



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé:

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*: Activité antibiofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles

Présenté et soutenu par :

Le : 04/07/2018

MEZACHE Yousra

LITIM Esma

Jury d'évaluation:

Présidente du jury : Mme KAHALI. L.

(MAA - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mme KLIBET. F.

(MCB - UFM Constantine 1).

Examineur : Mr MOKRANI. E.H.

(MAA - UFM Constantine 1).

Année universitaire
2017 – 2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail.

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons très sincèrement à remercier notre encadreur de mémoire, Mme **KLIBET** Maître de conférences «B» à l'université des Frères Mentouri, Pour nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail et aussi pour toute sa confiance, son soutien, sa disponibilité et pour ses conseils sur le plan pratique et théorique tout au long du parcours. Merci chère madame pour votre aide précieuse qui nous a été grandement utile au cours des différentes étapes et lors de la rédaction de ce mémoire.

Nous exprimons aussi nos remerciements aux membres du jury :

Madame **KAHALI** Maître assistante «A» à l'université des Frères Mentouri, D'avoir accepté d'assurer la présidence du jury.

Monsieur **MOKRANI** Maître assistant «A» à l'université des Frères Mentouri, pour l'honneur qui il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions également madame **BOUCHELOUKH** pour son aide précieuse et son encouragement, ainsi que Monsieur **BAHRI** et Madame **HABIBETNI** pour leur soutien, leur gentillesse, leur amabilité et leur savoir-faire.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur **BOUDERSSA Yasser**, **BOUDERSSA Nabil**, **BOUFRIOUA Ammar**, et toute l'équipe de laboratoire de biochimie pour leur aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nous tenons à exprimer également nos profondes reconnaissances à Mes dames **ZEGGAR**, **BELMEBAREK**, **BELILI**, **DJEGHAR** et Monsieur **LITIM HOCINE**, **HAGUIB** et **GOUMEIDEN ILYES** ainsi que **RANDA** et **WISSEM** qui ont contribué à la réalisation des différents bilans et coupes histologiques, explorations dans le cadre de ce mémoire.

Un grand merci aux doctorants **MERIEM**, **FATIMA** et **MOHAMMED BADRE EDDINE** pour leur aide et conseils.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à Monsieur **BENSEGUENI** Le responsable de notre spécialité et également à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire.

YOUSRA et ESMA

Dédicace

*Avec l'aide et la grâce de Dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail.
que je Dédie particulièrement:*

*A ma chère **MAMAN** symbole de bonté par excellence, source de
tendresse, lumière de mes yeux, et le bonheur de ma vie. En me guidant
toujours avec ses conseils, et ses prières
que Dieu la garde pour moi.*

*A mon très cher **PAPA** que j'aime beaucoup qui a toujours cru en
moi et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires
pour que je réussisse je le remercie vivement pour
son soutien permanent
que Dieu te protège papa et te prête longue vie.*

*A mon frère **RAMY** prunelle de mes yeux lequel je le félicite pour
l'obtention de son diplôme de licence et lui souhaite de tout
mon cœur une pleine réussite dans sa vie
que Dieu lui vienne en aide.*

*Je tiens également a remercier Madame **F. KLIBET** pour leur soutien,
encouragement, et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout le long
de ce parcours en vue de la concrétisation de ce mémoire.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à ma grand-mère **BARIZA** ainsi que
mes oncles, mes tantes, leurs maris et leurs enfants.*

*Dois-je aussi en cette occasion adresser une pieuse pensée pour mon oncle
ADEL et ma tante **ZOHRA** morts à l'âge de fleurs.*

*Je ne peux clôturer cette dédicace sans adresser à ma chère amie et ma
binôme **ESMA** un grand remerciement pour sa patience
et sa tenacité durant les bons et parfois durs
moments qu'on a passés ensemble*

*A toutes les copines **ESMA, HOUDA, KENZA, WAHIBA, SELMA,
NOUR, SARA, SOUMIA, CHOUROUK, ROMEISSA**
et **CHAIMA** et bien d'autres qu'elles trouvent
ici au nom des souvenirs qu'on a partagés
ensemble, ma grande sympathie*

A toute personne qui m'a aidée d'un geste si petit soit-il Je dis «Merci »

Yousra

Dédicace

Je remercie tout d'abord « **Allah** » le tout puissant de m'avoir donné, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Du profond du mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,
À mes chers parents : MALIKA et HOCINE

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon l'éducation et mon bien-être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis ma naissance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours

Je souhaite que ce travail soit le fruit de vos durs labeurs. Dieu Tout-Puissant, vous donne la santé, le bonheur et une longue vie

À ma grande mère ELZOHRA et toutes mes tantes

SANDRA, NAJLA, ALAA EDDINE, WIAM, HAJER,

À ma sœur ZOHRA et son mari HALIM et ses enfants

À ma sœur NIHAD et son mari BILLEL et sa fille LOUDJEINE

À mes frères HAMOUDI et TAREK et leurs épouses et enfants ABD EL MOUMEN, QUSAI, MOHAMED JAWAD EL DINNE

À mon petit frère AYMEN

Merci pour vos encouragements, je vous souhaite de réussir dans votre vie.

À toute la famille : LITIM et SOUISSI

À mon encadreur Mme KLIBET FAHIMA

D'avoir partagé votre passion pour l'enseignement. J'ai grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience et d'avoir enrichi mes connaissances et de m'avoir guidé dans l'élaboration de ce mémoire

À ma chère binôme et ma sœur YOUSRA d'être patiente durant les moments difficiles partagés ensemble et sa famille

À mes chères amies les quelles je considère comme mes sœurs : YOUSRA, HOUDA, CHOUROUK, SELMA, WAHIBA, ROMAÏSSA, SARA, FOUZIA

À toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un Encouragement.

ESMA

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : L'INFLAMMATION	
I. L'inflammation.....	4
I.1. l'origine de l'inflammation.....	4
I.1.1. Agent exogène.....	4
I.1.2. Agent endogène.....	5
I.2. Les différents types de la réponse inflammatoire.....	5
I.2.1. Inflammations aiguës.....	5
I.2.1.1. Déroulement général des différentes étapes de la réaction inflammatoire.....	5
a. Réaction vasculo-exsudative.....	5
b. La réaction cellulaire.....	7
c. La détersion.....	7
d. La phase terminale : réparation et cicatrisation.....	8
I.2.2. Inflammations chroniques.....	9
I.3. Cellules et médiateurs de la réaction inflammatoire.....	10
I.3.1. Les cellules impliquées dans l'inflammation.....	10
I.3.2. Les médiateurs impliqués dans l'inflammation.....	14
I.4. Les marqueurs de l'inflammation.....	16
I.4.1. Les marqueurs protéiques.....	16
I.4.1.1. La Protéine C Réactive (CRP).....	16
I.4.1.2. Les autres protéines de l'inflammation.....	17
a. L'orosomucoïde.....	17
b. Alpha-1-antitrypsine (AAT).....	17
c. Haptoglobine (HPT).....	17
d. Le fibrinogène.....	18
e. Protéine amyloïde sérique A (SAA).....	18
I.4.2. Vitesse de sédimentation (VS).....	19

I.4.3. Numération formule sanguin (FNS)	19
I.5. Les anti-inflammatoires	20
I.5.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	20
I.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	20
II. L'inflammation colique	21
II.1. Le colon	21
II.2. Anatomie du côlon.....	21
II.3. Histologie du côlon.....	22
II.4. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).....	23
II.4.1. La maladie de Crohn (MC)	23
II.4.2. La colite ulcéreuse ou rectocolite hémorragique (RCH)	24
II.5. Les modèles expérimentaux de colites.....	24
II.5.1. La colite induite chimiquement.....	25
II.5.1.1. La colite induite par l'acide acétique	25
CHAPITRE II : <i>EUCALYPTUS RADIATA</i>	26
III. Les plantes médicinales.....	26
III.1. Étymologie du nom <i>eucalyptus</i>	26
III.2. Les noms vernaculaires	26
III.3. Le Nom commun	26
III.4. Présentation botanique et géographique d' <i>Eucalyptus</i>	27
III.5. Classification botanique d' <i>Eucalyptus radiata</i>	29
III.6. Répartition géographique d' <i>Eucalyptus</i>	29
III.7. Les huiles essentielles.....	30
III.8. Etude chimique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i>	30
III.9. Usage et utilisation d' <i>Eucalyptus radiata</i>	32
III.10. Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus radiata</i>	32
PARTIE II : PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I : Matériel et Méthodes	
I.1. Matériel végétal.....	35
I.1.1. Mode d'obtention de l'huile essentielle.....	35

I.2. Evaluation de l'activité antibactérienne et anti-biofilm.....	35
I.2.1. Souches bactériennes	35
I.2.2. Cultures bactériennes.....	36
I.2.3. Test au Cristal Violet.....	36
I.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	37
I.3.1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	37
I.3.2. Traitement des rats	38
I.3.3. Prise du poids corporel.....	39
I.3.4. Sacrifices et prélèvements des organes.....	39
I.3.4.1. Prélèvement sanguin.....	39
a. Numération formule sanguine (FNS)	39
b. Les paramètres biochimiques.....	40
I.3.4.2. Prélèvement des organes.....	40
a. Etude histologique	40
I.4. Traitement statistique des résultats.....	42

CHAPITRE II : Résultats

II.1. Mise en évidence de l'activité antibiofilm et antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i>	43
II.1.1. Effet de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> sur la croissance planctoniques des bactéries	43
II.1.2. Effet de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> sur la formation des biofilms	43
II.2. Activité anti-inflammatoire	44
II.2.1. Etude pondérale.....	44
II.2.1.1. La croissance corporelle.....	44
II.2.1.2. Action sur le poids relatif (PR) de certains organes.....	45
II.2.2. Etude macroscopique du colon des rats témoins et traitées.....	46
II.2.3. Etude de quelques paramètres hématologiques.....	47
II.2.3.1. Globules blancs, lymphocytes, Monocytes, Granulocytes.....	47
II.2.3.2. Globules rouges, HB, Hématocrite, VGM, CCMH, TGMH et Plaquettes.....	47

II.2.4. Etude de quelques paramètres biochimiques.....	49
II.2.4.1. Protéines totales et l'Albumine	49
II.2.4.2. Transaminases	49
II.2.4.3. Créatinine et l'urée	49
II.2.5. L'étude histologique.....	50
CHAPITRE III : Discussion.....	51
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	58
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXE	

LISTE DES ABREVIATIONS

AAT	: Alpha-1-antitrypsine
AINS	: Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS	: Anti-inflammatoires stéroïdiens
ALAT	: Alanine aminotransférase
ASAT	: Aspartate aminotransférase
BHT	: Butylhydroxytoluène
CCMH	: Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
COX	: Cyclo-oxygénases
CRP	: Protéine C réactive
CV	: Cristal violet
DSS	: Sulfate de dextrane sodique
EC	: <i>Escherichia coli</i>
ER	: <i>Eucalyptus radiata</i>
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
GB	: Globules blancs
GR	: Globules rouges
GRA	: Granulocytes
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
HB	: Hémoglobine
HE	: Huile essentielle
HEER	: Huile essentielle d'eucalyptus radiata
HPT	: Haptoglobine
HT	: Taux d'hématocrite
IL	: Interleukine
KP	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
LB	: Lymphocytes B
LB	: Luria Bertani
LT	: Lymphocytes T

LTC	: Leucotriène
LYM	: lymphocytes
MC	: Maladie de Crohn
MICI	: Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
MO	: Monocytes
NaCl	: Chlorure de sodium
NFS	: Numération formule sanguine
O₂-	: Radical superoxyde
OH·	: Radical hydroxyle
PA	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PAF	: Facteur d'agrégation plaquettaire
PC	: Poids corporel
PGE 2	: Prostaglandine E 2
PGI 2	: Prostaglandine I 2
PLA	: Plaquettes
PNN	: Polynucléaires neutrophiles
RCH	: Rectocolite Hémorragique
SA	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SAA	: Amyloïde sérique A
SH	: groupement thiol
TGMH	: Teneur globulaire moyenne en hémoglobine
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TxB2	: Thromboxane
VGM	: Volume globulaire moyen des hématies
VS	: Vitesse de sédimentation

LISTE DES FIGURES

Figure 1. La réponse inflammatoire.

Figure 2. Les phases de l'inflammation aigue.

Figure 3. Formation de l'œdème inflammatoire.

Figure 4. Les étapes de la diapédèse.

Figure 5. La réaction inflammatoire schématisée.

Figure 6. Les cellules du système immunitaire.

Figure 7. La structure de la protéine C réactive.

Figure 8. Mode d'action des AINS et corticoïdes.

Figure 9. Vue antérieure du gros intestin avec ses principaux segments.

Figure 10. Schéma histologique montrant les différentes couches de la paroi du gros intestin.

Figure 11. Localisation des atteintes intestinales de la MC et la RCH.

Figure 12. L'arbre d'*Eucalyptus radiata*.

Figure 13. Feuilles(A), Fleurs(B), Fruits(C) et Ecorce(D) d'*Eucalyptus radiata*.

Figure 14. Structure chimique d'Eucalyptol (1.8 Cinéol).

Figure 15. Distillation des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau.

Figure 16: Schéma récapitulatif des différentes étapes de protocole suivi dans la partie antibiofilm.

Figure 17. Schéma récapitulatif du protocole suivi pour tester l'effet préventif et anti-inflammatoire de HEER.

Figure 18. Action de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la formation de biofilm des souches sélectionnées (Valeurs moyennes et écarts-types calculés à partir de trois essais).

Figure 19. Photo qui représente la diarrhée sanglante observée chez les rats traités par l'acide acétique (5%) après seulement 1jour de traitement.

Figure 20. Variation de poids corporel en (g) des rats femelles témoins (T) et traitées par l'acide acétique (AA), l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE/AA) après le traitement.

Figure 21. Variation du poids relatif de certains organes (Foie, reins, cœur et rate) en g/100 g Pc chez les rats témoins et les traitées ; par L'AA, HE et la combinaison (HE/AA) après 8 jours de traitement.

Figure 22. Comparaison macroscopique des colons des quatre lots après le sacrifice et le prélèvement des organes en montrant les différents dégâts chez les rats traités par l'acide acétique.

Figure 23. Variation des globules blancs, des lymphocytes, des monocytes et des granulocytes ($\times 10^3/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et les traitées; par L'AA, HE et la combinaison (HE/AA) après 8 jours de traitement.

Figure 24. Variation des globules rouge ($\times 10^6/\mu\text{l}$), Taux d'hémoglobine (g/dl), Taux d'hématocrite (%), VGM (μm^3), CCMH (g/dl), TGMH (pg) et des plaquettes ($\times 10^3/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 8 jours de traitement.

Figure 25. Variation des paramètres biochimiques : Taux des protéines totales (g/dl), Taux d'albumine (g/dl), ASAT(U/l), ALAT(U/l), Taux de Créatinine (mg/l) et le taux de l'urée (g/l) chez les rats témoins et traités après 8 jours de traitement.

Figure 26. Les coupes histologiques du côlon distal d'un rat témoin (T) et traités par l'huile essentiel d'*Eucalyptus radiata* (HE), l'acide acétique (AA) et par la combinaison (HE/AA) colorées à Hématéine-Eosine 100X.

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1.** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire..... 15
- Tableau 2.** Les principales Composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et leurs différentes formes.....31
- Tableau 3.** Composition de l'alimentation pour 1 Kilogramme d'aliment (UAB)... 37
- Tableau 4.** Effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*, sur la croissance planctonique et la formation du biofilm.....44
- Tableau 5.** Variation du poids corporel PC (g) et du poids relatif PR (g/100 g de poids corporel) des organes (foie, rein, cœur et la rate) chez les rats témoins et les traitées par l'AA, HE et la combinaison (HE+AA).46
- Tableau 6.** Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et les traitées par l'acide acétique, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE+AA). 48
- Tableau 7.** Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et les traitées par l'acide acétique, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE+AA).50

The page features a decorative design with three sets of concentric purple circles. One set is in the top right, one is in the middle right, and one is in the bottom right. Two thin purple lines originate from the top left and extend towards the right, passing behind the circles.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

Introduction

L'inflammation est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense qui se met en place en urgence à la suite d'une agression de l'organisme, ce processus naturel permet à l'organisme de reconnaître, détruire et éliminer toutes les substances qui lui sont étrangères (**Abbal et al., 2011**) ce qui est bénéfique.

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (**Rousselet et al., 2007**).

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) sont un trouble inflammatoire qui représente un groupe de maladies idiopathiques comme la colite ulcéreuse ou rectocolite hémorragique (RCH) caractérisées par des lésions inflammatoires chroniques du tractus gastro-intestinal, dont les causes ne sont pas connues. Elles sont probablement multifactorielles faisant intervenir des facteurs : infectieux (espèces bactériennes non commensales comme *Helicobacter spp*), environnementaux (Radiations, Produits chimique), génétiques (La prédisposition héréditaire) et immunologiques (Les maladies auto-immunes) (**Nancey et al, 2008 ; Cortot et al., 2009**).

Les MICI sont caractérisées par une dysrégulation de la réponse immunitaire muqueuse dirigée contre les éléments de la flore (**Bril, 2016**) qui doit être contrôlée par des médicaments.

À l'heure actuelle, la thérapie des MICI repose principalement sur l'administration des médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens, non stéroïdiens. Bien qu'ils aient montré leurs efficacités dans la plupart des cas, ces médicaments sont souvent associés à des effets secondaires néfastes et des dégâts cellulaires qui limitent leurs utilisations à long terme (**Siegel, 2011**).

En plus, la réponse thérapeutique à un médicament est extrêmement variable selon les individus, tant au niveau de son efficacité qu'au niveau de sa toxicité. Ces différences de réponse représentent un problème médical et de santé publique important.

INTRODUCTION

Les plantes médicinales peuvent être considérées comme une thérapie naturelle prometteuse pour les MICI car elles peuvent combiner l'efficacité et la sécurité (Hur et al., 2012). Ces dernières peuvent représenter un trésor pour la découverte de nouveaux composés actifs. En effet, elles sont l'objectif de nombreuses recherches pour le développement des agents thérapeutiques potentiellement utiles et de nouveaux constituants naturels qui ont un pouvoir anti-inflammatoire et antioxydant considérable tels ; les composés phénoliques, les huiles fixes et les huiles essentielles (Romano et al., 2015).

L'aromathérapie est un remède datant de l'antiquité c'est une branche de la phytothérapie qui consiste à recueillir les principes actifs des plantes par un processus de distillation pour en récupérer la forme liquide et concentrée qu'on appelle « huile essentielle ».

Une huile essentielle renferme centaines de molécules différentes : Alcools Esters, Phénols, Éthers, Oxydes, Cétones, Aldéhydes, Terpènes. C'est ce qui rend chaque huile polyvalente, avec de nombreuses propriétés (préventif, curatif) à l'inverse d'un médicament, qui ne renferme généralement qu'une seule molécule, pour un seul usage (Festy, 2014).

L'*Eucalyptus* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine alternative depuis des siècles (Pitman, 2004).

L'huile essentielle extraite à partir des feuilles de cette plante, est traditionnellement utilisée pour désencombrer les voies respiratoires.

Dans ce cadre, l'objectif de notre travail est de tester l'effet préventif et l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur un modèle d'inflammation colique induite par l'acide acétique chez les rats femelles de la souche Wistar. Ainsi que de tester leur activité antibactérienne et antibiofilm sur des diverses souches bactériennes.

INTRODUCTION

Notre mémoire est réparti en deux parties :

- La première partie constitue l'étude bibliographique, divisée en deux chapitres ;
 - ◆ Chapitre 1 : L'inflammation.
 - ◆ Chapitre 2 : *Eucalyptus radiata*.
- La deuxième partie est consacrée à la ; description de notre protocole expérimentale, présentation et discussion des résultats obtenus.

The page features a decorative design with three sets of concentric purple circles. One large set is in the top right, a smaller set is in the middle right, and another large set is in the bottom right. Two thin purple lines originate from the top left and extend towards the middle right, framing the text area.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 :

L'INFLAMMATION

I. L'inflammation

L'inflammation est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire (**Meziti, 2009**).

Elle a pour objet de diriger les molécules sériques et les cellules du système immunitaire vers le site de la lésion tissulaire (**Male, 2005**) (Voir fig. 1).

La réaction inflammatoire est une composante de la repense immune. Elle est impliquée dans l'immunité naturelle en repense à un signal de danger (**Prin et al., 2004**).

L'inflammation est traditionnellement définie par quatre mots latins, *calor* (chaleur), *dolor* (douleur), *rubor* (rougeur) et *tumor* (tuméfaction). Ces symptômes sont liés aux effets des différents agents inflammatoires présents sur le site de l'agression (**Noack, 2016**).

La réaction inflammatoire peut se décomposer en 3 éléments :

- ✓ Augmentation du flux sanguin ;
- ✓ Augmentation de la perméabilité des vaisseaux capillaires de la zone affectée ;
- ✓ Emigration des cellules depuis les vaisseaux vers les tissus (**Male, 2005**).

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, et du siège de l'inflammation (**Rousselet et al., 2005**).

I.1. L'origine de l'inflammation

La réaction inflammatoire peut être déclenchée par :

I.1.1. Agents exogènes

- Les micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons);
- Les agents physiques (rayonnements, les traumatismes, les fluctuations de température - chaleur ou froid);
- Les agents chimiques exogènes ou endogènes (L'hypoxie, L'acidose, caustiques, toxines, venins) (**Corazza, 2013**).

I.1.2. Agents endogènes

- Défaut de vascularisation: réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par Ischémie ;
- Agression dysimmunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, autoimmunité...) (**Rousselet et al., 2005**) ;
- Cellules tumorales tuées ;
- Cristaux formés dans l'organisme (acide urique) (**Corazza, 2013**).

L'agent agresseur entraîne en général une destruction tissulaire ou cellulaire, formant le signal d'appel de la réaction du système immunitaire. Selon cet agent, la réponse inflammatoire varie en intensité et en durée (**Kirasslan, 2015**).

I.2. Les différents types de la réponse inflammatoire

I.2.1. Inflammations aiguës

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Rousselet et al., 2005 ; Male et al., 2007**).

I.2.1.1. Déroulement général des différentes étapes de la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire est un processus dynamique comportant plusieurs étapes successives : la réaction vasculo-exsudative, la réaction cellulaire, la détersion, la phase terminale de réparation et cicatrisation (**Rousselet et al., 2005**) (Voir fig. 2).

a. Réaction vasculo-exsudative

Elle comporte trois phénomènes : une congestion active, un œdème inflammatoire (l'exsudat) et une diapédèse leucocytaire (**Regnault, 1992**).

☆ Congestion active

C'est une augmentation de la quantité de sang dans un tissu. Elle est due à une vasodilatation survenant après une brève phase de vasoconstriction. Elle est artériolaire puis capillaire, à l'origine d'une distension des capillaires (**Khelif, 2011; Hachem, 2014**).

Ce processus est déterminé par 2 mécanismes :

- ✓ Un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs) qui se caractérise cliniquement par une rougeur et chaleur locale (**Sherwood, 2006**) ;
- ✓ Un mécanisme chimique (substances vasoactifs : histamine, kinines, sérotonine, prostaglandine et les leucotriènes) qui induit la vasodilatation (**Nathan, 2002; Hachem, 2014**).

☆ L'œdème inflammatoire

Une sortie anormale de plasma hors des vaisseaux sanguins détermine la formation de l'exsudat inflammatoire (Matrice lâche, très claire). C'est un phénomène actif lié à l'augmentation de la pression hydrostatique et surtout à l'augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire (Voir fig.3), le résultat alors est un déséquilibre des mouvements de liquide appelé œdème locale qui se manifeste cliniquement par la **tuméfaction** des tissus qui, en comprimant des terminaisons nerveuses, est responsable de la **douleur**, de même les autres manifestations cliniques de l'inflammation **rougeur** et **chaleur** locales sont dues au forte débit locale de sang artériel rouge et chaud correspondant aux phénomènes vasculaires qui permettent l'apport dans la zone atteinte de nombreux leucocytes et protéines plasmatiques importantes. (**Rousselet et al., 2005; Sherwood, 2006; Kumar et al., 2014**).

L'œdème inflammatoire a pour conséquence :

- ✓ Diluer les toxines accumulées dans la lésion ;
- ✓ Limiter le foyer inflammatoire (par une barrière de fibrine ce qui évite la diffusion des microorganismes infectieux) ;
- ✓ Concentrer les moyens de défenses humoraux :

- ✓ Ralentir le courant circulatoire pour favoriser la diapédèse leucocytaire (Clos, 2012).

- ☆ **Extravasation des leucocytes**

Il s'agit du passage de leucocytes au travers de la paroi d'un capillaire dilaté et leurs recrutement dans les tissus lésés; cette étape aussi appelée **diapédèse** elle est assurée par les cellules endothéliales activées par les médiateurs de l'inflammation.

Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes. Il s'agit d'une traversée active des parois vasculaires qui comporte plusieurs étapes :

- ✓ **Margination** des leucocytes à proximité des cellules endothéliales, favorisée par le ralentissement du courant circulatoire.
- ✓ **Adhérence** des leucocytes aux cellules endothéliales, par la mise en jeu de molécules d'adhésion présentes sur la membrane des leucocytes et sur l'endothélium.
- ✓ **Passage trans-endothélial** des leucocytes. Ils émettent des pseudopodes qui s'insinuent entre les jonctions inter-cellulaires des cellules endothéliales puis les leucocytes traversent la membrane basale grâce à une dépolymérisation transitoire provoquée par leurs enzymes (Rousselet et al., 2005; Aymeric et Lefranc, 2009).
(Voir fig. 4).

b. La réaction cellulaire

Le foyer inflammatoire s'enrichit rapidement en cellules provenant :

- Du sang (polynucléaires, monocytes et lymphocytes), après diapédèse, ces cellules quittent le territoire péri-vasculaire et migrent vers le foyer lésionnel par chimiotactisme.
- Du tissu conjonctif local (fibroblastes, cellules endothéliales, mastocytes et macrophages résidents).

c. La détersion

La détersion peut être comparée à un nettoyage du foyer lésionnel : c'est l'élimination des tissus nécrosés (issus de l'agression initiale ou du processus inflammatoire lui-même), des agents pathogènes et du liquide l'exsudat.

Elle succède progressivement à la phase vasculo-exsudative, et est contemporaine de la phase cellulaire. La détersion prépare obligatoirement la phase terminale de réparation-cicatrisation. Si la détersion est incomplète, l'inflammation aiguë va évoluer en inflammation chronique (Khelif, 2011; Abadjian, 2014).

La détersion s'effectue selon 2 mécanismes :

☆ Détersion interne

Élimination des éléments étrangers et les tissus nécrosés du foyer inflammatoire par phagocytose / pinocytose.

☆ Détersion externe

Quand les débris sont éliminés par la peau ou dans un conduit bronchique, urinaire, intestinal (Rousselet et al., 2005).

d. La phase terminale : réparation et cicatrisation

La réparation parfois appelée la guérison, se réfère à la restauration de l'architecture tissulaire et leurs fonctions après une lésion. Il se produit par deux types de réactions : la régénération des tissus lésés et la formation de cicatrices par le dépôt de tissu conjonctif.

☆ Régénération

Certains tissus sont capables de remplacer les cellules altérées et revenir à un état normal. Ce processus est appelé régénération. Elle se produit par la prolifération des résidus de cellules qui conservent la capacité de se diviser, ou d'être remplacés par de cellules souches tissulaires.

☆ Formation de la cicatrice

La réparation se fait par la formation de tissus conjonctifs (fibreux), processus qui aboutit à la formation de cicatrices. Bien que la cicatrice fibreuse ne puisse exercer la

fonction cellules parenchymateuses détruites, il offre une stabilité que le tissu altéré soit en mesure de fonctionner. La **fibrose** est le terme plus souvent utilisé pour décrire le dépôt de collagène (**Abadjian, 2014**) (Voir fig. 5).

I.2.2. Inflammations chroniques

L'homéostasie tissulaire est donc régulée par une balance sensible entre recrutement, prolifération, migration et mort des cellules impliquées. Une dysrégulation de cette balance conduit à une réponse inflammatoire soutenue entraînant une inflammation chronique irréversible (**Park et al., 2005**).

Ces inflammations n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

- Les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées.

- Les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes, ou d'affections où les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants (exemple : hépatite chronique active secondaire à une infection par virus de l'hépatite B ou C) (**Rousselet et al., 2005**).

Cependant, les mécanismes et médiateurs impliqués dans le processus de l'inflammation chronique sont similaires dans différentes maladies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde (PR), la maladie de Crohn ou encore la sclérose en plaques (**Maddur et al., 2012**).

I.3. Cellules et médiateurs de la réaction inflammatoire

I.3.1. Les cellules impliquées dans l'inflammation

Le phénomène inflammatoire met en jeu différents acteurs cellulaires (Voir fig. 6) et protéiques dont l'action assure la production des médiateurs de l'inflammation.

☆ Les leucocytes

Les leucocytes ou cellules blanches jouent un rôle fondamental dans l'immunité et dans l'inflammation. Ils regroupent les polynucléaires et les granulocytes. Les polynucléaires rassemblent les neutrophiles, éosinophiles, et basophiles, les granulocytes rassemblent les monocytes et les lymphocytes. Leur nombre absolu et relatif peut être fortement modifié en cas d'inflammation (**Schmidt et al., 2013**).

☆ Les polynucléaires neutrophiles (PNNs)

Représentent 50 à 70% des leucocytes circulants dans le sang (**Botting et Botting, 2000**). Ils ont des propriétés phagocytaires (**Serhan et al., 2010; Trabsa, 2015**).

Les neutrophiles sont les premiers leucocytes à intervenir sur le lieu de l'inflammation. Ils forment ainsi un système de défense cellulaire majeur, et non spécifique par leur mobilité, leur sensibilité au chimiotactisme, leur aptitude à la phagocytose et leur activité bactéricide (**Kirasslan, 2015**).

L'organisme crée continuellement des neutrophiles, et accroît sa production en cas de besoin, pour en avoir toujours à disposition au vue de leur durée de vie courte (deux à trois jours) (**Descamps-Latscha et Witko-Sarsat, 1996**).

☆ Les éosinophiles

Les éosinophiles sont les premiers effecteurs de la défense immunitaire contre les infections parasitaires (**Guigas et Molofsky, 2015**). Ils permettent également la phagocytose, mais sont moins actifs que les neutrophiles. (**Lakhani et al., 2009**). Elles jouent également un rôle très important dans les réactions allergiques (**Stone et al., 2010; Rosenberg et al., 2013**).

Ces cellules circulent dans un état immature et infiltrent les tissus spécifiques de l'inflammation, où leur activation se fait par l'IL-3, l'IL-5 et le GM-CSF.

Elles produisent à leurs tours différentes molécules favorisant l'inflammation : eicosanoïdes, PAF, phospholipase, cytokines (IL1, TNFa...) (**Rousselet et al., 2005**).

☆ Les basophiles

Les polynucléaire basophiles sont les plus rares des polynucléaires (moins de 0.2% des leucocytes). Elles sont très riches en médiateurs pro-inflammatoires (**Rankin, 2004**). Ils interviennent dans les tissus lors de réactions d'hypersensibilité ou lors de parasitisme. En effet, les basophiles sont une source majeure d'histamine et produisent des cytokines (TNF- α , IL-1, 3, 35, 4, 5, 6, 8 et IFN γ) (**Male et al., 2007; Schwartz et al., 2015**).

