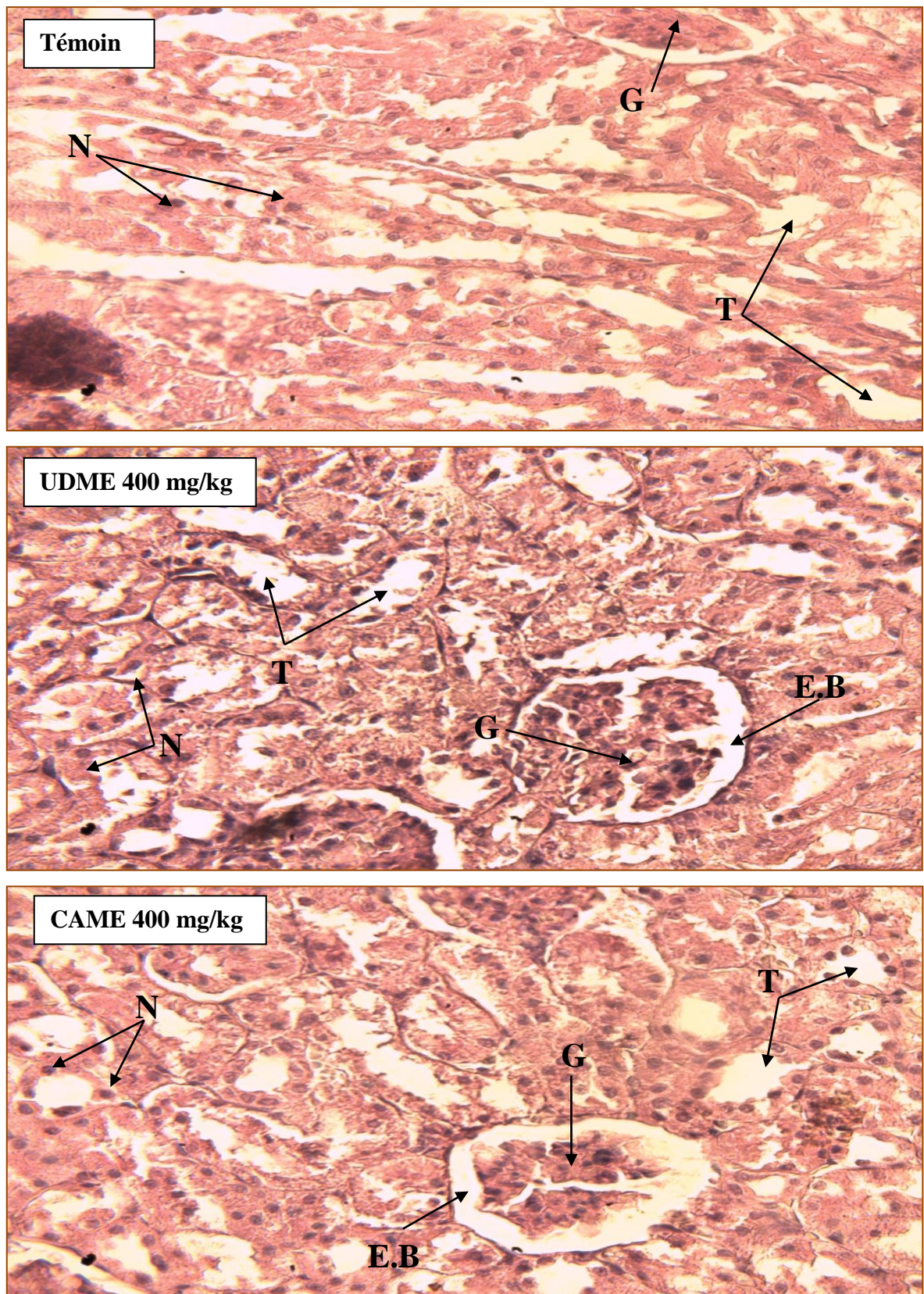


Figure 26 : Photomicrographie de l'histologie des reins des rats (coupes en paraffine, hématoxyline-éosine, $\times 40$). **G :** glomérule de Malpighi ; **T :** Tubules ; **N :** Noyau ; **E.B :** espace de Bowman.

II.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

II.6.1. Œdème de la patte induite par la carraghénane

L'activité inhibitrice des extraits méthanoliques d'*U. dalechampi* et de *C. australis* administrés par voie orale sur l'œdème de la patte postérieure induite par la carraghénane chez les rats est représentées dans le tableau **XXIV**, les résultats obtenus ont été comparés à ceux du diclofénac (anti-inflammatoires non stéroïdiens) et à ceux du lot témoin.

Dans le lot où les rats ont reçu de l'eau physiologique, l'injection de 100 µl de carraghénane à 1 %, au niveau de la patte postérieure du rat, provoque une augmentation significative de l'épaisseur de la patte des animaux dans l'heure qui suit cette injection ($2,98 \pm 0,42$ mm), l'œdème augmente progressivement et atteint $3,94 \pm 0,19$ mm à 3h et $3,99 \pm 0,09$ mm à 5 h.

Tableau XXIV. Effet anti-inflammatoire du diclofénac et des extraits d'*U. dalechampi* et de *C. australis* contre l'œdème de la patte induit par la carraghénane chez les rats.

Suite tableau XXVI.

Les valeurs sont la moyennes \pm écart-type (n = 5) ; ns : différence non significative par rapport au contrôle ($P \geq 0,05$) ; (a) : significativement différent par rapport au contrôle ; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

L'administration du diclofénac à la dose de 30 mg / kg prévient significativement la formation de l'œdème de la patte à tous les points de temps d'évaluation. Cette inhibition a été estimée à 37,54 %, 49,61 % et 43,10 % à 1 h, 3 h et 5 h respectivement après l'injection de carraghénane. Ces résultats sont significativement différents de ceux du lot témoin.

L'administration d'UDME aux doses de 200 et 400 mg/kg prévient de façon significative l'œdème aigu de la patte de rat à 3 h et 5 h. En comparant avec le lot témoin, l'analyse statistique des résultats montre que cet extrait n'a montré d'effet anti-inflammatoire significatif à 1h ($P \geq 0,05$). Des résultats similaires ont été obtenus avec CAME administré aux mêmes doses (**Tableau XXIV**). L'inhibition de la formation de l'œdème d'UDME et de CAME à la dose de 400 mg / kg est statistiquement similaire que celle obtenue avec le diclofenac à 5h après l'induction de l'inflammation (figure 27).

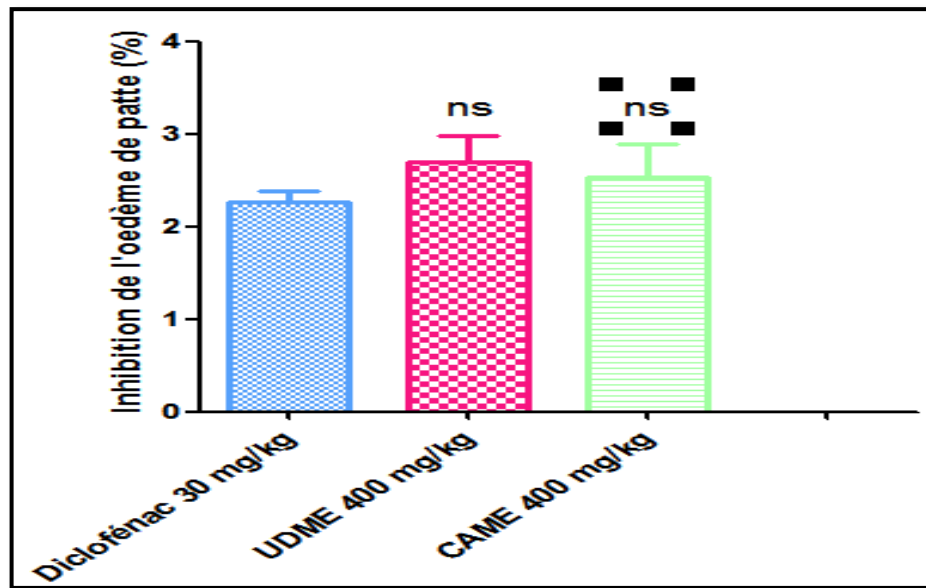


Figure 27. Activité anti-inflammatoire d'UDME et de CAME à la dose de 400 mg / kg chez les rats. Chaque valeur est la moyenne \pm SEM (n= 5) ; ns : différence non significative par rapport au diclofénac ($P \geq 0,05$).

L'injection de carraghénane dans la surface plantaire de la patte provoque une réponse inflammatoire aiguë conduisant à une phase diphasique de l'œdème de la patte. La première phase s'étend de 0 à 2,5 h après l'induction de l'inflammation, cette phase se caractérise par la libération concomitante de sérotonine, d'histamine et de kinines, alors que la seconde phase qui s'étend de 2,5 à 6 h, est corrélée à l'élévation de l'activité de la cyclooxygénase-2 (COX2), des radicaux libres dérivés de l'oxygène, des prostaglandines ainsi que l'infiltration et l'activation des neutrophiles au site inflammatoire (Pingsusaen et *al.*, 2015). Les effets anti-inflammatoires d'UDME et de CAME pourraient s'expliquer d'une part par leurs pouvoirs antioxydants, notamment l'activité de piégeage du radical DPPH qui était très importantes (Awaad et *al.*, 2011) et, d'autre part, peut raisonnablement être liée de l'inhibition d'une ou de plusieurs cascades de médiateurs pro-inflammatoires (Pingsusaen et *al.*, 2015 ; Saleem et *al.* 2015).

II.6.2. Pleurésie induite par la carraghénane

L'inflammation est la réponse à l'agression du corps par un agent pathogène, un allergène, un composé toxique, une lésion tissulaire, etc. Il peut s'agir d'un phénomène général avec fièvre et fatigue, ou un phénomène local avec douleur et œdème (Latruffe, 2017). Elle se caractérise par la production de diverses molécules de signalisation actives, telles que les amines vaso-actifs (histamine / sérotonine), les prostaglandines, les

leucotriens, les kininogènes / kallikréines / kinines, les facteurs de complément, les cytokines et les MMP (Matrix MetalloProteinases) / TIMP (Inhibiteurs de tissus De MetalloProteinases) (Azab et *al.*, 2016 ; Latruffe, 2017).

Le modèle de pleurésie induite par la carragénane type lambda est largement utilisé pour évaluer le recrutement des leucocytes (les neutrophiles en particulier) et la production de médiateurs qui jouent un rôle majeur dans l'inflammation aiguë (Luchese et *al.*, 2012 ; Matsui et *al.*, 2015).

L'injection de carragénane dans la cavité pleurale des rats conduit à une réponse inflammatoire aiguë qui se caractérise par l'infiltration et l'accumulation de liquide (œdème) qui contient une grande quantité de polynucléaires neutrophiles (Li et *al.*, 2011). Ce processus se produit par un mécanisme indirect qui implique l'activation des macrophages et la libération des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF α et IL-1 β . Ces derniers ont un rôle crucial dans le contrôle de la migration cellulaire et de l'exsudation (Fröde et *al.*, 2001 ; Batista *etal.*, 2015).

Les neutrophiles jouent un rôle clé dans l'inflammation aiguë et chronique; par conséquent, l'identification de molécules qui empêchent son recrutement dans le site inflammatoire pourrait aider à traiter les patients souffrant de maladies inflammatoires (Matsui et *al.*, 2015).

Après l'injection de Carragénane dans la cavité pleurale des animaux, le nombre de neutrophiles et de volume des exsudats a augmenté de $6,080 \times 10^6 \pm 0,397 \times 10^6$ cellules / rat et $0,965 \pm 0,022$ ml respectivement. Cependant, le prétraitement avec UDME aux doses de 200 et 400 mg / kg p.o. 60 min avant le carragénane, réduit le volume des exsudats à $0,633 \pm 0,243$ ml et $0,679 \pm 0,210$ ml, respectivement. Le nombre de neutrophiles pleurales a également été considérablement réduit à $2,733 \times 10^6 \pm 0,313 \times 10^6$ cellules (UDME 200 mg / kg) et $1,440 \times 10^6 \pm 0,102 \times 10^6$ cellules (400 mg / kg) $P < 0,05$. Il est important de noter que l'effet anti-inflammatoire de l'UDME (400 mg / kg) était proche de celui présenté par le diclofénac (10 mg / kg p.o.) l'anti-inflammatoire de référence utilisé dans cette étude et qui a réduit le volume pleural à $0,723 \pm 0,344$ ml et aussi le nombre de neutrophiles à $1,047 \times 10^6 \pm 0,589 \times 10^6$.

Une étude réalisée par Goulart et *al.* (2007) ont montré que les extraits aqueux (10-200 mg / kg) des feuilles et inflorescences de *Solidago chilensis* (Asteraceae) étaient

efficaces pour inhiber la migration des neutrophiles causée par la carraghénane dans un modèle aigu d'inflammation et l'activité anti-inflammatoire obtenue à la dose de 200 mg / kg dans leur étude était plus élevée que celle obtenue pour les deux doses administrées dans la présente étude.

L'analyse statistique des résultats obtenus montre que l'administration préalable de CAME à la dose de 200 mg a réduit significativement ($P < 0,05$) la migration des neutrophiles à $2,410 \times 10^6 \pm 0,465 \times 10^6$ cellules et le volume de l'exsudat à $0,725 \pm 0,245$ ml. Dans nos conditions expérimentales, tous les liquides pleuraux des rats traités avec CAME à la dose de 400 mg / kg ont été jetés car ils ont été contaminés par le sang.

II.6.2. Œdème de l'oreille induit par le xylène chez les rats

L'œdème de l'oreille induit par le xylène, est un modèle d'inflammation aigu, il a été utilisé pour rechercher l'effet anti-œdémateux des extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*, cette méthode présente certains avantages pour tester les extraits naturels et présente une bonne valeur prédictive pour la recherche d'agents anti-inflammatoires (Lu et al., 2006)

Les rats du lot témoin ont reçu localement 30 μ l de xylène sur la face interne de l'oreille droite et ont développé après 2h un œdème de $66,6 \pm 8,72\mu\text{m}$. Les rats prétraités par voie orale avec le diclofénac à la dose de 10 mg / Kg) 30 min avant l'induction de l'œdème a fortement inhibé ($p < 0,001$) l'œdème de l'oreille comparé aux rats du lot témoin, la différence de l'épaisseur de l'oreille avant et 2 h après l'application du xylène était de $10 \pm 4,48\mu\text{m}$, ce qui correspond à une inhibition de 84,45 % (figure28).

