



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Etude de l'activité biologique de la plante médicinale *Astragalus
gombo* et quelques paramètres de stress oxydatif induite par le
métribuzine chez des rattes de type *Wistar albinos*.

Présenté par :

M^{lle} SALHI Imane

Devant le jury composé de :

Président :	M ^r DEROUCHE Samir	M.C.A	Université d'El Oued.
Examinatrice :	M ^{me} AOUIEUR Meriem	M.A.A	Université d'El Oued.
Promotrice :	M ^{me} MAHBOUB NASMA	M.C.B	Université d'El Oued.



Dédicace

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert la porte
du savoir et m'a aidé la franchir*

Je dédie ce modeste travail:

*A celle qui ma mise au monde, à la lumière de mes yeux,
l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie **ma mère khellout**
Nadjate qui m'a apporté son appui durant toutes mes années
d'étude.*

*A mon cher père Abdelhalime qui m'a appris le sens de la
réussite toute au long de mes études, pour son sacrifice, ses
conseil et ses encouragements*

*A mes chère frères **Abd errahime, Ahmed Et Mohammed**
Yaicoub*

*A mes chères sœurs **Hadjer Et Sirine***

*Tous Mes amis les proches de mon cœur : Roukaia , Djihade ,
Bochra, Afrah*

Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire



Salhi Imane



Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail, pour son aide durant des longues années d'étude, et mon a permis de réaliser ce travail

*Je tiens à exprimer ma gratitude à mon directeur de Mémoire, M^{me} **MAHBOUB NASMA**, pour son encadrement et ses qualités scientifiques et pédagogiques qui m'ont permis de mieux structurer mes idées. Merci pour m'avoir fait confiance jusqu'à la fin de ma thèse et pour m'avoir dirigé sur ce sujet passionnant merci pour suivi mon travaux avec intérêt tout en mon prodiguant des conseils toujours justes et elle a su mon redonner courage et aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute. Aussi pour son soutien, son attention, son qualités humaines. Pour tout cela, Je tiens à vous particulièrement à le remercie profondément*

*Mes remerciements les plus chaleureux et fraternels à la présidente du jury **Mr DEROUCHE Samir**, d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de critiquer et de juger ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant et honoré par sa participation au jury.*

*je exprimons mon vifs remerciements à M^{me} **AOUMEUR Meriem**, enseignante à l'université Echahid Hamma Lakhder d'el Oued de mon avoir accorder le privilège de participer à ce jury d'accepter d'examiner ce modeste travail. Tout l'honneur lui en revient*

*je tene à remercier profondément tout qui mon aide pour faire ce travail, et surtout M^{me} **Adaika Aicha**, M^{elle} **ZEGHIB Khaoula**, et M^{elle} **GOUBBI Sana** responsable du laboratoire.*

Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble des membres du laboratoire de département de la science de la nature et de la vie, Université HAMMA LAKHDAR, El-oued.

Et à tous les membres de laboratoire Al-Bachir Ben –Nasser à El oued, à tous les membres de laboratoire d'ELMEDJD

Enfin nous tenons à remercier gracieusement toutes les personnes ayant contribué, de façon directe ou indirecte à la réalisation du présent travail.