☆ Les monocytes

Les monocytes sont des cellules mononuclées circulantes qui migrent vers le site inflammatoire et se différencient en macrophages. Ils ont pour rôle de phagocyter l'agent agresseur ou les fragments de tissus altérés (**Descamps-Latscha et Witko-Sarsat, 1996**). Ils interviennent aussi dans l'amplification de la réaction inflammatoire en libérant des médiateurs stimulant d'autres cellules inflammatoires. Les monocytes interviennent également dans la phase de réparation tissulaire (**Eming et al., 2007**).

☆ Les macrophages

Ils représentent 4% des leucocytes circulants. Ils ont un rôle de phagocytose et de destruction des micro-organismes et macromolécules. Ils synthétisent de nombreux médiateurs tels que des protéines, des lipides, des radicaux oxygène et oxyde nitrique (NO), qui activent d'autres leucocytes et fibroblastes. Ils synthétisent également des facteurs de croissance permettant la réparation et la régénération des tissus altérés.

Les macrophages arrivent sur le site inflammatoire en même temps que les neutrophiles mais en plus grand nombre. Ils agissent comme présentateurs d'antigènes, et ont un rôle dans la phase aiguë de l'inflammation, ainsi que dans la phase de détersion et de réparation. Dans le cas d'inflammation chronique, ce sont les macrophages qui prédominent. (**Callahan et al., 2014**).

☆ Les lymphocytes

Les lymphocytes représentent 20% des leucocytes circulants. Ils interviennent plus tardivement et participent à la réponse immunitaire spécifique. Les lymphocytes T sont la principale source des cytokines. Les lymphocytes B et leurs dérivés les plasmocytes produisent des anticorps, les opsonines facilitant la phagocytose (Callahan *et al.*, 2014).

◆ Les lymphocytes B (LB)

Les LB sont responsables de l'immunité humorale et produisent des immunoglobulines (Igs). Ils peuvent également servir de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et sécréter différentes cytokines (Cooper, 2015). De ce fait, ils jouent un rôle primordial dans l'élimination des agents pathogènes et des certaines maladies auto-immunitaires (Lebien et Tedder, 2008).

◆ Les lymphocytes T (LT)

Les LT sont responsables de l'immunité à médiation cellulaire, Parmi les lymphocytes T, on distingue : les lymphocytes auxiliaires (T helper CD4) et les lymphocytes cytotoxiques (CD8).

Ces deux populations diffèrent de façon fondamentale dans leurs modalités de reconnaissance de l'antigène et dans les fonctions régulatrices ou effectrices qu'elles exercent (Olivier, 2011).

☆ Les plaquettes sanguines

Les plaquettes ont un rôle important dans l'hémostase en interrompant le saignement à partir de vaisseaux lésés (Sherwood, 2006). Elles contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs comme le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine (Steinhubl, 2007; Kumar *et al.*, 2014).

☆ Les mastocytes

Les mastocytes sont des cellules du tissu conjonctif qui ont des ressemblances fonctionnelles et histologiques aux basophiles (cellules circulantes) (Caughey, 2011). Ils contiennent de nombreux granules renfermant des médiateurs chimiques comme l'histamine, la sérotonine, des prostaglandines et des leucotriènes. Au contact d'un allergène, ils peuvent dégranuler et entraîner plus tardivement la synthèse de cytokines (TNF- α) et de chémokines (Caughey, 2007). Ils sont aussi impliqués dans la réparation tissulaire (Eming *et al.*, 2007).

☆ Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales sont celles qui tapissent la face interne des vaisseaux. Ce sont donc des cellules qui sont en contact direct avec le sang et qui assure l'intégrité des vaisseaux (Davoine et Lacy, 2014).

Les cellules de l'endothélium des vaisseaux de petit et moyen calibre jouent un rôle important au cours de l'inflammation en passant par trois principales modifications :

- ✓ Une augmentation de la perméabilité vasculaire, responsable des signes de rougeur et de chaleur des tissus inflammatoires ;
- ✓ Un passage de plasma et de ses protéines dans le tissu participant ainsi à l'exsudation et à l'oedème ;
- ✓ Un recrutement local et une activation des leucocytes circulants (Busse et Fleming, 2006).

Les cellules endothéliales sont capables de participer aux phénomènes de réparation post-inflammatoire par la production de protéines matricielles et de différentes protéases (Aggarwal et Shishodia, 2006; Davoine et Lacy, 2014).

Ils participent aussi aux phénomènes de cicatrisation par la production de différents constituants de la matrice : collagènes, protéoglycanes, fibronectine, élastine (Botting et Botting, 2000).

☆ Les fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules permettant la synthèse des macromolécules extracellulaires (collagène, élastine, protéoglycanes et glycoprotéines de surface) qui participent aux phénomènes de réparation des tissus lésés par élaboration du tissu conjonctif cicatriciel. Lors de l'inflammation, les enzymes des fibroblastes (collagénases, gélatinase...) interviennent et lysent les macromolécules et les débris cellulaires.

I.3.2. Les médiateurs impliqués dans l'inflammation

On appelle médiateurs de l'inflammation toute molécule pouvant agir sur les acteurs de la réaction inflammatoire et pouvant moduler et réguler la réponse inflammatoire. Ils interviennent ainsi à toutes les étapes de la réaction, que ce soit à l'initiation, pendant la phase aiguë ou lors de la terminaison.

Les médiateurs ont souvent une durée de vie courte, leur activation et inactivation permettent la régulation de la réponse inflammatoire. Les médiateurs participent à des réactions en cascade.

On peut classer les médiateurs selon leurs caractéristiques biochimiques : amines vasoactives (histamine et sérotonine) ; médiateurs lipidiques (prostaglandines et leucotriènes) ; des cytokines de nature peptidique, protéique ou glycoprotéique. (**Botting et Botting, 2000**).

Le tableau 1 résume les origines et les principaux effets des plus importants médiateurs chimiques de l'inflammation.

Tableau1. Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004; Male, 2005; Davoine et Lacy, 2014).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Histamine	Mastocytes ; Basophiles ; Eosinophiles ; Plaquettes.	- Assure la vasodilatation ; - Augmente la perméabilité Vasculaire ; - Induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes ; Plaquettes.	- Augmente la perméabilité vasculaire, et dilate les capillaires ; - Stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur activateur Des plaquettes (PAF)	Plaquette ; Neutrophiles ; Monocytes ; Cellules endothéliales.	- Assure la vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire ; - Stimule la broncho constriction, l'agrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment ; - Induit la production des EOR et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Plasmine	Présente dans le plasma.	-Clive le composant du complément C3 pour générer le C3a et le C3b.
Leucotriènes : LTC4, LTD4, LTE4	Essentiellement par les leucocytes.	-Augmentent la perméabilité des micro- vaisseaux.
LTB4	Essentiellement par les leucocytes.	- Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local ; - Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandine E2	Essentiellement par les leucocytes.	- Provoque la vasodilatation ; - Renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes ; - Augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	- Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire ; - Stimule la contraction des muscles lisses.
Thrombine	Présente dans le plasma.	- Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine ; - Induit la libération de la sérotonine des plaquettes.
Fibrine	Présente dans le plasma,	-Intervient dans la formation du caillot sanguin.
IL-8	Monocytes ; Macrophages ; Plaquettes ; Lymphocytes.	- Active le chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages ; - Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des EOR. - Intervient dans la réparation tissulaire.

I.4. Les marqueurs de l'inflammation

I.4.1. Les marqueurs protéiques

I.4.1.1. La Protéine C Réactive (CRP)

La CRP appartient à la famille des pentraxines. Elle s'organise sous forme d'un pentamère de 115kDa et de 102Å (5 sous-unités reliées de façon non covalente) (Bello, 2008) (Voir fig. 7).

Il s'agit d'une glycoprotéine qui reflète l'inflammation aiguë, existe à l'état de traces chez l'individu sain (inférieur à 10 mg/l), mais elle s'élève très rapidement et est, de ce fait, un marqueur précoce de la réaction inflammatoire. Elle possède un temps de demi-vie court (8 - 12 heures) (Janssens, 2006; Zerbato, 2010). Elle est synthétisée au niveau des hépatocytes sous le contrôle de l'IL-6 (Cathy et Simin, 2008).

Une augmentation du taux de CRP est détectée dès la 6^{ème} heure de l'inflammation. En moyenne, elle devient pathologique 24 heures après le début de l'inflammation et se normalise rapidement après la disparition de la source de l'inflammation. Sa concentration peut être multipliée par 500 ou 1000 lors d'une inflammation aiguë. Le retour de la CRP à une valeur physiologique permet de juger de l'efficacité du traitement (Borghini et al., 2013).

Les différentes fonctions de la CRP sont :

- Favoriser l'opsonisation indépendamment du complément ;
- Se lier à des structures de membranes bactériennes ;
- Augmenter l'attraction des polynucléaires neutrophiles et la phagocytose (Laydyarts et al., 2000) ;
- Permet la résistance aux infections bactériennes, l'élimination des cellules apoptotiques et nécrotiques, la restauration des tissus lésés et un effet pro inflammatoire en favorisant l'activation des macrophages (Laydyarts et al., 2000).

En effet, la CRP a un effet inhibiteur sur la fibrinolyse de la coagulation (Libby et Ridker, 2004).

I.4.1.2. Les autres protéines de l'inflammation

a. L'orosomucoïde

Aussi appelé alpha-1-glycoprotéine acide, de PM = 41 kDa, sa cinétique est d'évolution lente : son pic plasmatique est atteint en 3 à 4 jours; sa demi-vie est de 3 jours; elle se normalise en 10 à 15 jours (**Bourdin, 2005**).

L'orosomucoïdémie normale est comprise entre 0.56 et 1.20 g/l, son taux s'accroît au cours des syndromes inflammatoires ainsi que lors de l'insuffisance rénale. Elle apparaît dans un délai de 12h après le début de la réponse inflammatoire (**Laydyarts et al., 2000**).

Cette protéine est particulièrement intéressante pour le dosage de l'inflammation lors des maladies inflammatoires chroniques en période d'hémolyse. Elle exerce un rôle immuno-modulateur en inhibant la prolifération lymphocytaire, et la croissance fibroblastique en se fixant sur le collagène (**Bourdin, 2005**).

b. Alpha-1-antitrypsine(AAT)

C'est une glycoprotéine contenant 10 à 12% de glucides, de PM = 55kDa, sa synthèse est majoritairement hépatique mais elle peut être aussi synthétisée par les lymphocytes avec des quantités minimes. Sa demi-vie est de 4 jours. Son taux sérique normal est compris entre 2 et 4 g/l. Cette protéine est douée d'une activité antiprotéasique irréversible (**Laydyarts et al., 2000; Zerbato, 2010**).

c. Haptoglobine (HPT)

Elle est aussi appelée α_2 -globuline, c'est une glycoprotéine plasmatique de PM= 84.5 KDa, synthétisée par le foie et suit un rythme circadien avec un pic à 8 heures. Sa cinétique est d'évolution lente, son pic plasmatique est atteint en 3 à 4 jours, sa demi vie est de 3 à 6 jours, elle se normalise en 10 à 15 jours. Cette glycoprotéine s'élève aux cours des infections d'origine inflammatoire (**Zerbato, 2010**).

Plusieurs rôles assurés par l'haptoglobine parmi eux :

- Elle stimule la croissance des fibroblastes et se fixe sur le collagène ;
- Elle est à l'origine de la matrice de la fibrine servant d'ancrage à de nombreux supports biochimiques ;
- Elle est l'un des principaux acteurs de l'élévation de la VS.

On observe une augmentation de son taux sérique 12 h après le début de l'inflammation pour atteindre son maximum 24 à 36 h plus tard (**Bourdin, 2005**).

d. Le fibrinogène

C'est une glycoprotéine volumineuse de 341 KDa. Elle est synthétisée par les hépatocytes et les mégacaryocytes. Le fibrinogène joue un rôle majeur dans la coagulation : Il est aussi appelé facteur I de la coagulation (**Guezennec et Burguin, 2009**).

Son taux plasmatique normal est compris entre 2 et 4 g/L et augmente avec l'âge et la grossesse. Ses variations suivent un rythme circadien. On observe une augmentation du taux à la 24^{ème} heure suite à une inflammation aiguë ; il atteint son maximum en 2 à 3 jours. (**Zerbato, 2010**).

Sa cinétique d'évolution lente : son pic plasmatique est atteint en 3 à 4 jours, sa demi vie est de 5 jours, elle se normalise en 10 à 15 jours (**Bourdin, 2005**).

e. Protéine amyloïde sérique A (SAA)

C'est une apolipoprotéine de type HDL synthétisée par le foie, les poumons, les reins et l'intestin lors de la phase aiguë de l'inflammation sous l'action de cytokines pro-inflammatoires, Son taux normal est de 2,5 mg/L et sa demi-vie est de 1 jour.

On observe une élévation du taux de SAA lors de réaction inflammatoire, celui-ci pouvant atteindre 50 à 1000 mg/L.

La SAA a des propriétés de défense à l'agression tissulaire et de nettoyage des débris cellulaires (**Stevens et al., 2004; Poitou et al., 2008**).

I.4.2. Vitesse de sédimentation (VS)

La mesure de la vitesse de sédimentation constitue un examen biologique simple pour détecter un syndrome inflammatoire, elle explore indirectement le taux plasmatique de protéines de l'inflammation (**weill et Batteux, 2003**).

C'est un examen peu cher, sensible, mais peu spécifique qui varie avec l'âge et le sexe. La VS représente la distance parcourue en une heure (parfois également 2 heures) par les hématies en sédimentation dans un tube vertical. On peut considérer comme normale une VS inférieure ou égale à 10 mm la première heure.

Une VS augmentée ne signifie pas toujours la présence d'un syndrome inflammatoire (**Borghini et al., 2013**).

I.4.3. Numération formule sanguin (FNS)

Egalement appelée hémogramme c'est l'examen biologique le plus prescrit toutes pathologies confondues. Elle permet d'évaluer la quantité des trois lignées sanguines : les hématies, les leucocytes et les plaquettes. Il permet notamment de mettre en évidence un processus inflammatoire ou infectieux (**Berthélémy, 2014**).

L'hémogramme peut s'accompagner de certaines anomalies au cours d'un syndrome inflammatoire : (**weill et Batteux, 2003; Abbal et al., 2011**).

- ☆ **L'hyperplaquettose** est fréquente en cas d'inflammation chronique, pouvant parfois atteindre jusqu'à 700 000 éléments par mm³ ;
- ☆ **L'hyperleucocytose** à polynucléaires neutrophiles est plutôt un marqueur d'infection : l'IL-1 produit après stimulation par les endotoxines bactériennes agit directement sur la moelle osseuse et provoque une hyperproduction des polynucléaire (PNN) ;
- ☆ **L'anémie inflammatoire** se voit au cours des inflammations prolongées, après 3 à 4 semaines d'évolution. Et reste souvent modérée entre 8 et 11g d'hémoglobine de son intensité est en rapport avec la gravité de l'affection. C'est une anémie normochrome normo/microcytaire, à ferritine sérique élevée.

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

I.5. Les anti-inflammatoires

La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses qui antagonisent les processus inflammatoires (**Mohr et al., 2001**) (Voir fig. 8). Ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (**Das et al., 2011**).

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes :

I.5.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Ils forment un groupe hétérogène de substances qui agissent sur les produits de la réaction inflammatoire quelle que soit son origine. Ce sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques (**Nevers, 2017**).

Leur efficacité est liée à leur mécanisme d'action principale qui est l'inhibition compétitive réversible ou non des cyclo-oxygénases (cox1)/(cox2), enzymes biofonctionnelle qui permet la biosynthèse des prostaglandines et du thromboxane à partir de l'acide arachidonique; cette caractéristique des AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines importants médiateurs de l'inflammation (PGE2 et PGI2) (**Bidaut-Russell et Gabriel, 2001; Nicolas et al., 2001; Orliaguet et al., 2013**).

I.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol principal glucocorticoïde surrénalien. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques (**Payne et Adcock, 2001**).

Leur mécanisme d'action est le même que celui des glucocorticoïdes endogènes. Les corticoïdes agissent sur de nombreux métabolismes et fonctions de l'organisme. Ils augmentent la production de la lipocortine (protéine anti-inflammatoire) inhibant ainsi la phospholipase A2 donc la libération de l'acide arachidonique.

Par contre ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions superoxydes (Barnes, 1998).

II. L'inflammation colique

II.1. Le colon

Le côlon, ou gros intestin, constitue la dernière partie de l'intestin et il sert essentiellement à absorber l'eau et les électrolytes. La flore bactérienne qui s'y trouve effectue la digestion finale qui résulte en l'obtention de selles et de gaz qui seront ensuite éliminés (Gosling, 2003).

II.2. Anatomie du côlon

Le gros intestin mesure environ 1.5 mètre de longueur, il s'interpose entre l'intestin grêle et rectum et dessine un cadre dans la cavité abdominale et dans ses différents segments, entre ainsi successivement en rapport avec la presque totalité des viscères intra-abdominaux (Gallot, 2006).

Le colon est composé de 6 segments et 2 angles : (Chenafa, 2015) (Voir fig. 9).

☆ Les segments

- **Le caecum** : est la partie initiale du colon, faisant suite à l'intestin grêle, il a la forme d'un sac, situé dans la fosse iliaque droite ;
- **Le côlon droit (ascendant)** : est le segment du colon étendu du caecum à l'angle colique droit, il est profondément situé dans la fosse lombaire ;
- **Le côlon transverse** : est la partie du colon compris entre les angles coliques droit et gauche ;
- **Le côlon gauche (descendant)** : est le segment du colon qui fait suite à l'angle colique gauche et se termine à la hauteur de la crête iliaque, Il est plus profondément situé dans la fosse lombaire que le colon ascendant ;

- **Le côlon iliaque:** c'est la partie du colon compris entre la crête iliaque et la ligne arqué du détroit supérieur ;
- **Le colon pelvien ou sigmoïde :** est la portion terminale mobile du colon, intercalé entre le colon iliaque et le rectum.

☆ Les angles

- **L'angle colique droit ou angle hépatique :** c'est le segment compris entre le colon ascendant et transverse. Il est situé en avant du rein droit ;
- **L'angle colique gauche ou angle splénique :** est le segment compris entre le colon transverse et le colon descendant. C'est un angle aigu (40° à 60°), ouvert en bas en avant et vers la ligne médiane (**Chenafa, 2015**).

II.3. Histologie du côlon

Le gros intestin apparaît de grande taille, avec un aspect rugueux, de couleur pâle, gris bleuté. La paroi colique est constituée d'une muqueuse, d'une sous-muqueuse, d'une musculuse, et d'une sous-séreuse (Voir fig. 10) :

☆ La muqueuse

La muqueuse colique ressemble à la muqueuse intestinale, mais n'a pas de villosités. Elle a uniquement des cryptes ou glandes de Lieberkühn. L'épithélium des cryptes est constitué principalement de cellules caliciformes (mucosécrétantes), de colonocytes (cellules absorbantes), et de rares cellules neuroendocrines. On trouve à l'état normal des lymphocytes au sein de l'épithélium de surface, dans une proportion inférieure à 10 lymphocytes pour 100 cellules épithéliales (**Chenafa, 2015**) ;

☆ La sous-muqueuse

Cette couche est sans spécificité histologique locale elle est constituée d'un tissu conjonctif ;

☆ La musculieuse

La couche longitudinale externe de la musculieuse a la particularité d'être discontinue et d'être composée de trois bandes épaisses, les Tænia coli, alors qu'entre ces bandes, la musculieuse longitudinale est quasi inexistante, seulement réduite à quelques fibres circulaires (**Kierszenbaum, 2006; Chenafa, 2015**) ;

Au cours de l'examen coloscopique on peut observer dans la cavité l'activité physiologique de la musculieuse circulaire sous forme de plis de contraction transversaire (**Onolfo, 2012**);

☆ La sous-séreuse

Membrane séreuse mince recouvrant la face externe de la musculieuse (**Kierszenbaum, 2006**).

II.4. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) désignent des lésions inflammatoires, d'étiologie peu connue, atteignant le tractus digestif. Ces atteintes sont définies par des manifestations cliniques variées et souvent comme leur nom l'indique en évolution chronique, c'est à dire avec une succession de phases de rémissions et de poussées de la maladie. Les lésions inflammatoires sont secondaires à une activation du système immunitaire intestinal (**Olivier, 2011**).

La maladie de Crohn (MC) et la recto-colite hémorragique (RCH) sont les deux principales formes de MICI (Voir fig. 11).

II.4.1. La maladie de Crohn (MC)

La maladie a été décrite en 1932 par Burrill Bernard Crohn, c'est une inflammation chronique de la muqueuse intestinale, caractérisée par la formation de sténoses, de fistules, d'ulcères et de granulomes au niveau de la muqueuse, La MC peut toucher l'ensemble du système digestif de la bouche à l'anus. Cependant, dans la majorité des cas, l'inflammation est principalement localisée au niveau de l'iléon ou du côlon (Des lésions profondes de la muqueuse à la séreuse) (**Baumgart et Fuss, 2011**).

Cette inflammation résulte de la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par les cellules du système immunitaire en réponse à une agression vraisemblablement infectieuse (Plevy, 2002 ; Strober, 2011).

Les manifestations cliniques de MC peuvent inclure la diarrhée ou la diarrhée sanglante, la malnutrition, douleurs abdominales et perte de poids, l'arthropathie ou les troubles de la peau, se produisent rarement (Rufo et Bousvaros, 2006; Freeman, 2014).

II.4.2. La colite ulcérate ou rectocolite hémorragique (RCH)

La rectocolite hémorragique (RCH) est une maladie inflammatoire chronique elle se caractérise par des lésions continues le plus souvent superficielles qui débutent dans le rectum et peuvent s'étendre sur l'ensemble du colon sans jamais atteindre d'autres segments du tube digestif (Membled, 2006 ; Conrad et al., 2014).

Elle comprend souvent des abcès cryptiques caractérisés par une infiltration abondante de neutrophiles et de monocytes qui limitent le renouvellement des cellules souches épithéliales (Baumgart et al., 2007; Strober et al., 2011).

II.5. Les modèles expérimentaux de colites

Il existe plusieurs méthodes pour induire artificiellement une inflammation au niveau du côlon chez des espèces animales couramment utilisées en laboratoire. L'inflammation peut être provoquée par exposition de l'animal à divers agents physiques ou chimiques. La colite peut aussi être induite chez des animaux transgéniques notamment par invalidation de gènes impliqués dans l'expression de certaines cytokines (IL-10) ou de certaines protéines des voies de signalisation de l'inflammation. Cependant aucun modèle ne possède l'ensemble des caractéristiques cliniques et physiopathologiques des pathologies humaines, mais ces approches expérimentales permettent de mieux étudier la pathogénèse et les caractéristiques

des MICI et de tester de nouveaux agents thérapeutiques potentiellement utilisables dans le traitement de ces pathologies (Strober et al., 2002).

II.5.1. La colite induite chimiquement

Une colite peut être déclenchée par l'administration d'un composé chimique toxique qui lèse la paroi intestinale. Plusieurs voies d'administration du toxique sont décrites, notamment le lavement (éthanol concentré, acide acétique ou formaline) et la prise orale (sulfate de dextrane sodique (DSS) dans l'eau de boisson).

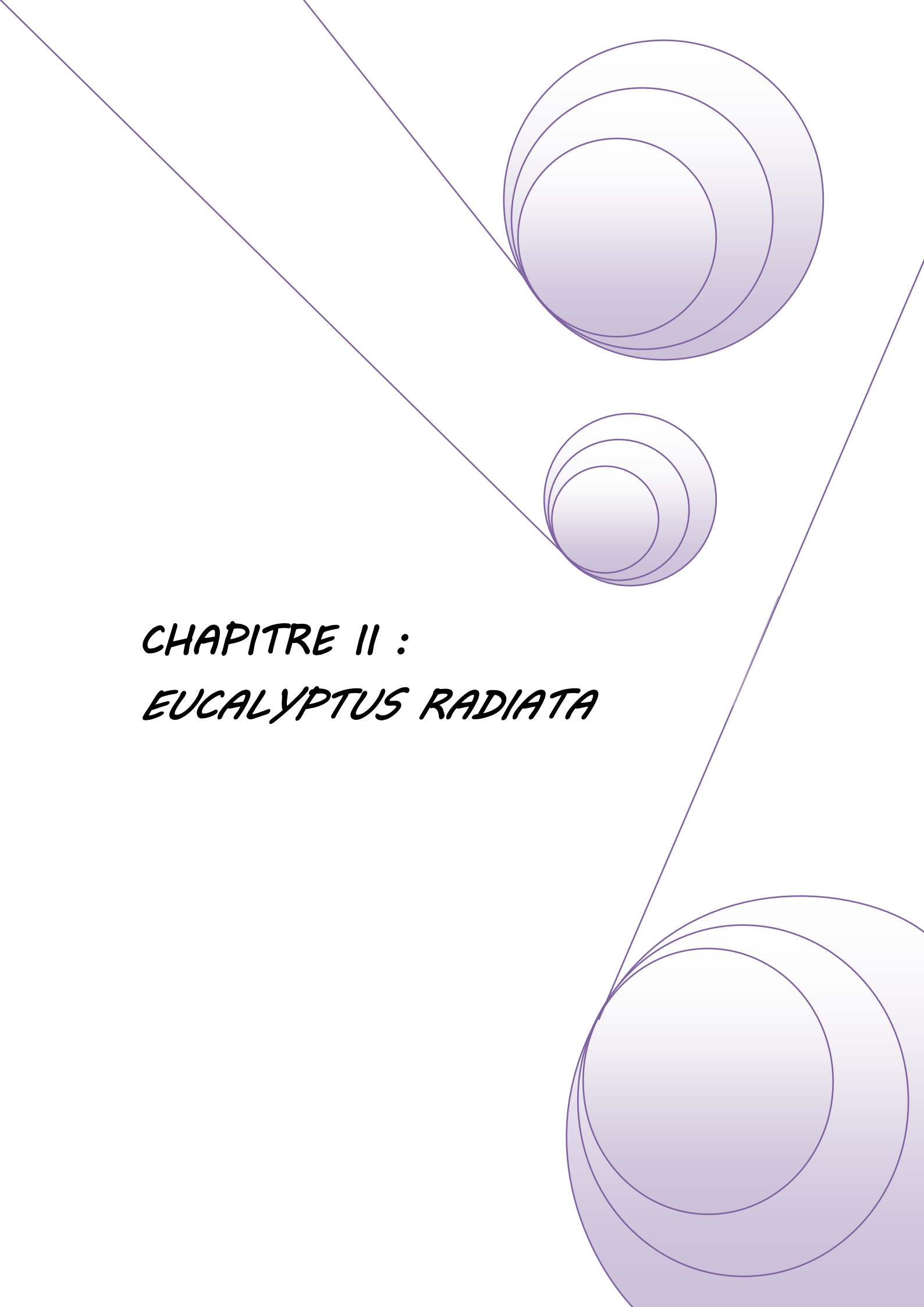
La colite de mécanisme « toxique » apparaît rapidement après l'administration du composé et conduit à des lésions souvent sévères par altération de la barrière intestinale qui met en contact la flore et l'immunité intestinale sous-jacente. L'activation du système immunitaire intestinal et le recrutement dans l'intestin de cellules inflammatoires concourent à entretenir l'inflammation et les lésions intestinales (Nancey et al., 2008).

II.5.1.1. La colite induite par l'acide acétique

La colite est un modèle facilement inductible des MICI, et la similitude du profil des médiateurs inflammatoires avec les MICI suggèrent que la phase inflammatoire présente une certaine ressemblance à l'inflammation intestinale humaine aiguë (Elson et al., 1995).

Des changements macroscopiques tels que les lésions de la muqueuse, une inflammation sévère infiltration cellulaire (Gonzalez et al., 1999), signes d'ulcération circonférentielles avec des abcès de la crypte peuvent être induits par instillation luminale d'acide acétique dilué à 4% ou 5% avec une durée d'exposition de 15-30 secondes (Fedorak et al., 1990 ; Fabia et al., 1993).

l'administration d'acide acétique dans le rectum des rats peut induire des perforations fréquentes (Elson et al., 1995).

The page features a decorative design with three overlapping purple circles of varying sizes. The largest circle is at the top right, a medium-sized one is in the center, and the smallest one is at the bottom right. Two thin purple lines intersect at the center, forming a large 'V' shape that frames the central circle and extends towards the top-left and bottom-right corners.

CHAPITRE II :
EUCALYPTUS RADIATA

III. Les plantes médicinales

L'homme utilise plusieurs plantes médicinales trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner plusieurs maladies humaines ou animales (Moreau, 2003). Ces drogues végétales sont très utilisées en médecine traditionnelle comme remèdes qui présentent un réservoir immense de composés de structure chimique diverse (métabolites primaires ou secondaires) (Gazengel et Orecchioni, 2013). Ils possèdent un très large éventail d'activités thérapeutiques préventives ou curatives dont l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études pour la découverte des médicaments (Sanogo, 2006 ; Newman et Cragg, 2007 ; Belkhodja, 2016).

L'*Eucalyptus* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle depuis des siècles (Pitman, 2004).

III.1. Étymologie du nom *eucalyptus*

Le mot *eucalyptus* vient de grec «Eu» signifiant «bien» et «Kalyptos» veut dire «couverture». Le nom générique signifie donc : «bien couvert», car les pétales et sépales sont soudés (Marque, 2008).

III.2. Les noms vernaculaires

- Calitouss كاليْتُوس « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions (Mahmoudi, 2011).

III.3. Le Nom commun

- Arbre à fièvre : dans les régions où ils sont plantés en prévention du paludisme.
- Gommier : qui fait allusion à la gomme résineuse rouge que les arbres exsudent quand ils sont blessés (Marque, 2008).

III.4. Présentation botanique et géographique d'*Eucalyptus*

Les *eucalyptus* sont en général de très grands arbres, géants du règne végétal, sont des angiospermes qui forment une famille de plantes dicotylédones dont plus de 500 espèces sont dénombrées (Warot, 2006).

Eucalyptus radiata (Eucalyptus radié) est un arbre à croissance rapide, odorant appartenant à la famille des *Myrtaceas* (Voir fig. 12). Elle est originaire d'Australie c'est pour cela elle est connue sous le nom d'*Eucalyptus australiana*. mais est également retrouvée en Amérique du Sud, en Afrique et en Europe (Lobstein et al., 2018).

L'*Eucalyptus radiata* est très proche de l'*Eucalyptus globulus*, puisqu'ils sont tous les deux originaires d'Australie avec une grande ressemblance de la composition chimique de leurs huiles essentielles (Lobstein et al., 2018).

L'*Eucalyptus radiata* est caractérisé par (Voir fig. 13) :

☆ Les feuilles

Les feuilles d'*eucalyptus* sont polymorphes :

- ✓ Sur les jeunes plantes, elles sont sessiles largement ovales, opposées subcordiformes, courtement acuminées.
- ✓ Sur les arbres adultes, elles sont pétiolées, fines et allongées et se terminent en pointes, mesurant jusqu'à 15 cm de long sur 1.5 de large, de couleur verte, elles sont alternes et falciformes (Lobstein et al., 2018).

De nombreuses glandes sécrétrices appelées schizogènes à huile essentielle ponctuent le limbe, elles sont visibles surtout par transparence. Les feuilles d'*eucalyptus* ont une odeur forte et balsamique, qui s'exalte en particulier par le froissement, leur saveur est aromatique résineuse, chaude un peu amère suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable semble t'elle à la menthe poivrée (Warot, 2006).

☆ Les fleurs

Les fleurs d'*eucalyptus radié* sont jaunes crèmes visibles au printemps et se caractérisent par la présence d'étamines à l'aisselle des feuilles, elles sont regroupées par 11 à 20. Leur éclosion a lieu en été. Leur nectar est particulièrement apprécié des abeilles (Faucon, 2015).