Le prétraitement par 200 et 400 mg/Kg d'extrait méthanolique des feuilles de *C. australis* par voie orale a réduit de manière significative l'inflammation par rapport aux rats du groupe témoin, un œdème de $28 \pm 7,36 \mu\text{m}$ et $12,4 \pm 1,94$ respectivement a été observé et qui correspond à une inhibition de 58 et 81,24 % respectivement ; le pouvoir anti-œdémateux de la dose 400 mg / kg de CAME était statistiquement similaire à celle du diclofénac ($p \geq 0,05$).

L'extrait méthanolique d'*U. dalechampii* aux doses 200 et 400 mg / kg administrées oralement a également inhibé de manière significative ($P < 0,05$) la formation de l'œdème et les taux d'inhibition étaient de 70,68 et 68,96 % respectivement.

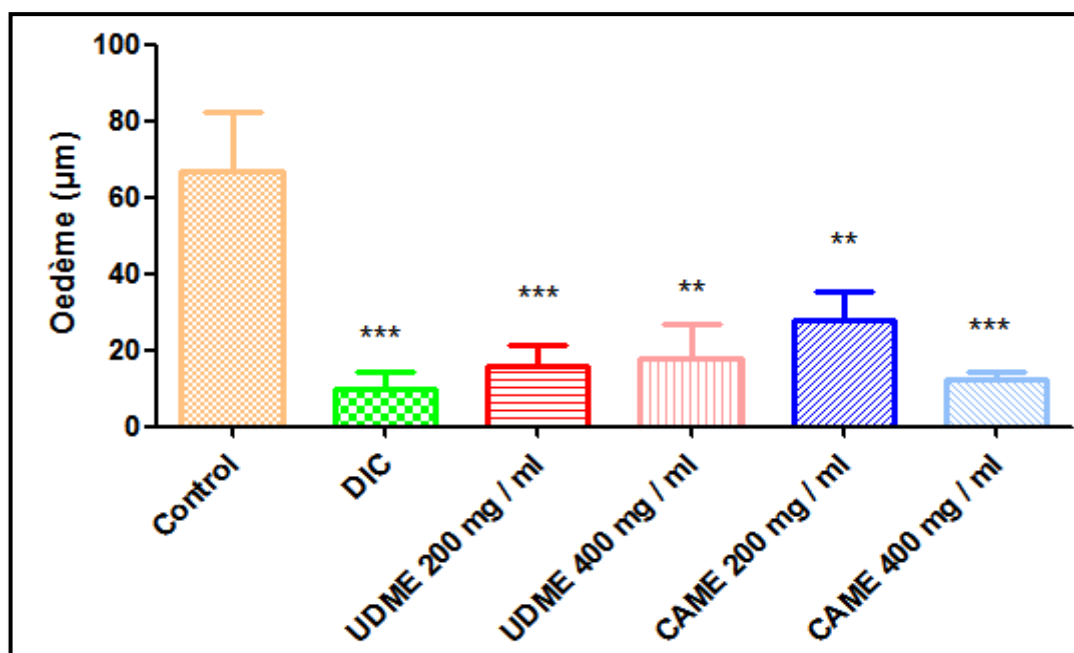


Figure 28 : Effet d'UDME et de CAME sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les rats. Les valeurs représentent les moyennes \pm SEM (n = 6). *** : $p < 0,001$, ** : $p < 0,01$ significativement différent par rapport au témoin (eau physiologique).

L'application locale du xylène pourrait induire la libération de substance P, cette substance est capable de provoquer une inflammation neurogène comprenant une extravasation plasmatique, la vasodilatation et l'œdème (Russo-Marie, 1998). L'effet inhibiteur de l'œdème exercée par CAME et UDME peut être due à la réduction de la libération de la substance P ou à l'antagonisation de son action (Zhou et *al.*, 2008). En outre, les médiateurs inflammatoires comme la sérotonine, l'histamine, les prostaglandines et la bradykinine peuvent induire un œdème de l'oreille en favorisant la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Carlson, 1985 ; Zhang et *al.*, 2008). UDME et CAME peuvent interférer avec les actions de ces médiateurs pour produire une activité anti-inflammation (Zhang et *al.*, 2008).

L'analyse par CLHP révèle la présence de la rutine et l'acide hydroxycaféique dans l'UDME et CAME ; Furtado et son équipe (2016) ont constaté que l'acide caféique et la rutine réduisent de manière significative (90% et 98% respectivement) l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris.

Les teneurs appréciables en composés phénoliques et en flavonoïdes et la présence probable (révélée par les test de caractérisation) des triterpénoïdes et des coumarines

pourraient être les constituants responsables de l'effet anti-inflammatoire observé chez CAME et UDME (Semwal, et Semwal, 2012; Wu et al., 2010 ; Catarino et al., 2016).

II.7. Effet analgésique

II.7.1. Test du writhing

La méthode décrite par Carino-Cortés et al. (2010) a été utilisée pour évaluer l'effet analgésique non morphinique (Yougbaré-Ziébrou et al., 2015) des extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. Cette méthode consiste à induire une action algogène par l'administration à des rats de l'acide acétique (0,6 %), par voie intrapéritonéale.

Malgré sa faible spécificité (Le bars et al., 2001), la méthode des contorsions induites par l'acide acétique est un procédé sensible utilisé pour détecter l'effet analgésique des extraits ou des composés qui semblent être inactifs dans d'autres tests (Collier et al., 1968 ; Nguemfo et al., 2007).

Dans nos conditions expérimentales, l'injection de l'acide acétique 0,6 % (10 ml/kg) par voie intra-péritonéale provoque une moyenne de 100 crampes chez les rats du lot témoin. L'UDME et CAME ont fortement inhibé ($P < 0,001$) la réponse à la contorsion induite par l'acide acétique à 200 mg / kg (68,4%, 72,20% respectivement) et à 400 mg / kg (80,6%, 86 % respectivement); l'effet analgésique de la dose 200 mg/kg des deux extraits était comparable à celui de l'aspirine (66,5%) $P \geq 0,05$ (Figure 29).

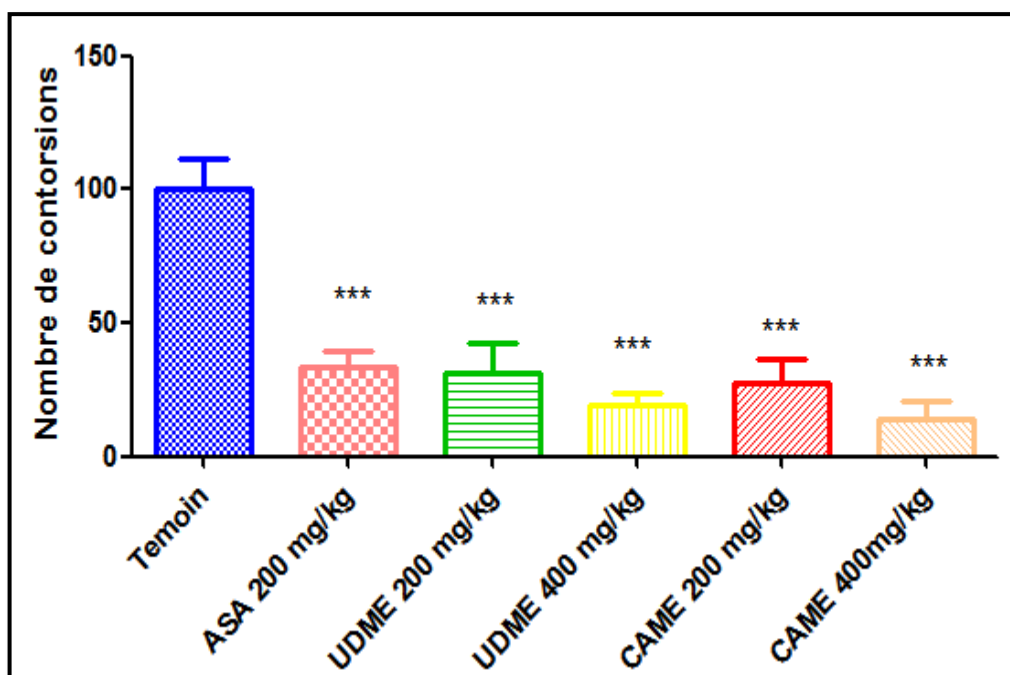


Figure 29 : Pouvoir analgésique de l'UDME et de CAME sur les contorsions induites par l'acide acétique. Les valeurs représentent les moyennes \pm SEM (n = 6); *** P < 0,001 significativement différent par rapport au témoin (eau physiologique) ; ASA: acide acétylsalicylique.

La protection significative contre les contorsions des deux doses de l'extrait méthanolique d'*U. dalechampii* était supérieure à celle trouvée par Asongalem et *al.* (2004) qui ont obtenu des taux d'inhibition de 29,41% (200 mg / kg) et 44,72% (400 mg / kg) après l'administration de l'extrait aqueux de l'espèce *Erigeronfloribundus* (*Asteraceae*).

Les résultats de l'activité analgésique de *C. australis* menée par Semwal et Semwal (2012) ont montré que tous les échantillons (extraits éthanoliques de l'écorce et du fruit) présentaient une activité significative. Les extraits ont été administré par voie orale en trois concentrations différentes de 100, 250 et 500 mg / kg. Individuellement, l'extrait d'écorce et l'extrait des fruits présentaient une activité analgésique avec un pourcentage de protection estimé à 46,78 % et 41,31 % respectivement à la dose de 250 mg / kg et 59,28 % et 63,22 % respectivement à la dose de 500 mg / kg.

Il a été suggéré que l'irritation locale induite par une injection intrapéritonéale d'acide acétique entraîne une augmentation des taux de produits de cyclooxygénase (COX) et de lipoxigalase (LOX) dans les liquides pleuraux, ainsi que la libération d'une variété de médiateurs tels que les prostaglandines (PGE2 α , PGF2 α), la substance P, les bradykinines,

la sérotonine, l'histamine (Ouedraogo et *al.*, 2012), l'acétylcholine (Riahi et *al.*, 2012) les cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 β , IL-6, IL-8 et TNF α . Ces substances stimulent les nocicepteurs aux stimuli douloureux qui participent au développement de ce type de douleur inflammatoire qui est sensible aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Pinheiro *etal.*, 2011 ; Ferreira et *al.*, 2013).

L'activité anti-nociceptive des deux extraits pourrait être liée à au blocage de l'effet ou à l'inhibition de la libération des médiateurs chimiques impliquées dans la réaction inflammatoire et dans la genèse de la nociception (Vane, 1971 ; Riahi et *al.*, 2012 ; Ouedraogo et *al.*, 2012 ; Rauf et *al.*, 2014 ; Yougbaré-Ziébro et *al.*, 2015).

Les activités anti-inflammatoire et analgésique d'UDME et de CAME peuvent être justifiées par la composition chimique révélée par les tests de caractérisation et par CLHP. Le tableau **XXV** illustre les effets anti-inflammatoires et analgésiques de certains métabolites secondaires probablement présents dans les deux plantes.

Tableau XXV. Activité anti-inflammatoires et analgésiques de certains métabolites secondaires

Métabolites	Principaux effets sur l'inflammation	Références
Polyphénols	<ul style="list-style-type: none"> Réduction significative des taux de cytokines; l'inhibition de l'activité de COX-2, 5-LOX et PLA2, iNOS, NFκB et STAT. Atténuation de l'œdème des pattes. 	(Azab et <i>al.</i> , 2016)
Acides phénolique	<ul style="list-style-type: none"> Réduction des niveaux de la protéine réactive C (CRP) et d'IL-6; inhibition de NF-κB. 	(Azab et <i>al.</i> , 2016)
Flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> Possèdent des activités anti-inflammatoire et anti-nociceptive. possédant une activité inhibitrice puissante <i>in vitro</i> sur le facteur de transcription NF-κB. diminution de la production de TNFα dans des modèles cellulaires d'inflammation. Réduction des niveaux de la protéine réactive C (CRP) et d'IL-6; inhibition de NF-κB. Inhibition des activités de cyclooxygénase et de lipoxygénase 	(Dongmo et <i>al.</i> , 2005 ; Park, <i>etal.</i> , 2008 ; Akkol et <i>al.</i> , 2009 ; Shimosaki, et <i>al.</i> , 2011) ; Sengar et <i>al.</i> 2014 ; Azab et <i>al.</i> , 2016)

Suite tableau XXV.

Métabolites	Principaux effets sur l'inflammation	Références
Apigénine	<ul style="list-style-type: none"> Réduction des niveaux d'IL-1, d'IL-6, TNFα, de NO et de PGs; Inhibition de l'activité de COX-2, d'iNOS et de NF-κB 	(Azab et al., 2016)
Rutine	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition de la translocation nucléaire de la NF-κB et de la liaison NF-κB / ADN 	(Park et al., 2008)
5,7diméthoxyflavone	<ul style="list-style-type: none"> L'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> a été associée à l'inhibition de la biosynthèse de prostaglandines. 	(Panthong et al., 1994)
Tanins	<ul style="list-style-type: none"> L'activité anti-inflammatoire est l'un des effets importants des tanins inhibent <i>in vitro</i> l'activation de NF-κB (empêchent la dégradation de la protéine inhibitrice de NF-κB I-κBα) et la production d'IL-8 dans des cellules monocytaires humaines (U937) stimulées par le myristate acétate de phorbol ou le TNF-α. 	(Macáková et al., 2014)
Coumarines	<ul style="list-style-type: none"> réduction de la formation d'exsudats pleuraux ; diminution du nombre total de cellules inflammatoires et l'infiltration de leucocytes polymorphonucléaires réduction de la libération du TNF-α, IL-1β, MIP-2 et IL-8. inhibition de la translocation nucléaire de NF-κB dans les cellules inflammatoires collectées à partir d'exsudats pleuraux. 	(Li et al., 2011)
Alcaloïdes et Terpenoïde	<ul style="list-style-type: none"> Effets anti-inflammatoires et analgésiques. Réduction des niveaux de TNFα et d'autres cytokines; Inhibition de l'activité de PLA2 	(Azab et al., 2016)
Saponines	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition de l'expression de la protéine iNOS, Diminution de l'expression de la protéine COX-2 Suppression de l'expression des protéines iNOS et COX-2 dans les cellules RAW264.7 stimulées par lipopolysaccharide (LPS). 	(Wu et al., 2016)

II.7.2. Test au formaldéhyde

Le protocole décrit par Adebisi et son équipe (2006) a été suivi pour réaliser ce test. D'après ces auteurs, après l'injection de 20µl d'une solution de formaldéhyde (1%), un léchage de la patte injectée a été observé ; selon une autre équipe de recherche (Sudo et *al.*, 2015) un léchage et des morsures de la patte injectée a été rapporté comme sensation de douleur. Cependant, dans nos conditions expérimentales, aucune réponses citées par ces auteurs n'a été observées, l'injection du formaldéhyde a induit des démangeaisons chez les rats de tous les groupes (témoin et traités). Pour autant que nous sachions, aucune publication n'a signalé cette réponse comme sensation de douleur.