Résumé

Résumé

L'objectif de ce travail est d'abord de contribuer à l'évaluation de l'activité biologique d'*Astragalus gombo* de la région d'El Oued. L'analyse phytochimique qui appliquée sur les Deux parties (feuilles et racines) de la plante a révélé la présence des Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Sucre réducteur, polyphenols et Saponines. Aussi la concentration en composés polyphénoliques totaux est estimé à 65.7 ± 0.02 mg EAG/g pour les feuilles et 14.49 ± 0.006 mg EAG/g pour les racines. Les analyses spectrophotométriques effectuées montrent que les deux extraits contiennent une quantité importante de flavonoïdes 32.65 ± 0.05 (mg de Querc /g MS) pour les feuilles et 4.36 ± 0.042 (mg de Querc /g MS) pour les racines. L'évaluation de l'effet antioxydant de ces extraits par le piégeage du radical libre DPPH a donné les valeurs des IC_{50} de l'ordre de 0.797 mg/ml et 1.57 mg/ml pour les feuilles et les racines respectivement. En parallèle, l'étude de l'activité antimicrobienne montre que l'extrait de feuilles d'*Astragalus gombo* possèdent une activité remarquable contre les quatres souches étudiées (*Salmonella enterica* ssp .*Arizonae* CIP 81-3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922 gram négatif) et (*Listeria innocua* CLIP 74915gram positif). Afin d'évaluer l'activité antioxydante de deux extraits aqueux (feuilles et racines) du plante d'*Astragalus gombo* In vivo qui appliquée sur un modèle des rattes *Wistar albinos* ont été exposé au métribuzine (30 mg/kg pc) pendant 30 jours, puis traités pendant 15 jours par deux extraits différents (feuilles et racines) ainsi que le médicament (vitamine E). Ces groupes restent exposés au métribuzine pendant le traitement . Le deuxième lot est considéré comme témoin négatif a exposés au métribuzine et non traité à l'extrait végétal. Le premier lot est un témoin positif, qui constituent des rattes saines. Les rattes sont sacrifiés(après 45 jours), des paramètres biochimiques, stress oxydatif et des coupes histologiques sont déterminés. L'analyse des résultats obtenus une augmentation du poids relatif du foie de groupe exposé au métribuzine. Des changements notables dans les paramètres biochimiques étudiés ont été observés. Cependant, les résultats révèlent également la présence de stress oxydatif chez le lot exposé au métribuzine. En revanche, le traitement par la plante avec les deux extraits aqueux (feuilles et racines) et par le médicament (vitamine E) donne les mêmes résultats en normalisant le poids relatif de foie et les paramètres biochimiques étudiés et en diminuant l'état de stress. Enfin l'étude histologique du foie a confirmé les résultats biochimiques obtenus.

Mots clés : *Astragalus gombo*, métribuzine, feuilles, racines, médicament (vitamine E), Stress oxydatif, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو المساهمة في تقييم نبتة فول الإبل (*Astragalus gombo*) المتواجدة في منطقة الوادي .

التحليل الكيميائي النباتي المطبق على جزئين من النبتة (الأوراق والجذور) كشف عن وجود الفلويونات ، التانينات ، الفلافونويدات ، البوليفينول السكريات المرجعة والصابونينات كما يقدر تركيز مركبات البوليفينولية الكلية بـ 65.7 ملغ معبر بحمض الغاليك / غ بالنسبة للمستخلص الأوراق و ب 14.49 ملغ معبر بحمض الغاليك / غ بالنسبة للمستخلص الجذور. تظهر التحليلات الطيفية التي أجريت أن كلا المستخلصين يحتويان على كمية معتبرة من الفلافونيدات 32.65 ± 0.05 (ملغ مكافئ من الكرسيتين / غ من المادة الجافة) بالنسبة للأوراق و 4.36 ± 0.042 ملغ مكافئ من الكرسيتين / غ من المادة الجافة) بالنسبة للجذور. أعطى تقييم التأثير المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات بواسطة محاصرة DPPH الراديكالية الحرة قيم IC_{50} بترتيب 0.797 مغ/ مل و 1.57 مغ/ مل للأوراق والجذور على التوالي. تبين دراسة النشاط المضاد للميكروبات أن مستخلص أوراق فول الإبل له نشاط ملحوظ ضد السلالات الأربعة المدروسة *Escherichia coli* ، *Salmonella enterica ssp. Arizonae* CIP 81-3) ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25922 ، *Listeria innocua* CLIP 74915 (موجبة لغرام) و *27853* (سالبة لغرام) من المستخلصات المائية (الأوراق والجذور) لنبتة فول الإبل في الجسم الحي التي تطبق على نموذج فئران ويستار تعرضت للمتريزين 30 (ملغ / كغ وزن الجسم) لمدة 30 يوم ثم تعالج لمدة 15 يوما بمختلف الأجزاء المستخلصة (أوراق وجذور) وأيضاً الدواء مع إبقاء هذه المجموعات معرضة للمتريزين المجموعة الثانية للفئران هي مجموعة السيطرة السالبة المعرضة للمتريزين والغير معالجة بالنبات أما المجموعة الأولى فهي مجموعة السيطرة الموجبة وهي فئران سليمة. يتم ذبح الفئران بعد 45 يوم من أجل تحديد التحاليل البيوكيميائية ومعايير الإجهاد التأكسدي مع إجراء المقاطع النسيجية للكبد. تحليل النتائج أظهرت على زيادة في الوزن النسبي لكبد المجموعة التي تعرضت للمتريزين. وقد لوحظت تغييرات كبيرة في المعايير البيوكيميائية المدروسة . ومع ذلك ، فإن النتائج تكشف أيضاً عن وجود الإجهاد التأكسدي في الدفعة تتعرض للمتريزين. وعلى النقيض من ذلك ، فإن المعالجة النباتية بكل من المستخلص المائي (الأوراق والجذور) والأدوية (فيتامين E) تعطي نفس النتائج في تعديل وزن الكبد النسبي والمعايير البيوكيميائية المدروسة وخفض الحالة الإجهاد . وأخيراً أكدت الدراسة النسيجية للكبد النتائج البيوكيميائية.