☆ Les fruits et les graines

Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron a maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Ghedira et al ., 2008).

☆ Le calice

A la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison, laissant apparaître de nombreuses étamines (Festy, 2015).

☆ Les branches

Les branches sont de petites tailles, vertes, tout comme ses feuilles (Faucon, 2015).

☆ L'écorce

L'arbre d'*Eucalyptus radiata* est pourvu d'une écorce gris bleutée ou brun et est fibreuse, caduque qui se détache en longs rubans (Festy, 2015).

☆ Racines

La plupart des eucalyptus possède aussi des organes protecteurs souterrains nommés lignotubes. Cet organe est un renflement des racines qui contient des réserves nutritives comme l'amidon. Les lingotubes autorisent l'*eucalyptus* d'engendrer de nouvelles pousses si une perturbation majeure détruit, en partie ou

en totalité, les parties aériennes de l'arbre. Les lignotubes facilitent par conséquent la survie des espèces d'eucalyptus qui possèdent cette adaptation (ONUAA, 1982).

III.5. Classification botanique d'*Eucalyptus radiata* (Cronquist, 1981).

Rang taxonomique	Nom scientifique
Sous-règne	<i>tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus radiata</i>

III.6. Répartition géographique d'*Eucalyptus*

L'*eucalyptus* est un arbre originaire d'Australie, tellement répandu dans les régions du monde qu'on en trouve à peu près 600 espèces différentes dispersées entre l'Afrique du sud, le Maghreb, l'Asie, l'Amérique du sud, le sud de la France. Il apprécie les sols drainés ainsi que les hauteurs subtropicales et du bassin méditerranéen, et même aux conditions climatiques qui règnent au pays basique ou dans les plaines avoisinantes (ONUAA, 1982).

En Algérie l'immensité du territoire algérien (2.381.741 Km²) et la spécificité du climat de chaque région favorisent la diversité des ressources végétales en *eucalyptus*. C'est vers les années 1960 et 1970 qu'on commencé le reboisement à base d'*Eucalyptus* à l'Est du pays (EL-Kala, Annaba, Skikda) au centre dans la région de

Kabylie (Tizi-ouzou et Bai nem) et à l'Ouest (Mostaganem) dans le but de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et avec un capital d'environ 130 espèces (Meziane, 2006).

III.7. Les huiles essentielles

Une huile essentielle (HE) est le résultat de la distillation d'une plante ou d'une partie de plante (fleurs, feuilles, graines, racine, bois ou l'écorce).

On peut les extraire par différentes techniques, mais la distillation à la vapeur d'eau est la plus répandue. Le liquide obtenu appelé communément essence est extrêmement concentré (Boughendjioua, 2015). Contrairement à ce que son nom laisse supposer, une huile essentielle est de consistance huileuse mais sans corps gras (Jouault, 2012), et se compose de centaines de molécules aromatiques volatiles et hydrophobes c'est ce qui rend chaque huile polyvalente, avec de nombreuses propriétés et indications, à l'inverse d'un médicament, qui ne renferme généralement qu'une seule molécule, pour un seul usage (Festy, 2014).

Les vertus odorantes, thérapeutiques et gustatives des huiles essentielles permettent de nombreuses applications en médecine, en cosmétologie, en parfumerie, en aromathérapie et en gastronomie (Wilson, 2010).

L'*Eucalyptus radiata* est considérée comme la source d'une des meilleures huiles essentielles médicinales (Martinetti, 2013).

III.8. Etude chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

Il existe plusieurs centaines d'espèces d'eucalyptus portant toutes le nom "eucalyptus" mais dont les différentes huiles essentielles présentent des compositions extrêmement diverses et dont les propriétés sont donc plus ou moins éloignées, voire parfois opposées les unes aux autres (Franchomme et al., 2001).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* n'est pas inscrite à la Pharmacopée Européenne (contrairement à l'*Eucalyptus globulus*) (Kosiol, 2015).

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

Elle est principalement composée de divers métabolites secondaires représentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Les principales Composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et leurs différentes formes (Warot, 2006; Kosiol, 2015; Luís, 2015; Silvant, 2015; Lobstein et al., 2018).

Famille de composés	Forme retrouvées
Oxydes 65-75%	1,8-Cinéole (70%)
Monoterpènes 10%	α-pinène (3%) Limonène(5%) Myrcène (2%) Sabinène (1%)
Monoterpénols 20%	α-terpinéol (14%) Géraniol (2,6%) Linalol (0,4%) Isoterpinéol (2%) Terpinen-4-ol (1%)
Sesquiterpènes 2% aromadendrène	Sesquiterpènes 2% aromadendrène
Aldéhydes 1% monoterpéniques	Myrténal Citronellal Géranial Néral
Esters 3%	Terpinyle d'acétate

III.9. Usage et utilisation d'*Eucalyptus radiata*

- ☆ L'*eucalyptus* est utilisé dans la fabrication de la pâte à papier grâce à la richesse de leur écorce en fibre de cellulose qui possède des propriétés papetières intéressantes (Warot, 2006).
- ☆ L'huile essentielle d'*eucalyptus* peut être utilisée pour apporter de la brillance aux cheveux. Elle est également efficace pour éliminer les pellicules (Emmanuelle, 2018).
- ☆ Comme l'huile essentielle de citron, l'huile essentielle d'*eucalyptus radié* serait efficace pour détacher des vêtements ou des tapis (Emmanuelle, 2018).
- ☆ L'huile essentielle d'*eucalyptus radié* peut être utilisée pour rafraîchir et assainir l'air d'intérieur (Festy, 2014).
- ☆ L'huile essentielle d'*eucalyptus radié* peut être utilisée en diffusion atmosphérique pour éloigner les insectes (mieux que les aérosols chimiques qui sont toxiques pour les insectes, et ils le sont aussi pour nous) (Festy, 2014).

III.10. Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata*

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est constituée de nombreuses molécules agissant en synergie. Le principe actif l'eucalyptol ou 1,8-cinéole (C₁₀H₁₈O) y est très majoritaire (Warot, 2006) (Voir fig. 14) et lui confère les propriétés médicinales suivantes :

☆ Expectorante et mucolytique

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est plus spécifique des affections respiratoires hautes, rhino-pharyngées et sinusiennes (Martinetti, 2013). On l'utilisera comme expectorant et mucolytique car elle exerce une action positive sur les toux par l'intermédiaire du 1,8-cinéole qui active les glandes exocrines des muqueuses respiratoires. Elle sera indiquée dans les cas de toux grasses mais surtout

dans les toux mixtes elle peut être utilisée aussi en massage du thorax et du dos pour faire baisser la fièvre (Lobstein et al., 2018).

☆ Bactéricide et antifongique

Le 1,8-cinéole et alpha terpinéol de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* ont une activité antibactérienne et antifongique puissante : ils agissent sur les bactéries et champignons responsables de certaines mycoses (candidoses) et d'infections pulmonaires (Colant, 2016).

☆ Anti-acnéique

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* va en faire un excellent anti-acnéique naturel. Elle va permettre de réguler l'excès de sébum et de réduire la prolifération bactérienne. Elle peut être utilisée seul ou en synergie avec par exemple de l'huile essentielle d'Arbre à Thé (Chaumont et Millet-Clerc, 2011).

☆ Tonifiante

Il existe une propriété qui est spécifique à *Eucalyptus radiata*, il s'agit de l'effet tonifiant. En effet, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est connue comme étant positivante. Elle sera très efficace dans les cas de fatigue physique et intellectuelle et favorise la concentration et la mémoire, elle est utilisée aussi pour calmer les états nerveux comme l'anxiété, et les angoisses (Kosiol, 2015; Lobstein et al., 2018).

☆ Tonique hépatique

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est également un excellent tonique hépatique qui va réguler les excès alimentaires. Elle peut ainsi être utilisée dans certaines cures « detox », très à la mode en ce moment (Berthélémy, 2013; Kosiol, 2015);

☆ Anti-inflammatoire

Le pouvoir anti-inflammatoire des huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata* est due à 1,8-cinéole qui a la capacité de bloquer : les médiateurs de l'inflammation

notamment l'interleukine 1 bêta, la production de TNF alpha, la 5-lipooxygénase, les COX et le développement de PGE2 (**Lassus et Guehenec, 2017**).

☆ **Immunostimulante**

Le Terpinen-4-ol de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est très intéressante dans les cas où le système immunitaire n'est pas stimulé ou dans le cas de déficits immunitaires et elle stimule l'action des globules blancs et augmente la réaction de phagocytose (**Lloulou, 2014**).

The page features a decorative design with three sets of concentric purple circles. One large set is in the top right, a smaller set is in the middle right, and another large set is in the bottom right. Two thin purple lines cross the page diagonally, one from the top left to the middle right, and another from the top right to the bottom right.

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I:

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal

Dans notre étude on utilise une huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* extraite à partir des feuilles qui ont été récoltées à la région d'Oued El aneb de la wilaya d'Annaba. L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par distillation à la vapeur au niveau d'une Entreprise de Production des huiles Essentielles et Plantes Aromatiques Séchées (AROM'Est) Draa Errich , Annaba.

I.1.1. Mode d'obtention de l'huile essentielle

Les feuilles d'*Eucalyptus radiata* sont récoltées, lavées, séchées à l'ombre et coupées en petits morceaux ; ensuite portées au dispositif de distillation qui consiste à utiliser un courant de vapeur d'eau qui les traverse entraînant les constituants volatils. Après condensation, deux fractions sont récupérées : une fraction légère riche en huiles (le distillat) et une fraction lourde (l'hydrolat) qui se séparent grâce à leur différence de densité (Wilson, 2010) (Voir fig. 15).

I.2. Evaluation de l'activité antibactérienne et anti-biofilm

Cette étude vise à expérimenter les effets probables de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la croissance planctonique et la formation de biofilm.

La méthode choisie est la méthode standard de coloration au Cristal Violet (CV) (Lee et al., 2008 ; Richards et al., 2008). Cette technique permet une évaluation quantitative de la formation de biofilms puisque la coloration adsorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé.

I.2.1. Souches bactériennes

Quatre souches bactériennes cliniques appartenant aux espèces : *Escherichia coli* (EC), *Klebsiella pneumoniae* (KP), *Pseudomonas aeruginosa* (PA) et *Staphylococcus aureus* (SA) ont été sélectionnées pour cette étude.

I.2.2. Cultures bactériennes

Pour la réalisation de test de formation de biofilm, chaque souche a été préalablement ensemencée sur gélose Luria Bertani (LB agar). Après 24 heures d'incubation à 37°C, des suspensions bactériennes ont été préparées dans le bouillon Luria Bertani (LB broth) et ajustées à une densité optique (DO) 600 nm de 0,20 à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un volume maximal de 2 ml issu de chaque suspension bactérienne a été ensemencé dans des tubes à assai en polystyrène.

Afin d'étudier l'effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la formation du biofilm et la croissance planctonique, une concentration de 5 µl/ml (Tolba et al., 2015) a été ajoutée aseptiquement au milieu LB broth.

I.2.3. Test au Cristal Violet

- ✓ Après 24 heures d'incubation à 37°C et pour chaque tube, l'absorbance de la culture bactérienne résultante est mesurée à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- ✓ Par la suite, chaque tube est soigneusement vidé de la culture bactérienne, et rincé 3 fois à l'eau distillée.
- ✓ La biomasse fixée sur les parois du tube est révélée après coloration à l'aide d'une solution aqueuse de CV à 1 % (m/v).
- ✓ Après un temps de contact d'une heure, l'excès de colorant est éliminé suivi d'un lavage abondant des parois du tube à l'eau distillée (jusqu'à l'obtention des gouttes transparentes).
- ✓ Les tubes sont enfin égouttés et mis à sécher à l'air libre.
- ✓ Le CV fixé sur les parois des tubes est solubilisé à l'aide d'une solution constituée d'un mélange éthanol-acétone (75 : 25 v/v).
- ✓ Après 1 heure du temps, l'absorbance de la solution obtenue est mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La figure 16 résume tous les étapes du protocole suivi dans notre expérimentation.

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

I.3. Evaluation de l'activité préventive et anti-inflammatoire

I.3.1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Dans notre étude nous avons utilisé 20 rats blancs femelles *Rattus rattus* de la souche Wistar provenant de l'animalerie de l'Université des frères Mentouri Constantine-1, d'un poids vif moyen de 225 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

Ces rats femelles ont été soumises à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie : une température de $25 \pm 2 \text{ C}^\circ$; humidité de 50 - 55% et à un cycle de jour et nuit de 14 heures d'éclairage/10 heures d'obscurité afin de respecter leur cycle biologique.

Les rats sont placés dans des cages en plastique qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Elles ont accès libre à l'eau et l'alimentation concentré énergétiquement équilibré fournie par l'Unité d'Aliments de Bétails (UAB) d'Ouled Hamla - Oum El Bouaghi, dont la composition est détaillée dans le tableau 3.

Tableau 3. Composition de l'alimentation pour 1 Kilogramme d'aliment (UAB)

Matière alimentaire	Quantité en g/Kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	660	66
Soja	150	15
Issues de meunerie	60	6
Calcaire	6	0.6
Phosphate	18	1.8
Sel	10	1
Acides aminés	20	2
Oligo-éléments	20	2
Vitamines : A, D3 et E	40	4
Facteur de croissance	7	0.7
Antioxydant : B.H.T	1	0.1

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

I.3.2. Traitement des rats

Après la période d'adaptation, Les 20 rats femelles ont été réparties équitablement en quatre groupes de cinq rats chacun (T, HE, AA et HE+AA).

Le traitement des rates a été réalisé en deux étapes :

☆ **La première étape : Le prétraitement**

- **Groupe T et Groupe AA** : Rats reçoivent un régime standard
- **Groupe HE et Groupe HE+AA** : Rats reçoivent premièrement l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* à une dose de 100 mg/Kg de poids corporel (PC) par injection intra-péritonéal (Silva, 2003).

Ce traitement a été poursuivi pendant 5 jours.

☆ **La deuxième étape** : Après 5 jours de prétraitement, les rats poursuivent leurs traitements:

- **Groupe T** : Témoin reçoivent un régime standard.
- **Groupe HE** : Rats reçoivent toujours par injection intra-péritonéal 100 mg/Kg PC d'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.
- **Groupe AA** : Rats traités par 2 ml/kg PC d'acide acétique 5% (v/v) par voie intra-rectale.
- **Groupe HE+AA** : Rats reçoivent toujours une dose de 100 mg/Kg PC d'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* par injection intra-péritonéal et après une heure, les rats reçoivent 2 ml/kg PC d'acide acétique 5% (v/v) par voie intra-rectale (Kolgazi et al., 2013 ; Elsayed Ashry et al., 2016).

L'administration d'acide acétique se fait par voie intra-rectale à l'aide d'un cathéter pédiatrique de 8 mm de diamètre et une longueur de 8 cm allons de l'anus vers le colon en passant par le rectum. Le traitement des rats a été poursuivi selon les lots pendant 3 jours.

La Figure 17 schématise les différentes étapes de protocole réalisé dans notre expérimentation.

I.3.3. Prise du poids corporel

La prise du poids corporel des rats femelles est effectuée à l'aide d'une balance Sartorius, BP 610 (0,01 g de précision) chaque deux jours pendant la semaine qui précède le traitement, puis chaque jour durant la période du traitement.

I.3.4. Sacrifices et prélèvements des organes

I.3.4.1. Prélèvement sanguin

Après 8 jours de traitement les 4 groupes sont anesthésiés, avec du chloroforme pendant 2 à 3 minutes, le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale à l'aide d'une seringue de 5 ml et immédiatement recueilli dans des tubes étiquetés.

Pour chaque rat, le sang a été recueilli dans deux tubes :

- ☆ Un tube contient EDTA;
- ☆ Un tube contient héparine de sodium.

Ce dernier est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes le jour même du prélèvement, les plasmas obtenus ont été servis pour le dosage des paramètres biochimiques (Albumine, protéines totales, Transaminases, Créatinine et Urée). Alors que les tubes à EDTA sont immédiatement transportés dans une glacière au laboratoire d'analyse (Laboratoire d'Analyse Médicale - El Kahina, Constantine) pour déterminer la formule de numération sanguine (FNS).

a. Numération formule sanguine (FNS)

L'hémogramme ou numération-formule sanguine (FNS) est un examen du sang qui permet d'évaluer la quantité et la qualité de la lignée rouge (hématies), et la lignée blanche (globules blancs) et des plaquettes.

Ce test est réalisé sur l'automate (ORPHEE MYTHIC) qui mesure de façon électronique les différents composants du sang Globules blancs (GB), lymphocytes (LYM), Neutrophiles (NE), Granulocytes (GRA), Monocytes (MO), Eosinophiles (EO), Basophiles (BA), Plaquettes (PLA), Globules rouges (GR), Taux d'hématocrites (HT), Taux d'hémoglobines (HB), Volume globulaire moyen (VGM), teneur

globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

b. Les paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques (albumine, protéines totales, Transaminases, Créatinine et Urée) est réalisé sur l'automate (ADVIA 1800), au niveau de Laboratoire centrale de biochimie : Centre Hôpitalo-Universitaire (CHU BEN BADIS - Constantine), selon les fiches techniques Spinréact.

I.3.4.2. Prélèvement des organes

- ☆ Les organes (foie, reins, cœur et la rate) sont soigneusement prélevés et rincés avec une solution de NaCl à 0.9% et débarrassés de leurs tissus adipeux puis pesés pour déterminer leurs poids relatif.
- ☆ Un fragment du colon est fixé dans le formol à 10% afin de réaliser des coupes histologiques.

a. Etude histologique

Des sections des colons (partie distal) ont été nettoyée et coupée longitudinalement et conservée dans des petites flacons contenant une solution de formol (10%).

Les coupes histologiques ont été réalisées à la clinique d'Urologie-Néphrologie et transplantation rénale BOUCHERIT ABDELKADER de Constantine, Service d'ANATA. La technique utilisée est celle décrite par (**Hould, 1984**) qui comporte les étapes suivantes :

- **Fixation** : La fixation des échantillons à été faite dans le formol (10%).

Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

- **Déshydratation des échantillons**

Au début, il faut déshydrater les échantillons à l'aide d'un automate qui permet le passage automatiques et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 95% et 100%).

- **L'inclusion et réalisation des blocs**

Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide.

Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

La réalisation des coupes minces de quelques microns (1-5 μm en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés « Microtomes ». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixés sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

- **La coloration**

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine); qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70° + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100 ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95°, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique). la coloration suit les étapes suivantes :

- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée ;
- Immerger dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux) ;

- Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) ; déposer ensuite les lames dans un bain d'eau du robinet et vérifier la différenciation au microscope ;
- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale ;
- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet ;

Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

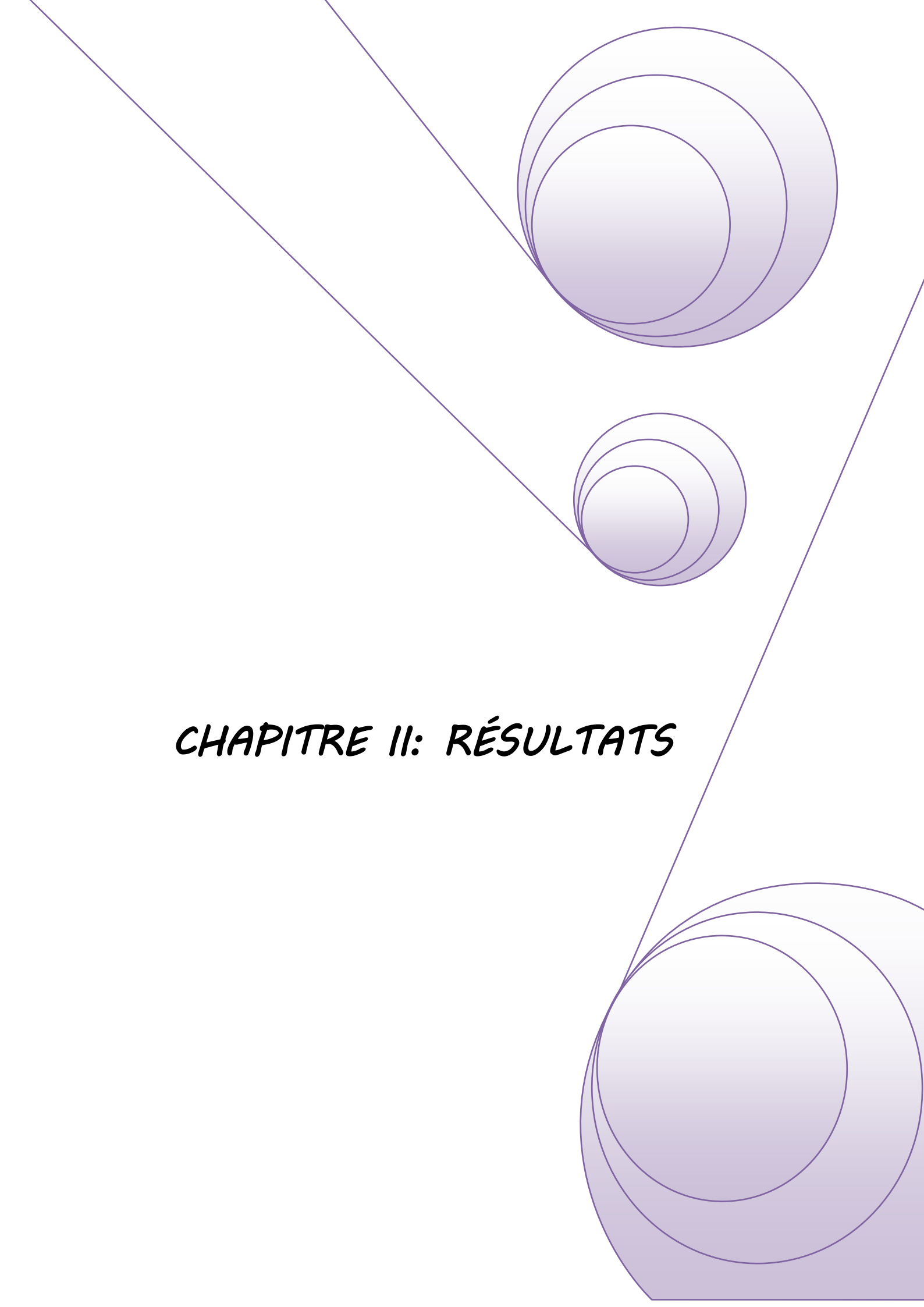
I.4.Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type (Moy \pm ET), la comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes sont comparées deux à deux par un test de Student.

Les différences sont considérées comme :

- ⇒ Significatives lorsque (*P \leq 0,05).
- ⇒ Hautement significative (**P \leq 0,01).
- ⇒ Très hautement significative (**P \leq 0,001).

Avec P : Seuil de signification.

The page features a decorative design with three sets of overlapping purple circles. One large set is in the top right, a smaller set is in the middle right, and another large set is in the bottom right. Two thin purple lines originate from the top left and extend towards the middle right, framing the central text.

CHAPITRE II: RÉSULTATS

II. Résultats

II.1. Mise en évidence de l'activité antibiofilm et antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

Dans le but de mettre en évidence l'effet antibactérien et antibiofilm de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*, l'activité inhibitrice de ce dernier à l'encontre du biofilm formé par les souches sélectionnées a été réalisée.

Les résultats obtenus, après 24 heures d'incubation en présence de 5 µl/ml de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sont présentées dans le tableau 4 et illustrés par la figure 18.

II.1.1. Effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la croissance planctonique des bactéries

Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, l'observation visuelle et spectrophotométrique révèle une remarquable sensibilité de l'ensemble de souches tests (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) vis-à-vis notre huile essentielle. Ceci se traduit par la diminution du trouble de la suspension bactérienne correspondant à la diminution de la densité bactérienne à 600 nm et l'augmentation des pourcentages d'inhibition de la croissance planctonique des bactéries tests : *E. coli* (36.48%), *K. pneumoniae* (37.71%), *P. aeruginosa* (52.06%) et *S. aureus* (23.77%) (Voir figure 18 et tableau 4).

II.1.2. Effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la formation des biofilms

L'activité antibiofilm de l'huile essentielle contre les souches bactériennes sélectionnées a été effectuée selon une méthode de quantification de la formation de biofilms en tubes. Les absorbances indiquant la formation de biofilm (Témoin) et leurs inhibitions (testés) ont été mesurées après coloration au cristal violet par lecture de la densité optique (DO) à 570 nm puis comparées au témoin (sans ajout l'huile essentielle). Les résultats obtenus sont consignés dans la figure 18 et tableau 4.

D'après les résultats obtenus, après l'addition de 5 µl/ml de l'HE d'*Eucalyptus radiata* au milieu LB, il est clairement remarqué une diminution de la capacité d'adhésion et par conséquent la formation des biofilms chez les bactéries appartenant aux espèces suivantes *S. aureus* et *E. coli* où le pourcentage de réduction est d'ordre de 75.16 % et 63.6% respectivement.

Par ailleurs, on note un faible pourcentage de réduction de l'adhésion de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* vis-à-vis les souches bactériennes *K. pneumoniae* (-6.88%), *P. aeruginosa* (7.08%).

Tableau 4. Effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*, sur la croissance planctonique et la formation du biofilm.

Les souches bactériennes	Planctonique		Biofilm	
	DO 600	DO 600	DO 570	DO 570
	Témoin	Test	Témoin	Test
<i>Escherichia coli</i> (EC)	0.513	0.325	0.542	0.187
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KP)	0.531	0.331	0,994	1.06
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PA)	0,697	0.333	0.922	0.857
<i>Staphylococcus aureus</i> (SA)	0.527	0.401	0.844	0.192

II.2. Activité préventive et anti-inflammatoire

La présente étude est conçue pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* contre la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles. Les résultats ont révélé que l'acide acétique a provoqué des signes cliniques typiques, notamment: la diarrhée sanglante (voir fig.19), diminution de la consommation de l'eau et de la nourriture, la perte du poids corporel, ainsi des atteintes macroscopiques observés lors de la récupération des colons mais aucune mortalité n'a été reportée.

II.2.1. Etude pondérale

II.2.1.1. La croissance corporelle

Lors du suivi du poids corporel des rats femelles après avoir subi les différents traitements, nous observons une diminution du poids chez les animaux traitées par l'acide acétique et la combinaison (AA+HE) par rapport à celui des témoins, mais l'analyse statistique ne décèle aucune différence significative (Voir tableau 5 et fig.20).

Néanmoins il y a lieu de noter que les rats femelles traitées par l'acide acétique enregistrent un taux de perte du poids corporel plus élevé (-18,3 g), par contre les rats traitées par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* présentent une augmentation du poids (+5,7 g) par rapport aux rats témoins.

II.2.1.2. Action sur le poids relatif (PR) de certains organes

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de poids relatif de foie chez le groupe traité par combinaison (HE /AA) comparativement au groupe traité par l'acide acétique ainsi que par rapport au groupe témoin.

Concernant le poids relatif des reins il y a une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez le groupe traité par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* comparativement au groupe témoin.

Par ailleurs, aucune variation significative des poids relatif des organes (cœur, rate) chez tous les groupes traités, que ce soit par rapport au groupe témoin, ou bien par rapport au groupe traité par l'acide acétique (Voir tableau 5, et fig. 21).

Tableau 5. Variation du poids corporel PC (g) et du poids relatif PR (g/100 g de poids corporel) des organes (foie, rein, cœur et la rate) chez les rats témoins et les traitées par l'AA, HE et la combinaison (HE+AA).

Paramètres	Lots expérimentaux			
	T	HE	AA	HE+AA
Poids initiale (g)	218,3 ±13,31	227,42 ±12,30	221,88 ±19,81	223,88 ±19,22
Poids final (g)	220,56 ±12,62	233,12 ±15,65	203,58 ±11,96	214,34 ±17,42
Gain de poids (g)	2,26	5,7	-18,3	-9,54
PR du foie	3,9268 ±0,34	4,3918 ±0,27	3,8004 ±0,44	4,7252 ±0,24 ** ##
PR des reins	0,685 ±0,05	0,5904 ±0,05 *	0,6282 ±0,03	0,6406 ±0,06
PR du cœur	0,3528 ± 0,01	0,3398 ±0,01	0,3598 ±0,01	0,3374 ±0,02
PR des rates	0,4696 ±0,10	0,4358 ±0,05	0,431 ±0,07	0,4648 ±0,11

Différence significative en comparant au groupe témoin :

*P ≤ 0,05 ; ** P ≤ 0,01 ; *** P ≤ 0,001.

Différence significative en comparant au groupe traité par l'acide acétique :

P ≤ 0,05 ; ## P ≤ 0,01 ; ### P ≤ 0,001.

P : seuil de signification.

II.2.2. Etude macroscopique du colon des rats témoins et traitées

Les spécimens coliques des rats ont montré que l'administration intra-rectale de l'acide acétique a provoqué des dégâts macroscopiques et dommages intenses au niveau du gros intestin qui sont traduits par : des blessures épithéliales, une ulcération, des œdèmes, inflammation de la muqueuse locale, gonflement et épaissement de la paroi, ainsi que le changement de la coloration du rose clair vers le bleu violacé, ce qui montre bien la sévérité de l'atteinte inflammatoire chimio-induite. (voir fig. 22).

Par ailleurs, Aucune altération n'a été détectée après les observations macroscopiques des côlons des rats témoins et les traitées par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE +AA).

II.2.3. Etude de quelques paramètres hématologiques

II.2.3.1. Globules blancs, lymphocytes, Monocytes, Granulocytes

Le traitement statistique de nos résultats décèle une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des globules blancs, hautement significative ($p \leq 0.01$) des monocytes et granulocytes et aucune différence significative au niveau des lymphocytes chez les rats traités par l'acide acétique comparativement au groupe témoin.

Par ailleurs, chez les rats traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*, on constate une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des lymphocytes, et aucune différence significative n'est retrouvée au niveau des globules blancs, des monocytes et granulocytes comparativement au groupe témoin.

De plus, on révèle une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des lymphocytes, hautement significative ($p \leq 0.01$) des granulocytes, très hautement significative ($P \leq 0,001$) des globules blancs, des monocytes chez les rats traitées par combinaison (HE+AA) comparativement au groupe témoin.

En revanche, on révèle une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des globules blancs, hautement significative ($p \leq 0.01$) des lymphocytes chez les rats traités par la combinaison (HE+AA) comparativement au groupe traité uniquement par l'acide acétique (voir tableau 6 et fig.23).

II.2.3.2. Globules rouges, HB, Hématocrite, VGM, CCMH, TGMH et Plaquettes

Les résultats observés révèlent une légère augmentation des globules rouges, taux d'hématocrites, taux d'hémoglobine, Volume globulaire moyen et teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine chez les rattes traitées par l'acide acétique en comparant au lot témoin, mais statistiquement reste non significative.

Par contre, une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) est retrouvée au niveau de la CCMH.

Par ailleurs, aucune différence significative : des globules rouges, hématocrite, HB, VGM, CCMH, TGMH et des Plaquettes, n'est retrouvée chez les rats traités par la combinaison (HE+AA) comparativement au groupe traité uniquement par l'acide acétique (voir tableau 6 et fig.24).

Tableau 6. Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et les traitées par l'acide acétique, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE+AA).