II.8. Activité antipyrétique

L'activité antipyrétique des extraits UDME et CAME a été criblée chez des rats en utilisant la méthode de l'hyperpyrexie induite par la levure de bière.

L'effet des extraits méthanolique d'*U. dalechampii*, de *C.australis* et du paracétamol sur la pyrexie induite par la levure de bière est présenté dans le tableau **XXVI**. Les résultats ont montré que la température rectale était nettement élevée pour tous les groupes 19h après l'injection de levure. Le paracétamol à la dose de 150 mg / kg a réduit de façon significative l'hyperthermie à tous les points de temps par rapport au groupe des animaux témoins, alors que l'UDME et CAME administré par voie orale aux doses de 200 et 400 mg / kg n'ont pas réussi à exercer cet effet.

La pyrexie induite par l'injection sous-cutanée de suspension de levure est produite par activation de pyrogène endogène et par la sécrétion subséquente de médiateurs pro-inflammatoires (Cytokines comme IL-1 et TNFα) ; ces médiateurs vont finalement agir sur l'hypothalamus et induisent la biosynthèse de la prostaglandine E2 (PGE2) dans la zone préoptique des centres thermorégulateurs de l'hypothalamus antérieur et conduit à stimuler l'hypothalamus pour augmenter la température corporelle (Milton, 1994 ; Saper et *al.*, 1994 ; Pingsusaen et *al.*; 2015).

L'activité antipyrétique est généralement considérée comme une caractéristique de médicaments ou de composés qui ont un effet inhibiteur sur la synthèse ou la libération de prostaglandines (Habib et Waheed, 2013).

Tableau XXVI. Effet des extraits UDME et CAME et le paracétamol sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats.

Traitement mg / kg	Températures Rectales (T °C)						
	T0 (Avant l'injection de la levure)	19 h Après l'injection de la levure	20 h	21 h	22 h	23 h	24 h
E.P	36,54 ± 0,11	38,50± 0,03	39,32 ± 0,09	38,88 ±0,12	39,08±0,15	38,76±0,12	38,92 ±0,15
Pra 150	36,80 ± 0,08	38,68 ±0,06	37,70 ± 0,11 ***	37,38±0,09 **	37,84±0,63 **	37,6 ± 0,12 *	37,76 ±0,16 *
U 200	36,30 ± 0,10	38,78 ±0,10	38,88 ± 0,08 ns	38,52 ±0,06 ns	38,4 ± 0,06 ns	38,78±0,08 ns	38,60 ±0,07 ns
U 400	36,40 ± 0,16	38,33 ±0,06	38,66 ± 0,14 ns	38,88± 0,09 ns	38,64±0,09 ns	38,68±0,02 ns	38,86± 0,09 ns
C 200	36,42±0,15	38,26±0,10	38,61±0,34	38,52±0,5 ns	38,06±0,23 ns	38,56±0,22 ns	38,03±0,19 ns
C 400	36,38±0,18	38,30±0,6	38,92±0,12	38,70±0,20 ns	38,56±0,08 ns	38,01±0,3 ns	38,74±0,06 ns

Les valeurs représentent la moyenne ± SEM (n = 6). * : p < 0,05, ** : p < 0,01, indique une différence statistiquement significatives par rapport au groupe contrôle ;ns: différences non significative ;Pra: paracétamol, E.P : eau physiologique ; U :UDME ; C :CAME.

L'effet antipyrétique du paracétamol résulte de l'inhibition de l'activité de la cyclooxygénase-2 pour diminuer la température corporelle en inhibant la biosynthèse de la PGE2 dans l'hypothalamus (AshokKumar *et al.*, 2011 ; Muhammad *et al.*; 2013).

Dans ce travail, nous avons montré et pour la première fois que l'UDME et CAME ne pouvaient pas réduire l'hyperthermie induite par la levure de bière, ce résultat conduit à une hypothèse selon laquelle ces extraits pourraient ne pas être capable de traverser la barrière hémato-encéphalique pour exercer un effet antipyrétique central (Pingsusaen *et al.* 2015). Ces résultats sont en concordance avec plusieurs travaux précédents ; Awaad et ses collègues (2011) ont évalué l'activité antipyrétique des extraits éthanoliques totaux de cinq plantes : *Alhagimaurorum* Medic., *Conyzadiscoscoridis*(L.)Desf., *Convolvulus fatmensis*G.Kunze., *Diploaxisacris*(Forssk) Boisset *Origanum syriacum* (L.) appartenant à

différentes familles ; chaque extrait a été administré en trois doses : 250, 500 et 1000 mg / kg par voie orale ; ces auteurs ont constaté qu'aucun des extraits testés n'a montré d'activité antipyrétique comparable à celle du médicament de référence utilisé (diclofenac). Dans une autre étude menée par Pingsusaen et son équipe (2015) sur l'activité antipyrétique de l'extrait éthanolique de *Stahlianthus involucratu*s administré par voie orale aux doses de 75, 150 et 300 mg / kg ; ces auteurs ont signalé que toutes les doses testées de cet extrait n'ont pas réussi à réduire l'hyperthermie induite par la levure de bière.

Conclusion Et Perspectives

Conclusion

L'utilisation des plantes dans la médecine traditionnelle reste une pratique majeure du système de soins de la santé en Algérie, L'évaluation des effets toxicologique et les activités biologique des extraits préparés à partir des plantes est indispensable afin de garantir leur efficacité et leur sécurité. Le présent travail avait pour but l'évaluation de la toxicité et les activités biologiques des extraits organiques d'*U. dalechampii* et de *C. australis*. A la lumière des résultats obtenus, les extraits des deux plantes semblent présenter un intérêt potentiel estimé par des activités qui ont été réalisés *in vitro* et *in vivo*.

Un criblage phytochimique de principales familles de métabolites secondaires a été effectué. La nature des composants chimiques mis en évidence dans le matériel végétal des deux plantes laisse prévoir des activités biologiques importantes. Il s'agit principalement de flavonoïdes, de tanins, des saponosides, des triterpènes et des stéroïdes. *L'U. dalechampii* contient en plus de ces métabolites les coumarines, les alcaloïdes et les mucilages.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés par spectrophotomètre UV-Visible montre que les extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* et de *C. australis* accusent les teneurs les plus élevées en ces métabolites.

L'analyse qualitative par CLHP menée sur les extraits dicloromethaniques et méthanoliques des deux espèces a permis de mettre en évidence la présence des acides phénolique tels que l'acide hydroxycaféique et procatehiques, cinq flavonoïdes : la rutine la lutéoline, l'apigénine, la ladaneine et le 7 methoxy 5 hydroxy flavonone, ces substances possèdent des effets biologiques divers. Les résultats de la CG / SM révèle la présence, dans l'UDHX, des acides gras insaturés : α linoléique (9,23 %) et linoléique (16,55%), ce qui pourrait conférer à cet extrait des effets hypocholestérolémiantes et anti-athérogènes et pourrait limiter l'incidence des maladies vasculaires.

L'estimation de l'activité antioxydantes des extraits des deux plantes a été réalisée par le biais de différentes méthodes à savoir : pouvoir piègeur vis-à-vis du radical DPPH « *in vitro* et *in vivo* », effet anti-lipoperoxydant, activité chélatrice du fer ferreux, pouvoir réducteur des ions ferriques. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les extraits méthanoliques des deux plantes expriment les pouvoirs piègeurs du radical DPPH les plus puissants. De même ils ont montré des pouvoirs de réduction du fer ferrique les plus forts. Dans le test du blanchissement du β -carotène, tous les extraits des deux plantes

inhibent d'une manière très significative l'oxydation du β carotène, ce qui implique que ces extraits peuvent être considérés comme des antioxydants primaires. Les résultats de l'activité chélatrice du fer ferreux démontre que l'extrait hexanique d'*U. dalechampii* et dicloromethanique de *C. australis* possèdent un pouvoir chélateur supérieur à celui de la quercétine. D'autre part, aucune amélioration significative de la capacité antioxydante plasmatique *vis-à-vis* du radical DPPH n'a été constatée après l'administration journalière pendant 28 jours des extraits méthanoliques des deux plantes à la dose de 200 et 400 mg / kg.

Des corrélations positives et significatives ont été obtenues entre la teneur en composés phénoliques totaux d'*U. dalechampii* et de *C. australis* et les capacités antioxydantes évaluées par la méthode DPPH et le test de blanchissement de β - carotène ; d'autre part des coefficients de corrélation positive et significative ont été observés entre les capacités chélatrices du fer ferreux et les teneurs en flavonoïdes suggérant que les polyphénols et les flavonoïdes participent significativement à l'activité antioxydante. Cependant, une corrélation très faible et non significative a été mise en évidence entre le contenu phénolique et flavonique des extraits des deux plantes et la méthode FRAP, ce qui implique que d'autres composés non phénoliques exercent cette activité.

Le pouvoir antimicrobien a été évalué sur 11 souches bactériennes et 2 souches levuriennes par la méthode des disques et sur 3 souches de champignons par la méthode de contact direct. Les résultats obtenus ont montré que tous les extraits d'*U. dalechampii* ont été inactifs contre toutes les souches testées, tandis que l'extrait méthanolique de *C. australis* a présenté une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* seulement.

Les résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë montrent que l'administration des extraits UDME et CAME ne provoquent aucune toxicité apparente chez les rats. Aucun cas de mortalité, ni des signes de toxicité n'ont été observés chez les animaux traités quotidiennement aux extraits aux doses de 200 et 400 mg / kg pendant 28 jours. Les paramètres biochimiques et hématologiques n'ont révélé aucun changement significatif. En plus, l'examen histologique des organes internes (reins et foie) des rats a révélé une histologie normale des organes et les tissus ont maintenu leur aspect physiologique, tant dans le groupe témoin que dans les groupes traités par les deux extraits.

L'administration d'UDME et de CAME aux doses de 200 et 400 mg / kg prévient de façon significative l'œdème aigu de la patte de rat à 3 h et à 5 h après l'induction de

l'inflammation par la carraghénane ; l'inhibition de la formation de l'œdème d'UDME et de CAME à la dose de 400 mg / kg est statistiquement similaire que celle obtenue avec le diclofenac à 5 h. La migration des neutrophiles dans la cavité pleurale a été significativement réduite après l'administration des deux doses d'UDME. De même, l'administration par voie orale d'UDME ou de CAME montre une inhibition significative de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les rats. L'effet de CAME à la dose de 400 mg est comparable à celui du diclofenac, l'anti-inflammatoire de référence utilisé.

Les résultats de l'effet analgésique révèlent que les deux doses utilisées des deux extraits ont fortement inhibé la réponse à la contorsion induite par l'acide acétique. L'effet analgésique de la dose 200 mg/kg d'UDME et de CAME a été comparable à celui de l'aspirine. L'activité antipyrétique a été investiguée, les résultats montrent que les deux doses des deux extraits ne semblent pas avoir une telle activité.

L'ensemble des résultats obtenus dans ce travail de thèse confirme la pertinence des remèdes traditionnels dans le soulagement de nombreuses maladies. Ces résultats sont intéressants, mais il serait important de poursuivre les investigations par d'autres études complémentaires et approfondies en se focalisant sur les extraits méthanoliques des deux plantes afin d'isoler et identifier les principes actifs responsables des effets biologiques observés. Des études expérimentales détaillées de la toxicité chronique sont requises pour soutenir d'avantage ces plantes afin de mettre à la disposition des populations des plantes qui pourraient être un alternatif des médicaments synthétiques.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- Abbo A., Navon-Venezia S., Hammer-Muntz O., Krichali T., Siegman-Igra Y. et Carmeli Y. (2005). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Emerging Infectious Diseases journal*. **11**(1) :22-9.
- Abdel-Hameed E. S. S. (2009). Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food chemistry*. **114**(4) :1271-1277.
- Abe A., Oda Y., Asano K. et Sone T. (2007). *Rhizopus delemar* is the proper name for *Rhizopus oryzae* fumaric-malic acid producers. *Mycologia*. **99** (5) : 714-722.
- Adebisi R.A., Elsa A.T., Agaie B.M., et Etuk E.U. (2006). Antinociceptive and antidepressant like effects of *Securidaca longepedunculata* root extract in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **107**: 234–239.
- Adedapo A. A., Jimoh F. O., Afolayan A. J. et Masika P. J. (2009). Antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Celtis africana*. *Records of Natural Products*. **3**(1) : 23-31.
- Adeyemi O. B., Onasanya A., Anadozie S. O., Abu M. F., Akintan I. A., Ogbole C. J., Olayide I., Afolabi O.B., Jaiyesimi K.F., Ajiboye B.O. et Fadaka A. O. (2016). Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extract of *Crassocephalum rubens* leaves in rats. *Journal of ethnopharmacology*. **188** : 153-158.
- Adeyemi O. O., Yemitan O. K. et Afolabi L. (2008). Inhibition of chemically induced inflammation and pain by orally and topically administered leaf extract of *Manihot esculenta* Crantz in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. **119**(1) :6-11.
- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P. et Lomri A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*. **74**(7) :636-643.
- Ahmad S. Sharma R. Mahajan S. et Gupta A. (2012). Antibacterial activity of *Celtis australis* by *in vitro* study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **4**(2): 629-631.
- Akkol E. K., Arif R., Ergun F. et Yesilada E. (2009). Sesquiterpene lactones with antinociceptive and antipyretic activity from two *Centaurea* species. *Journal of Ethnopharmacology*. **122**(2):210-215.
- Alabri T.H.A., Al Musalami A.H.S., Hossain M.A., Weli et A.M. et Al-Riyami Q.(2014). Comparative study of phytochemical screening antioxidant and antimicrobial capacities of fresh and dry leaves crude plant extracts of *Datura metel* L. *Journal of King Saud University Science*. **26** :237-243.

Alam M. S., Kaur G., Jabbar Z., Javed K. et Athar M. (2007). *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity. *Food and Chemical Toxicology*. **45** (6) : 910-920.

Ali-Shtayeh M. S., Yaghmour R. M. R., Faidi Y. R., Salem K. et Al-Nuri M. A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*. **60** (3): 265-271.

Al-Turki A.I. (2007). Antibacterial effect of thyme peppermint sage black pepper and garlic hydrosols against *Bacillus subtilis* and *Salmonella enteritidis*. *Journal of Food Agriculture and Environment*. **5**(2): 92-94.

Amić D., Davidović-Amić D., Bešlo D. et Trinajstić N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica acta*. **76** (1): 55-61.

Aneja K.R., Sharma C. et Joshi R. (2011). *In vitro* efficacy of amaltas (*Cassia fistula* L.) against the pathogens causing otitis externa. *Jundishapur Journal of Microbiology*. **4**(3): 175-183.