كلمات مفتاحية: فول الإبل- متريزين -الأوراق - الجذور - الدواء (فيتامين هـ) - الإجهاد التأكسدي- الفعالية المضادة للأكسدة - الفعالية المضادة للبكتيريا .

Liste des figures

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
01	<i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)	06
02	Feuilles d' <i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)	08
03	Fleurs d' <i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)	08
04	Fruits d' <i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)	09
05	Tige d' <i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)	09
06	Racine d' <i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)	09
07	Schéma représentant les sources de ROS et les systèmes de détoxification de la cellule	13
08	Déséquilibre antioxydant /oxydant	14
09	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	16
10	Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.	17
11	Structure chimique d' α -tocophérol	19
12	L'acide ascorbique	20
13	Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique	20
14	Structure chimique du radical libre DPPH	24
15	Schéma de transformation du DPPH de sa forme active	24
16	Schématisation du principe de méthode des chromatogrammes sur boîte de Pétri	30
17	Structure de métribuzine	35
18	Processus de détoxication et de biotransformation des xénobiotiques	36
19	<i>Astragalus gombo</i> (photo originale,2018)	38
20	Localisation géographique de la zone d'étude	39
21	Ratte blanche de la souche <i>Wistar albinos</i> (photo originale)	41
22	Protocole de préparation de l'extrait asques	44
23	Forme libre et réduite de DPPH	47
24	Présenté test d'antibiogramme (photo originale, 2018)	50
25	Le mode de traitement des animaux (photo originale)	51
26	Protocole de préparation de l'homogénats tissulaire	53
27	Protocol expérimentale de l'étude	58

28	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	62
29	Courbe d'étalonnage de la quercitane pour le dosage des flavonoïde	63
30	Courbe d'inhibition d'acide ascorbique	64
31	L'activité anti-radicalaire des extraits bruts aqueux (feuilles et racines)	64
32	Effet de l'extrait des feuilles d' <i>Astragalus gombo</i> sur le trois souche bactériennes gram négatif (<i>Salmonella enterica ssp .Arizonae CIP 81-3</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i> , et <i>Escherichia coli ATCC 25922</i>) en fonction des différentes concentrations des extraits.	66
33	Effet de l'extrait des feuilles d' <i>Astragalus gombo</i> sur le souche des les bactéries gram positif étudiée (<i>Listeria innocua CLIP 74915</i>) en fonction des différentes concentrations des extraits.	67
34	Variation de gain du poids chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	69
35	Variation de poids relatif du foie, rein et poumon (%) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	70
36	Effet de traitement par les deux extraits de plante (racines et feuilles) et (vitamine E) sur les enzymes hépatique (TGO, TGP) et le taux de PAL , la concentration de protéine γ GT chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	72
37	Effet de traitement par les deux extraits de plante (racines et feuilles) et (vitamine E) sur le bilan rénal (urée, créatinine) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	73
38	Effet de traitement par les deux extraies de plant(racine et feuille) et (vitamine E) sur les concentrations sériques de glucose chez le lot témoin et les lots expérimentaux pondant 15 jours de traitement	74
39	Variation de la Concentrations hépatique rénal et pulmonaire de Malondialdéhyde (MDA) ($\mu\text{mol/mg}$ de prot) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	76
40	Variation de la Concentrations hépatique rénal et pulmonair en glutathion réduit (nmol/mg de protéine) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jour de traitement.	77
41	Variation de l'activité du catalase dans les foie , reins et poumon (UI/min/g prot) n chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement	78
42	Observation microscopique d'une coupe histologique du foie, hez les rats du lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jour de traitement. (x40) (Photos originales, 2018)	79