Paramètres	Lots expérimentaux			
	T	HE	AA	HE+AA
Globules blancs	6,04 ±1,48	7,36 ±0,52	8,431 ±1,12 *	10 ±0,54 *** #
Lymphocytes	4,4 ±0,56	5,34 ±0,61 *	3,654 ±0,79	5,4 ±0,71 * ##
Monocytes	0,76 ±0,29	1,06 ±0,23	1,6 ±1,13 **	1,78 ±0,40 ***
Granulocytes	1,18 ±0,49	1,08 ±0,35	2,025 ±0,48 **	1,924 ±0,19 **
Globules rouges	6,438 ±0,19	6,17 ±0,25	6,734 ±0,96	6,52 ±0,23
Taux d'hématocrite (%)	36,04 ±1,46	34,36 ±1,43	38,524 ±3,22	36,4 ±1,72
Taux d'hémoglobine	13,36 ±0,58	12,3 ±0,37	13,15 ±1,89	13,64 ±0,82
VGM	56 ±1,70	55,08 ±1,81	54,2 ±1,59	55,88 ±2,89
CCMH	37,06 ±0,39	36,62 ±0,57	38,14 ±0,48 **	37,48 ±0,56
TGMH	20,78 ±0,58	20,16 ±0,56	20,46 ±0,96	20,9 ±1,33
Plaquettes	731 ±214,82	853,2 ±186,76	829,25 ±96,57	792,4 ±109,89

Différence significative en comparant au groupe témoin :

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Différence significative en comparant au groupe traité par l'acide acétique :

$P \leq 0,05$; ## $P \leq 0,01$; ### $P \leq 0,001$.

P : seuil de signification.

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

II.2.4. Etude de quelques paramètres biochimiques

II.2.4.1. Protéines totales et l'Albumine

Les résultats de notre expérimentation présentent que le traitement par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* provoque une légère diminution significative ($P \leq 0,05$) des protéines totales et albumine par rapport au lot témoin.

Dans le même contexte une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) est observée chez les rats traités par l'acide acétique et par la combinaison de l'huile essentielle d'Eucalyptus et l'acide acétique en comparant avec les témoins (voir tableau 7 et fig.25).

II.2.4.2. Transaminases

Nous constatons une diminution des transaminases dans tous les lots traitées.

La diminution d'ASAT étant hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les rats traitées par la combinaison (HE + AA). Contrairement au lot traité par l'acide acétique qui exprime une diminution significative ($P \leq 0,05$) d'ALAT en comparant avec le lot témoins voir le tableau 7 et fig.25).

II.2.4.3. Créatinine et l'urée

Nos résultats montrent une diminution de la créatinine chez tous les rats ayant subi des traitements. Avec une signification ($P \leq 0,05$) dans le lot traité par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*, et hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les rats femelles traitées par l'huile essentielle et l'acide acétique par rapport aux rats témoins.

Concernant l'urée on note une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité par l'huile essentielle d'*eucalyptus radiata* par rapport au lot témoins. Egalement une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par l'AA et traités par la combinaison (HE + AA) (voir le tableau 7 et fig.25).

Tableau 7. Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et les traitées par l'acide acétique, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE+AA).

Paramètres	Lots expérimentaux			
	T	HE	AA	HE+AA
Protéines totales	70.762 ±1.76	65.178 ±3.94 *	58.453 ±3.32 ***	58.566 ±1.23 ***
Albumine	36.826 ±1.37	34.194 ±2.39 *	31.58 ±1.52 ***	32.41 ±1.00 ***
ASAT	93.104 ±9.18	87.782 ±17.42	79.416 ±10.94	79.978 ±3.73 **
ALAT	35.605 ±4.94	34.554 ±6.48	29.598 ±2.11 *	29.494 ±5.22
Créatinine	6.64 ±0,38	5.304 ±1.13 *	6.104 ±0.71	5.856 ±0.40 **
Urée	0,448 ± 0,038	0,374 ±0,05 *	0,344 ±0,02 ***	0,315 ±0,03 ***

Différence significative en comparant au groupe témoin :

*P ≤ 0,05 ; ** P ≤ 0,01 ; *** P ≤ 0,001.

Différence significative en comparant au groupe traité par l'acide acétique :

P ≤ 0,05 ; ## P ≤ 0,01 ; ### P ≤ 0,001.

P : seuil de signification.

II .1.4. L'étude histologique

La photomicrographie de côlon des rats traités par 2 ml/kg PC d'acide acétique 5% (v/v) par voie intra-rectale pendant 3 jours expose des changements histopathologiques graves tels que: nécrose de la muqueuse associée à l'infiltration de cellules inflammatoires dans la muqueuse et sous-muqueuse, colite focale et la déplétion des cryptes .

Par ailleurs, les observations microscopiques du côlon des rats témoins et traités par HE seul ou à la combinaison (HE/AA) ont montré une couche de mucus et des cryptes normales et aucune infiltration leucocytaire (fig. 26).

The page features a decorative design with three sets of overlapping purple circles. One set is in the top right, one is in the middle right, and one is in the bottom right. Two thin purple lines originate from the top left and extend towards the middle-right circles. The text 'CHAPITRE III : DISCUSSION' is centered on the page.

CHAPITRE III : DISCUSSION

III. Discussion

III.1. Evaluation de l'activité antibiofilm et antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

Actuellement, la capacité à former un biofilm est reconnue comme une propre caractéristique pour de nombreux microorganismes. L'aptitude des bactéries pathogènes à former des biofilms est l'un des facteurs de virulence assez grave qui leur confère une grande tolérance aux agents antimicrobiens.

Face à cette grande tolérance aux biocides, antibiotiques et au système immunitaire, la découverte de nouvelles molécules inhibitrices fait l'objet de nombreuses études.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude qui consiste à tester l'effet d'une huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la croissance planctonique et la formation de biofilm chez quatre souches d'importance clinique à savoir: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Ces bactéries ont été préalablement choisies de manière à balayer les groupes bactériens les plus importants. En effet, les trois premières bactéries font partie du groupe des bactéries à Gram négatif tandis que la dernière est une bactérie à Gram positif. Même au sein des bactéries à Gram négatif : *E. coli* et *K. pneumoniae* sont des entérobactéries et *P. aeruginosa* est déjà connue comme une bactérie non fermentaire.

Il est déjà admis que les cellules adhérentes aux surfaces solides ont des propriétés différentes de celles des cellules planctoniques (Teixeira et Oliveira, 2002). Pour cette raison, la croissance planctonique des bactéries, obtenue après addition de l'HE d'*Eucalyptus radiata* au milieu LB a été également suivie (voir tableau 4). L'obtention des pourcentages importants d'inhibition de la croissance planctonique, des bactéries tests : *E. coli* (36.48%), *K. pneumoniae* (37.71%), *P. aeruginosa* (52.06%) et *S. aureus* (23.77%) est due aux deux principaux composés oxygénés de l'HE d'*Eucalyptus radiata* (citronellal et citronellol) (Tolba et al., 2015). Pareillement, Lee et al. (2008) ont montré que citronellol a une activité antifongique très importante contre *Phytophthora cactorum* avec un taux d'inhibition proches de 100%.

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

Il apparait que l'inhibition la plus marquée a été observée chez les bactéries à Gram négatif au regard de la bactérie à Gram positif. Par conséquent, les différences de composition de l'enveloppe bactérienne entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif entraînent une sensibilité variable vis-à-vis les agents antimicrobiens. Ainsi, l'enveloppe des bactéries à Gram positif ne possède pas de récepteurs spécifiques ou de perméases facilitant la pénétration des biocides dans les cellules (**Russell, 1991**). Concernant les bactéries à Gram négatif, la membrane externe de la paroi peut jouer un rôle de barrière vis-à-vis des agents chimiques. Il est à noter que chez les bactéries à Gram négatif, les petites molécules antimicrobiennes hydrophiles pourront pénétrer dans les cellules par la voie hydrophile via les porines (**Hancock, 1998**) alors que les composées lipophiles emprunteront la voie hydrophobe (diffusion à travers la membrane par les lipides et le lipopolysaccharide) (**Joly, 1995**).

Les résultats issus, de la méthode de coloration de biofilms formés par le CV, ont montré aussi une activité antibiofilm importante de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur les biofilms formés par les souches *S. aureus* et *E. coli* avec des pourcentages de réduction de l'ordre de 75.16 % et 63.6% respectivement. Cependant, cette activité est relativement faible sur les biofilms formés par les souches *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*.

En effet, nos observations sont en accord avec celles rapportées par (**Fux et al., 2003 ; Donlan, 2001**), qui indiquent que les bactéries contenues dans un biofilm présentent des caractéristiques très différentes de leurs homologues planctoniques. Les bactéries formant les biofilms expriment donc un phénotype différent des bactéries en suspension.

De même, l'inhibition maximale de l'adhésion a été observée chez la bactérie à Gram positif *S. aureus*, par rapport aux autres bactéries à Gram négatif, avec un taux de réduction de 75.16 %. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Merghni et al. (2018)**. Au sein des bactéries à Gram négatif, l'entérobactérie *E. coli* vient dans la deuxième position avec un pourcentage de réduction non négligeable de 63.6%.

L'un des autres facteurs de virulence bactérienne importants impliqués dans la formation de biofilm est appelé le comportement d'essaimage (**Packiavathy et al., 2014**).

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

Il s'agit d'un stade de dispersion des formes planctoniques dans le milieu extérieur, à partir du biofilm, lorsque l'épaisseur maximale de ce dernier est atteinte. Il permet de favoriser la colonisation de nouvelles surfaces et par conséquent la formation d'autres biofilms. Les formes planctoniques ainsi libérées peuvent conserver des caractéristiques du biofilm, comme l'antibiorésistance. En effet, les bactéries essaimant d'un biofilm sont capables de résister aux défenses immunes de l'hôte et être à l'origine d'une infection (Donlan, 2002 ; Clutterbuck *et al.*, 2007).

De ce fait, il a été prouvé que 1,8-cinéole exerçait un rôle mécaniste dans la régulation des facteurs contribuant à l'essaimage et la motilité des cellules planctoniques, reposant sur l'expression de diverses molécules biosurfactantes (Daniels *et al.*, 2004; Nickzad *et al.*, 2015).

III.2. Activité préventive et anti-inflammatoire

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) sont un trouble inflammatoire qui représente un groupe de maladies idiopathiques comme la colite ulcéreuse ou rectocolite hémorragique (RCH) caractérisées par des lésions inflammatoires chroniques du tractus gastro-intestinal. À l'heure actuelle, la thérapie des MICI repose principalement sur l'administration des médicaments anti-inflammatoires qui sont souvent associés à des effets indésirables graves. Par conséquent, la recherche de nouveaux anti-inflammatoires avec une innocuité relative est toujours un sujet d'actualité pour l'industrie pharmaceutique.

Dans le même contexte, notre expérimentation vise à prouver l'effet anti-inflammatoire probable de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus radiata* contre la colite induite par l'acide acétique chez les rats. Ce modèle expérimental (colite chimio-induite par l'acide acétique) permet le développement rapide d'une inflammation majoritairement confinée au niveau du côlon distal d'un côté, et qui a des propriétés communes à celle induite chez l'être humain dans certains aspects comme : l'inflammation aiguë, l'infiltration de polynucléaire neutrophile et la perturbation focale de l'épithélium, d'un autre côté (Krawisz *et al.*, 1984 ; Pfeiffer, 1985 ; Sharon et Stenson, 1985).

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

Notre étude est réalisée avec une dose de 100 ml/Kg PC de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et une dose de 2 ml/kg PC d'acide acétique à 5% en se référant aux travaux effectués par (Silva, 2003) et (Kolgazi et al., 2013 ; Elsayed Ashry et al., 2016) respectivement.

D'après les résultats obtenus dans notre expérimentation, l'administration de 2 ml/kg d'acide acétique par voie intra-rectale chez les rats femelles de la souche Wistar a provoquée :

✓ Une diminution de la croissance corporelle par rapport à celle des témoins. Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques (Hilaly et al., 2004). La perte du poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal et peut être expliquée aussi par la réduction de la consommation des aliments.

✓ Une légère augmentation du poids relatif du cœur a été observée chez les rats traités par l'acide acétique. La variation du poids des organes internes peut être considérée comme un bon indicateur pour l'évaluation de la toxicité d'une substance (Teo et al., 2002). Une autre étude, montre que l'augmentation du poids relatif d'un organe peut être liée à une congestion par résorption du sang dans le tissu, l'hypertrophie tissulaire (Rasekh et al., 2008) ou par la présence d'un infiltrat inflammatoire (Betti et al., 2013).

✓ L'analyse de nos résultats a montré aussi que les rats traités par l'acide acétique ainsi que par la combinaison (HE+AA) ont une augmentation importante des globules blancs, monocytes, et granulocytes par rapport aux témoins.

Au cours des phases actives des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, la muqueuse intestinale malade est le siège d'un infiltrat inflammatoire polymorphe constitué de cellules polynucléées, en particulier les polynucléaires neutrophiles (PNN). La migration de ces derniers au site de l'inflammation se fait sous l'influence de molécules chimiotactiques. Parmi celles-ci l'interleukine-8 (IL8) qui joue un rôle majeur (Reimund et al., 1997).

En effet, les rats recevant l'acide acétique mobilisent toutes ces capacités de défense pour lutter contre la présence de cet agent chimique dans son organisme (**Karmakar et al., 2000**). Ce qui explique d'ailleurs l'augmentation de l'ensemble des cellules immunitaire dans notre expérimentation, cela est aussi confirmé par l'implication directe de ces cellules dans la défense immunitaire contre les agents chimiques.

Alors que, chez les rats recevant la combinaison (HE+AA) l'augmentation est due exclusivement à la capacité immunostimulante de notre huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* grâce à l'activité du Terpinen-4-ol intéressante en stimulant l'action des globules blancs et en augmentant la réaction de phagocytose (**Lloulou, 2014**).

Ce qui confirme la propriété thérapeutique immunostimulante de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* citée dans le chapitre 2.

En ce qui concerne les globules rouges, HB, HT, VGM, TGMH et les plaquettes, aucune variation significative notée chez les rats traités par l'acide acétique cela est pourrait être expliqué par la durée de traitement (3 jours) qui reste insuffisante pour provoquer des changements au niveau hématologique.

Une diminution importante des protéines totales et d'albumine plasmatiques est observée chez les rats recevant l'acide acétique.

L'albumine possède un pouvoir antioxydant constitutionnel. En effet, l'albumine contient un groupement thiol (SH) libre sous forme réduite porté par la cystéine 34, ce groupement peut capter les radicaux libres générés par l'acide acétique tels que: l'oxygène, anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (HO^{\cdot}), ou radicaux azotés et aboutir à une oxydation massive de l'albumine, par conséquent cette protéine peut se dénaturer et se fragmenter, ou perdre leurs structures primaires et secondaires (**Musante et al., 2006**).

De ce fait, on peut dire que l'activités anti-inflammatoire de l'albumine provienne de ses propriétés anti-oxydantes et qu'il y a un lien physiopathologique entre le stress oxydatif et l'inflammation (**Cantin et al., 2000**). Ce qui en accord avec les résultats de notre expérimentation.

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

En revanche, la diminution de l'urée, la créatinine et les transaminases chez les rats traités par l'huile essentielle et la combinaison (HE+AA) ne possèdent pas de significations cliniques graves.

L'étude macroscopique du côlon a révélé que l'administration intra-rectale de l'acide acétique à 5% provoque une acidification intracellulaire massive entraînant des dommages intenses dans le gros intestin (Souza et al., 2016). Ces dommages sont traduits; par le changement de l'épaisseur du côlon en raison des, érosions, œdèmes, blessures épithéliales et l'inflammation de la muqueuse locale et la sous muqueuse et des hémorragies (Minaiyan et al., 2006 ; Mustafa et al., 2006 ; Tsianos et al., 2009), résultant l'activation des cellules immunitaires résidentes et l'infiltration des cellules inflammatoires circulantes (Podolsky, 2007 ; Abraham et Cho, 2009). Ce processus se caractérise par une sécrétion des chimiokines et associé à l'activation des voies de l'acide arachidonique (Papadakis et al., 2000).

En effet la réponse inflammatoire a été classée en fonction de l'étendue de la destruction de la muqueuse normale : l'architecture, la présence et le degré de l'infiltration cellulaire, l'épaississement et la présence ou l'absence des cryptes

L'observation microscopique des intestins (côlon) des rats traités par l'acide acétique a montré de profonds changements histopathologiques : une rupture de l'épithélium intestinal avec ablation des cryptes, la présence d'ulcération, une destruction de l'architecture épithéliale, et une infiltration de cellules inflammatoires dans la muqueuse, ce qui concorde les travaux réalisés par (Simkin et al., 2000 ; Kolgazi et al., 2013 ; Ashry et al., 2016).

Par ailleurs, ces altérations histologiques ont été visiblement réduites par le prétraitement par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* avant l'acide acétique, et elle a assuré une muqueuse presque totalement saine, une amélioration modérée de la réponse inflammatoire et une récupération remarquable de la muqueuse (voir Figure 26).

Dans un second temps, d'après les résultats obtenus dans notre expérimentation, on peut dire aussi que le prétraitement par l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* avant l'exposition à l'acide acétique a fourni une protection

significative aux paramètres étudiés (poids corporel, les poids relatif de certains organes cibles, quelques paramètres hématologiques et même au niveau des coupes histologiques) qui ont été altérés en présence d'acide acétique seul.

Cette protection est expliquée selon (Luís et al., 2015) par la richesse de cette l'huile en composés bénéfiques (1,8-Cinéole, α -terpinéol, Terpinen-4-ol et limonene) qui ont un pouvoir anti-oxydant puissant et sont capables de réduire de manière significative l'inflammation colique.

Des études de Minaglou (2004) ont montré également que le principe actif 1,8 cinéole (eucalyptol) a montré différents types d'activité :

- ✓ Une activité stéroïde-like sur l'inhibition de l'interleukine 1 bêta et la production de TNF alpha. Cette activité peut probablement être attribuée à l'inhibition de l'activation du facteur de transcription nucléaire NF Kappa B (responsable de l'activation cellulaire des gènes impliqués dans la régulation de la réponse immunitaire et de l'inflammation);
- ✓ Une inhibition de la 5-lipoxygénase qu'elle a été prouvée *in silico* par les travaux de Boutrif et Merdassi (2014) ;
- ✓ Une inhibition des COX et de la formation de PGE2 et de TxB2.

The page features a decorative graphic consisting of three sets of overlapping purple circles of varying sizes, arranged vertically. Two thin purple lines intersect at the top left, forming a V-shape that frames the circles. The text is centered in the lower-left quadrant.

*CONCLUSION ET
PERSPECTIVES*

Conclusion générale et perspectives

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

Dans l'objectif de la valorisation de l'effet thérapeutique d'*Eucalyptus radiata*, nous avons évalué l'effet anti-inflammatoire vis-à-vis la colite induite par l'acide acétique chez des rats femelles de la souche Wistar, Ainsi que leur activité antibactérienne et anti biofilm sur quelques souches bactériennes.

Nos résultats montrent dans un premier temps que l'administration de l'acide acétique à 2 ml/kg de poids corporel par voie intra-rectale chez les rats pendant 3 jours, a provoqué des perturbations dans la plupart des paramètres étudiés.

- ✓ Une diminution du poids corporel durant la période de traitement ;
- ✓ Une augmentation de poids relatif du cœur ;
- ✓ Une augmentation du nombre des globules blancs, monocytes et granulocytes;
- ✓ Une légère augmentation des globules rouges, hématoците et plaquettes.
- ✓ Une diminution de la concentration plasmatique en l'albumine et en protéines totales.

L'étude macroscopique du colon a révélé que l'administration intra-rectale de l'acide acétique a provoqué des dégâts intenses au niveau de cet organe.

De plus, les observations microscopiques illustrent la destruction de l'architecture de l'épithélium intestinal, nécrose de la muqueuse associée à l'infiltration de cellules inflammatoires dans la muqueuse et sous-muqueuse, colite focale et la déplétion des cryptes.

Par ailleurs, le prétraitement des rats femelles avant l'administration de l'acide acétique par 100 mg/kg de poids corporel d'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a amélioré la plupart des paramètres étudiés et a atténué l'inflammation colique.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Cette amélioration est due à l'effet anti-inflammatoire et à la richesse de cette huile en molécules bioactives comme ; 1,8-Cinéole, L' α -pinène, α -Terpinéol et Limonène.

D'un autre coté, nos résultats ont montré une activité antibiofilm importante de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur les biofilms formés par les souches *S. aureus* et *E. coli*, et des pourcentages importants d'inhibition de la croissance planctonique, des bactéries tests : *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Donc l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* exerce son pouvoir antibactérien et préventif (anti-inflammatoire) par :

- ✓ L'effet synergique de tous ces constituants bioactifs ;
- ✓ La minimisation de la multiplication bactérienne ;
- ✓ La réduction de la production des médiateurs inflammatoires impliqués dans le déroulement des étapes de la réaction inflammatoire aiguë ;
- ✓ La diminution de la perméabilité vasculaire ;
- ✓ La récupération ou régénération de la muqueuse intestinale ;

Les résultats de notre travail ouvrent d'autres nouvelles voies de recherche notamment, le dosage de certains paramètres de stress oxydatif (GSH, GPx, SOD...) et inflammatoire (CRP). Parallèlement il pourrait être aussi intéressant de purifier et de déterminer toutes les molécules bioactives de l'huile d'*Eucalyptus radiata* pour mieux caractériser ces effets protectrices.

Il serait aussi intéressant de poursuivre les études sur l'échelle moléculaire pour mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactives d'*Eucalyptus radiata* et les utiliser en médecine moderne.

The page features a decorative design with three sets of overlapping purple circles. One set is in the top right, one is in the middle right, and one is in the bottom right. Two thin purple lines originate from the top left and extend towards the right, passing behind the circles. The word 'BIBLIOGRAPHIE' is centered on the page in a bold, italicized, black font.

BIBLIOGRAPHIE

Abadjian G. (2012). Pathologie Générale : Cicatrisation. Université Saint-Joseph de Beyrouth. p33.

Abadjian G. (2014). Pathologie Générale : Inflammation et Cicatrisation. Université Saint-Joseph de Beyrouth. p 21,22.

Abbal M, Alric L, Cantagrel A, Delisle B. (2011). Réaction Inflammatoire : Aspects Biologiques et Cliniques. Conduite à Tenir. Université Paul Sabatier Toulouse France. p 4.

Abraham C, Cho JH. (2009).IL -23 and autoimmunity: new insights into the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annual review of medicine*, vol. 60, p 97-110.

Aggarwal BB, Shishodia S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *biochemical pharmacology*, vol.71, p 1397-1421.

Ashry EE, Abdellatief RB, Mohamed AE , Kotb HI. (2016). Protective Effect of Ketamine against Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats. *Pharmacology and Pharmacy*, vol. 7, n°1, p9.

Aymeric JL , Lefranc G. (2009). Immunologie humaine : De Boeck Supérieur. p 59.

Barnes PJ. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science*, vol.94, p 557-572.

Baudoux D. (2008). L'aromathérapie. Bruxelles : Amyris. p 253.

Baumgart DC, Sandborn WJ. (2007). Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*, vol.369, p. 1641-1653.

Beau V, Partouh H, membres de SFTG Paris-Nord. (2000). Exploration de la réaction inflammatoire en médecine générale. SFTG Paris-Nord.

Belkhodja H. (2016). Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique. Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur : Sciences Biologiques : université de Mustapha Stambouli Mascara. p 27.

Bello G. (2008). Etude des effets de la protéine C-réactive sur certains aspects de la biologie des cellules mononuclées circulantes et des monocytes humains. Implications pour la physiopathologie des maladies cardiovasculaires. thèse

présentée pour l'obtention du grade de docteur : Biologie Moléculaire : Université Henri Poincaré- Nancy 1.

Berthélémy S. (2013). Conseils à un patient se plaignant d'un rhume. *Actualités pharmaceutiques*, vol. 52, n° 524, p 45-48.

Berthélémy S. (2014). L'hémogramme ou numération-formule sanguine, vol. 53, n° 538, p 53-55.

Betti AH, Stein AC, Dallegrave E., Wouters ATB, Watanabe TTN, Borghini T, Laurence V, Dagmar K. (2013). Fiche technique Protéine C réactive (CRP) et Vitesse de sédimentation (VS). Bourg.

Borghini T, Vernez L, Kessler D. (2013). Protéine C réactive (CRP) et Vitesse de sédimentation (VS). CSCQ.

Botting RM, Botting JH. (2000). Pathogenesis and mechanism of inflammation and pain: An overview. *Clinical Drug Investigation*, vol.19, p 1-7.

Boughendjioua H. (2015). Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat : biologie végétale : Université Badji Mokhtar-Annaba. p23.

Bourdin J. (2005). Le syndrome inflammatoire au cours de la thrombose veineuse profonde : causes et conséquences, *Revue de la littérature*. Etude rétrospective à propos de 54 patients. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur : médecine : Université de Nantes, p16.

Boutrif C, Merdassi A. (2014). Etude *in silico* de 5-lipoxygénase tant qu'enzyme impliquée dans les maladies inflammatoires. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en biochimie: Université des Frères Mentouri Constantine 1, p 12-23.

Bril L. (2016). La colite aigue grave au cours des maladies inflammatoires chroniques intestinales à début tardif. Etude en population générale diplôme d'état doctorat : médecine : Faculté mixte de médecine et de pharmacie de Rouen. p 27.

Busse R et Fleming I. (2006). Vascular endothelium and blood flow. Handbook of Experimental Pharmacology. Vol.176, n° 2, p 43-78. Cabinet de pédiatrie. Thèse de doctorat : Pharmacie : Faculté de pharmacie : Université Henri Poincaré- Nancy 1.

C **Callahan, Gerald N, Yates, Robin M. (2014).** Immunology. University Press of Colorado, Chapter 3 Inflammation and repair .p 67-109.

Cantin AM, Paquette B, Richter M, Larivée P. (2000). Albumin-mediated regulation of cellular glutathione and nuclear factor kappa B activation. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, vol. 162(4pt1), p 1539-1546.

Cathy C Lee MD MS, Simin Liu MD ScD. (2008). Role of Inflammatory Cytokines in Type 2 diabetes. Review of endocrinology. p 19-21.

Caughey GH. (2007). Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense Immunological Reviews, vol.217, n°1, p 141-154

Caughey GH. (2011). Mast cell proteases as protective and inflammatory mediators. Advances in Experimental Medicine Biology, Vol.716, p 212-234.

Charlotte B. (2008). Intérêt du dosage de la protéine C-réactive par microméthode dans la prise en charge de l'enfant fébrile sans point d'appel infectieux : étude prospective de 95 patients. Thèse de doctorat : Médecine : Université Paris Descartes (Paris 5), p 13-14.

Chaumont JP, Millet-Clerc J. (2011). Phyto-aromathérapie appliquée à la dermatologie. Paris : Tec & Doc.

Chenafa. (2015). Anatomie du colon. Service d'anatomie normale CHU Oran. p 1-4.

Chevalier X, Flipo R, Goupille P, Schaeffer T. (2005). Rhumatologie. France : Elsevier Masson. p 340.

Clos J. (2012). L'immunité chez les animaux et les végétaux. Paris : Lavoisier. p 283, 285, 286, 291.

Clutterbuck AL, Woods EJ, et al. (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbiol*, vol. 121 p 1-17.

Colant V. (2016). Eucalyptus radié-antibactérien et antivirale puissant. Santé nutrition.

Conrad K, Roggenbuck D, Laass MW. (2014). Diagnosis and classification of ulcerative colitis. *Autoimmunity Reviews*, vol.13, p 467-471.

Cooper MD. (2015). The early history of B cells. *Nat. Rev. Immunol*, vol.15, p 191-197.

Corazza F. (2013). L'inflammation : qu'est-ce que c'est ? Laboratoire d'immunologie IRISLab, CHU-Brugmann, Huderf. Université libre de bruxelles.p 8.

Cortot A, Peniton de chamrun G, Verniie-Massouille G, Vigneron B, Gower Rousseau C. (2009). Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : Maladies génétiques de l'environnement. *gastroenterologie Clinique e Biologique*, vol. 33, p 681-691.

Cronquist A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. p 1262.

Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, vol.4, n°2, p 104-111.

Davoine F, Lacy P. (2014). Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology*, Vol. 5, p 570.

Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. (1996). Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, vol.36, p 310-314.

Donlan RM. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis*, Vol.8, n° 9, p 881-890.

Elson C, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. (1995). Experimental Models of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*, vol.109, p 1344-1367.

Eming SA, Krieg T, Davidson JM. (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 127, p 514-525.

Emmanuelle. (2018). Huile essentielle d'eucalyptus : le top 10 des utilisations. *Phyto et sens*.

Fabia R, Ar'Rajab A, Johansson ML, Willen R, Anderson R, Molin G, Bengmark S. (1993). The effect of exogenous administration of *Lactobacillus reuteri* R2LC and oat fiber on acetic acid-induced colitis in the rat. Scand J Gastroenterol, vol.28, p 157.

Faucon M. (2012). Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Paris : Sang de la terre et Médical. p 879.

Fedorak RN, Emphy L, Macarthur C, Jewell L. (1990). Misoprostol Provides a Colonic Mucosal Protective Effect During Acetic Acid Induced Colitis in Rats. Gastroenterology, vol.98, n ° 3, p 617.

Festy D. (2014). Huiles essentielles : Le guide visuel. Paris: Quotidien Malin. p9.

Festy D. (2015). Mon abécédaire illustré des huiles essentielles. Paris: Leduc. s. p74.

Franchomme P, Jollois R, Péroël D. (2001). L'aromathérapie exactement : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Edition : Roger Jollois. p 18.

Freeman HJ. (2004). Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease. World Journal of Gastroenterology, vol.20, n°1, p 31-36.

Gallot D. (2006). Anatomie chirurgicale du côlon. EMC, Techniques chirurgicales - Appareil digestif, p 1-8 [Article 40-535].

Gazengel JM, Orecchioni AM. (2013). Le préparateur en pharmacie. 2e édition. Paris: de Lavoisier.

Ghedira k, Goetz P, Le Jeune R. (2004). Eucalyptus globulus Labill. Phytothérapie. Vol.6, p197-200

Gonzalez R, Rodriguez S, Romay C, Ancheta O, Gonzalez A, Armesto J, Ramirez D, Merino N. (1999). Anti inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid induced colitis in rats. Pharmacological Research, Vol.39, n° 1, p 56.

Gosling JA. (2003). Anatomie humaine: atlas en couleurs. 2^e édition. Bruxelles : de boeck et Larcier. p 161-165.

Guennouni N. (2014). Cancer colorectal et utilité clinique des marqueurs biologiques. Thèse présentée pour l'obtention du Doctorat : Pharmacie : Université de Mohammed V Souissi. p 6.

Guezennec et Burguin In Khelif N. (2011). Implication de l'inflammation dans la physiopathologie du diabète de type 2. Mémoire de magister : Biologie et physiologie animale : Université El hadj lakhder – Batna. p 23.

Guigas B, Molofsky AB. (2015). A worm of one's own: how helminths modulate host adipose tissue function and metabolism. *Trends Parasitology*, vol.31, p 435–441.

Hachem M. (2014). L'inflammation. Faculté de médecine, Université d'Oran. p 11.

Hancock REW. (1998). Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other non fermentative Gram –negative bacteria. *Clinical Infection Disease*, vol. 27, p S93-S99.

Herbert S. (2004). Les sciences de l'artificiel. Seq 6 : réaction immunitaire. Paris: Gallimard.

Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of Ajugaiva in experimental animals. *Journal of ethnopharmacology*, vol.91, n°1, p 43- 50.

Hould R. (1984). Techniques d'histologie et de cytologie. Paris : Edition Maloine.

Hur, S. J., Kang, S. H., Jung, H. S., Kim, S. C., Jeon, H. S., Kim, I. H., & Lee, J. D. (2012). Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. *Nutrition research*, vol. 32, n°11, p 801-816.