Antunes L. C., Visca P. et Towner K. J. (2014). *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathogens and disease*. **71**(3): 292-301.

Armougom, P. R. (1998). Etude de la fraction lipidique des graines de Cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Ashley N. T., Weil Z. M. et Nelson R. J. (2012). Inflammation : mechanisms costs and natural variation. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. **43** : 385-406.

Ashok Kumar B.S., Lakshman K. et Jayaveera K.N. (2011). Comparative antipyretic activity of methanol extracts of some species of *Amaranthus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **1**: 47-50.

Askun T., Tumen G., Satil F. et Ates M. (2009). *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chemistry*. **116**(1) :289-294

Asongalem E.A., Foyet H.S., Ngogang J., Folefoc G.N., Dimo T. et Kamtchouing P. (2004). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Erigeron floribundus*. *Journal of Ethnopharmacology*. **91** :301-308.

Awaad A.S., El-Meligy R.M., Qenawy S.A., Atta A.H. et Soliman G.A. (2011). Anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of some desert plants. *Journal of Saudi Chemical Society*. **15** :367-373.

Aymeric J.L. et Le Franc G. (2009). Immunologie humaine. *De Boeck* (Ed). Bruxelles, 136 p.

Azab A., Nassar A. et Azab A. N. (2016). Anti-Inflammatory activity of natural products. *Molecules*. **21**(1321) :1-19.

B

Babar Ali M., Hahn E. et Paek K.Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*. **12** :607-621.

Badoni R., Semwal D. K. et Rawat U. (2010). Fatty acid composition and antimicrobial activity of *Celtis australis* L. fruits. *Journal of Scientific Research*. **2**(2) :397-402.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M. et Gazin M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Drug Research*. **46** : 1086-1089.

Balansard G. (1990). Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés antibactérienne ou antiparasitaire. In *Actes du 1er Colloque Européen d'Ethnopharmacologie Metz*. **22**(25) : 229-241.

Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity occurrence and potential uses. *Food Chemistry*. **99**(1) :191-203.

Barata A.M., Rocha F., Lopes V. et Carvalho A.M. (2016). Conservation and sustainable uses of medicinal and aromatic plants genetic resources on the worldwide for human welfare. *Industrial Crops and Products*. **88** :8-11.

Batista J. A., Dias E. G. N., Brito T. V., Prudêncio R. S., Silva R. O., Ribeiro R. A., Souza M. H. L. P., De Paula R. C. M., Feitosa J. P. A., Chaves L. S., Melo M. R. S., Freitas A. L. P., Medeiros J. V. R. et Barbosa A.L.R. (2014). Polysaccharide isolated from *Agardhiella ramosissima*: Chemical structure and anti-inflammation activity. *Carbohydrate Polymers*. **99** : 59-67.

Battaglia E., Benoit I., Van Den Brink J., Wiebenga A., Coutinho P. M., Henrissat B. et De Vries R. P. (2011). Carbohydrate-active enzymes from the zygomycete fungus *Rhizopus oryzae*: a highly specialized approach to carbohydrate degradation depicted at genome level. *BioMed Central Genomics*. **12**: 2-12.

Baydar N. G. et Baydar H. (2013). Phenolic compounds antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products*. **41** : 375-380.

- Béahdy J. (1974). Recent developments of antibiotic research and classification of antibiotics according to chemical structure. *Advances in applied microbiology*. **18** : 309-406.
- Benbrook C. M. (2005). Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *The Organic Center for Education and Promotion*. **45**.
- Benmeddour Z., Mehinagic E., Le Meurlay D. et Louaileche H. (2013). Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars: a comparative study. *Journal of Functional Foods*. **5**(1) : 346-354.
- Bes M. et Brun Y. (2002). *Staphylococcus*: actualités taxonomiques et identification. *Revue Francaise des Laboratoires*. **343** : 23-30.
- Blamey M. et Grey-Wilson C. (2000). Toutes les fleurs de Méditerranée: les fleurs les graminées les arbres et arbustes. *Edition Delachaux et Niestlé* (Ed). Suisse, 560 p.
- Blétry O., Kahn J.E. et Somogyi A. (2006). Immunopathologie réaction inflammation. *Masson* (Ed). Paris, 375 p.
- Block L.C., Santos A.R., De Souza M.M., Scheidt C., Yunes R.A., Santos M.A., Monache F.D. et Filho V.C. (1998). Chemical and pharmacological examination of antinociceptive constituents of *Wedelia paludosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. **61** : 85-89.
- Bock B. (2005). Base de données nomenclaturale de la flore de France. **4** : 02-27
- Bohm B.A. et Stuessy T.F. (2001). *Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae)*. *Springer Science and Business Media* (Ed). Austria, 831p.
- Boulekbache-Makhlouf L., Slimani S. et Madani K. (2013). Total phenolic content antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*. **41** : 85-89.
- Bourkhiss M. B., Hnach M., Paolini J., Costa J., Farah A. et Satrani B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*. **79** : 141 - 154
- Boussemart T., Piet-Duroux S., Manouana M., Azi M., Perez J. M. et Port-Lis M. (2004). *Morganella morganii* et infection materno-fœtale. *Archives de pédiatrie*. **11**(1) : 37-39.
- Bouyahya A., Abrini J., Et-Touys A., Bakri Y., Dakka N. Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities. *European Journal of Integrative Medicine*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2017.06.004>.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. et Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology*. **28**(1) : 25-30

Brondani J. C., Reginato F. Z., Da Silva Brum E., De Souza Vencato M., Lhamas C. L., Viana C., Marques da Rocha M. I. U., de Freitas Bauermann L. et Manfron M. P. (2017). Evaluation of acute and subacute toxicity of hydroethanolic extract of *Dolichandra unguis-cati* L. leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **202**: 147-153.

Brosse J. (2000). Larousse des arbres et des arbustes. *Larousse* (Ed). Paris, 576 p.

Brunner L.S., Suzanne C., Smeltzer. Suddarth D.S. et Bare B. (2006). Soins infirmiers en médecine et en chirurgie. *De Boeck* (Ed). Paris, 744 p.

Bruyère F., Cariou G., Boiteux J. P., Hoznek A., Mignard J. P., Escaravage L.L., Bernard L., Sotto A., Soussy C.J. et Coloby P. (2008). Généralités. *Progrès en urologie*. **18** : 4-8.

C

Carino-Cortés R., Gayosso-De-Lucio J.A., Ortiz M.I., Sánchez- Gutiérrez M., García-Reyna P.B., Cilia-López V.G., Pérez- Hernández N., Morena E. et Ponce-Monter H. (2010). Antinociceptive genotoxic and histopathological study of *Heliopsis longipes* S.F. Blake in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **130** : 216-221.

Carlson R. P., Chang J. et Lewis A. J. (1985). Modulation of mouse ear edema by cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. *Agents and actions*. **17**(2) : 197-204.

Catarino M. D., Talhi O., Rabahi A., Silva A. M. S. et Cardoso S. M. (2016). The Anti-inflammatory Potential of Flavonoids: Mechanistic Aspects. *Studies in Natural Products Chemistry*. **48** : 65-99.

Cattoir V. et Daurel C. (2010). Quelles nouveautés en antibiothérapie?. *Médecine et maladies infectieuses*. **40**(3): 135-154.

Ćavar S., Maksimović M., Vidic D. et Parić A. (2012). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial Crops and Products*. **37**(1) : 479-485.

Celiktas O. Y., Kocabas E. H., Bedir E., Sukan F. V., Ozek T. et Baser K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*. **100**(2) : 553-559.

Çelik S. E., Özyürek M., Güçlü K. et Apak R. (2010). Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC ABTS/persulphate and FRAP methods. *Talanta*. **81** : 1300-1309.

Chabbert, Y. A. (1982). Sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Bactériologie médicale. *Flammarion*. Paris, 204-212 p.

Chabasse D., Pihet M. et Bouchara J. P. (2009). Émergence de nouveaux champignons pathogènes en médecine: revue générale. *Revue francophone des laboratoires*. **416** : 61-71.

- Chahed A., China B. et Daube G.(2007). Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines dans les toxi-infections d'origine alimentaire. *Annales de Medecine Veterinaire*. **151** :215-246.
- Chain E., Florey H.W., Garner A.D., Heatley N.G., Jennings M.A., Orr-Ewing J. et Sanders A.G. (1940). Penicillin as a chemotherapeutic agent. *Lancet*. **232** :226-228.
- Chanda S. Et Dave R. (2009). *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*. **3**(13) :981-996.
- Chellaram C., Parthasarathy V., Praveen M. M., John A. A., Anand T. P., Priya G. et Kesavan D. (2014). Analysis of phenolic content and antioxidant capacity of potato *Solanum tuberosum* L. from Tamilnadu Region India. *Asia-Pacific Chemical, Biological and Environmental Engineering Society Procedia*. **8**:105-108
- Chikhi I., Allali H., Dib M.E., Medjdoub H.etTabti B. (2014). Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L. (*Chenopodiaceae*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of TropicalDisease*.**4**(3) :181-184.
- Chugh C.A., Mehta S. et Dua H. (2012).Phytochemical screening and evaluation of biological activities of some medicinal plants of Phagwara Punjab. *Asian Journal of Chemistry*.**24** : 5903-5905.
- Cillard J. et Cillard P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux corps gras lipides*. **13**(1) 24-29.
- Clos J. (2012). Immunité chez les animaux et les végétaux. *Lavoisier* (Ed) . Paris, 432 p.
- Cohen A. et Belmatoug N. (2002). Cœur et médecine interne. *Estem* (Ed). Paris, 1341 p.
- Coisin M., Burzo I., Stefan M., Rosenhech E. etZamfirache M. M. (2012).Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three *Salvia* species widespread in eastern Romania. *Biologie Vegetala*. **58**(1) : 51-58.
- Collier H.O.J., Dinneen L.C., Johnson C.A.et Schneider C.(1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journalof Pharmacology and Chemotherapy*.**32**:295-310.
- Cornara L., La Rocca A., Marsili S.et Mariotti M.G. (2009).Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria Italy). *Journal of Ethnopharmacology*.**125**:16-30.
- Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. **12**(4) : 564-582.
- Cushnie T. T. et Lamb A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*. **26**(5) :343-356.

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. *Yves Dacosta* (Ed). Paris, 317 p.

Dada-Adegbola H. O., Oluwatoba O. A., Adebisi O. E. et Odikagbue A. N. (2010). *In vitro* evidence of anti-infective activity of crude aqueous extract obtained by boiling ripe stem-bark of *Bridelia ferruginea* Benth. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. **2**(4) : 43-48.

Dancer S. J. (2004). How antibiotics can make us sick: the less obvious adverse effects of antimicrobial chemotherapy. *The Lancet infectious diseases*. **4**(10) : 611-619.

Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2016) Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien . *Journal of Materials and Environmental Science*. **7** (3) : 926-935.

Das N., Goshwami D., Hasan M. S. et Raihan S. Z. (2015). Evaluation of acute and subacute toxicity induced by methanol extract of *Terminalia citrina* leaves in Sprague Dawley rats. *Journal of Acute Disease*. **4**(4) : 316-321.

Deby-Dupont G., Deby C. et Lamy M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*. **11**(1) :28-39.

De Franco A., Robertson M. et Locksley R. (2009). Immunité: la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. *Deboeck* (Ed). Bruxelles, 400 p.

Delaporte R. H., Sarragiotto M. H., Takemura O. S., Sanchez G. M. et Nakamura C. V. (2004). Evaluation of the antioedematogenic free radical scavenging and antimicrobial activities of aerial parts of *Tillandsia streptocarpa* Baker–*Bromeliaceae*. *Journal of ethnopharmacology*. **95**(2) : 229-233.

Delves P.J., Burton D. R., Martin S. J. et Roitt I. M. (2008). Les fondements de l'immunologie. *De Boeck* (Ed). Bruxelles, 496 p.

Demir F., Dogan H., Ozcan M. et Haciseferogullari H. (2002). Nutritional and physical properties of Hackberry. *Journal of Food Engineering*. **54**: 241-247.

De Moüy D., Cavallo J. D., Weber P. et Fabre R. (2001). Détection et surveillance épidémiologique des résistances bactériennes aux antibiotiques en milieu communautaire. *Revue Française des Laboratoires*. **335**: 31-36.

Develoux M. et Bretagne S. (2005). Candidoses et levures diverses. *Elsevier Masson Consulte-Maladies infectieuses*. **2**(3) : 119-139.

Diallo A., Eklou-Gadegkeku K., Agbonon A., Aklilokou K., Creppy E.E. et Gbeassor M. (2010). Acute and sub-chronic (28-day) oral toxicity studies of hydroalcohol leaf extract of

Ageratum conyzoides L. (Asteraceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. **9** (5) :463- 467.

Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K. et Maïga A. (2004). Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Compte rendu Chimie*.**7**(10) : 1073-1080.

Dimitrios B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*. **17** : 505-512.

Djabali S. et M. Barkat (2012). Effet Des Extraits Polyphenoliques Sur La Resistance A L'infestation Fongique Dans Le Grain D'haricot Sec. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*.**6**(2): 174-191

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*. **97** : 654-660.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J.F.etStocker P. (2007).Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. **224**:801-809.

Dohou R., Yamni K., Tahrouch S., Hassani L. I., Badoc A. et Gmira N. (2003).Screening phytochimique d'une endémique ibero-marocaine *Thymelaea lythroides*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*. **142** : 61-78.

Doléans-Jordheim A., Michalet S., Bergeron E., Boisset S., Souard F., Dumontet C.,Dijoux-Franca M.G. et Freney J. (2008). Les phénomènes de résistance aux antibiotiques liés aux pompes à efflux: exemple de *Staphylococcus aureus*. In *Annales de Biologie Clinique*. **66** (5) : 499-508.

Dongmo A.B., Nguenefack T., Lacaille-Dubois M.A. (2005). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Acacia pennata* wild (Mimosaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. **98**:201-206.

E

Ebrahim G. J. (2010). Bacterial resistance to antimicrobials. *Journal of tropical pediatrics*. **56**(3): 141-143.

El-Agamey A., Lowe G. M., McGarvey D. J., Mortensen A., Phillip D. M., Truscott T. G. et Young A. J. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*. **430**(1) : 37-48.

El-Alfy T. S., El-Gohary H., Sokkar N. M., Hosny M. et Al-Mahdy D. A. (2011). A new flavonoid C-glycoside from *Celtis australis* L. and *Celtis occidentalis* L. leaves and potential antioxidant and cytotoxic activities. *Scientia pharmaceutica*. **79** (4):963-975.

Elmastaş M., Gülçin I., Işildak Ö., Küfrevioğlu Ö. İ., İbaoğlu K. et Aboul-Enein H. Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*. **3**:258-266.