Liste des tableaux

Liste des tableaux

<i>N° de tableau</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Caractères diagnostiques des sous familles des Fabaceae (=Leguminosae)	04
02	Systématique d' <i>Astragalus gombo</i>	07
03	Description botanique de l'espèce (<i>Astragalus gombo</i>).	08
04	Constituants chimiques principaux d' <i>Astragalus</i>	10
05	les défèrent espèces radicalaires impliquées dans le stress Oxydant	15
06	la nature et les mode d'action des principaux antioxydant enzymatique et non enzymatique	22
07	Les différents tests pour la mesure de la capacité antioxydante globale in vitro	23
08	Aspect morphologique des micro-organismes étudiés.	27
09	Système de classification des produits phytosanitaires	32
10	Quelques propriétés des souches testées.	40
11	Pourcentage de rendement de l'extrait brut aqueux (feuilles et racines) d' <i>Astragalus gombo</i>	60
12	Résultats des tests phytochimiques de <i>d'Astragalus gombo</i>	61
13	Teneurs en polyphénols totaux dans les deux extraits aqueux	62
14	Teneurs en flavonoïdes totaux dans les deux extraits aqueux	63
15	Valeur d'IC50 des différents extraits d' <i>Astragalus gombo</i> en mg/ml.	64
16	Résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait (feuille d' <i>Astragalus gombo</i>) sur les bactéries GRAM négatif.	65
17	Résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait sur les bactéries GRAM positif	66
18	Poids initiale, gain du poids et poids relatif des organes (foie, reins , poumon) chez les différents groupes expérimentaux.	68
19	Concentrations des marqueurs biochimiques (l'activité enzymatique des transaminases , de la phosphatase alcaline sérique et teneurs sériques en glucose, urée, créatinine et γ GT chez le groupe témoin et différents groupes expérimentaux.	71
20	La concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA), glutathion réduit(GSH) et l'activité enzymatique de catalase (CAT) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	75

Sommaire

Sommaire

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
PREMIERE PARTIE : synthèse bibliographique	
Chapitre I description botanique d’Astragalus	4
I.1. Description botanique d’Astragalus	4
I.1.1. La famille des Fabaceae	4
I.1.2. La Sous famille de Papilionacée	5
I.1.3. Genre d’Astragalus	5
I.1.3.1. Le genre Astragalus en Algérie	5
I.2. Présentation d'espèce étudiée (d’Astragalus gombo)	6
I.2.1. Définition	6
I.2.2. Position systématique	7
I.2.3. Description botanique de l'espèce (Astragalus gombo)	8
I.2.4. Constituants chimiques principaux du genre Astragalus	10
I.2.5. Répartition géographique	10
I.2.6. Astragales toxiques	10
I.2.7. Intérêts médicinaux de la plante étudiée (Astragalus gombo)	11
Chapitre II les activités biologiques	12
II. Généralités sur les activités biologiques	12
II.1. L'activités antioxydants	12
II.1.1. Généralités	12