Janssens G. (2006). Répertoire d'analyses de Biologie clinique. 3^e édition. p 49-81.

Joly B. (1995). La résistance antimicrobienne à l'action des antiseptiques et désinfectants. In : Antisepsie et désinfection, Fleureste J, Freney J. et Reverdy M.E. Ed: Eska, p52-65.

Jouault S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et leur toxicité. Le Diplôme d'Etat de Docteur : Pharmacie : Université de lorraine.

Karmakar R, Bhattacharya R, Chatterjee M. (2000). Biochemical, haematological and histopathological study in relation to time-related cadmium- induced hepatotoxicity in mice. *Biometals*.vol. 13, p 231-239.

p17.

Karnouf N. (2010). Effet des extraits de *Capparis spinosa* L. sur la dégranulation et le chimiotactisme des neutrophiles humains. Mémoire de magister : Biochimie et physiologie expérimentale : Université Ferhat Abbas -Sétif 1. p 1.

Khelif N. (2011). Implication de l'inflammation dans la physiopathologie du diabète de type 2. Mémoire de magister : Biologie et physiologie animale : Université El hadj lakhder - Batna. p 23.

Kierszenbaum AL. (2006). Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique. 1^e édition. Bruxelles : De Boeck Supérieur, p 438.

Kirasslan C. (2015). le cassis et la reine des pres : deux plantes aux propriétés anti inflammatoires.thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur vétérinaire : médecine-pharmacie: université claudes bernard Lyon 1. p 25.

Kolgazi M, Uslu U, Yuksel M, Velioglu-Ogunc A, Ercan F , Alican I. (2013).The role of cholinergic anti-inflammatory pathway in acetic acid-induced colonic inflammation in the rat. *Chemico-biological interactions*, vol.205, n°1, p72-80.

Koziol N. (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur : Pharmacie: université de lorraine. p 64.

Krawisz JE., Sharon P, Stenson WF. (1984).Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology*, vol. 87, n° 6, p 1344-1350.

Kumar V, Abul AK, Aster JC. (2014). Robbins basic pathology. 9^e edition: Elsevier saunders. p 29 - 44.

Lakhani SR, Dilly SA Finlayson CJ. (2009). Basic pathology: an introduction to the mechanisms of disease. 4^e édition. London: Hodder Arnold.

Laydyarts PM, Whelan A, Fanger MW. (2000). Essentiel en immunologie : Edition Berti. p 107, 139-145.

Lassus SM, Guehennec J. (2017). Huile essentielle d'eucalyptus radiata. Passe port santé.

LeBien TW, Tedder TF. (2008). B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*, vol.112, p 1570–1580.

Lee HW, Koh YM, Kim J, Lee JC, Lee YC, Seol SY, Cho DT, Kim J.(2008). Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clin. Microbiol. Infect.* Vol. 14, p 49– 54.

Libby P MD, Ridker P M MD MPH. (2004). Inflammation and Atherosclerosis: Role of C-Reactive Protein in Risk Assessment. *The American Journal of Medicine*, Vol.116 (6A), p 9S-16S.

Lloulou. (2014). Huiles essentielle, mes indispensables: l'eucalyptus radié. Aroma beauté bien-être et santé.

Lobstein A, Marinier C, Koziol N. (2018). Huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*. *Aromathérapie*. vol.57, n° 575, p 55-56.

Luis A, Duarte A, Gominho J, Domingues F, Duarte AP. (2015). Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils, vol. 79, p 274-282.

Maddur MS, Miossec P, Kaveri SV, Bayry J. (2012). Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies. *The American Journal of Pathology*, vol. 181, n° 1, p 8-18.

Mahmoudi Y. (2011). *Eucalyptus*. Algérie Vitamine dz.com

Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. (2007). *Immunologie*. 7^e édition : Elsevier Masson. p 27.

Male D. (2005). *Immunologie*. 4^e édition. Bruxelles : de boeck et Larcier. p 79.

Marque G. (2008). Isolement et caractérisation chez l'*Eucalyptus* de gènes codant les facteurs de transcription *CBF* impliqués dans la réponse au froid. Thèse en vue de l'obtention du doctorat : Biosciences Végétale : Université de Toulouse Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. p 6.

Martinetti P. (2013). *Mon guide des Huiles essentielles*. Parie : Lanore. p 102.

- Mehani M. (2006).** Diagnostic sur les essais d'introduction de quelques essences forestières dans la région d'Ouargla. p 2.
- Membled B. (2006).** Approche acupuncturale de la rectocolite hémorragique. *Acupuncture & Moxibustion*, vol. 5, n° 3, p 226-228.
- Merghni A, Noumi E, Hadded O, Dridi N, Panwar H, Ceylan O, Mastouri M, Snoussi M. (2018).** Assessment of the antibiofilm and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globules* essential oil and its main component 1,8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains, *Microbial Pathogenesis*.
- Meziti H. (2009).** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. Mémoire de magister : Biochimie et physiologie expérimentale : Université Ferhat Abbas -SETIF-p 1.
- Minaiyan M, Ghannadi A, Karimzadeh A. (2006).** Anti-ulcerogenic effect of ginger (rhizome of *Zingiber officinale* Roscoe) on cystemine induced duodenal ulcer in rats. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 14, n°2, p 97-101.
- Mohr K, Iüllmann H, Ziegler A, (2001).** Atlas de poche de pharmacologie. 2^e édition. Paris : Flammarion, Médecine-Science .p 384.
- Moreau B In Ghabrier JY. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat : pharmacie : Université Henri Poincaré-Nancy1 France. p 165.
- Musante L, Bruschi M, Candiano G, Petretto A, Dimasi N, Del Boccio P, Urbani A, Rialdi G, Ghiggeri. (2006).** characterization of oxidation end product of plasma albumin 'in vivo', in *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 349, p 668-673.
- Mustafa A, El-Medany A, Hagar HH, El-Medany G. (2006).** Ginkgo biloba attenuates mucosal damage in a rat model of ulcerative colitis. *Pharmacological research*, vol. 53, n°4, p 324-330.

Nancey S, Hacini F, Durand PY, Milhau N, Kaiserlian D, Flourié B. (2008). Apport des modèles animaux d'inflammation intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Hépto-Gastro and Oncologie Digestive*, vol. 15, n°1, p 35.

Nancey S, Hacini F, Durand PY, Milhau N, Kaiserlian D, Flourié B. (2008). Apport des modèles animaux d'inflammation intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Hépatogastro*, vol.15, n° 1, p 35.

Nathan C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, vol. 420, n°6917, p 846-852.

Nevers P. (2017). Sémiologie des altérations de l'état de santé. 1^e édition. Louvain la neuve : de Boeck supérieur. p 12.

Newman DJ, Cragg GM. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years, *Journal of Natural Products*, vol. 70, n° 3, p 461-477.

Nicolas JF, Florence C, Jean T. (2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. Paris : John Libbey Eurotext. p 55-58.

Noack M. (2016). IL-17/Th17 au cours de l'inflammation chronique : criblage des interactions cellulaires . thèse de doctorat : immunologie : université clude bernard Lyon 1.p 10.

Olivier I. (2011). Les tissus adipeux mésentérique et le tissu rampant dans l'inflammation intestinale: Description et implication physiopathologique, Thèse en vue de l'obtention du doctorat : Physiopathologie : Université de Toulouse Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier

Onolfo. (2012). Histologie du tube digestif. UE 3 App. Digestif. p 12-15.

Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (ONUAA). (1982). Les eucalyptus dans les reboisements. FAO, Italie.

Orliaguet G, Gall O, Benabess-Lambert F. (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, vol. 17, n°5, p 228-237.

Papadakis KA, Targan SR. (2000). The role of chemokines and chemokine receptors in mucosal inflammation. *Inflammatory bowel diseases*, vol.6, n°4, p 303-313.

Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. (2005) .A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat*

Immunol , vol. 6, n°11, p 1133-1141.

Payne DNR, Adcock IM (2001). Molecular mechanisms of corticosteroid actions. Paediatric Respiratory Reviews, vol. 2, p 145-150.

Pepy MB, Baltz MC. (1983). Acute phase protein with special reference to C réactive and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. Adv Immunol, vol. 34, p 141-212.

Pfeiffer CJ. (1985). Animal models of colitis. In Animal Models of intestinal disease. (Ed. C. J. Pfeiffer). CRC Press, Florida. p 148-155.

Pitman V. (2004). Aromatherapy: a practical approach. United kingdom: nelson thornes.

Plevy S. (2002). The immunology of inflammatory bowel disease. Review. Gastroenterol Clin North Am, vol. 31, n°1, p 77-92.

Pober JS, Sessa WC. (2007). Evolving functions of endothelial cells in inflammation. Nature Reviews Immunology, vol. 7, n°10, p 803-815.

Podolsky DK. (2007). Inflammatory bowel disease. *New England Journal of Medicine*, vol. 347, p 417-429.

Poitou C, Divoux A, Clément K. (2008). Le sérum amyloïde A : une apolipoprotéine majeure de l'inflammation, vol.20, n° 7, p 362.

Prin L, Hachulla E, Hennace B. (2004). Immunologie de Jean Pierre REVILLARD. 4^e édition. Bruxelles : de boeck et Larcier.

Rankin JA. (2004). Biological mediators of acute inflammation. AACN Clinical Issues, Vol. 15, n°1, p 3-17.

Rasenack J. (2010). Practice Manuel, bowel disease. *Falk Pharm.*

Reimund J M. Duclos B. Dumont S. Muller C. Baumann R. Poindron P. (1997). L'interleukine8 est un mediateur inflammatoire important au cours de la rectocolite hémorragique et de la maladies de crohon. Gastroenterol Clin Biol, vol. 21, n°2, p 131-137.

Regnault J P. (1992). Immunologie générale. 5^e édition Décarie, p 278-296.

- Richards JJ, Huigens RW, Ballard TE, Basso A, Cavanagh J, Melandera C. (2008).** Inhibition and Dispersion of Proteobacterial Biofilms. *The Royal Society of Chemistry*.
- Romano B, Iqbal AJ, Maione F. (2015).** Natural anti-inflammatory products/compounds: Hopes and reality. *Mediators of inflammation*.
- Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. (2013).** Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat. Rev. Immunol*, vol. 13, p 9-22.
- Rousselet MC, Vignaud JM, Hofman P, Chatelet F P. (2005).**Inflammation et pathologie inflammatoire (chapitre 3) .G:/chapitre3inflamma.htm.
- Rufo PA, Bousvaros A. (2006).** Current therapy of inflammatory bowel disease in children. *Paediatr Drugs*, vol. 8, n°5, p 279-302.
- Russell AD. (1991).** Principles of antimicrobial activity. In: disinfection, sterilization and preservation. Blocks S.S. Ed: Lea and Febiger, pp29-58.
- Russell BM, Gabriel SE. (2001).** Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: consequences and costs. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, vol. 15, n°5, p 739-753.

S **anogo R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako-Mali. p 53.

- Schmidt S, Moser M, Sperandio M. (2013).** The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies, vol. 55, p 49-58.
- Schwartz C, Eberle JU, Voehringer D. (2015).** Basophils in inflammation. *European Journal of Pharmacology*. 7 May 2015
- Serhan C N, Ward PA, Gilroy DW.(2010).** Fundamentals of inflammation Hardback, USA. p 13-14.
- Sharon P, Stenson WF. (1985).**Metabolism of arachidonic acid in acetic acid colitis in rats: similarity to human inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, vol. 88, n°1, p 55-63.
- Sherwood L. (2006).** Physiologie humaine. 2^e édition. Bruxelles : de boeck et larcier .p330.
- Siegel C. (2011).** Review article: explaining risks of inflammatory bowel disease therapy to patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, vol. 33, n°1, p 23-32.

Silva J, Abebe W, Sousa S M, Duarte VG, Machado M I L, Matos F J A. (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 89, p 277-283.

Silvant C. (2015). L'Aromathérapie: La nature au service de l'humanité. Edition : publibook. p 101.

Simkin GO et al. (2000). IL-10 contributes to the inhibition of contact hypersensitivity in mice treated with photodynamic therapy. *J Immunol*, vol. 164, n°5, p 2457-62.

Souza Araújo DF, Guerra GCB, Araújo Júnior RF., Araújo AA, Assis POA, Medeiros AN, do Egypto RDCR. (2016). Goat whey ameliorates intestinal inflammation on acetic acid -induced colitis in rat s. *Journal of dairy science*, vol. 99, n°12, p 9383-9394.

Steinhubl SR. (2007). Platelets as Mediators of Inflammation. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, vol. 21, p 115-121.

Stevens A, Lowe JS, Young B. (2004). Anatomie Pathologique. 1^e édition. Bruxelles : de boeck et Larcier. p 56.

Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. (2010). IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol*, vol. 125, p 73-80.

Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. (2002). The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu Rev Immunol*, vol. 20, p 495-549.

Strober W, Fuss IJ. (2011). Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, vol. 140, n°6, p 1756-1767.

Tann J. (2011). Eucalyptus radiata bark 1. Flickr.

Teixeira P, Oliveira R. (2002). Metabolism of *Alcaligenes denitrificans* in biofilm vs planktonic cells. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 92, p 256- 260.

Tesfamariam B, Brown ML, Deykin D, Cohen RA. (1990). Elevated glucose promotes generation of endothelium-derived vasoconstrictor prostanoids in rabbit aorta. *J Clin Invest*, vol. 83, p 929-932.

Teo YY, Small KS, Kwiatkowski DP. (2010). Methodological challenges of genome-wide association analysis in Africa. *Nature Reviews Genetics*, vol.11, n°2, p 149-160.

Tolba H, Moghrani H, Benelmouffok A, Kellou D, Maachi R. (2015). Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition, antifungal activity *Journal de Mycologie Médicale*, vol. 25, n° 4, p 128-133.

Tortora GJ, Derrickson B. (2016). Manuel d'anatomie et de physiologie humaines. 2^e édition. Paris : De Boeck Supérieur. p 567.

Trabsa H. (2015). Activité antioxydante et anti inflammatoire des fractions des plantes médicinales : *sedum sediforme* et *lycium arabicum*. thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur : Biochimie : Université Ferhat Abbas Sétif 1. p 18

Tsianos EV, Katsanos K. (2009). Do we really understand what the immunological disturbances in inflammatory bowel disease mean? *World journal of gastroenterology: WJG*, vol.15, n°5, p 521.

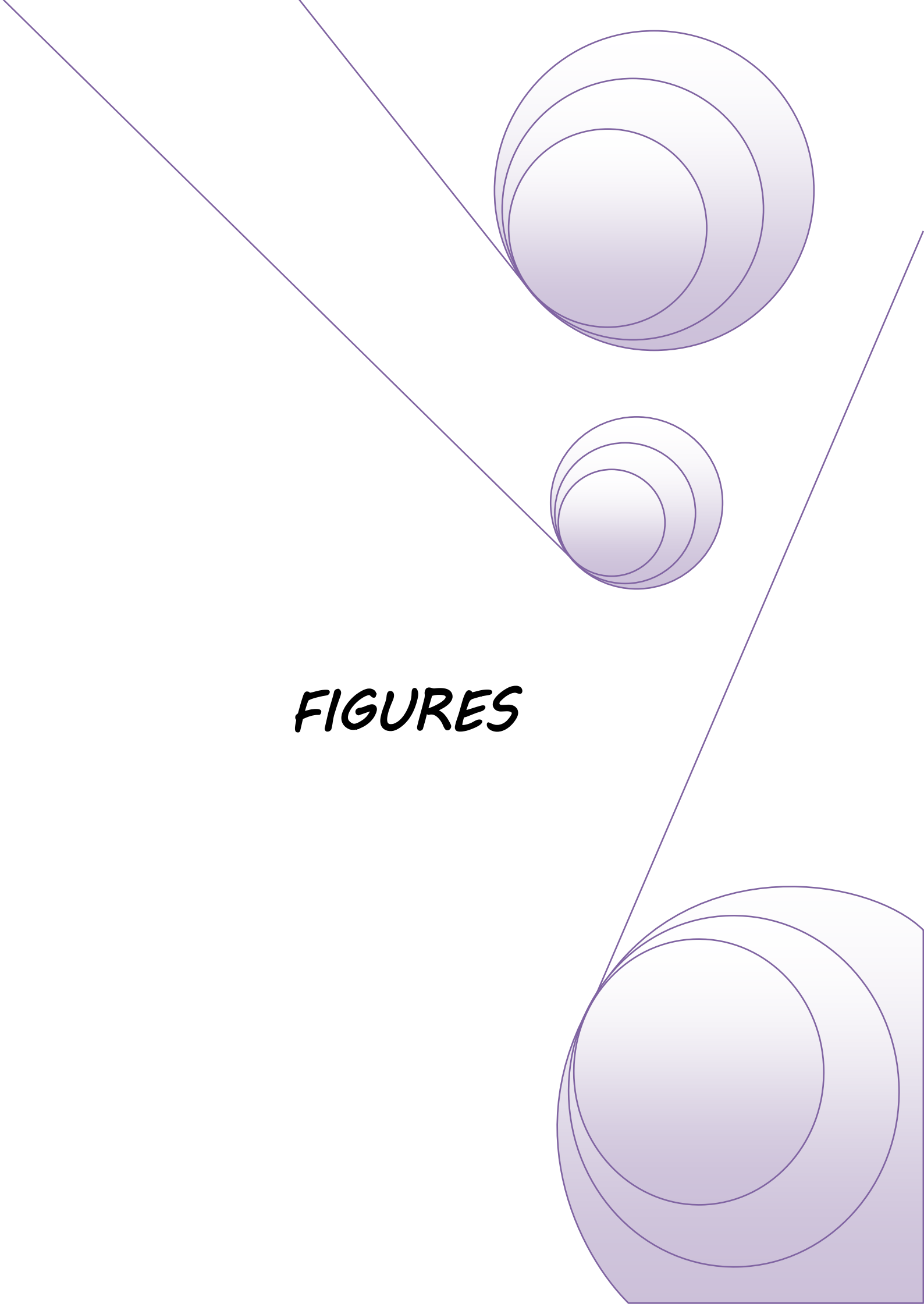
Volanakis JE. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology*, vol. 38, p 189-197.

Warot S. (2006). Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie. p 3.

Weill B, Batteux F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. 1^e édition. Bruxelles : de boeck et Larcier. p 27.

Wilson M. (2010). Huiles essentielles Pour la cuisine et le bien-être canada : Fides1. p23.

Zerbato M. (2010). Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. thèse Présentée pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur : Pharmacie : Université Henri Poincaré - Nancy 1.



FIGURES

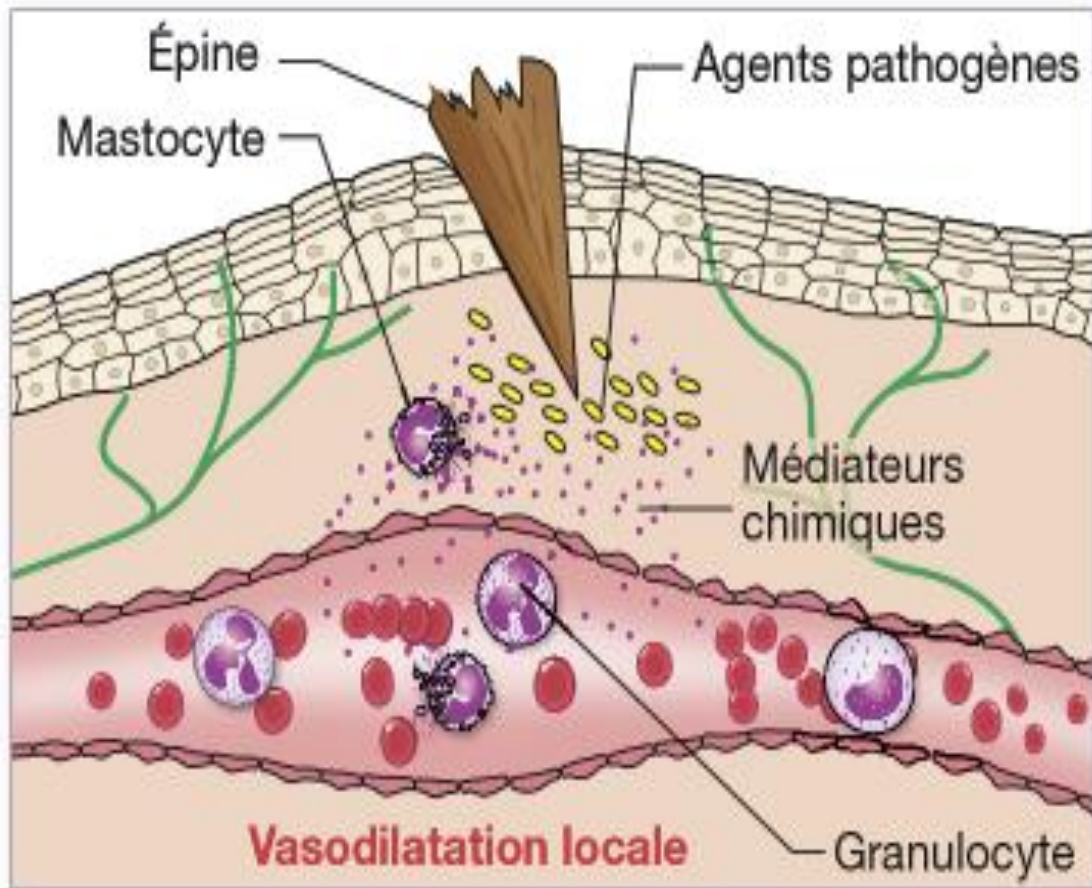


Figure 1. La réponse inflammatoire (Herbert, 2004)

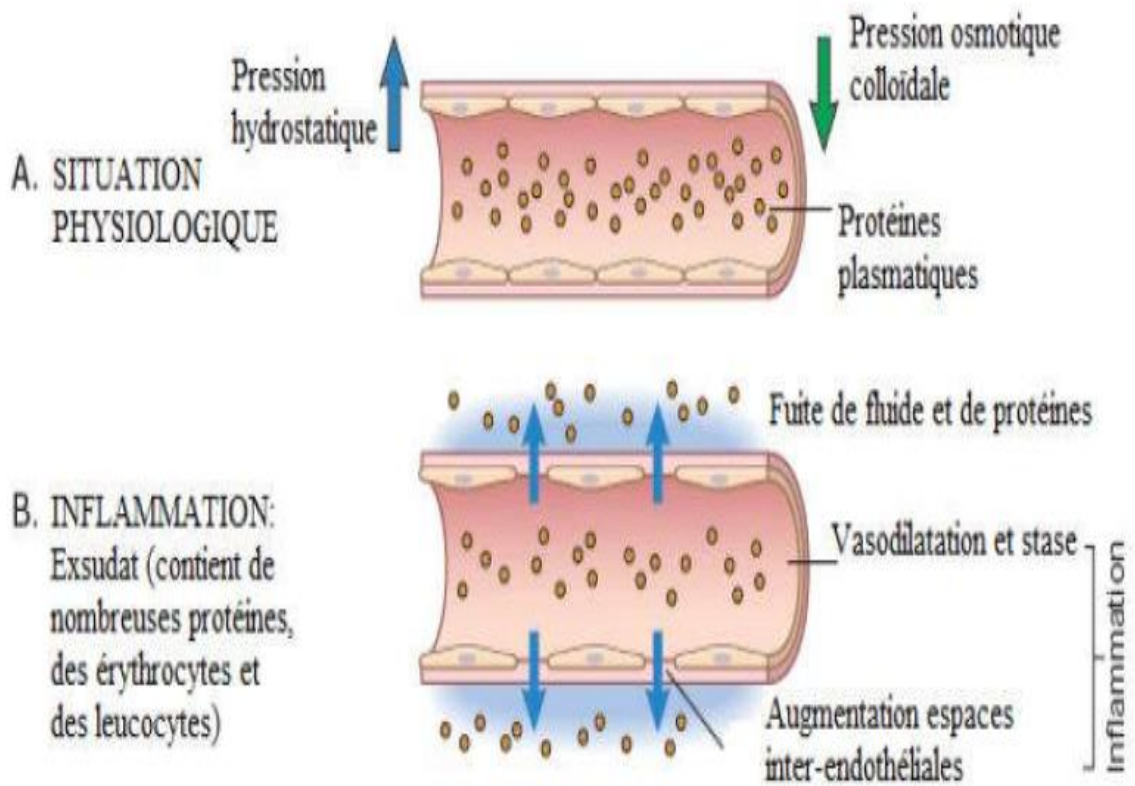


Figure 3. Formation de l'œdème inflammatoire (Kumar et al., 2014)

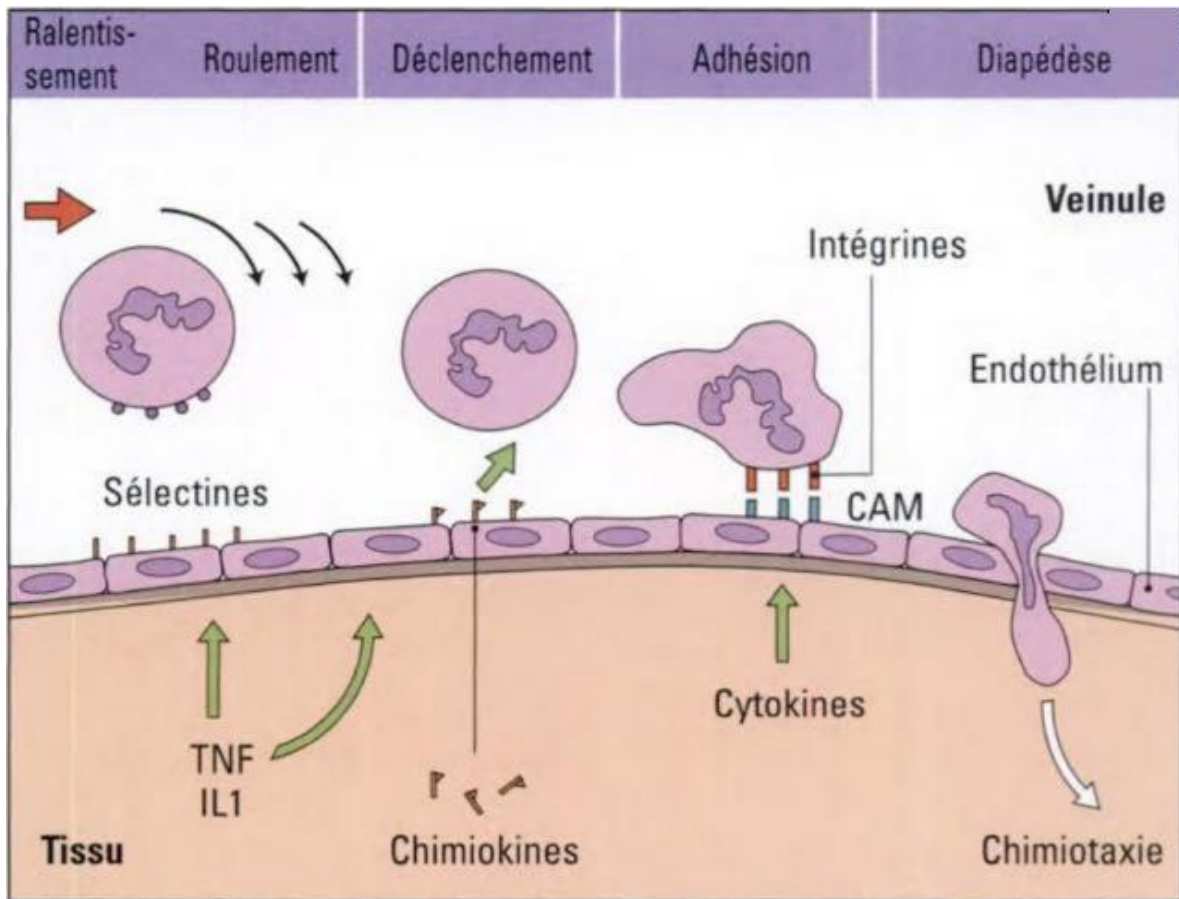


Figure 4. Les étapes de la diapédèse (Male, 2005)

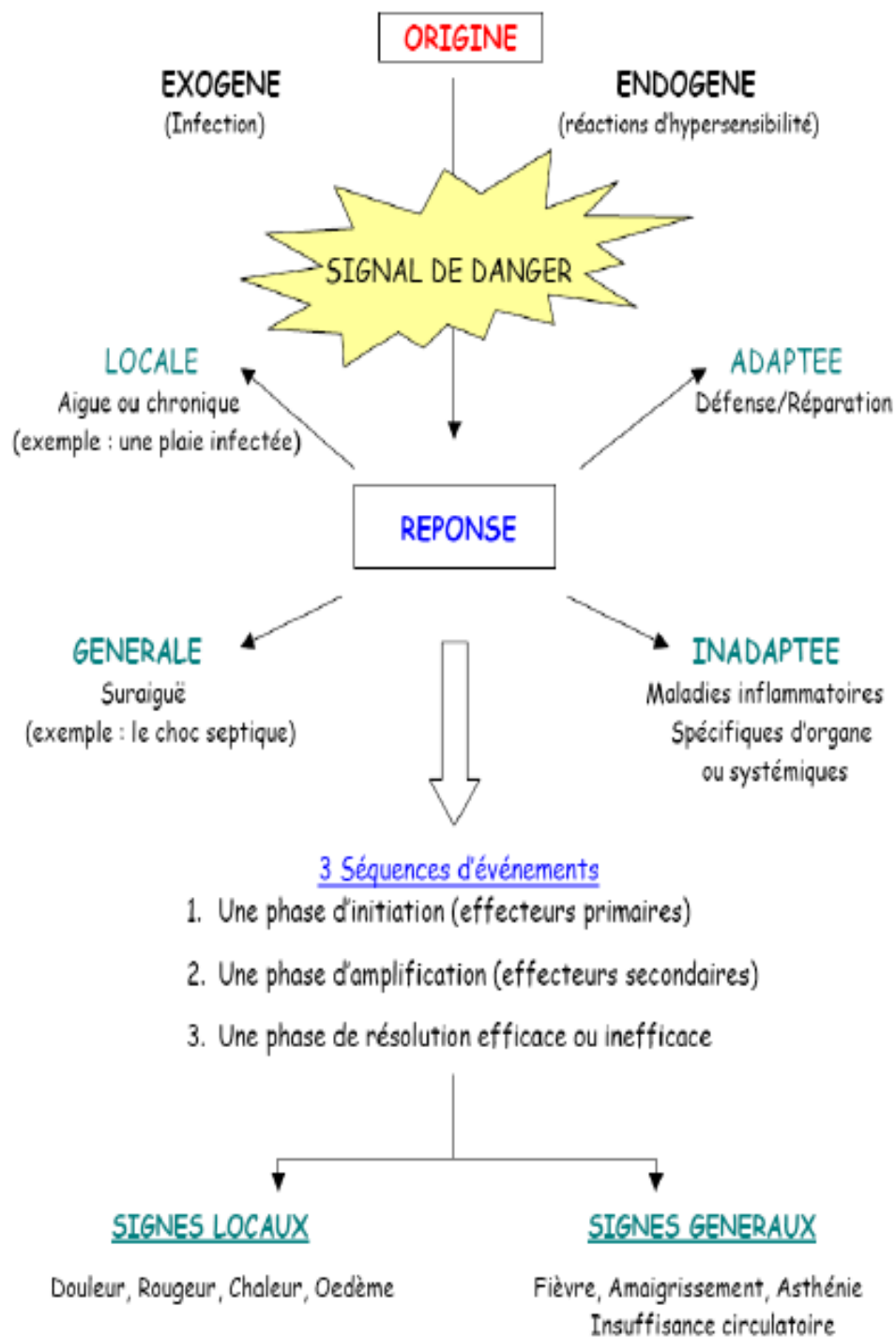


Figure 5. La réaction inflammatoire schématisée (Zerbato, 2010)