El Youbi A. E. H., Bousta D., Ouahidi I. et Aarab L. (2010). Criblage pharmacologique primaire d'une plante endémique originaire du Sud Marocain (*Tetraena gaetula* [Emb. et Maire] Beier et Thulin). *Comptes Rendus Biologie*. **333** (10) : 736-74.

Essawi T. et Srour M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. **70** (3) : 343-349.

F

Fablet C. et Madec F. (2009). Protéines de la phase aigüe de l'inflammation chez le porc: Interet en santé animale et en sante publique vétérinaire. *Revue de Medecine Veterinaire*. **160**(1) : 28.

Favier A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. In *Annales de biologie clinique*. **55**(1):9-16.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs and their biological activities. *Comptes Rendus Biologie*. **331**(5) : 372-379.

Fazeli M. R., Amin G., Ahmadian-Attari M. M., Ashtiani H., Jamalifar H. et Samadi N. (2007). Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control*. **18**: 646-649.

Fernández-Reyes M., Rodríguez-Falcón M., Chiva C., Pachón J., Andreu D. et Rivas L. (2009). The cost of resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii*: a proteomic perspective. *Proteomics*. **9**(6): 1632-1645.

Ferreira L.C., Grabe-Guimaraes A., De Paula C.A., Michel M.C., Guimaraes R.G., Rezende S.A., de Souza Filho J.D. et Saude- Guimaraes D.A. (2013). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Campomanesia adamantium*. *Journal of Ethnopharmacology*. **145**:100-108.

Fleming A. (1929). On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium* with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British journal of experimental pathology*. **10**(31): 226-236.

Flandrois J. P. (1997). Bactériologie médicale. Azay (Ed). Lyon, 309 p.

Frankel E.N.et Meyer A.S.(2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **80** : 1925-1940.

Fröde T.S., Souza G.E.et Calixto J.B. (2001). The modulatory role played by TNF-alpha and IL-1beta in the inflammatory response induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. *Cytokine*. **13**:162-168.

Furtado A. A., Torres-Rêgo M., Lima M. C., Bitencourt M. A., Estrela A. B., Souza da Silva N., da Silva Siqueira E. M., Tomaz J.C., Lopes N P, Silva-Júnior A. A., Zucolotto S. M., Fernandes-Pedrosa M. F. (2016). Aqueous extract from *Ipomoea asarifolia* (*Convolvulaceae*) leaves and its phenolic compounds have anti-inflammatory activity in murine models of edema, peritonitis and air-pouch inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*. **192**:225-235.

Fusté E., López-Jiménez L., Segura C., Gainza E., Vinuesa et T.Viñas M. (2013). Carbapenem-resistance mechanisms of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of medical microbiology*. **62**: 1317-1325.

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A. et Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. **102**(3) :898-904.

García-Ruiz A., Bartolomé B., Martínez-Rodríguez A. J., Pueyo E., Martín-Álvarez P. J. et Moreno-Arribas M. V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. **19**(9) :835-841.

Gordon M. H. (1990). The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In *Food antioxidants*, Springer (Ed), Netherlands, p.

Gouilly P. et Petitdant B. (2006). Comprendre la kinésithérapie en rhumatologie. *Elsevier Masson* (Ed). Paris, 318 p.

Goulart S., Moritz M.I., Lang K.L., Liz R., Schenkel E.P. et Frode T.S. (2007). Anti-inflammatory evaluation of *Solidago chilensis* Meyen in a murine model of pleurisy. *Journal of Pharmacology*. **113**:346-353.

Gouldthorpe, Jonah. & Tasmania. Department of Primary Industries, Water and Environment. Nature Conservation Branch. (2002). *Tasmanian weed status report : Mediterranean daisy (Urospermum dalechampii)*. Hobart, Tas : Nature Conservation Branch, Dept. of Primary Industries, Water and Environment.

Grey-Wilson C. et Balmey M. (2000). Toutes les fleurs, les graminées, les arbres et arbustes. Delachaux et Niestlé (Ed). Suisse, 560p.

Guarrera P. M. (2003). Food medicine and minor nourishment in the folk traditions of Central Italy (Marche Abruzzo and Latium). *Fitoterapia*. **74**(6) : 515-544.

Guesmi A. et Boudabous A. (2006). Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les échantillons de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*.**1**: 224-230.

Guide illustré de la flore algérienne (2012). Imprimerie Moderne de l'Est (Ed). Paris, 96 p.

Guillot J. F. (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. In *Annales de recherches vétérinaires*. **20** : 3-16.

Gülçin I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*. **86**(3) :345-391.

Gebhart G. F. Schmidt R. F. (2013). Inflammation. *Encyclopedia of Pain*. Springer-Verlag (Ed). Berlin,1611 p.

H

Habib M., Waheed I. (2013). Evaluation of antinociceptive anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanol extract. *Journal Ethnopharmacology*.**145**:18-24.

Haghparast S., Shabanpour B., Kashiri H., Alipour G.etSodagar M.(2013). A comparative study on antioxidative properties of carameled reducing sugars, inhibitory effect on lipid oxidative and sensory improvement of glucose carameled products in shrimp flesh. *Journal of Agricultural Science and Technology*. **15**:87-89.

Halliwell B.etWhiteman M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal Pharmacology*. **142**:231-255.

Harris L. G., Foster S. J. etRichards R. G. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus* and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *European Cells et Materials Journal*.**4**(3).

Hart T. et Shears P. (1997). Atlas de poche de microbiologie. *Flammarion* (Ed., Paris, 310p.

Hasani P., Yasa N., Vosough-Ghanbari S., Mohammadirad A., Dehghan G. et Abdollahi M. (2007). *In vivo* antioxidant potential of *Teucrium polium* as compared to α -tocopherol. *Acta pharmaceutica*. **57** : 123-129.

Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M.et Hamdi M.(2007).The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*.**105**:1126-1134.

Hejazi A. et Falkiner F. R. (1997). *Serratia marcescens*. *Journal of Medical Microbiology*. **46**(11) :903-912.

Heimler D., Vignolini P., Giulia Dini M., Francesco Vincieri F. et Rmani A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local *Brassicaceae* edible varieties. *Food Chemistry*. **99**:464-469.

Hernández-Lauzardo A. N., Bautista-Baños S., Velázquez-Del Valle M. G. et Trejo-Espino J. L. (2006). Identification of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. causal agent of Rhizopus rot disease of fruits and vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología*. **24**(1) :65-69.

Hindumathy C. K. (2011). *In vitro* study of antibacterial activity of *Cymbopogon Citratus*. *World Academy of Science Engineering and Technology*. **5**(2) :48-52.

Homberg J.C. (1999). Immunologie fondamentale: 2e cycle des études de médecine de pharmacie et d'odontologie. *Estem* (Ed). Paris, 215 p.

Hossain M. A., AL-Raqmi K. A. S., AL-Mijizy Z. H., Weli A. M. et Al-Riyami Q. (2013). Study of total phenol flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*. **3**(9) :705-710.

Hussien J., Teshale C. et Mohammed J. (2011). Assessment of the antimicrobial effects of some Ethiopian aromatic spice and herb hydrosols. *International Journal of Pharmacology*. **7**: 635-640.

I

Imelouane B., El Bachiri A., Ankit M., Khedid K., Wathelet J.P. et Amhamdi H. (2010). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Morocco. *The Banat's Journal of Biotechnology*. **1** : 48-55.

Islam T., Yu X. et Xu B. (2016). Phenolic profiles antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China. *LWT-Food Science and Technology*. **72** :423-431.

Iwalewa E. O., McGaw L. J., Naidoo V. et Eloff J. N. (2007). Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*. **6**(25).

J

Jaggi N., Sissodia P. et Sharma L. (2012). *Acinetobacter baumannii* isolates in a tertiary care hospital: Antimicrobial resistance and clinical significance. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*. **2**(2).

Janaszewska A. et Bartosz G. (2002). Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. **62**: 231-236.

Janeway C. et Travers P. (1999). Host defense against infection in: Walport M. Capra J. (Eds.). In: Immunobiology: the immune system I health and disease. *Garland Publishing* (Ed), New York, 363-415 pp.

Janeway C.A. Traves P. Walport M. Shlomchik M.J. (2003). Immunobiologie: le système immunitaire fondamental et pathologique. Deboeck (Ed). Paris, 782 p.

Jans B., Glupczynski Y., Suetens C. et Van Cleemput E. (2004). Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter baumannii* producteur de BLSE (type VEB-1) en Belgique. *Institut Scientifique de la Santé Publique*.

Jean, G. (2013). Ils ont domestiqué plantes et animaux: Prélude à la civilisation. Quae (Ed). France, 453 p.

Jones W.P., et Kinghorn A.D. (2005). Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Natural Products Isolation. Humana Press, New Jersey. 20: 323-351.

Jood S., Kapoor A.C. et Singh R. (1995). Polyphenol and phytic acid contents of cereal grains as affected by insect infestation. *Journal Agriculture Food Chemistry*. **43**:435-438.

Joshi S. G. et Litake G. M. (2013). *Acinetobacter baumannii*: An emerging pathogenic threat to public health. *The World Journal of Clinical Infectious Diseases*. **3**: 25-36.

K

Kahkonen M.P., Hopia A.I., Heikki J.V., Rauha J.P., Pihlaja K. et Kujala T.S. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal Agriculture. Food Chemistry*. **47** : 3954-3962.

Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L. et Vergnes M. F. (2008). Étude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*. **6**(3) : 160-164.

Kang D. G. keun Yun C. Lee H. S. (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*. **87**(2): 231-236.

Kantari C., Pederzoli-Ribeil M. et Witko-Sarsat V. (2008). Role of neutrophils and monocytes in innate immunity. *Contributions to microbiology*. **15**: 118-146.

- Karaman I., Şahin F., Güllüce M., Ögütçü H., Şengül M. et Adıgüzel A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. **85**(2) : 231-235.
- Kaper J. B., Nataro J. P. et Mobley H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. **2**(2): 123-140.
- Kempf I. et Zeitouni S. (2012). The cost of antibiotic resistance: analysis and consequences. *Pathologie-biologie*. **60**(2) : 9-14.
- Kempf I. et Jouy E. (2012). Coût biologique et évolution de la résistance aux antibiotiques. *Bulletin épidémiologique santé animale et alimentation*(**53**).
- Khorasani Esmaeili A., Mat Taha R., Mohajer S. et Banisalam B. (2015). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from *in vivo* and *in vitro* grown *Trifolium pratense* L. (red clover). *BioMed research international*.
- Kifayatullah M., Mustafa M.S., Sengupta P., Sarker M. M.R., Das A. et Das S.K. (2015). Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the ethanolic extract of *Pericampylus glaucus* (Lam.) Merr. in BALB/c mice. *Journal of Acute Disease*. **4**(4) :309-315.
- Kiruba S., Mahesh M., Paul Z. M. et Jeeva S. (2011). Preliminary phytochemical screening of the pericarp of *Crataeva magna* (Lour.) DC. - a medicinal tree. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **1**(1) : 129-130 p.
- Koehlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. **20**(4) : 165-177.
- Kotanidou A., Xagorari A., Bagli E., Kitsanta P., Fotsis T. et Papapetropoulos A. (2002). Luteolin reduces lipopolysaccharide-induced lethal toxicity and expression of proinflammatory molecules in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. **165** :818-823.
- Kroyer G. T. (2004). Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science et Emerging Technologies*. **5**(1) :101-105.
- Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A. et Abdelly C. (2008). Influence of biological environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*. **331**:865-873.
- Ktari S., Mahjoubi F., Mnif B., Kallel H., Bouaziz M. et Hammami A. (2010). Investigation de trois épidémies d'infections nosocomiales à *Serratia marcescens* survenues dans le service de réanimation-CHU de Sfax Tunisie. *La Tunisie Médicale*. **88** (07) : 501 – 506.

Kukić J., Popović V., Petrović S., Mucaji P., Ćirić A., Stojković D. et Soković M. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. *Food Chemistry*. **107**(2) :861-868.

Kumar K. S., Ganesan K. et Rao P. S. (2008). Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—An edible seaweed. *Food chemistry*. **107**(1) :289-295.

Kurdelas R. R., Lima B., Tapia A., Egly Feresin G., Gonzalez Sierra M., Rodríguez M., Zacchino S., Enriz R.D. et Freile M. L. (2010). Antifungal activity of extracts and prenylated coumarins isolated from *Baccharis darwinii* Hook et Arn. (*Asteraceae*). *Molecules*. **15**(7) : 4898-4907.

L

Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F. et Samuel J. (2007). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. *John Libbey Eurotext* (Ed). Paris, 677 p.

Laib I. (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Revue Nature et Technologie*.44-52.

Lapointe (2004). Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec. Direction des communications et Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec. Service du répertoire toxicologique. *Notions de toxicologie*. Montréal: Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Latruffe N. (2017). Natural Products and Inflammation. *Molecules*. **22**(1) :120.

Lauwers *et al.*, (2007). Définition d'un toxique et formes d'intoxication. Disponible sur : http://uved.univnantes.fr/GRCPB/sequence3/html/chap1_part4_1.html (Consulté le : 06/09/2017).

Le K., Chiu F. et Ng K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*.**105**:353-363.

Le bars D., Gozariu M. et Cadden S.W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacology Revue*.**53**:597-652.

Le Gal. M et Favoro. C. (2012). Les 6 processus physiopathologiques de la situation clinique à la prise en charge du patient. *Deboeck Estem* (Ed), 581 p.

Le Gal M et Jeanguiot N. (2010). Comprendre une situation clinique par l'anatomie-physiologie: Pour faire le lien entre processus physiopathologiques et prise en charge du patient. *Estem* (Ed). Paris, 536 p.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. et Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. **102**:771-776.

Li Z.P., Hu J.F., Sun M.N., Ji H.J., Zhao M., Wu D.H., Li G.Y, Liu G. et Chen N.H. (2011). Effect of compound IMMLG5521 a novel coumarin derivative on carrageenan-induced pleurisy in rats. *European Journal of Pharmacology*. **661**:118-123.

Lin C. C., Yang C. H., Wu P. S., Kwan C. C. et Chen Y. S. (2011). Antimicrobial anti-tyrosinase and antioxidant activities of aqueous aromatic extracts from forty-eight selected herbs. *Journal of Medicinal Plants Research*. **5**(26) :6203-6209.

Lioté F. (2011). Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du rhumatisme*. **78** : 122-128.

Liu H., Cao J. et Jiang W. (2015). Evaluation and comparison of vitamin C phenolic compounds antioxidant properties and metal chelating activity of pulp and peel from selected peach cultivars. *LWT-Food Science and Technology*. **63**(2) :1042-1048.

Liyana-Pathirana C.M.etShahidi F. (2006). Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **86**:477-485.