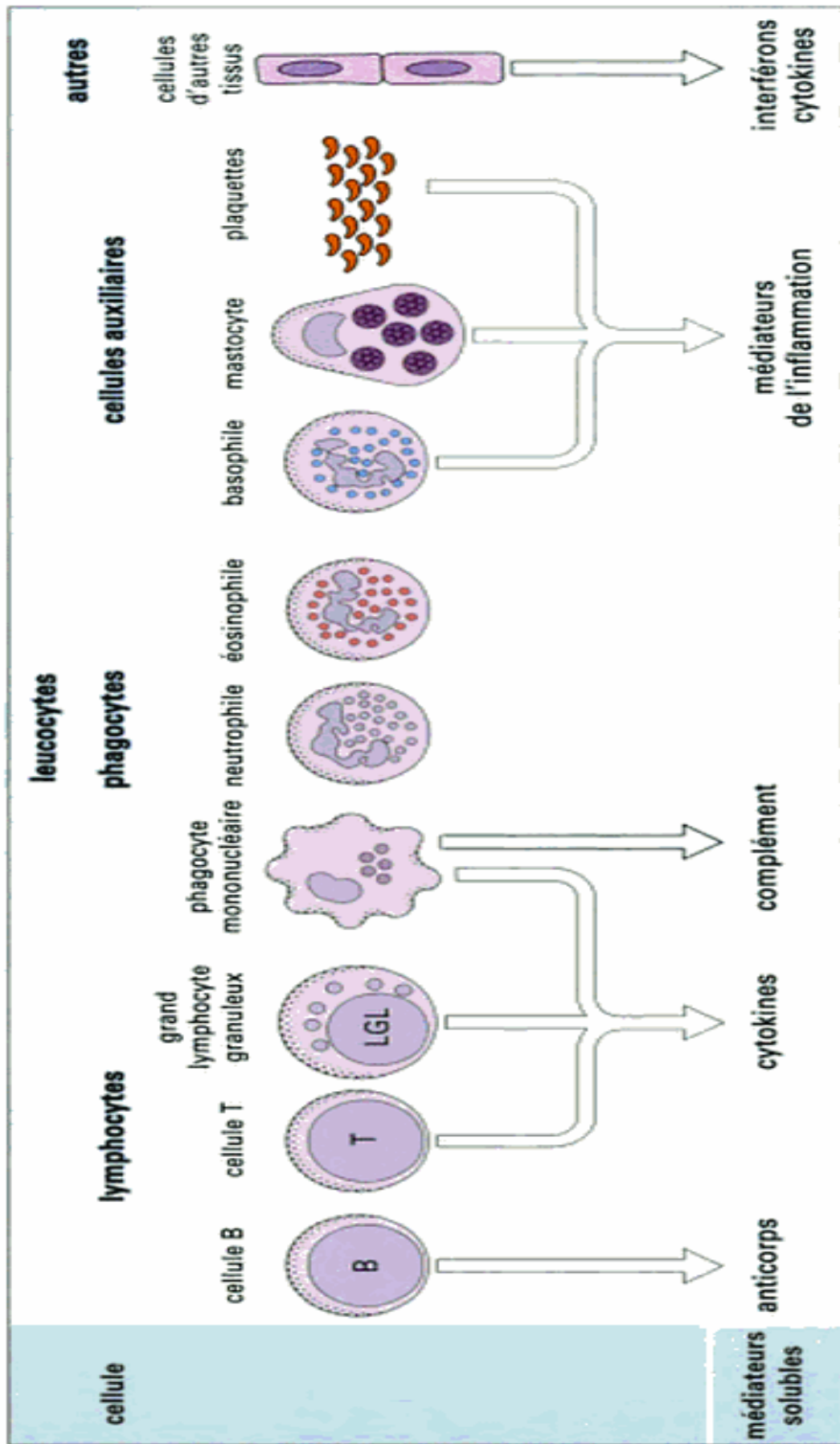


Figure 6. Les cellules du système immunitaire (Male et al., 2007)

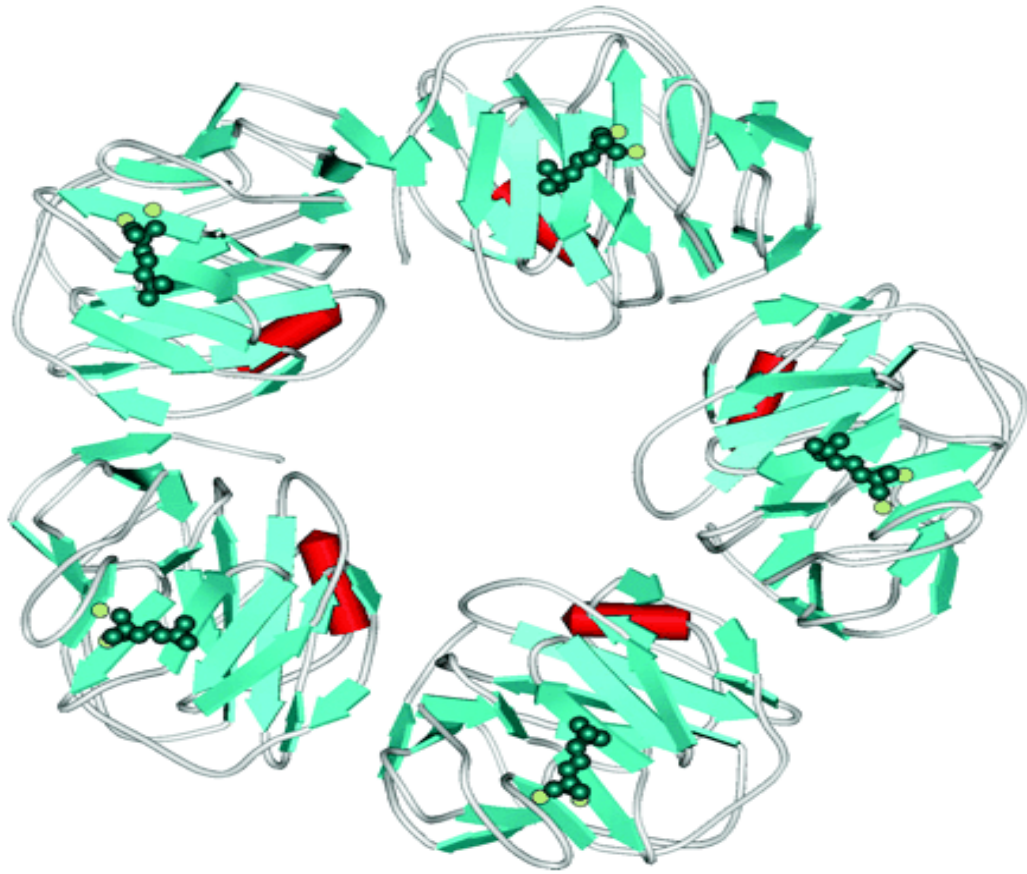


Figure 7. La structure de la protéine C réactive (Volanakis, 2001)

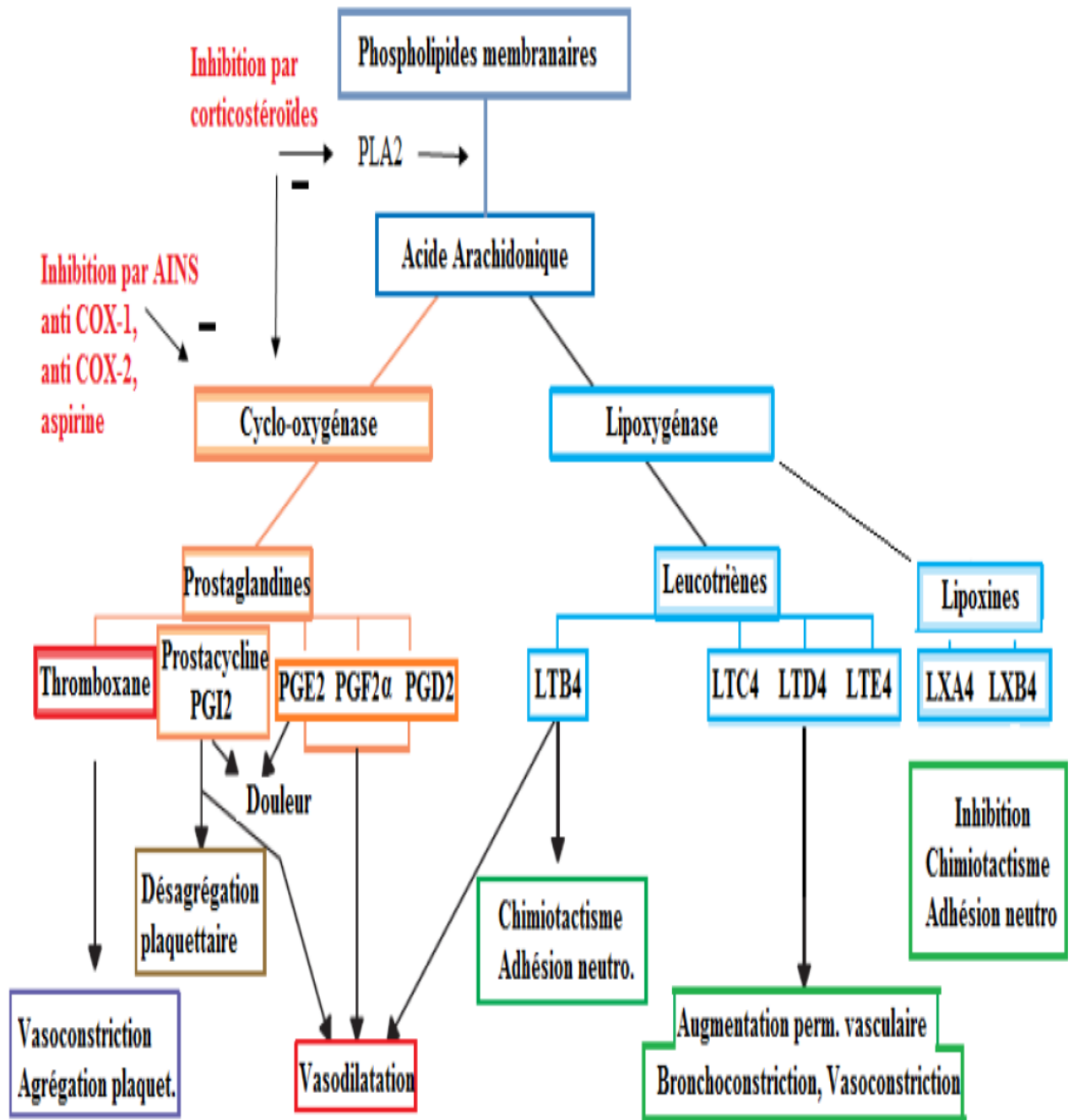


Figure 8. Mode d'action des AINS et corticoïdes (Kirasslan, 2015)

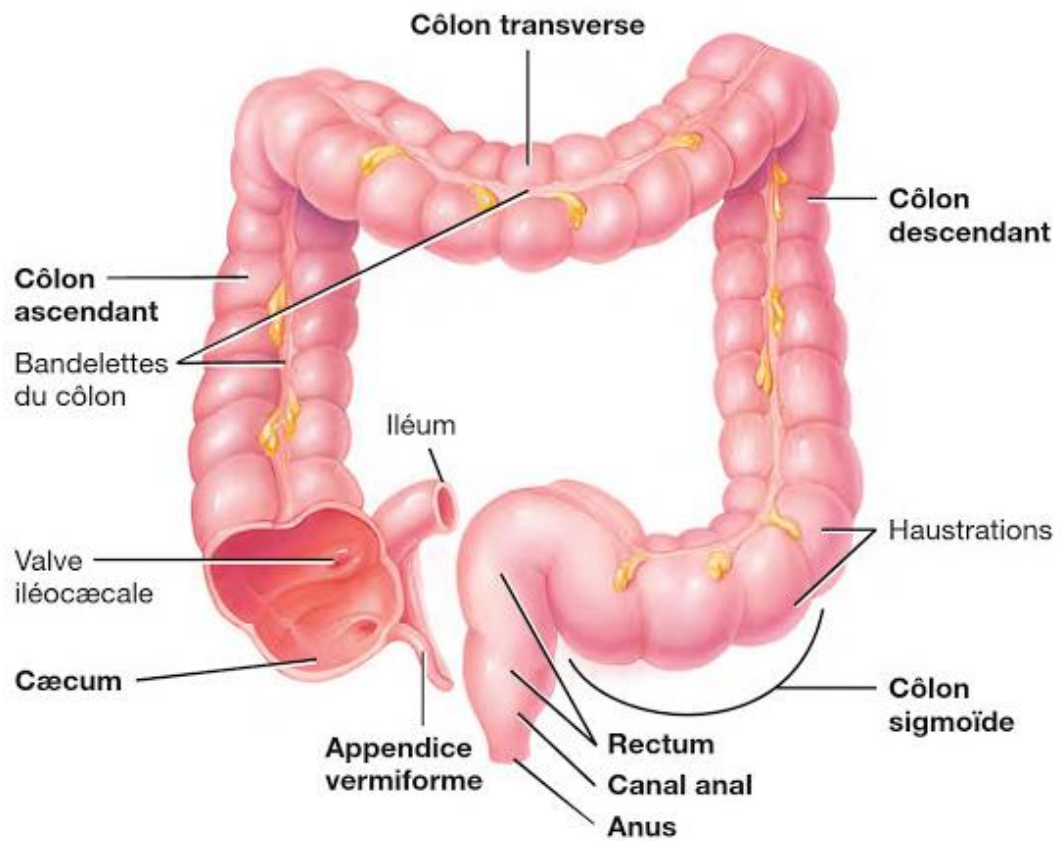


Figure 9. Vue antérieure du gros intestin avec ses principaux segments (Tortora et Derrickson, 2016)

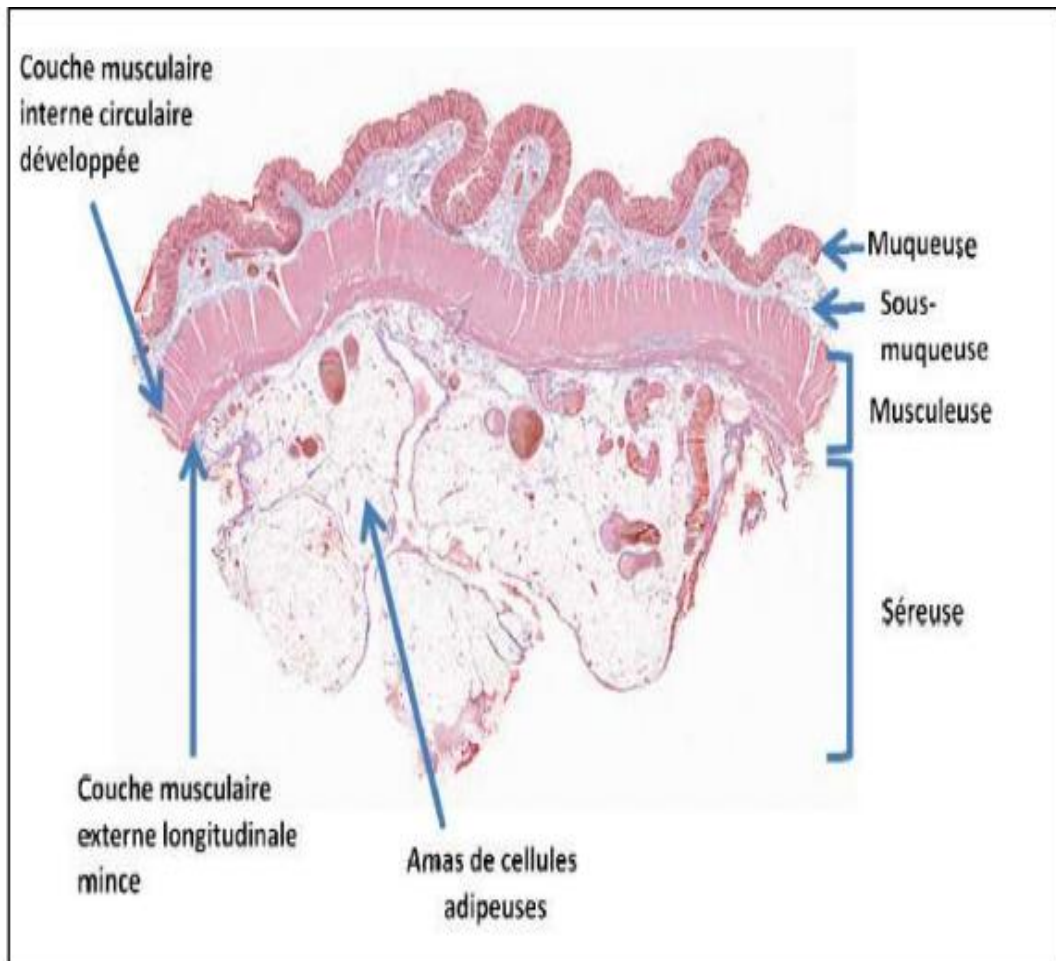
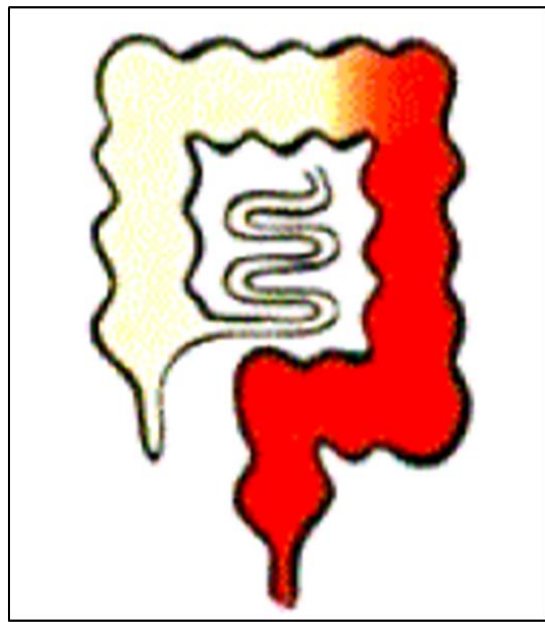


Figure 10. Schéma histologique montrant les différentes couches de la paroi du gros intestin (Guennouni, 2014)



Maladie de Crohn



Rectocolite ulcéro-hémorragique

Figure 11. Localisation des atteintes intestinales de la MC et la RCH (Rasenack, 2010)



Figure 12. L'arbre d'*Eucalyptus radiata* (Baudoux, 2008)



Figure 13. Feuilles(A), Fleurs(B), Fruits(C) et Ecorce(D) d'*Eucalyptus radiata* (Tann, 2011; Koziol, 2015)

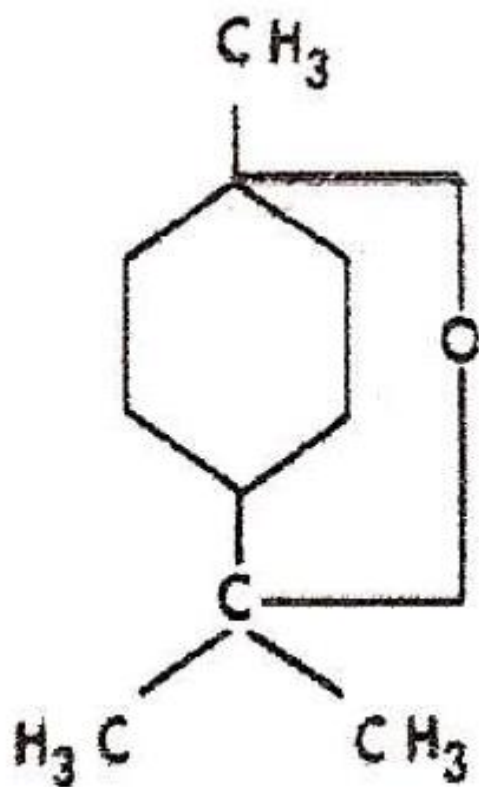


Figure 14. Structure chimique d'Eucalyptol (1.8 Cinéol) (Chabert, 2013)

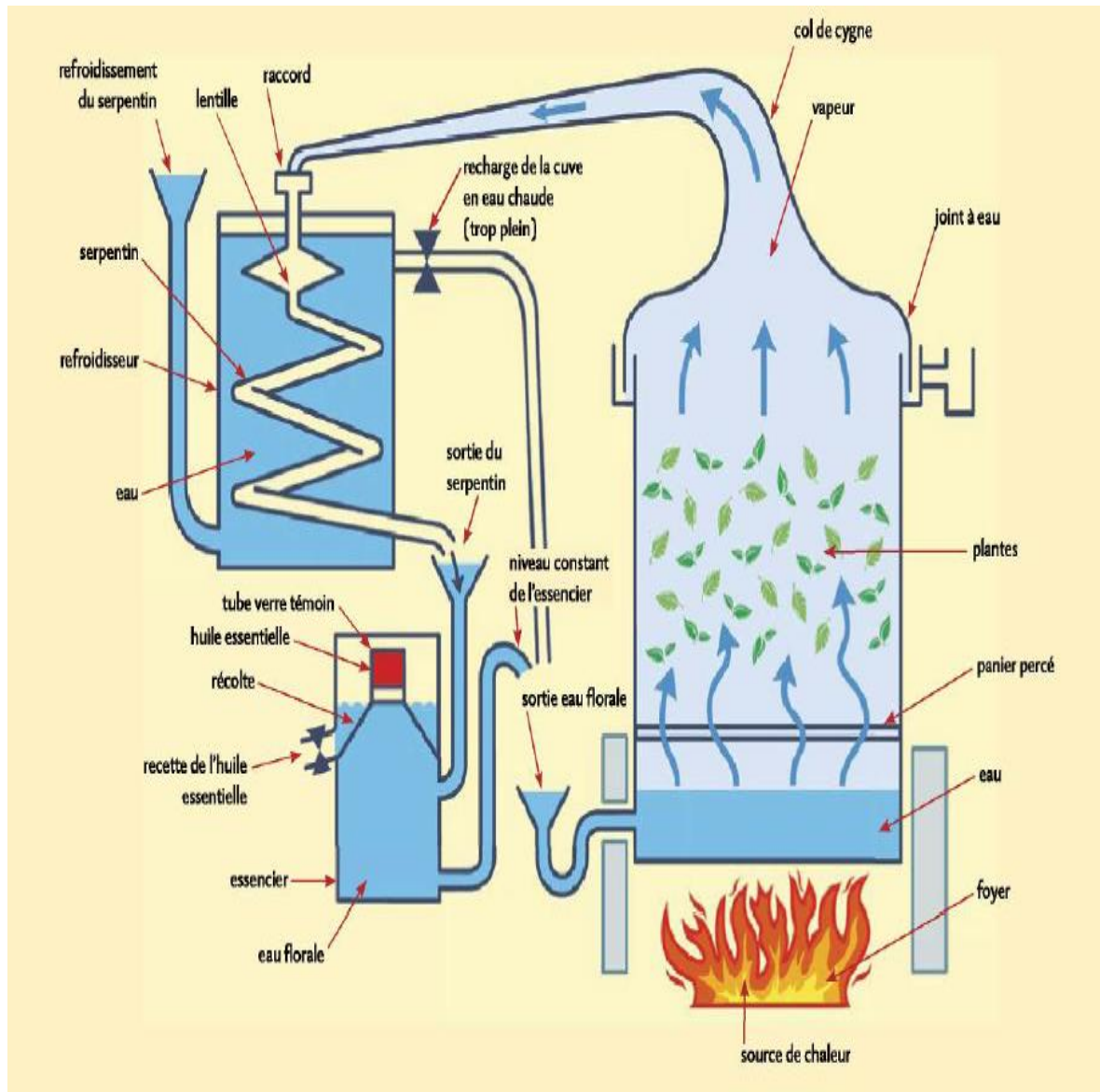


Figure 15. Distillation des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau (Wilson, 2010)

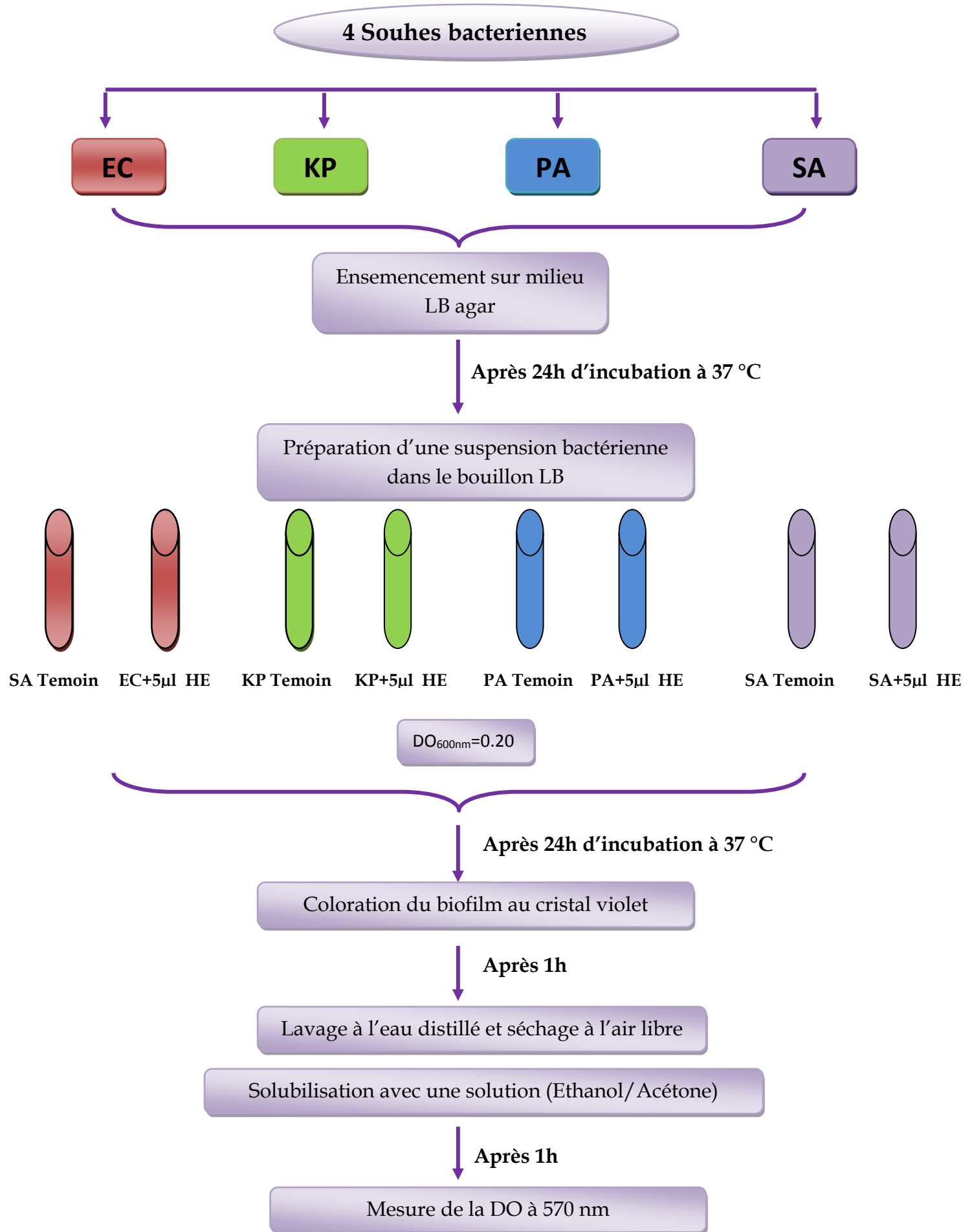


Figure 16: Schéma récapitulatif des différentes étapes de protocole suivi dans la partie Antibiofilm

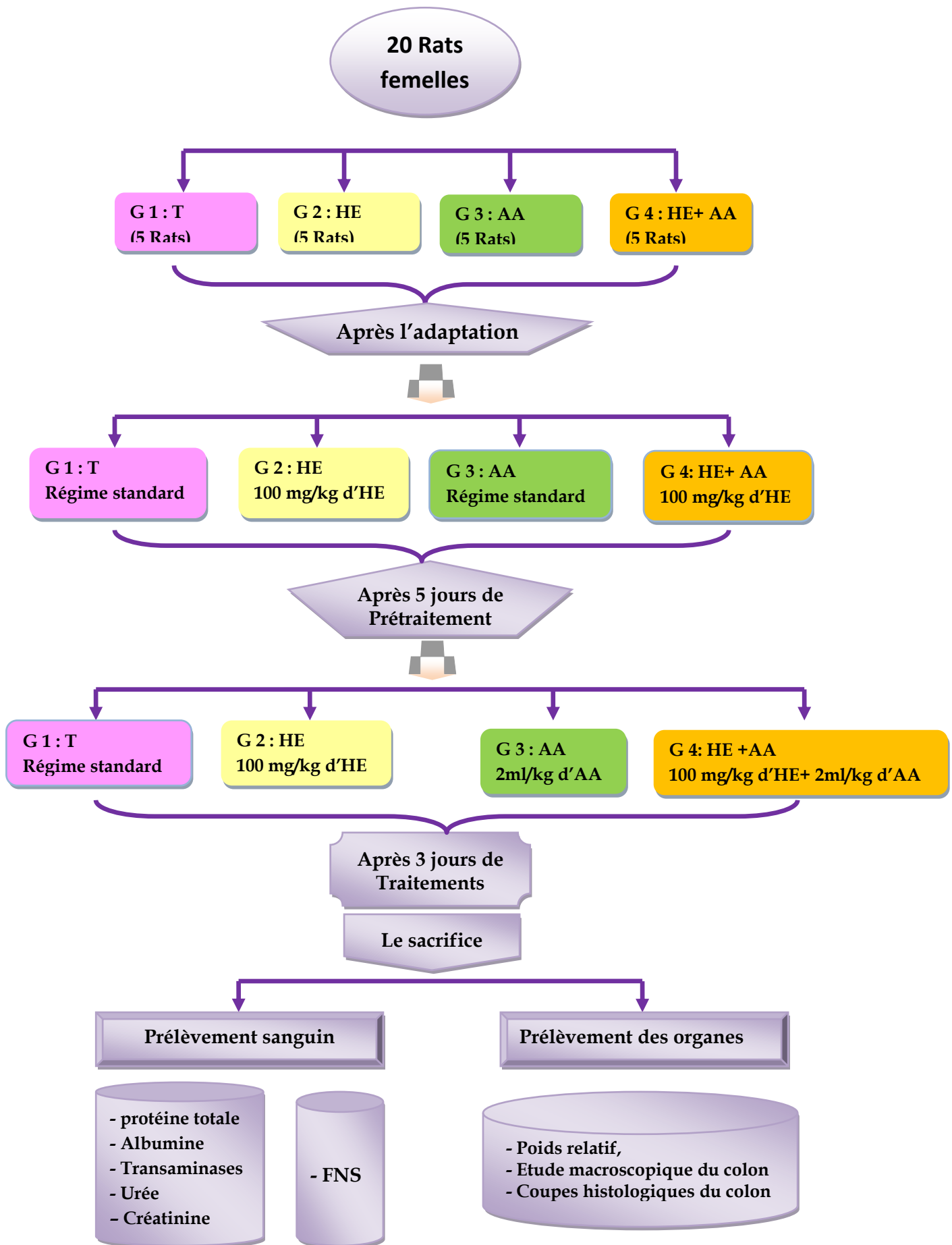


Figure 17. Schéma récapitulatif du protocole suivi pour tester l'effet préventif et anti-inflammatoire de HEER

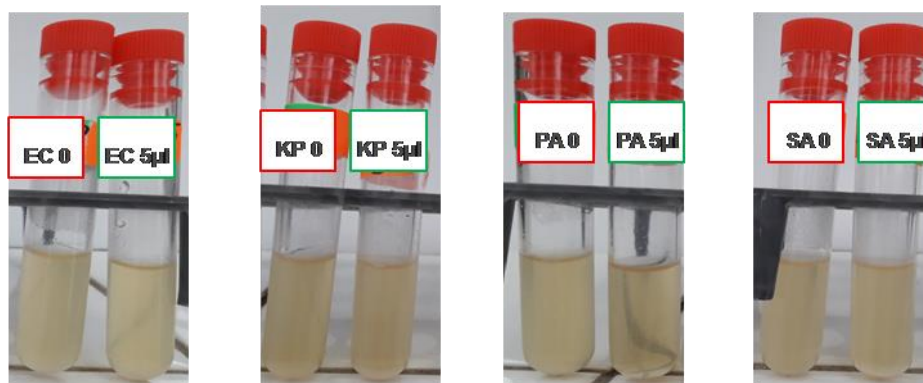
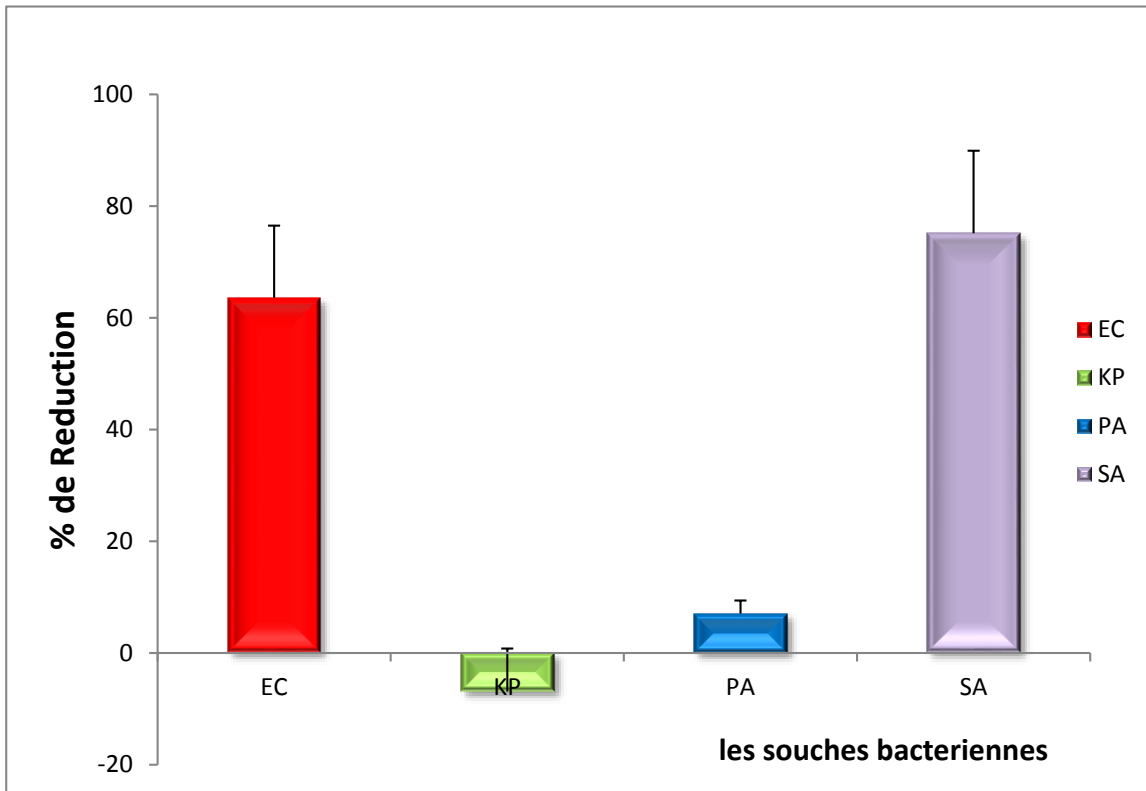


Figure 18. Action de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur la formation de biofilm des souches sélectionnées (Valeurs moyennes et écarts-types calculés à partir de trois essais).



Figure 19. Photo qui représente la diarrhée sanglante observée chez les rats traités par l'acide acétique (5%) après seulement 1jour de traitement

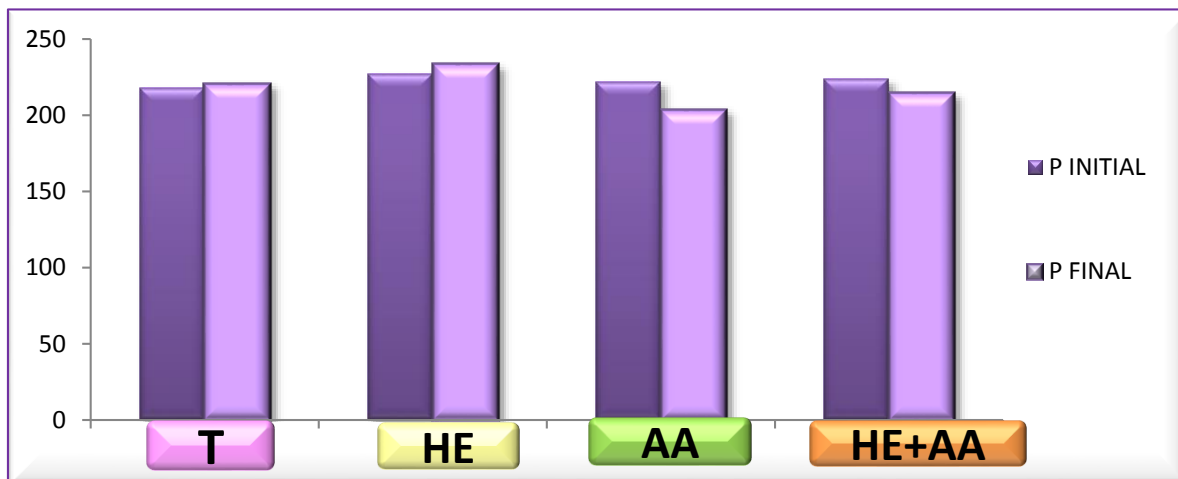


Figure 20. Variation de poids corporel en (g) des rats femelles témoins (T) et traitées par l'acide acétique (AA), l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et la combinaison (HE/AA) après le traitement.

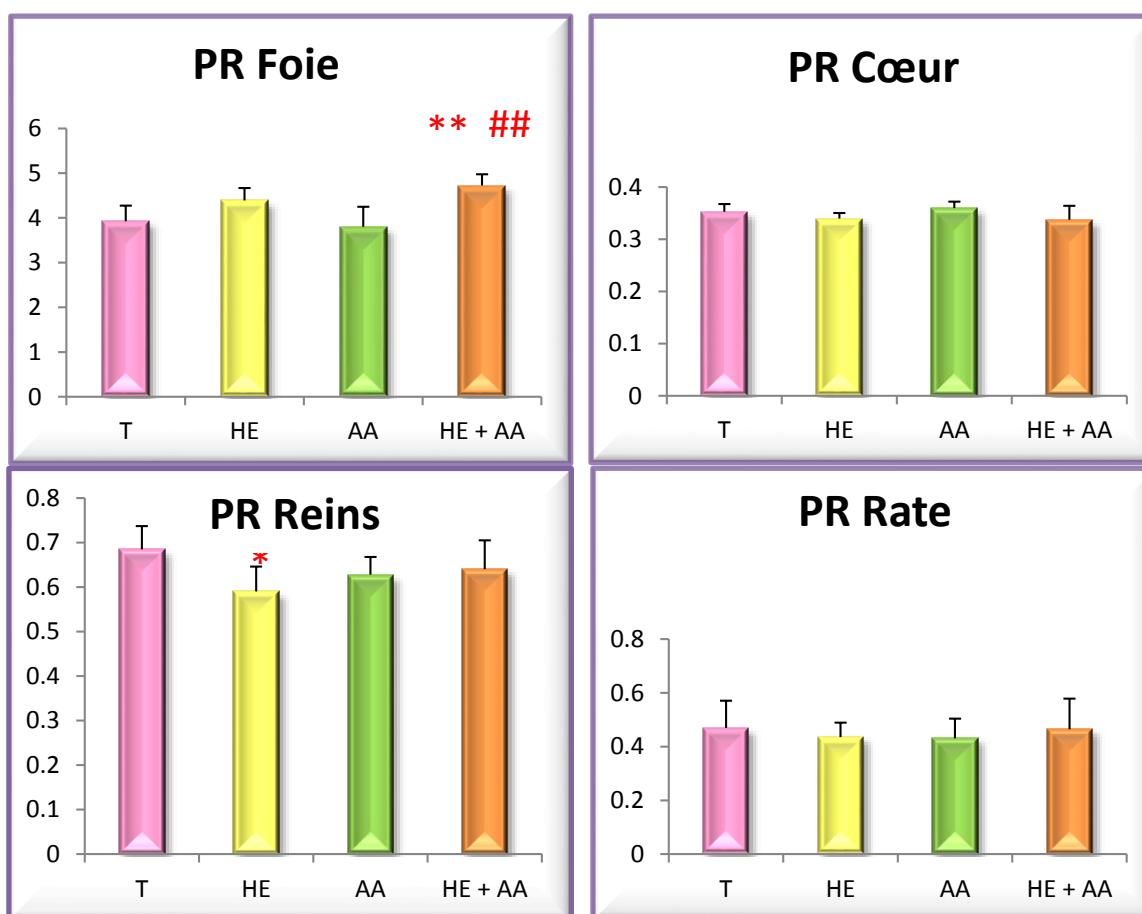


Figure 21. Variation du poids relatif de certains organes (Foie, reins, cœur et rate) en g/100 g Pc chez les rats témoins et les traitées ; par L'AA, HE et la combinaison (HE/AA) après 8 jours de traitement



- ★ Changement de la coloration du rose clair vers le bleu violacé
- Œdème
- ◇ Blessures épithéliales
- Ulcération
- ▽ Inflammation de la muqueuse
- ↕ Epaissement de la paroi



Gonflement

Figure 22. Comparaison macroscopique des colons des quatre lots après le sacrifice et le prélèvement des organes en montrant les différents dégâts chez les rats traités par l'acide acétique

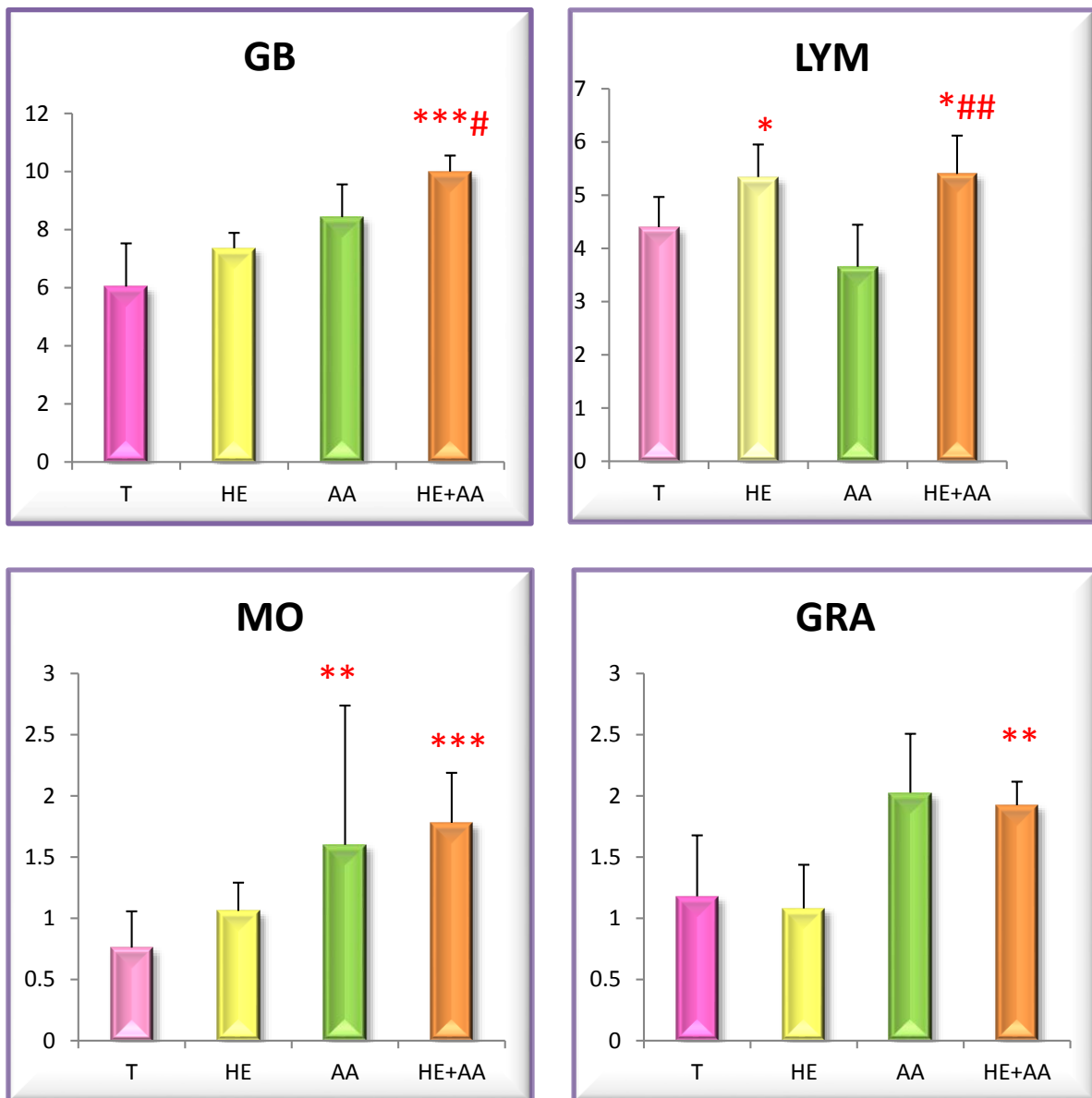


Figure 23. Variation des globules blancs, des lymphocytes, des monocytes et des granulocytes ($\times 10^3/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et les traitées; par L'AA, HE et la combinaison (HE/AA) après 8 jours de traitement

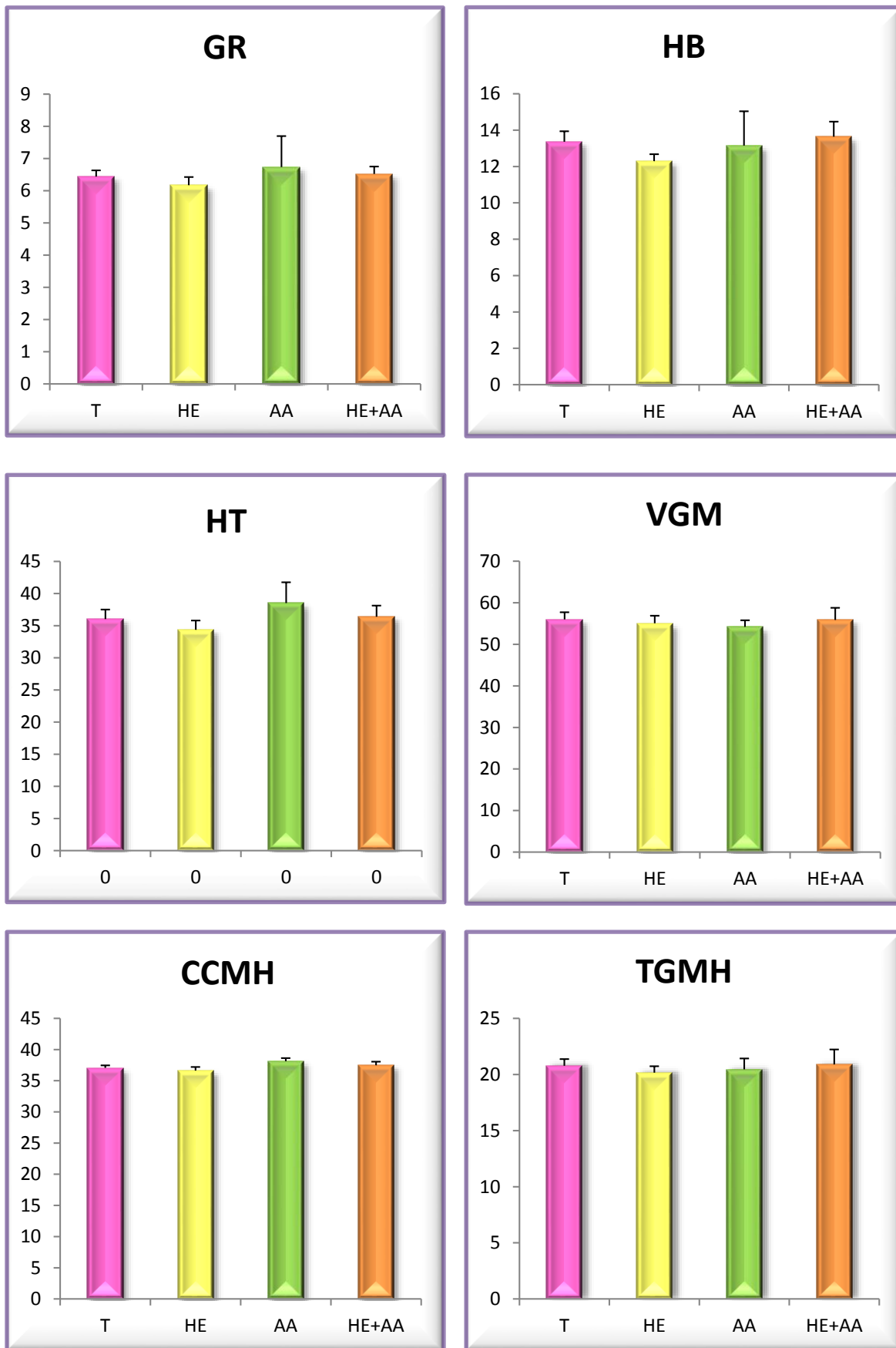


Figure 24. Variation des globules rouge ($\times 10^6/\mu\text{l}$), Taux d'hémoglobine (g/dl), Taux d'hématocrite (%), VGM (μm^3), CCMH (g/dl), TGMH (pg) et des plaquettes ($\times 10^3/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 8 jours de traitement

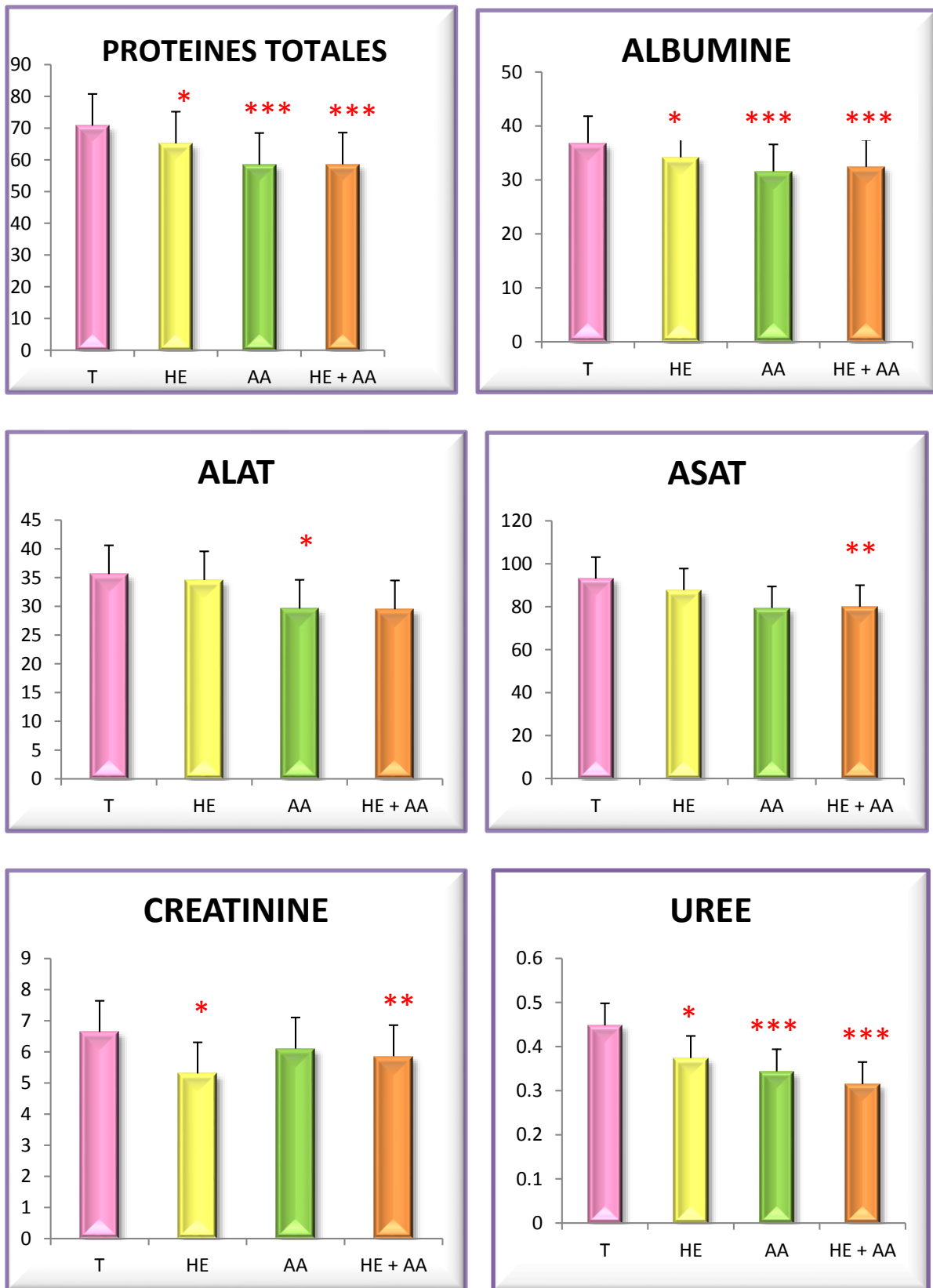


Figure 25. Variation des paramètres biochimiques : Taux des protéines totales (g/dl), Taux d'albumine (g/dl), ASAT(U/l), ALAT(U/l), Taux de Créatinine (mg/l) et le taux de l'urée (g/l) chez les rats témoins et traités après 8 jours de traitement

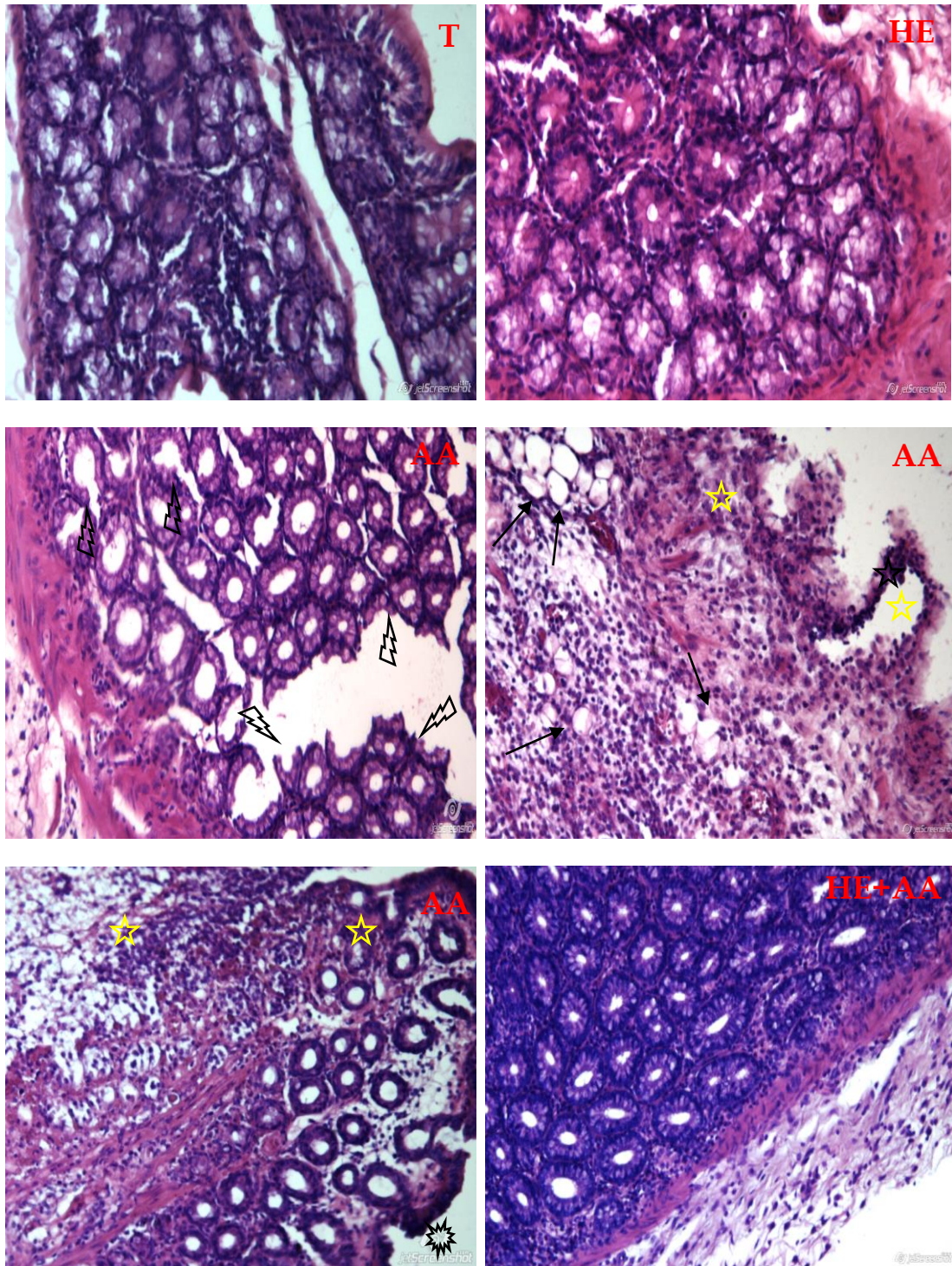
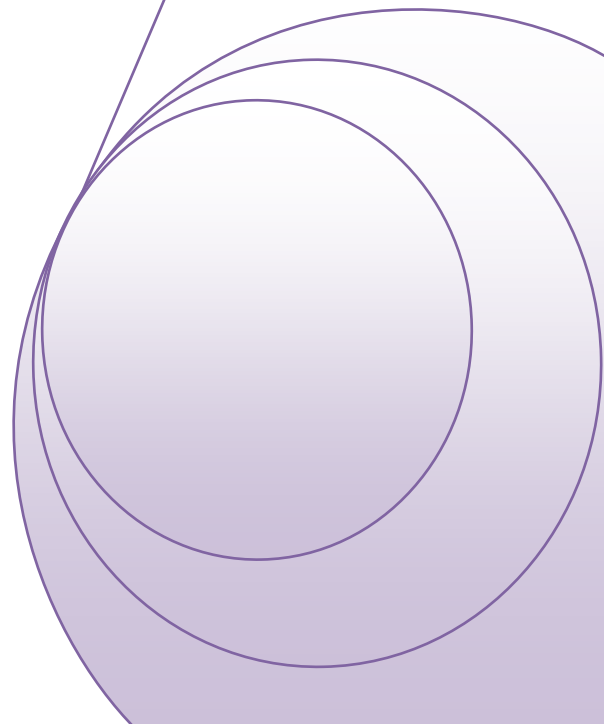
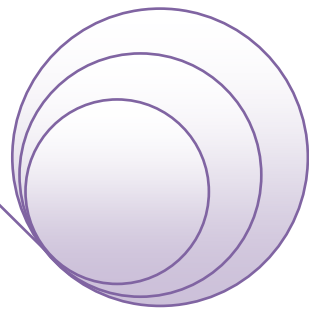
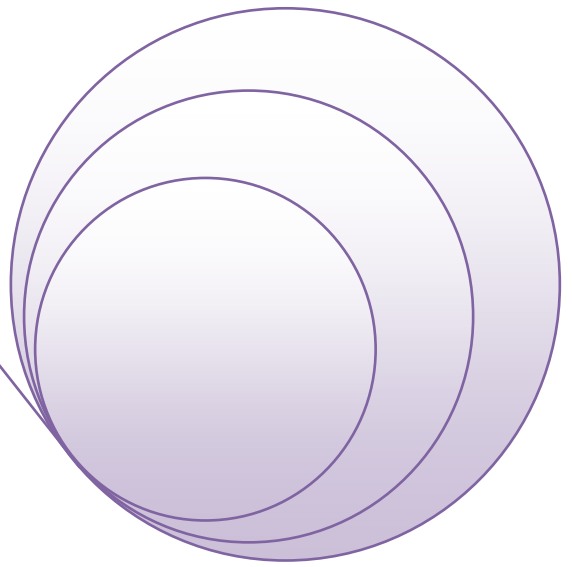


Figure 26. Les coupes histologiques du côlon distal d'un rat témoin (T) et traités par l'huile essentiel d'*Eucalyptus radiata* (HE), l'acide acétique (AA) et par la combinaison (HE/ AA) colorées à Hématéine-Eosine 100X.

☀ Nécrose de la muqueuse; ☆ Infiltration de cellules inflammatoires; ↙ colite focale; ⚡ la déplétion des cyptes.

ANNEXE





CE **PROTEINE TOTALE**
Protéines totales
 Biuret. Colorimétrique

Détermination quantitative de protéines totales IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent du iode qui agit comme un antioxydant.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé^{1, 4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les protéines sont des composés organiques macromoléculaires, répartis largement dans l'organisme. Elles fonctionnent comme des éléments structuraux et de transport. Elles sont divisées en deux fractions, albumines et globulines.

Leur détermination est utile pour détecter:

- l'hyperprotéinémie produite par hémococoncentration, déshydratation ou augmentation de la concentration des protéines spécifiques.
- l'hypo protéinémie par hémodilution due à une défaillance dans la synthèse protéique, à des pertes excessives (hémorragies) ou à un catabolisme protéique excessif^{4, 5}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R Biuret	Tartrate de potassium de sodium	15 mmol/L
	Iodure de sodium	100 mmol/L
	Iodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre (II)	5 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	1000 mmol/L
T PROTEIN CAL	Patron primaire d'albumine bovine 7 g/dL	

PRECAUTION

R: H314-Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H412-Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 540 nm $\geq 0,22$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 540 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé¹.

Stabilité de l'échantillon: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C).

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 540 nm (530-550)
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température: 37°C/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipeter dans une cuvette:

	Blanc	Étaion	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Étaion (Remarque 1,2,3) (µL)	--	25	--
Echantillon (µL)	--	--	25

- Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante.
- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étaion} - (A) \text{ Blanc}} \times 7 \text{ (Étaion conc.)} = \text{g/dL de protéines totales}$$

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Adultes: 6,6 – 8,3 g/dL

Nouveau-nés: 5,2 – 9,1 g/dL

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,007 g/dL jusqu'à la limite de linéarité de 14 g/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

Moyenne (g/dL)	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	6,53	4,89	6,77	5,08
SD	0,01	0,01	0,07	0,05
CV (%)	0,21	0,24	1,05	0,94

Sensibilité analytique: 1 g/dL = 0,0825 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,97002

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,954x + 0,511$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Hémoglobine et lipémie^{1, 4}.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de protéines^{2, 3}.