Locatelli M., Travaglia F., Coisson J. D., Martelli A., Stevigny C. et Arlorio M. (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*. **119**(4) : 1647-1655.

Loizzo M. R., Tundis R., Bonesi M., Menichini F., Mastellone V., Avallone L. et Menichini F. (2012).Radical scavenging antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill.(Cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. *Journal of Food Composition and Analysis*. **25**(2) :179-184.

Longo F., Vuotto C. et Donelli G. (2014). Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiologica*. **37**(2): 119-127.

Lotito S. B. et Frei B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause consequence or epiphenomenon?. *Free Radical Biology and Medicine*. **41** : 1727-1746.

Luchese C., Prigol M., Duarte M.M., Nogueira C.W. (2012). Diphenyl diselenide reduces inflammation in the mouse model of pleurisy induced by carrageenan: reduction of pro-inflammatory markers and reactive species levels. *InflammationResearch*. **61**:1117-1124.

Lu H. M., Liang Y. Z., Yi L. Z. et Wu X. J. (2006). Anti-inflammatory effect of *Houttuynia cordata* injection. *Journal of Ethnopharmacology*. **104** : 245-249.

Lu M., Yuan B., Zeng M. et Chen J. (2011). Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Research International*. **44**(2) : 530-536.

M

Macáková K., Kolečkář V., Cahlíková L., Chlebek J., Hošťálková A., Kuča K., Jun D. et Opletal L. (2014). Tannins and their Influence on Health. *Recent Advances in Medicinal Chemistry*. **1**:159-208

Magni D. et Caudullo G. (2016). *Celtis australis* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species*.

Makhloufi A., Bouyahyaoui A., Seddiki N., Benlarbi L., Mebarki L. et Boulanouar A. (2014). Phytochemical screening and anti-listerial activity of essential oil and crude extracts from some medicinal plants growing wild in Bechar (South west of Algeria). *International Journal of Phytotherapy*. **4**(2) : 95-100.

Male D. (2005). Immunologie: Aide-mémoire illustré. *De Boeck* (Ed). Bruxelles, 160 p.

Malone, M.H. et Robichaud, R.C., 1962. A Hippocratic screen for pure or crude drug materials. *Lloydia*, **25** (4): 320–332.

Manian R., Anusuya N., Siddhuraju P. et Manian S. (2008). The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus Bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem*. **107** : 1000-1007.

Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. et Kefalas P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. **89**:411-420.

Marco J., Sanz-Cervera J.F., Yuste A. et Oriola M.C. (1994). Sesquiterpene lactones and dihydroflavonols from *Andryala* and *Urospermum* species. *Phytochemistry*. **36**(3) : 725-729.

Marsolais D. et Frenette J. (2005). Inflammation et réparation tendineuse. *Médecine Sciences Revues*. **21**(2) : 181-186.

Marston A. et Hostettmann K. (2006). Separation and quantification of flavonoids. In: *Flavonoids: Chemistry biochemistry and applications*. 1-36.

Matsui T.C., Coura G.M.E., Melo I.S.F., Batista C.R.A., Augusto P.S.A., Godin A.M., Araújo D.P., César I.C., Ribeiro L.S., Souza D.G., Klein A., de Fátima Â., Machado R.R., Coelho M.M. (2015). Nicorandil inhibits neutrophil recruitment in carrageenan-induced experimental pleurisy in mice. *European Journal of Pharmacology*. **769**:306-312.

Megdiche-Ksouri W., Trabelsi N., Mkadmini K., Bourgou S., Noumi A., Snoussi M., Barbria R., Tebourbi O. et Ksouri R. (2014). *Artemisiacampestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*. **63**:104-113.

Meir S., Kanner J., Akiri B. et Philosoph-Hadas S. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*. **43**(7) :1813-1819.

Mérens A., Janvier F., Vu-Thien H., Cavallo J. D. et Jeannot K. (2012). Phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia cepacia*. *Revue Francophone des Laboratoires*. (445) : 59-74.

Merken H. M. et Beecher G. R. (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**(3) : 577-599.

Meyer A., Deiana J. et Bernard A. (2004). Cours de microbiologie avec problèmes et exercices corrigés. *Doin* (Ed). 430 p.

Michel M. C. (2013). Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé: quel antibiotique choisir?. *Pharmactuel*. **46**(1).

Middleton E., Kandaswami C. et Theoharides T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation heart disease and cancer. *Pharmacological reviews*. **52**(4) : 673-751.

Milton A. S. (1982). Prostaglandins and fever. *Trends in pharmacological sciences*. **3**: 490-492.

Mišan A., Mimica-Dukić N., Mandić A., Sakač M., Milovanović I. et Sedej I. (2011). Development of a rapid resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolic compounds in crude plant extracts. *Central European Journal of Chemistry*. **9**(1) : 133-142.

Mohammedi Z. et Atik F. (2012). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue Nature et Technologie*. **6**:34-39.

Moore A.R. (2003). Pleural models of inflammation. In: Totowa V. Ed., *Inflammation protocols*. Humana Press (Ed), New Jersey. **225**: pp123-128.

Moure A., Cruz J. M., Franco D., Domínguez J. M., Sineiro J., Domínguez H., Nunez M. J., Parajó J. C., (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*. **72**(2):145-171.

Muanda F. N. (2010). Identification de polyphénols évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Metz.

Muhammad N., Saeed M., Khan H., Raziq N. et Halimi S.M.A. (2013). Antipyretic and anticonvulsant activity of *n*-hexane fraction of *Viola betonicifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **3**(4) : 280-283

Muylaert A. et Mainil J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques les mécanismes et leur contagiosité. In : *Annales de Médecine Vétérinaire*. **1561** : 09-123.

N

Nardi G.M., Siqueira Junior J.M., Delle Monache F., Pizzolatti M.G., Ckless K. et Ribeiro-do-Valle R.M. (2007). Antioxidant and anti-inflammatory effects of products from *Croton celtidifolius* Bailon on carrageenan-induced pleurisy in rats. *Phytomedicine*. **14**: 115-122.

Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C. et Perumal G. (2005). Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*. A rare medicinal herb. *Journal of Ethnopharmacology*. **102**: 123-126.

Nations Unies, (2009). Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH), 3^eme édition révisée. *Genève et New York*. 611 p.

Ncube N. S., Afolayan A. J. et Okoh A. I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*. **7**(12) : 1797-1806

Nebel S., Pieroni A. et Heinrich M. (2006). Ta chòrta: wild edible greens used in the Graecanic area in Calabria Southern Italy. *Appetite*. **47**(3) : 333-342.

Nejjah F., Ouhssine M., Srhiri A. A., El Yachioui M. et Hajjaji N. (2006). Activité inhibitrice de la N-hexadecylbetaine sur *Staphylococcus aureus*. *Bulletin-société de pharmacie de Bordeaux*. **145**(85) : 1-4.

Ngameni B., Kuete V., Simo I. K., Mbaveng A. T., Awoussong P. K., Patnam R., Roy R. et Ngadjui B. T. (2009). Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (*Moraceae*). *South African Journal of Botany*. **75**(2) : 256-261.

Nguemfo E.L., Dimo T., Azebaze A.G.B., Asongalem E.A., Alaoui K., Dongmo A.B., Cherrah Y. et Kamtchouing P. (2007). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* STANER L.C. (*Guttiferae*). *Journal of Ethnopharmacology*. **114**: 417-424.

Nikolova M. et Dzhurmanski A. (2009). Evaluation of free radical scavenging capacity of extracts from cultivated plants. *Biotechnology et Biotechnological Equipment*. **23**(1) : 109-111.

Nisar M., Khan I., Simjee S.U., Gilani A.H. et Obaidullah Perveen H. (2008). Anticonvulsant analgesic and antipyretic activities of *Taxus wallichiana* Zucc. *Journal of Ethnopharmacology*. **116**(3) : 490- 494.

Njoku V.O., Obi C. et Onyema O.M. (2013). Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *African journal of biotechnology*. **10** : 15020-15024.

Nuutila A. M., Puupponen-Pimiä R., Aarni M. et Oksman-Caldentey K. M. (2003). Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food chemistry*. **81**(4) :485-493.

O

Omer M.E.F.A. et Elnima E.I. (2003). Antimicrobial activity of *Ximenia americana*. *Fitoterapia*. **74** (1) :122-126.

Omoifo C. O. (2011). *Rhizopus stolonifer* exhibits dimorphism. *African Journal of Microbiology Research*. **10** (20): 4269-4275.

Organization for Economic Cooperation and Development (2001). Guidelines for testing of chemicals No. 423: Acute oral toxicity—acute toxic class method. Paris, France.

Othman A., Ismail A., Abdul Ghani N., I., Adenan. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*. **100** : 1523–1530.

Ouédraogo N., Lompo M., Sawadogo R. W., Tibiri A., Hay A. E., Koudou J. M.-G., Dijoux et Guissou I. P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (*Fabaceae*). *Phytothérapie*. **10** (5) : 286-292.

Ouelbani R., Bensari S., Mouas T.N., Khelifi D. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (Northeast of Algeria). *Journal of Ethnopharmacol*. **194** :196-218.

Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Emin Duru M. et Topcu G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheumribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*. **103**:623-630.

P

Panthong A., Kanjanapothi D., Tuntiwachwuttikul P., Pancharoen O. et Reutrakul V. (1994). Anti-inflammatory activity of flavonoids. *Phytomedicine*. **1**(2) :141-144.

Park H.H., Lee S., Son H.Y., Park S.B., Kim M.S., Choi E.J., Singh T.S., Ha J.H., Lee M.G., Kim J.E., Hyun M.C., Kwon T.K., Kim Y.H. et Kim S.H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of pro-inflammatory cytokines in mast cells. *Archives of Pharmacal Research*. **31** : 1303-1311.

Patil K. G., Karadesai S. G. et Hawaldar P. V. (2012). Cutaneous abscess due to *Chryseomonas luteola* in a previously healthy adult. *Annals of Tropical Medicine and Public Health*. **5**(4) : 360.

Papp D. (1954). Histoire des antibiotiques. Revue d'histoire des sciences et de leurs applications. **7**(2) : 124-138

Pellecuer J., Allegrini J. et Simeon de Buochberg M. (1976). Huiles essentielles bactéricides et fongicides. *Revue de l'institut Pasteur de Lyon*. **9** :135-159.

Perriot J., Chambonnet É. et Eschalier A. (2011). Les effets indésirables des antituberculeux, prise en charge. *Revue des maladies respiratoires*. **28**(4) : 542-555.

Person A. K., Chudgar S. M., Norton B. L., Tong B. C. et Stout J. E. (2010). *Aspergillus niger*: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of medical microbiology*. **59**(7) :834-838.

Pingsusaen P., Kunanusorn P., Khonsung P., Chiranthanut N., Panthong A. et Rujjanawate C. (2015). Investigation of anti-inflammatory antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. *Journal Ethnopharmacology*. **162**:199-206.

Pinheiro B.G., Silva A.S.B., Souza G.E.P., Figueiredoc J.G., Cunhac F.Q., Lahlou S., Da Silva J.K.R., Maia J.G.S. et Sousa P.J.C. (2011). Chemical composition antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomiaserpens*(Sw.) Loud. *Journal Ethnopharmacology*. **138** : 479-486.

Panthong A., Kanjanapothi D., Tuntiwachwuttikul P., Pancharoen O. et Reutrakul V. (1994). Anti-inflammatory activity of flavonoids. *Phytomedicine*. **1**(2) :141-144.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. et Defraigne J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*. **16**(4) : 233-239.

Polard E. (2005). La pharmacovigilance des antibiotiques. Exemples de quelques effets indésirables rapportés avec les bêtalactamines les fluoroquinolones les macrolides et les cyclines. *Lettre Infectiologie*. **20**: 238-246.

Pratima H., Pratima M. (2011). Pharmacognostic evaluation and phytochemical analysis of leaves of *Cajanus cajan* L. *Journal of advances in development research*. **2** (2): 181-185.

Procházková D., Boušová I. et Wilhelmová N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. **82**(4) :513-523.

Pryor W. A. (2000). Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology and Medicine*. **28**(1) :141-164.

Q

Quezel P., Santa S., (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales. Tome 1. CNRS (Ed). Paris, 1170 p.

R

- Rached W., Benamar H., Bannaceur M. et Marouf A. (2010). Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *International Journal of Biological Sciences*. **10**(4) :316-324.
- Raja G., Shaker I.A., Sailaja I., Swaminathan R., Basha Saleem S. et Babu K. S. (2012). Phytochemical screening and reducing power assay of nut extracts of *Juglans regia* L. *International journal of chemistry and life science*. **15**(1): 1026-1031.
- Ramdani M., Lograda T., Chalard P., Figueredo G., Laidoudi H. et Ounoughi A. (2014). Chemical composition antimicrobial activity and chromosome number of *Urospermum dalechampii* from Algeria. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*. **3**(6) :477-482.
- Ranfa A., Orlandi F., Maurizi A. et Bodesmo M. (2015). Ethnobotanical knowledge and nutritional properties of two edible wild plants from Central Italy: *Tordylium apulum* L. and *Urospermum dalechampii* (L.) F.W. Schmid. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. **88**:249-254.
- Rankin J. A. (2004). Biological Mediators of Acute Inflammation. *AACN Advanced Critical Care*. **15**(1) : 3-17.
- Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A. et Rezaei M.B. (2008). Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum coticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. **122**:135-139.
- Rauf A., Uddin G., Siddiqui B. S., Muhammad N. et Khan H. (2014). Antipyretic and antinociceptive activity of *Diospyros lotus* L. in animals. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. **4**(1) :382-386.
- Raymondjean M. (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires*. **3** : 21-28
- Revuz J. (2009). *Traité EMC : cosmétologie et dermatologie esthétique*. Elsevier Masson. Paris. 500 p.
- Riahi R. C., Tarhouni S. et Kharrat R. (2011). Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. *Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*. **88**(1-4) : 19-28.
- Riché, M. D. (2008). Micronutrition, santé et performance: Comprendre ce qu'est vraiment la micronutrition. *De Boeck Supérieur* (Ed). France, 384 p.

Rios J. L., Recio M. C. et Villar A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*. **23**(2) 127-149.

Robbins R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*. **51**(10) :2866-2887.

Roitt I.M., Brostoff J. et Male D. (2002). Immunologie. *De Boeck* (Ed). Bruxelles, 496 p.

Romon M., Apfelbaum M., et Dubus M., 2002. Diététique et nutrition. Masson (Ed). Paris, 400p.

Rosenberger C. M., Scott M. G., Gold M. R., Hancock R. E. et Finlay B. B. (2000). *Salmonella typhimurium* infection and lipopolysaccharide stimulation induce similar changes in macrophage gene expression. *The Journal of immunology*. **164**(11) : 5894-5904.