REMARQUES

- T PROTEIN CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé avec facilité.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001290	Com.	R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 1001291		R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001292		R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL

BSIS30-F 05/05/15



SPINREACT, S.A./S.A.U. Ctra. Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) ESPAGNE
 Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99. e-mail: spinreact@spinreact.com

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.



ALBUMINE

Albumine

Vert de bromocrésol. Colorimétrique

Détermination quantitative de l'albumine
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé^{1, 2, 3, 4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'albumine est l'une des protéines plasmatiques les plus importantes produite par le foie.

Parmi ses multiples fonctions, on retiendra la nutrition, l'entretien de la pression oncotique et le transport des substances telles que la Ca⁺⁺, la bilirubine, les acides gras, les drogues et les stéroïdes.

Des perturbations dans les valeurs de l'albumine signalent des maladies du foie, une malnutrition, des lésions de la peau telles que de la dermatite, des brûlures importantes ou une déshydratation^{1, 7, 8}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R	Vert de bromocrésol pH 4,2	0,12 mmol/L
ALBUMINE CAL	Étalon primaire de détection de l'albumine 5 g/dL	

PREPARATION

Le réactif et l'étalon sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 630 nm \geq 0,40.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 630 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma sans hémolysis¹: Stabilité 1 mois à 2-8°C ou 1 semaine à 15-25°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 630 nm (600-650)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 15-25°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette (Remarque 3):

	Blanc	Modèle	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle (Remarque 1-2) (µL)	--	5	--
Echantillon (µL)	--	--	5

- Mélanger et incuber pendant 5 min. à 37°C ou 10 min. à 15-25°C.
- Lire l'absorption (a) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant 1 heure à température ambiante.

CALCULS

$$\frac{(A)Échantillon - (A)Blanc}{(A)Étalon - (A)Blanc} \times 5 (\text{Étalon conc.}) = \text{g/dL d'albumine dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: g/dL x 144,9 = µmol/L

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

3,5 à 5,0 g/dL¹.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,0349 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 6 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (g/dL)	4,17	2,84	4,56	3,07
SD	0,02	0,01	0,28	0,18
CV (%)	0,42	0,53	6,20	5,90

Sensibilité analytique: 1 g/dL = 0,2003 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99169.

Equation de la Courbe de régression: y=1,045x - 0,028.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

La bilirubine jusqu'à 110 mg/L, l'hémoglobine jusqu'à 1 g/L et la lipémie jusqu'à 10 g/L, interfèrent^{1, 4}.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'albumine^{5, 6}.

REMARQUES

- ALBUMINE CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec précaution. En effet, il peut être facilement contaminé.
- Le calibreur au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Gendler S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto, Princeton 1984; 1268-1273 and 425.
- Rodkey F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.
- Webster D. Clin Chem. 1974; Acta 53: 109-115.
- Doumas BT Clin Chem. 1971; Acta 31: 87-96.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001020	Cont.	R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001022		R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001023		R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL





CE GOT (AST)

GOT (AST)

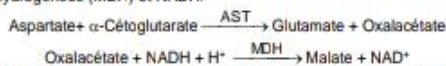
NADH. Cinétique UV. IFCC rec.

Détermination quantitative d'aspartate amino transférase GOT (AST) IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxaloacétate. L'oxaloacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'AST est une enzyme intracellulaire, qui se trouve en grandes quantités dans les muscles du cœur, les cellules du foie, les cellules du muscle squelettique et en plus faibles quantités dans les autres tissus.

Bien qu'un niveau élevé d'AST dans le sérum ne soit pas caractéristique d'une maladie hépatique, elle s'emploie principalement pour les diagnostics et le suivi, avec d'autres enzymes telles que l'ALT et l'ALP. Elle s'utilise également dans le cadre du contrôle post-infarctus, chez les patients souffrant de troubles musculaires du squelette et dans certains autres cas^{1, 4, 5}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte les données cliniques et les données de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
	L-aspartate	200 mmol/L
R 2 Substrats	NADH	0,18 mmol/L
	Lactate déshydrogéné (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogéné (MDH)	600 U/L
	α-cétoglutarate	12 mmol/L

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001160 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1.

Réf: 1001161 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans 15 mL de R1.

Réf: 1001162 Dissoudre (→) une tablette de substrats de R2 dans 50 mL de R1.

Refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissout.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C ou 37°C (± 0,1°C)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (µL)	100
- Mélanger et incubé pendant 1 minute

- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute (ΔA/min).

CALCULS

ΔA/min x 1750 = U/L de AST

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 µmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	2,08
30°C	0,73	1,00	1,54
37°C	0,48	0,65	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 19 U/L	26 U/L	38 U/L
Femmes	Jusqu'à 16 U/L	22 U/L	31 U/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0 U/L jusqu'à la limite de linéarité 360 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (U/L)	SD	Moyenne (U/L)	SD
Moyenne (U/L)	55,5	1,65	55,0	1,62
SD	1,30	3,44	0,92	2,52
CV (%)	2,35	2,07	1,68	1,55

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00051 ΔA./min

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,98277.

Equation de la Courbe de régression: y= 0,9259x - 5,1685.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'AST^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St. Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001160	Cont.	R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001161		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001162		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL





GPT (ALT)

GPT (ALT)

NADH. Cinétique UV. IFCC rec.

Détermination quantitative d'alanine amino transférase**GPT (ALT)****IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogéné (LDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'ALT est une enzyme intracellulaire, qui se trouve principalement dans les cellules du foie et des reins.

Son meilleur avantage est le diagnostic de maladies du foie.

On l'observe en grandes quantités dans le cadre de maladies hépatiques, telles que l'hépatite, les maladies du muscles et des infarctus du cœur, étant donné que la valeur de l'ALT reste dans les limites standards et augmente dans les niveaux de AST^{2,4,5}.

La diagnostique clinique doit être réalisée en prenant en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
Tampon	L-Alanine	500 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrats	Lactate déshydrogéné (LDH)	1200 U/L
	α -Cétoglutarate	15 mmol/L

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Ref: 1001170 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1.

Ref: 1001171 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans 15 mL de R1.

Ref: 1001172 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans 50 mL de R1.

Refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissout.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 340 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C ou 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température 25°C/30°C/37°C
Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (μL)	100
- Mélanger et incubé pendant 1 minute.
- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L d'ALT}$$

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 μmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Ref. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE^{4,5}

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 22 U/L	29 U/L	40 U/L
Femmes	Jusqu'à 18 U/L	22 U/L	32 U/L

Chez les nouveau-nés en bon état de santé, on a détecté des valeurs presque doublées par rapport à celle relevées chez les adultes, état donné leur maturité hépatique, ces valeurs redeviennent normales dans les trois mois.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0 U/L jusqu'à la limite de linéarité 400 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	42	112	41	111
Moyenne (U/L)	42	112	41	111
SD	0,47	0,96	0,79	2,21
CV (%)	1,12	0,85	1,90	1,98

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,000503 $\Delta A/\text{min}$

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r^2): 0,9869.

Equation de la Courbe de régression: $y=1,0589x - 0,6075$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'AST^{2,3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001170 R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL

Ref: 1001171 Cont. R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

Ref: 1001172 R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL





CREATININE TRINDER

Créatinine-TR

Enzymatique

Détermination quantitative de créatinine

IVD

Conserver à 2 - 8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Dans la première réaction, nous utilisons de la créatinase oxydase dans l'hydrolyse enzymatique de la créatine endogène pour produire du peroxyde d'hydrogène, qui est éliminé par catalase. Dans la seconde réaction, la catalase est inhibée par l'azoture de sodium, on ajoute de la créatinase et 4-aminoantipyrine (4-AA), et seulement la créatine générée à partir de la créatinine par la créatinase on hydrolyse séquentiellement par la créatinase y sarcosine oxydase, pour produire du peroxyde d'hydrogène. Ce nouveau peroxyde d'hydrogène formé est mesuré dans une réaction accouplée catalysée par la peroxydase, avec N-éthyle-n-sulfopropyle-m-toluidine (TOPS)/4-AA comme chromogène.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La créatinine est le résultat de la dégradation de la créatine, composant des muscles et elle peut être transformée en ATP source d'énergie pour les cellules.

La production de créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Elle varie peu et les niveaux sont généralement très stables. Elle s'élimine par les reins. Dans une insuffisance rénale progressive il y a une rétention d'urée, de créatinine et d'acide urique dans le sang.

Des niveaux élevés de créatinine sont indicatifs de pathologie rénale². Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R 1	MOPS 25 mmol/L, TOPS 0,5 mmol/L, Créatinase 10 KU/L, Sarcosine Oxydase 5 KU/L, Catalase 3 KU/L, EDTA 1mmol/L, pH7,5.
R 2	MOPS 90 mmol/L, Créatinase 30 KU/L, Peroxydase KU/L, pH 7,5. Azoture de sodium 0,5 g/L.
CRÉATININE CAL	Patron primaire aqueux de Créatinine 2 mg/dL.

PRÉCAUTIONS

CAL : H290-Peut être corrosif pour les métaux.
Suivre les conseils de prudence indiqués sur la FDS et sur l'étiquette du produit.

PRÉPARATION

R1 et R2 sont prêts à être utilisés.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette, quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et que leur contamination est évitée. Ne pas utiliser des réactifs au-delà de la date indiquée.

R1 et R2 sont stables pendant 8 semaines après l'ouverture du flacon.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou photomètre pour lectures à 545±20 nm
- Cuve thermostatisée à 37°C
- Équipement habituel de laboratoire.

ÉCHANTILLONS

- Sérum ou plasma hépariné¹.
- Urine (24 h)¹: Diluer l'échantillon à 1/50 avec de l'eau distillée. Multiplier le résultat par 50 (facteur de dilution de l'échantillon).
- Stabilité de la créatinine : au moins 24 heures à 2-8°C

PROCÉDURE

- Conditions de l'essai :
Longueur d'onde : 545nm (525-565)
Cuve : 1 cm passage de lumière
Température : 37°C(±0,1°C)
- Régler le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.
- Introduire la pipette dans une cuve^{Note 3}:

	Blanc	Patron ^(Note 1,2)	Échantillon
R1 (µL)	450	450	450
Échantillon (µL)	10	10	10

- Mélanger et incuber pendant 5 minutes.
Lire l'absorption (A₁) à 545nm, du patron et des échantillons par rapport au blanc.

	Blanc	Patron	Échantillon
R2 (µL)	150	150	150

- Mélanger et incuber pendant 5 minutes.

- Lire l'absorption (A₂) à 545nm, du patron et des échantillons par rapport au blanc.

CALCULS

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta A \text{ Muestra } x k - \Delta A \text{ Blanco } x k}{\Delta A \text{ Patrón } x k - \Delta A \text{ Blanco } x k} \times C$$

Créatinine = mg/dL de Créatinine dans l'échantillon
K = 0,754 = 460µL/610µL
C = Concentration du patron
ΔA = A₂ - A₁

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser avec les échantillons de sérums de contrôle évalués : SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).
Si les valeurs trouvées sont en dehors de la gamme de tolérance, il faut vérifier l'instrument, les réactifs et le calibre.
Chaque laboratoire doit disposer de son propre Contrôle de qualité et établir des corrections dans le cas où les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE¹

Sérum ou plasma :	
Hommes	0,9 - 1,3 mg/dL
Femmes	0,6 - 1,1 mg/dL
Urine :	
Hommes	14 - 26 mg/Kg/24 h
Femmes	11 - 20 mg/Kg/24 h

Ces valeurs sont indicatives. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure : depuis la limite de détection de 0,00mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 180 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer l'échantillon 1/2 avec ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision :

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (mg/L)	0,87	3,82	0,87	3,75
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensibilité analytique : 1 mg/dL = 0,0226 (ΔA)

Précision : Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives quand ils sont comparés à d'autres réactifs commerciaux (x) ou avec la méthode HPLC.

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de corrélation (r)² : 0,9730.

Équation de la droite de régression : y = 1,066x - 0,020

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Aucune interférence n'est observée avec l'hémoglobine jusqu'à 5g/L, bilirubine 40 mg/dL.

Plusieurs médicaments ont été décrits ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la créatinine^{3,4}.

REMARQUES

- CRÉATININE CAL : En raison de la nature du produit, il est conseillé de le traiter avec beaucoup de précaution car il peut être facilement contaminé.
- L'étalonnage avec le patron aqueux peut entraîner des erreurs systématiques dans des méthodes automatiques. Dans ce cas, il est conseillé d'utiliser des calibreurs sériques.
- Utiliser des embouts de pipette jetables propres pour leur diffusion.
- SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
- Tietz Text book of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCPress, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCPress, 2001.

PRÉSENTATION

Réf: 1001115 Cont R1 : 1 x30 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL : 1 x 5 mL
Réf: 1001117 R1 : 1 x240 mL, R2: 1 x 80 mL, CAL : 1 x 5 mL



UREA -LQ

Urée-LQ

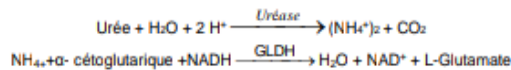
Uréase-GLDH. Cinétique. Liquide

Détermination quantitative de l'urée IVD

A conserver entre 2-8°C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'échantillon d'urée est hydrolysé de manière enzymatique dans l'ammoniac (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammoniac réagissent avec α -cétoglutarique dans une réaction catalysée par le glutamate déshydrogénase (GLDH) avec une oxydation simultanée de NADH à NAD⁺:



La baisse de la concentration du NADH est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillonage¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; il est formé dans le foie à partir de la destruction de ces protéines.

Il peut arriver que l'urée soit élevée dans le sang (urémie) et dans : les régimes alimentaires riches en protéines, les maladies rénales, la crise cardiaque, l'hémorragie gastro-intestinale, la déshydratation ou l'obstruction rénale^{1,4,5}.

Le diagnostic clinique ne doit pas se faire sur la base d'un seul résultat d'analyse; il doit intégrer les données cliniques et d'autres données du laboratoire.

RÉACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampon	α -Cétoglutarique	6 mmol/L
	Uréase	75000 U/L
R 2	GLDH	60000 U/L
Enzymes	NADH	0,32 mmol/L
CAL UREE	Urée aqueuse en étalon primaire	50 mg/dL

PRÉPARATION

Réactif utilisé (RU): Mélanger 4 vol. R1 Tampon + 1 vol. R2 Substrat.

Le (RU) est stable pendant 1 mois à 2-8°C ou 1 semaine à température ambiante (15-25°C).

CAL URÉE: Prêt à être utilisé.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date mentionnée sur l'étiquette en cas de conservation hermétique sous 2-8°C et de protection contre la lumière et les contaminations évitées lors de leur utilisation.

Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration.

Signes de détérioration du réactif:

- Présence des particules et de la turbidité.
- Absorbance témoin (A) à 340 nm < 1,00.

ÉQUIPEMENT SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 340 nm.
- Cuves appariées 1,0 cm d'éclairage.
- Équipement d'usage général pour laboratoire. (Remarque 2)

ÉCHANTILLONS

- Sérum ou plasma hépariné¹: Ne pas utiliser les sels d'ammoniac ou le fluorure comme anticoagulants.

- Urine¹: Diluer un échantillon 1/50 dans l'eau distillée. Mélanger. Multiplier les résultats par 50 (facteur de dilution). Conserver les échantillons d'urine à un pH < 4.

L'urée est stable à 2-8°C pendant 5 jours.

PROCÉDURE

- Conditions d'essai:
Longueur d'onde: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C / 15-25°C
- Régler l'instrument à zéro dans l'eau distillée.
- Pipette dans une cuvette (Remarque 4).

	Témoin	Standard	Echantillon
WR (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard (Remarque 1,3) (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et lire l'absorbance après 30 s (A₁) et 90 s (A₂).
- Calculer: $\Delta A = A_1 - A_2$.

CALCULS

$$\frac{(A_1 - A_2) \text{Échantillon} - (A_1 - A_2) \text{Blanc}}{(A_1 - A_2) \text{Étalon} - (A_1 - A_2) \text{Blanc}} \times 50 \text{ (Étalon conc)} = \text{mg/dL urée dans l'échantillon}$$

10 mg/L urée BUN divisée par 0,466 = 21 mg/L urée = 0,36 mmol/L urée¹.

Facteur de conversion : mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les sérums témoins sont recommandés pour suivre la performance des procédures de l'essai: SPINROL H Normal et Pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs de contrôle se trouvent en dehors de la gamme définie, veuillez vérifier l'instrument, le réactif et la calibration pour des problèmes. Chaque laboratoire doit établir son propre système de contrôle de qualité et des actions correctives au cas où les contrôles n'atteignent pas les tolérances acceptables.

VALEURS DE RÉFÉRENCE^{4,5}

Sérum ou plasma:

15-45 mg/dL \approx 2,5-7,5 mmol/L

Urine:

26 - 43 g/24 h \approx 428-714 mmol/24 h

Ces valeurs sont juste indicatives; chaque laboratoire doit établir sa propre gamme de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure: de la limite de la détection 0,743 mg/dL à la limite de linéarité 400 mg/dL.

Si la concentration est plus élevée que la limite de linéarité, il faut diluer 1/2 de l'échantillon avec ClNa 9 g/L et multiplier le résultat par 2.

Précision:

Moyenne (mg/dL)	Intra-essai (n=20)		Inter-essai (n=20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
37,5	1,05	2,79	40,0	2,65
120	0,92	0,77	126	1,65

Sensibilité: 1 mg/dL = 0,00180 A.

Exactitude: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT (y) n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus à l'aide de 50 échantillons sont les suivants :

Coefficient de corrélation (r)²: 0,98209.

Equation de régression y = 1,0343x - 1,2105.

Les résultats des caractéristiques de la performance dépendent de l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Il est recommandé d'utiliser l'héparine comme l'anticoagulant. Ne pas utiliser les sels d'ammonium ou le fluorure¹.

Une liste de médicaments et d'autres substances interférentes avec une détermination de l'urée a été signalée^{2,3}.

NOTES :

- CAL URÉE: Procéder soigneusement avec ce produit car il peut se contaminer facilement à cause de sa nature.
- Les articles de verrerie et l'eau distillée ne doivent pas contenir l'ammoniac et les sels d'ammonium¹.
- La calibration avec une solution aqueuse classique pourrait causer une erreur systématique au niveau des procédures automatiques. Dans ces cas, il est recommandé d'utiliser un calibrateur de sérum.
- Utiliser les extrémités de la pipette jetable pour sa dispense.
- SPINREACT dispose des guides d'utilisateur pour plusieurs analyseurs automatiques. Les instructions pour beaucoup d'entre eux sont disponibles sur demande.

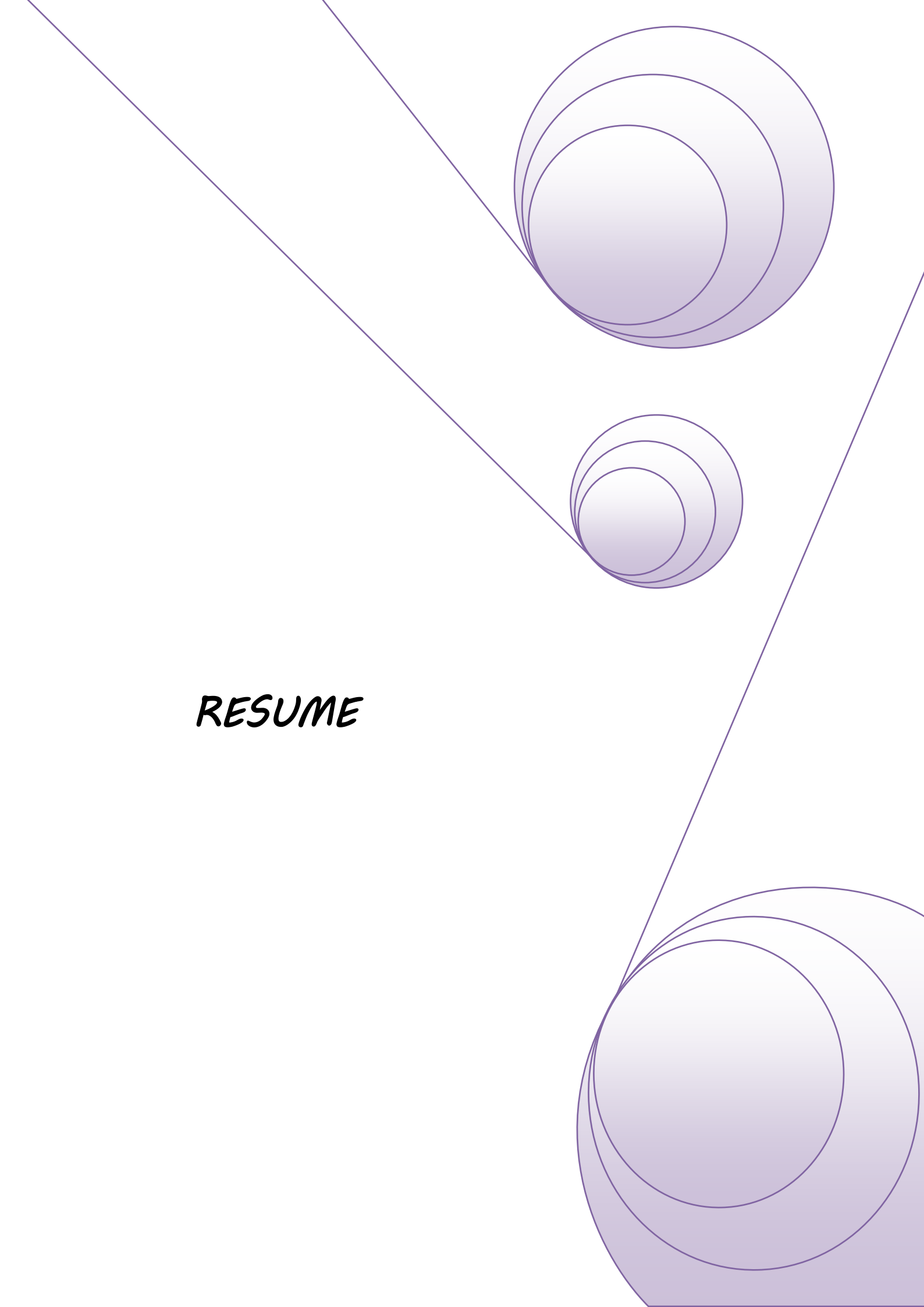
BIBLIOGRAPHY

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRÉSENTATION

Réf. 41040	R1: 1 x 40 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 2 mL
Réf. 41042	R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 25 mL, CAL: 1 x 5 mL
Réf. 41041	R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 60 mL, CAL: 1 x 5 mL
Réf. 41043	R1: 1 x 480 mL, R2: 1 x 120 mL, CAL: 1 x 5 mL





RESUME

RESUME

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer *in vivo* l'effet préventif et l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (HEER) sur un modèle d'inflammation colique induite par l'acide acétique chez les rats femelles de la souche Wistar. Ainsi que de tester *in vitro* leur activité antibactérienne et antibiofilm sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

Les résultats obtenus, après l'administration de 2 ml/kg PC d'acide acétique à 5% par voie intra-rectale pendant 3 jours, montrent que l'acide acétique est à l'origine de plusieurs perturbations qui se traduisent par; une augmentation du poids relatif du Cœur, une diminution de la croissance corporelle par rapport à celle des témoins et un changement notable dans les paramètres hématologiques et biochimiques. Il a même induit des changements macroscopiques et histopathologiques graves au niveau du colon.

Concernant la partie microbienne, les résultats obtenus, après l'utilisation de la méthode de quantification de la formation de biofilm en tubes, en présence de 5 µl/ml d'HEER ont montré, un pouvoir inhibiteur considérable sur la croissance planctonique des bactéries tests, néanmoins, l'activité antibiofilm a été enregistrée uniquement sur les souches *S. aureus* et *E. coli*.

Cependant, le prétraitement par 100 mg/kg PC d'HEER avant et pendant le traitement des rates par l'acide acétique, a atténué certains effets nocifs de l'acide acétique et a fourni une protection vis-à-vis de l'inflammation colique. Ceci est dû à la richesse de cette huile essentielle en composés bénéfiques en termes de 1,8-Cinéole, Terpinéol, Terpinen-4-ol et Limonène ayant tous une activité anti-inflammatoire et anti-oxydante considérable.

En conclusion, on peut considérer que l'atténuation de l'inflammation colique et les perturbations enregistrées avec l'acide acétique semble possible par le renforcement des défenses anti-oxydantes d'organisme, par la supplémentation orientée sur les plantes médicinales à fort potentiel protecteur. L'HEER pourrait être exploitée comme antibiotique naturel pour le traitement de plusieurs bactéries infectieuses.

Mots-clés: Acide acétique; Huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*; Inflammation colique; Anti-biofilm; 1,8 Cinéol ; Antibactérien.

Abstract

The aim of this investigation is to evaluate the preventive effect and the anti-inflammatory activity of the essential oil of the d' *Eucalyptus radiata* on colic inflammation.

As well as to examine the antibacterial and anti-biofilm activity of this essential oil *In vitro* on 4 bacterial strains: *EC*, *KP*, *PA*, *SA*.

According to the results obtained, after the administration of 2 mg /kg BW acetic acid with 5% for 3 consecutive days, show that the acetic acid is the origin of several disturbances which result in: an increase in relative weight of (heart), decreased of body growth compared to controls and a change notable in the hematologic and biochemical parameters. It even induced severe macroscopic and histopathological changes in the colon.

Concerning the microbial part, the results obtained, after the use of the method of quantification of the biofilm formation in tubes, in the presence of 5 µl / ml of HEER showed a considerable inhibitory power on the planktonic growth of the test bacteria, but the antibiofilm activity is observed only on *S. aureus* and *E. coli* strains.

However, pretreatment with 100 mg / kg of essential oil of the *Eucalyptus radiata* before and while treatment of rats with acetic acid, has mitigated some harmful effects of acetic acid and provided the protection for the colic inflammation. This is due to the wealth of this oil in beneficial compounds in terms of 1,8-Cinéol, Terpinéol, Terpinen-4-ol et Limonene having an anti-inflammatory activity and anti-oxidant considerable.

In conclusion, we can consider that the attenuation of colic inflammation and the disturbances recorded with the acetic acid seem possible by the reinforcement of anti-oxidant defenses of organization, by the supplementation directed towards the medicinal herbs at protective strong potential.

The essential oil of *Eucalyptus radiata* could be exploited as a natural antibiotic for the treatment of several infectious bacteria.

Keywords: Acetic acid; Essential oil of *Eucalyptus radiata*; Colonic inflammation; Anti-biofilm; 1,8 Cineol; Antibacterial.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثير الوقائي و النشاط المضاد للالتهابات لزيت الكاليتوس *Eucalyptus radiata* ضد الالتهاب القولوني الناجم عن حمض الخل لدى الفئران الإناث من سلالة Wistar . كما يهدف أيضا إلى فحص النشاط المضاد للجراثيم والمضاد للالتصاق لهذا الزيت *in vitro* على 4 سلالات بكتيرية: (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus*).

النتائج المتحصل عليها بعد معاملة الفئران بحمض الخل بجرعة 2 مل/كغ من وزن الجسم بنسبة 5% عن طريق المستقيم لمدة 3 أيام، بينت أن حمض الخل هو مصدر العديد من الاضطرابات و التي ترجمت ب: زيادة نسبية في وزن (القلب) ، انخفاض في وتيرة نمو الجسم مقارنة بالفئران الشاهدة، كما أدى إلى تغير ملحوظ في بعض المؤشرات الدموية و البيوكيميائية.

كما تسبب هذا الحمض في تشوهات خطيرة واضحة بالعين المجردة و على مستوى التشريح النسيجي للقولون. فيما يتعلق بالجزء الميكروبي ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ، بعد استخدام طريقة القياس الكمي لتشكيل الأغشية الحيوية في الأنابيب ، في وجود 5 ميكرو لتر / مل من HEER قدرة مثبطة كبيرة على نمو العوالم البكتيرية المختبرة، ولكن لوحظ نشاط مضاد للالتصاق فقط على سلالات *S. aureus* و *E. coli*.

في حين أدت المعاملة الوقائية بجرعة 100ملغ / كغ من وزن الجسم لزيت الكاليتوس قبل وأثناء معاملة الفئران بحمض الخل أدى إلى تحسن وانخفاض الأعراض الجانبية المضرة و الخطيرة لهذا الحمض و أمن الحماية من الالتهاب الحاد للقولون ، مما يدل بوضوح على الدور الوقائي لهذا الزيت ضد الالتهابات و الأكسدة الناجمة عن هذا الحمض و يرجع ذلك إلى ثراءه بمركبات أساسية مفيدة *1,8-Cinéole, Terpinéol, Terpinen-4-ol, Limonene* .

و على ضوء ما تقدم، يتضح لنا بأن التأثيرات الالتهابية لحمض الخل يمكن تحسينها، بتعزيز النظام الدفاعي المضاد للأكسدة و الالتهاب و يرجع الفضل في هذا الأمر لقدرة الحماية التي تملكها النباتات الطبيعية التي تقوي الدفاع و الحماية ضد الأكسدة و ضد الإلتهابات .

يمكن استغلال زيت الأوكاليتوس كمضاد حيوي طبيعي لعلاج العديد من البكتيريا المعدية.

الكلمات الدالة: حمض الخل، زيت الكاليتوس، التهاب القولون، المضاد للجراثيم، *1,8Cinéole* ، مضاد حيوي.

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* : Activité anti-biofilm et effet préventif et anti- inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie Appliquée

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer *in vivo* l'effet préventif et l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (HEER) sur un modèle d'inflammation colique induite par l'acide acétique chez les rats femelles de la souche Wistar. Ainsi que de tester *in vitro* leur activité antibactérienne et antibiofilm sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

Les résultats obtenus, après l'administration de 2 ml/kg PC d'acide acétique à 5% par voie intraréctale pendant 3 jours, montrent que l'acide acétique est à l'origine de plusieurs perturbations qui se traduisent par; une augmentation du poids relatif du Cœur, une diminution de la croissance corporelle par rapport à celle des témoins et un changement notable dans les paramètres hématologiques et biochimiques. Il a même induit des changements macroscopiques et histopathologiques graves au niveau du colon.

Concernant la partie microbienne, les résultats obtenus, après l'utilisation de la méthode de quantification de la formation de biofilm en tubes, en présence de 5 µl/ml d'HEER ont montré, un pouvoir inhibiteur considérable sur la croissance planctonique des bactéries tests, néanmoins, l'activité antibiofilm a été enregistrée uniquement sur les souches *S. aureus* et *E. coli*.

Cependant, le prétraitement par 100 mg/kg PC d'HEER avant et pendant le traitement des rats par l'acide acétique, a atténué certains effets nocifs de l'acide acétique et a fourni une protection vis-à-vis de l'inflammation colique. Ceci est dû à la richesse de cette huile essentielle en composés bénéfiques en termes de 1,8-Cinéole, Terpinéol, Terpinen-4-ol et Limonène ayant tous une activité anti-inflammatoire et anti-oxydante considérable.

En conclusion, on peut considérer que l'atténuation de l'inflammation colique et les perturbations enregistrées avec l'acide acétique semble possible par le renforcement des défenses anti-oxydantes d'organisme, par la supplémentation orientée sur les plantes médicinales à fort potentiel protecteur. L'HEER pourrait être exploitée comme antibiotique naturel pour le traitement de plusieurs bactéries infectieuses.

Mots-clés: Acide acétique; Huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*; Inflammation colique; Anti-biofilm; 1,8 Cinéol ; Antibactérien.

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme KHALI. L.

(MAA - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mme KLIBET. F.

(MCB - UFM Constantine 1).

Examineur : Mr MOKRANI. E.H.

(MAA - UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 04/07/2018