Russo-Marie F. (1998). L'inflammation. *John Libbey Eurotext* (Ed). 565 p.

S

Saadoudi M. (2007). Etude de la fraction glucidique des fruits de: *Celtis australis*, *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L.". Mémoire de magister (Agronomie). Université el hadj Lakhdar. Batna, Algérie, 80 p.

Saa-Otero M. P., Diaz-Losada E. et Fernandez-Gomez E. (2000). Analysis of fatty acids proteins and ethereal extract in honeybee pollen-considerations of their floral origin. *Grana*. **39**(4) :175-181.

Sadki S., (2012). Les plantes endémiques d'Algérie passent de 224 à 300 espèces. El Watan, Edition du 10 Aout.

Sağdıç O. et Özcan M. (2003). Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*. **14**(3) : 141-143.

Sağdıç O. Ozturk I. et Tornuk F. (2013). Inactivation of non-toxigenic and toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on minimally processed tomatoes and cucumbers: utilization of hydrosols of *Lamiaceae* spices as natural food sanitizers. *Food Control*. **30**: 7-14.

Saha J.B.T., Abia D., Dumarçay S., Ndikontar M.K., Gérardinc P., Noah J.N., Perrinc D. (2013). Antioxidant activities total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb) tali (*Erythrophleum suaveolens*) moabi (*Baillonella toxisperma*) and movingui (*Distemonanthus benthamianus*). *Industrial Crops and Products*. **41**:71-77.

Saleem U., Ahmad B., Ahmad M., Hussain Kh., Irfan Bukhari N. (2015). Anti-nociceptive, anti-inflammatory and anti-pyretic activities of latex and leaves methanol extract of *Euphorbia helioscopia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. **5** (4): 322-328.

Sanders P. et Laurentie M. (2012). Définitions de la résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire: épidémiologique ou pronostique. Tome 165 - N°3. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.

Saper C. B. et Breder C. D. (1994). The neurologic basis of fever. *New England journal of medicine*. **330**(26) :1880-1886.

Scherer R. et Godoy H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*. **112**(3) : 654-658.

Semwal R. et K Semwal D. (2012). Analgesic and anti-inflammatory activities of extracts and fatty acids from *Celtis australis* L. *The Natural Products Journal*. **2**(4) :323-327.

Sengar N., Joshi A., Prasad S. K. et Hemalatha S. (2015). Anti-inflammatory analgesic and anti-pyretic activities of standardized root extract of *Jasminum sambac*. *Journal of ethnopharmacology*. **160**:140-148.

SGH. (2003). système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques. Toxicité aiguë. Nations Unies New York et Genève, 547p.

Shan B., Cai Y. Z., Brooks J. D. et Corke H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*. **117**(1) :112-119

Shimosaki S., Tsurunaga Y., Itamura H. et Nakamura M. (2011). Antiallergic effect of the flavonoid myricitrin from *Myrica rubra* leaf extracts *in vitro* and *in vivo*. *Natural Product Research*. **25**(4) :374-380.

Sikder M. A., Rahman M. A., Islam M. R., Kaiser M. A., Rahman M. S. et Rashid M. A. (2010). *In vitro* antioxidant reducing power free radical scavenging and membrane stabilizing activities of *Spilanthes calva*. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*. **13**(1) :63-67.

Sikkema J., De Bont J. A. et Poolman B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological reviews*. **59**(2) : 201-222.

Singh G. et Kumar P. (2012). Evaluation of antimicrobial activity of alkaloids of *Terminalia chebula* Retz. against some multidrugresistant microorganisms. *International Journal of Green Pharmacy*. **6**(1) :57-62.

Smith M. G., Gianoulis T. A., Pukatzki S., Mekalanos J. J., Ornston L. N., Gerstein M. et Snyder M. (2007). New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by

high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes et development*. **21**(5) : 601-614.

Sommavilla V., Haidacher-Gasser D., Sgarbossa M. et Zidorn C. (2012). Seasonal variation in phenolics in leaves of *Celtis australis* (*Cannabaceae*). *Biochemical Systematics and Ecology*. **41**:110-114.

Sparkman, O. D., Penton, Z., Kitson, F. G. (2011). Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide. *Academic Press* (Ed). 632 p.

Spicer W. J. (2003). Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. *Flammarion Médecine-Sciences* (Ed). 221 p.

Spitaler R., Gurschler S., Ellmerer E., Schubert B., Sgarbossa M. et Zidorn C. (2009). Flavonoids from *Celtis australis* (*Cannabaceae*). *Biochemical Systematics and Ecology*. **37**(2) :120-121.

Spooner C.E., Markowitz N.P. et Saravolatz L.D. (1992). The role of tumor necrosis factor in sepsis. *Clinical Immunology and Immunopathology*. **62** :11-7.

Stalikas C. D. (2007). Extraction separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*. **30** : 3268-3295.

Stock I. et Wiedemann B. (1998). Identification and natural antibiotic susceptibility of *Morganella morganii*. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. **30**(3) :153-165

Stora D. (2013). Pharmacologie et thérapeutique 2e édition. Lamarre (Ed). 240 p.

Sudo R.T., Neto M. L., Monteiro C. E.S., Amaral R.V., Resende Â. C., Souza P. J.C, Zapata-Sudo G., et Moura R. S. (2015). Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract from *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) in a rodent model of acute and neuropathic pain. *Complementary and Alternative Medicine* .**15** (208): 1-8.

Tarkang P.A., Agbor G. A., Armelle T. D., Yamthe T.L.R., David K., Mengue Y. S., Ngadena T. (2012). Acute and Chronic Toxicity Studies of the aqueous and ethanol leaf extracts of *Carica papaya* Linn in Wistar rats. *Journal of Natural Product Plant Resoure*. **2** (5):617-627.

Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M. et El- Elimat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*. **104** :1372-1378.

Tekwu E. M. Pieme A. C. et Beng V. P. (2012). Investigations of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. *Journal of ethnopharmacology*. **142** : 265-273.

Tenaillon O., Skurnik D., Picard B. et Denamur E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. **8** (3):207-217.

Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A. et Sokmen A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*. **95**: 200-204.

Terpinc P., Bezjak M. et Abramovič H. (2009). A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*. **115**(2) :740-744.

Thomé O. W. (1885). *Flora von Deutschland: Österreich und der Schweiz*. H. Bermühler (Ed). 699 p.

Traesel G. K., De Souza J. C., De Barros A. L., Souza M. A., Schmitz W. O., Muzzi R. M., Oesterreich S.A. et Arena A. C. (2014). Acute and subacute (28 days) oral toxicity assessment of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. *Food and chemical toxicology*. **74**:320-325.

Tremblay C. (2008). Mise à jour du traitement des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. *Pharmactuel*. **41**(5).

Trigui M., Ben Hsouna A., Tounsi S. et Jaoua S. (2013). Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaea hirsuta* with special reference to its mode of action. *Industrial Crops and Products*. **41**:150-157.

Tsakris A., Hassapopoulou H., Skoura L., Pournaras S. et Douboyas J. (2002). Leg ulcer due to *Pseudomonas luteola* in a patient with sickle cell disease. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. **42**:141-143.

Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T. et Inuma M. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology*. **50**(1) : 27-34.

V

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M. et Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. **39**(1) : 44-84.

Van-Bambeke F. et Tulkens P. (2010). Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse (Antibiotiques et Antifongiques). *Syllabus national belge de pharmacologie* 204p.

Van Parys A., Boyen F., Verbrugghe E., Leyman B., Bram F., Haesebrouck F. et Pasmans F. (2012). *Salmonella Typhimurium* induces SPI-1 and SPI-2 regulated and strain dependent down regulation of MHCII expression on porcine alveolar macrophages. *Veterinary Research*. **43**(52).

Vane J. R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biology*. **231**(25) : 232-235.

Vasudevan M., Gunnam K. K. et Parle M. (2006). Antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Daucus carota* seeds extract. *Journal of health science*. **52**(5) : 598-606.

Verma R.S. Padalia R.C. et Chauhan A. (2012). Analysis of the Hydrosol Aroma of Indian Oregano. *Medicinal and aromatic plants*. **1**(7): 1-3.

Vogel H. G. (Ed.) (2002). Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. *Springer Science et Business Media* (Ed). 1408 p.

Vuong C. et Otto M. (2002). *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and infection*. **4**(4) : 481-489.

W

Watanabe T., Misawa S., Hiradate S. et Osaki M. (2008). Characterization of root mucilage from *Melastoma malabathricum* with emphasis on its roles in aluminum accumulation. *New phytologist*. **178**(3) : 581-589.

Weill B. et Batteux F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. *De Boeck* (Ed). Bruxelles, 312 p.

Wesołowska A., Nikiforuk A., Michalska K., Kisiel W. et Chojnacka-Wójcik E. (2006). Analgesic and sedative activities of lactucin and some lactucin-like guaianolides in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **107** (2) :254-258.

Whelan J., Noel H., Friesema I., Hofhuis A., De Jager C. M., Heck M., Heuvelink A. et Pelt W. V. (2010). National outbreak of *Salmonella Typhimurium* (Dutch) phage-type 132 in the Netherlands (2010). *Eurosurveillance*. **15** (44):1-5.

Wojdyło A., Oszmiański J. et Czemerys R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*. **105** (3) :940-949.

Wojcik-Stopczynska B., Jakowienko P. et Wysocka G. (2012). The estimation of antifungal activity of essential oil and hydrosol obtained from wrinkled-leaf mint (*Mentha crispa* L.). *Herba Polonica*. **1**(58): 6-1.

Wu L., Li P., Wang X., Zhuang Z., Farzaneh F. et Xu R. (2010). Evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Murraya exotica*. *Pharmaceutical biology*. **48**(12) : 1344-1353.

X

Xin L., Yu-Ping T. A. N. G., Rui L. I. U., Yi J. I. N., Jian-Ming G. U. O., Jin-Long Z. H. A. O. et Jin-Ao D. U. A. N. (2015). Antipyretic and anti-inflammatory activities of *Thais*

luteostoma extracts and underlying mechanisms. *Chinese journal of natural medicines*. **13**(3) :192-198.

Y

Yamthe, L. R., David, K., & Ngadena, Y. M. (2012). Acute and chronic toxicity studies of the aqueous and ethanol leaf extracts of *Carica papaya* Linn in Wistar rats. *Journal of Natural Product of Plant Resource*. **2**, 617-627.

Yadav R. N. S. et Agarwala M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*. **3**(12).

Yen G. C., Duh P. D. et Tsai C. L. (1993). Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **41**(1) :67-70.

Yi Z., Yu Y., Liang Y. et Zeng B. (2008). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. *LWT-Food Science and Technology*. **41**(4) :597-603.

Yougbaré-Ziébro M. N., Ouédraogo N., Lompo M., Bationo H., Yaro B., Gnoula C. W.R. et Sawadogoet Guissou I. P. (2015). Activités anti-inflammatoire analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (*Apocynaceae*). *Phytothérapie*. **14**(4) :213-219.

Yu R., Mandlekar S. et Kong A. N. T. (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c. *Molecular pharmacology*. **58**(2) : 431-437

Z

Zehrmann N., Zidorn C. et Ganzera M. (2010). Analysis of rare flavonoid C-glycosides in *Celtis australis* L. by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. **51**(5) :1165-1168.

Zeghal K. M. et Sahnoun Z. (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant. In : Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes. *Springer* (Ed). Paris, pp47-53.

Zhang A., Fang Y., Wang H., Li H. et Zhang Z. (2011). Free-radical scavenging properties and reducing power of grape cane extracts from 11 selected grape cultivars widely grown in China. *Molecules*. **16**(12) : 10104-10122.

Zhang G. Q., Huang X. D., Wang H., Leung A. K. N., Chan C. L., Fong D. W. et Yu Z. L. (2008). Anti-inflammatory and analgesic effects of the ethanol extract of *Rosa multiflora* Thunb. hips. *Journal of ethnopharmacology*. **118**(2) :290-294.

Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., Shan L., Lin Y., Fan W. et Gu G. (2006). Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **54**(19) :7277-7286.

Zhou M., Wang H., Kou J. et Yu B. (2008). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. Leaves extract. *Journal of ethnopharmacology*. **117**(2) :345- 350.

Ziani B.E.C., Calhelha R.C., Barreira J.C.M., Barros L., Hazzit M. et Ferreira I.C.F.R. (2015). Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*. **77**:582- 589.

Résumé

Le but du présent travail est d'évaluer les activités biologiques des extraits organiques d'*Urospermum dalechampii* (L.) Scop. ex F.W.Schmidt (*Asteracées*) et de *Celtis australis* (L.) (*Cannabacées*). Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant des solvants de polarité croissante. L'estimation quantitative des composés phénoliques totaux (méthode de Folin-Ciocalteu), des flavonoïdes (méthodes au trichlorure d'aluminium) et des tanins condensés (méthode de Vanilline-HCl) a montré que les extraits méthanoliques des deux plantes sont les plus riches en ces métabolites avec des teneurs respectives de (154,91 µg EAG/mg ; 29,96 µg EQ/mg et 09,65 µg EC/mg d'extrait) pour l'*U. dalechampii* et (158,82 µg EAG/mg ; 33,76 µg EQ/mg et 19,62 µg EC/mg d'extrait) pour *C. australis*. Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative par CLHP affirment la richesse des extraits des deux plantes en composés phénoliques comme les flavonoïdes (la rutine, la luteoline, l'apigénine, la ladaneine et le 7-méthoxy-5-hydroxy-flavonone) et les acides phénoliques (l'acide hydroxycaféique et procatechiques), ces métabolites secondaires pourraient conférer aux deux plantes des propriétés thérapeutiques importantes. Les résultats de la CG/SM révèle la présence, dans l'UDHX, des acides gras insaturés : α linoléique (9,23 %) et linoléique (16,55%), ce qui pourrait conférer à cet extrait des effets hypocholestérolémiants et anti-athérogènes et pourrait limiter l'incidence des maladies vasculaires.

Lors de l'évaluation de l'activité antioxydante, nous avons constaté que les extraits méthanoliques d'*U. dalechampii* (UDME) et de *C. australis* (CAME) expriment les pouvoirs piégeurs du radical DPPH les plus puissants avec des CI50 estimées à (45,42 µg/ml et 65,336 µg/ml respectivement). De même ces mêmes extraits ont montré des pouvoirs de réduction du fer ferrique les plus forts. Dans le test du blanchissement du β -carotène, tous les extraits des deux plantes ont inhibé significativement l'oxydation du β -carotène, ce qui suggère qu'ils peuvent être considérés comme des antioxydants primaires. Le test de la capacité chélatrice des ions ferreux a montré que les extraits UDHX et CADM sont de bons chélateurs avec des activités de l'ordre de 29,83 et 29,02 mg E-EDTA/g d'extrait respectivement, une telle activité est supérieure à celle de la quercétine (12,20 mg E-EDTA/g). Cependant, l'administration journalière par voie orale d'UDME et de CAME (200 et 400 mg/kg/jour) pendant 28 jours, n'a pas entraîné une amélioration significative de la capacité antioxydante plasmatique vis-à-vis du radical DPPH.

Le pouvoir antimicrobien des différents extraits d'*U. dalechampii* et de *C. australis* a été recherché sur 11 souches bactériennes et 2 souches levuriennes en utilisant la méthode des disques et sur 3 souches de champignons par la méthode de contact direct. L'extrait méthanolique de *C. australis* a présenté une activité antibactérienne contre *S. aureus* (DZIC = 10,6 mm) à la concentration de 500 mg/ml et contre *P. aeruginosa* (DZIC = 11,8 mm) à la même concentration, tandis que tous les extraits d'*U. dalechampii* se sont révélés inactifs vis-à-vis de toutes les souches microbiennes testées.

Le test préliminaire de toxicité aiguë, par voie orale, chez les rats Albinos Wistars a révélé que l'administration d'UDME et de CAME n'a montré aucune mortalité ou de signe de toxicité, en plus, aucun changement significatif dans les paramètres biochimiques chez les rats n'a été constaté, ce qui suggère que la DL50 est supérieur à 2000 mg/kg. Pour la toxicité subaiguë, l'administration journalière, par voie orale, d'UDME et de CAME aux doses de 200 et 400 mg/kg /j toutes les 24 h pendant 28 jours n'a induit aucune variation significative du poids du corps et des organes entre le groupe témoin et les groupes traités ; les paramètres biochimiques et l'analyse hématologique n'ont révélé aucun effet toxique. L'examen au microscope

optique des sections de foie et des reins des rats prétraités a révélé une histologie normale des organes et les tissus ont maintenu leur aspect physiologique. *In vivo*, L'administration d'UDME et de CAME aux doses de 200 et 400 mg/kg prévient de façon significative l'œdème aigu de la patte de rat à 3 h et à 5 h après l'induction de l'inflammation par la carraghénane ; l'inhibition de la formation de l'œdème d'UDME et de CAME à la dose de 400 mg/kg est statistiquement similaire à celle obtenue avec le diclofenac à 5 h après l'induction de l'inflammation.

Lors du test de la pleurésie induite par la carraghénane, le nombre de neutrophiles dans la cavité pleurale des rats été considérablement et significativement réduit après l'administration d'UDME (200 mg/kg et 400 mg/kg). Dans le test d'inhibition du développement de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les rats a permet de constater que le traitement avec les deux doses des extraits administrés oralement à 200 et 400 mg/kg présente une inhibition significative de la formation de l'œdème. L'activité anti-œdémateuse de CAME à la dose de 400 mg/kg (81, 24 %) était similaire à celle de diclofénac, anti-inflammatoire de référence utilisé ($p \geq 0,05$). Ces mêmes extraits administrés par voie orale aux doses de 200 et 400 mg/kg ont diminué significativement les contractions abdominales produites par l'injection de l'acide acétique chez les rats; l'effet analgésique de la dose de 200 mg/kg d'UDME (68,4%) et de CAME (72,20%) était similaire à celui de l'Aspirine (66,5%) $P \geq 0,05$. Dans nos conditions expérimentales, les extraits méthanoliques des deux plantes ne semble pas avoir une activité antipyrétique.

Mots clés : *Urospermum dalechampii*, *Celtis australis*, extraits organiques, UDME, CAME, composés phénoliques, toxicité aigue et subaigüe, activités biologiques, CLHP, CG/SM.

Abstract

The aim of this work is to evaluate the biological activities of the organic extracts of *Urospermum dalechampii* (L.) Scop.exF.W.Schmidt (*Asteraceae*) and *Celtis australis* (L.) (*Cannabaceae*). The extracts were obtained by maceration using solvents of increasing polarity. The quantitative estimation of total phenolic compound (Folin-Ciocalteu method), flavonoids (aluminum trichloride methods) and condensed tannins (Vanilline - HCl method) shows that the methanolic extracts of the two plants contains the highest amounts of these metabolites with concentrations of (154.91 μg EAG / mg, 29.96 μg EQ / mg and 09.65 μg EC / mg of extract) for the *U. dalechampii* and (158.82 μg EAG / mg; 33.76 μg EQ / mg and 19.62 μg EC / mg extract) for *C. australis*. The results of the qualitative analysis by HPLC confirm the richness of the extracts of the two plants in polyphenolic substances such as flavonoids (rutin, luteolin, apigenin, luteolin, and methoxy 5-hydroxy flavonone) and phenolic acids hydroxycaffeic and procatechic acid). These secondary metabolites could give the two plants important therapeutic properties. The results of the GC / MS revealed the presence, in the UDHX, of unsaturated fatty acids: α linolenic acid (9.23%) and linoleic acid (16.55%), which could give this extract hypocholesterolemic and antiatherogenic and may limit the incidence of vascular disease. After the evaluation of the antioxidant activity by several methods, we found that the methanolic extracts of *U. dalechampii* (UDME) and *C. australis* (CAME) express the most powerful scavenging powers of the DPPH radical with IC_{50} estimated at (45.422 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et 65.336 $\mu\text{g} / \text{ml}$ respectively). In addition, these same extracts showed the strongest ferric iron reduction capacities. In the β -carotene bleaching test, all extracts from both plants significantly inhibited the oxidation of β -carotene, which suggests that they can be considered as primary antioxidants. The chelating capacity test of ferrous ions showed that the UDHX and CADM extracts are good chelators with activities of the order of 29.835 and 29.020 mg E-EDTA / g of extract respectively, such activity is greater than that of quercetin (12.20 mg E-EDTA / g extract). However, daily oral administration of UDME and CAME (200 and 400 mg / kg / day) for 28 days did not cause a significant improvement in plasma antioxidant capacity against the DPPH radical. The antimicrobial power of the various extracts of *U. dalechampii* and *C. australis* was tested on 11 bacterial strains and 2 yeast strains using the disk method and on 3 strains of fungi by the direct contact method. The methanolic extract of *C. australis* showed antibacterial activity against *S. aureus* (DZIC = 10 mm), at the dose of 500 mg / ml and against *P. aeruginosa* (DZIC = 11,6 mm), at the dose of 500 mg / ml, while all extracts of *U. dalechampii* were found to be inactive against all tested microbial strains. The preliminary acute oral toxicity test revealed that the administration of methanolic extracts of *U. dalechampii* and *C. australis* showed no mortality or significant change in biochemical parameters of rats, which suggest that the LD_{50} was greater than 2000 mg / kg. For sub-acute toxicity, daily administration of UDME and CAME at doses of 200 and 400 mg / kg / day every 24 hours orally for 28 days did not cause any significant changes in body and organ weight between the control group and the treated groups. Hematological analysis and biochemical parameters revealed no toxic effects. Optical microscopic examination of the liver and kidneys sections of the pretreated rats revealed normal organ histology, and the tissues maintained their histological appearance. In vivo, the administration of UDME and CAME at doses of 200 and 400 mg / kg significantly prevents acute rat paw edema at 3 h and 5 h after induction of inflammation by carrageenan; the inhibition of UDME and CAME edema formation at a dose of 400 mg / kg is statistically similar to that obtained with diclofenac. In the xylene-induced ear edema test, it was found that treating rats with the two doses of the orally administered extracts at 200 and 400 mg / kg has significantly inhibited the ear edema. The anti-inflammatory activity of CAME at a dose of 400 mg / kg was similar to that of diclofenac, a non-steroidal anti-inflammatory drug used. In the carrageenan-induced pleurisy test, the number of neutrophils in the pleural cavity of the rats was markedly and significantly reduced after administration of UDME (200 mg / kg and 400 mg / kg). At doses of 200 and 400 mg / kg, the methanolic extracts of the two plants, administered orally, significantly reduced the abdominal contractions produced by the injection of acetic acid in rats; the analgesic effect of the dose of 200 mg / kg UDME (68.4%) and CAME (72.20%) was comparable to that of Aspirin (66.5%) $P \geq 0.05$. Under our experimental conditions, the methanolic extracts of the two plants do not seem to have an antipyretic activity.

Key words: *Urospermum dalechampii*, *Celtis australis*, organic extracts, UDME, CAME, phenolic compounds, acute and sub-acute toxicity, biological activities, HPLC, GC/MS.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم السمية و النشاطية البيولوجية للمستخلصات العضوية لـ *Urospermum dalechampii* و *Celtis australis*. تم تحضير المستخلصات بواسطة النقع في مذيبات ذات قطبية متزايدة. أثبت التقدير الكمي للفينولات الكلية (اختبار *Folin-ciocalte*)، للفالفونويد (اختبار ثنائي كلوريد الألمنيوم) و التانينات (اختبار الفانيلين- حمض الكلوريد) احتواء المستخلصات الميثانولية للنبتين على أكبر كمية من هذه المركبات 154.91 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مع، 29.96 ميكروغرام مكافئ كارستين/مع و 9.65 ميكروغرام مكافئ كاتشين/ملغ بالنسبة لـ *U.dalechampii* و 158.52 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مع و 33.76 ميكروغرام مكافئ كارستين/مع و 19.62 ميكروغرام مكافئ كاتشين/ملغ بالنسبة لـ *Celtis australis*.

نتائج الكروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (*CLHP*) تؤكد غنى هذه المستحضرات بالمركبات الفينولية كالفالفونويد *la rutine, la luteoline, l'apigenine, la ladeneine et le 7 methoxy 5 hydroxy flavonone* والأحماض الفينولية *l'acide hydroxycafeique* و *l'acide procatechique*; هذه المركبات يمكنها منح خصائص عالجية هامة للنبتين. أظهرت نتائج *CG-SM* احتواء مستخلص *UDHX* على الأحماض الدسمة غير المشبعة: حمض α -لينولينيك (9.23%) و حمض اللينولييك (16.55%) مما يمكن إعطاء هذا المستخلص خاصية مخفضة للكولسترول و مضادة لتصلب الشرايين.

تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات باستعمال عدة طرق حيث وضح الكشف الكمي للنشاطية الإزاحية تجاه جذر *DPPH* بأن المستخلصات الميثانولية لـ *U.dalechampii* (*UDME*) و *CAME* هما الأكثر نشاطا ($CI50 = 45.422$ ميكروغرام/مل و 65.336 ميكروغرام/مل على التوالي)، كما لهذه المستخلصات القدرة على إرجاع شوارد الحديد Fe^{+3} إلى Fe^{+2} أكثر من غيرها. تثبيط الأكسدة المزدوجة لحمض اللينولييك و β كاروتين أثبت أن كل المستخلصات قاموا بتثبيط معتبر و ذو دلالة إحصائية مما يشير انه يمكن اعتبار هذه المستخلصات مضادات أكسدة أولية. بينت طريقة التقاط ايونات الحديد الثنائي أن *UDHX* و *CADH* هي ملتقطات جيدة حيث أعطت القيم التالية على الترتيب 29.835 و 29.020 ملغ مكافئ/*EDTA* من المستخلص والتي تفوق القدرة الالتقاطية للكرستين (12.20 ملغ مكافئ/*EDTA* ملغ). غير أن تقديم جرعات يومية من المستخلصات الميثانولية للنبتين عن طريق الفم (200 و 400 ملغ/كغ) للجرذان لمدة 28 يوم لم يؤدي إلى تحسن معتبر و ذو دلالة إحصائية للقدرة المضادة لأكسدة البالزما تجاه جذر *DPPH*. مختلف المستخلصات كانت أيضا محل دراسة النشاطية المضادة للميكروبات ضد *11* سلالة بكتيرية و اثنان من الخمائر باستعمال طريقة الانتشار على وسط صلب و ضد 3 سلالات من الفطريات بطريقة التلامس المباشر. أظهر المستخلص الميثانولي *CAME* قدرة مضادة للسلالتين من البكتيريا (*S. aureus*) و (*P. aeruginosa*) فقط. أما مستخلصات *U. dalechampii* لم تظهر أي قدرة مضادة للميكروبات. تم إجراء اختبار السمية الحادة عن طريق الفم للمستخلصات *UDME* و *CAME* على جرذان المختبر، أوضح هذا الاختبار عدم تسجيل أي موت عند الجرذان أو أعراض تسمم مما يشير إلى أن متوسط الجرعة المميتة هي أكبر من 2000 ملغ/كغ، كما أن تناولهم لجرعات 200 و 400 ملغ/كغ من نفس المستخلصات يوميا لمدة 28 يوم لم تظهر أي أعراض تسمم أو وفاة لدى هذه الحيوانات، كما لم يظهر الفحص النسيجي أي تغيير في بنية الأعضاء الداخلية (كلى و كبد) للجرذان. قمنا بتقدير التأثيرات المضادة للالتهاب للمستخلصات الميثانولية للنبتين حيث أدت معالجة الجرذان عن طريق الفم بالجرعات 200 و 400 ملغ/كغ تثبيطا هاما لوزمة الرجل المحفزة بالـ *carraghénane*، حيث أن نشاطية *UDME* و *CAME* بجرعة 400 ملغ/كغ كانت إحصائيا مماثلة لنشاط *diclofenac*.

كما أظهرت دراسة نموذج التهاب الجنب (pleuresie) المحفزة بواسطة بال carraghénane أن عدد neutrophile قد انخفض بشكل كبير و ملحوظ بعد معالجة الجرذان بمستخلص UDME (200 و 400 ملغ/كغ). من جهة أخرى أدت معالجة هذه الحيوانات عن طريق الفم بكلى المستخلصين و بنفس الجرعات إلى تثبيط هام ومعتبر لوذمة الأذن المحفزة بـ xylène ; نشاطية مستخلص CAME بجرعة 400 ملغ/كغ (81.24%) كانت إحصائيا مماثلة لنشاطية الـ diclofenac ($P \geq 0.05$). أظهرت نتائج تقدير النشاطية المسكنة الألم أن هذه المستخلصات قادرة على خفض عدد كبير من التقلصات التي يسببها حمض الخليك، التأثير المضاد للألم لمستخلص UDME (68.4%) و CAME (72.2%) عند الجرعة 200 ملغ/كغ كان مماثلا لتأثير الأسبيرين (66.5%) ($P \geq 0.05$). في ظروفنا التجريبية لم تظهر المستخلصات الميثانولية للنببتين أي نشاطية مخفضة للحرارة عند جرذان المختبر.

الكلمات المفتاحية : *Celtis australis* , *Urospermum dalechampii* , مستخلصات عضوية UDME, CAME فينولات كلية، نشاطية بيولوجية، CLHP ، CG-SM.