II.1.2. Le stress oxydant	13
II.1.2.1. Définition	13
II.1.3. Radicaux libre	14
I.1.3.1. Définition	14
II.1.3.2. Différents type des radicaux libres	14
II.1.3.3. Origine des radicaux libres	15
II.1.4. Les antioxydants	16
II.1.4.1. Définition	16
II.1.4.2. Mécanisme d'action de antioxydant	17
II.1.5. Méthode utilisée pour évaluer l'activité anti-oxydante	22
II.1.6. Effet des antioxydants sur la santé humaine	24
II.2. Activité antibactérienne	25
II.2.1. Généralités	25
II.2.2. Définition de l'activité antibactérienne	25
II.2.3. Rappel sur les bactéries	25
II.2.3.1. Les infections bactériennes	26
II.2.3.2. Principales substances antibactérienne	26
II.2.4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	27
II.2.5. Méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne	29
II.2.5.1. Méthode Aromatogramme	30
II.2.5.2.Méthode de diffusion en puits	31
II.2.5.3. Méthode de micro-atmosphères	31
II.2.5.4. Méthode de dilutions en bouillon et en gélose	31
Chapitre III les pesticides	32
III.1. Définition	32
III.2. Classification des pesticides	32
III.2.1. Le premier système de classification	32
III.2.2. Le deuxième système de classification	32
III.3. Composition des pesticides	33
III.4. Mode d'action des pesticides	33
III.4.1. Les herbicides	33
III.4.2. Les insecticides	34
III.4.3. Les fongicides	34

III.5. La métribuzine	34
III.5.1. Définition	34
III.5.2. Propriétés physico-chimiques, utilisations et sources de contamination	34
III.5.3. Toxicité	35
III.6. Métabolisme des pesticides	36
III.7. Effets des pesticides sur les humains	37
DEUXIEME PARTIE : études expérimentales	
Chapitre I Matériels et Méthodes	38
I.1. Principe d'étude	38
I.2. Matériels utilisés	38
I.2.1. Matériels biologiques	38
I.2.1.1. Matériel végétal	38
I.2.1.2. Matériel vivant	39
I.2.2. Matériels de laboratoire	41
I.2.3. Produits chimiques	42
I.3. Méthodes	43
I.3. 1 .Les méthodes utilisés pour matière végétaux	43
I.3.1.1 Séchage	43
I.3.1.2. Préparation des extraits aqueux	43
I.3.1.3. Calcul du rendement des extraits	45
I.3.1.4. Analyses phytochimiques	45
I.3.1.5. Dosage des composés phénoliques totaux des extraits	46
I.3.1.6. Evaluation l'activité anti-oxydante In vitro de les extraits d' Astragales gombo	47
I.3.2. Méthodes Utilisé pour Matière vivo	48
I.3.2.1. Etude de l'effet antibactérienne de extrait d'Astragalus gombo partie arienne (les feuilles) sur les bactéries	48
I.3.2.2. Etude de l'effet antioxydant In vivo de les extraits aqueux d'Astragalus gombo (feuilles et racines) sur les animaux (rattes femelles de souche WISTAR ALBINOS)	50
Chapitre II résultats et discussion	60
II.1. Résultats	60
II.1.1. Etudes phytochimiques	60
II.1.1.1. Rendement des extraits aqueux	60
II.1.1.2. Criblage phytochimiques (Secrining chimique)	60

II.1.1.3. Analyse quantitative des composés phénoliques	61
II.1.1.4. Effet antioxydant In vitro des extraits d'Astragalus gombo (feuilles et racines) par DPPH	63
II.1.2. Effet de la plante étudiée (extrait des feuilles) sur les microorganisme (Activité antibactérienne)	65
II.1.3. Etude in vivo	68
II.1.3.1. Effet de la plante étudiée Astragalus gombo (feuilles et racines) sur les animaux (rattes femelle de souche Wistar Albinos)	68
II.2. Discussion	80
Conclusion générale et perspective	89
Références bibliographiques	91
Annexe	107

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- **ADN**: Acide désoxyribonucléique.
- **AGPI** : Acides gras poly-insaturés.
- **AlCl₃** :Aluminum chloride
- **ALT** : L'alanine amino-transférase
- **AST** : L'Aspartate amino-transférase
- **ATP** :adénosine -5'- triphosphate
- **BD** :bilirubine direct
- **BHT** : Butylhydroxtoluene
- **C°** : Degrés Celsius
- **Ca** : calcium
- **CAT** : Catalase.
- **CCl₄** : tétrachlorure de carbone
- **Cm** : centimètre
- **CO₂** : anhydride carbonique
- **D.U** : Dose unique
- **DMSO** : Diméthyl sulfoxide
- **DO** : densité optique
- **DPPH** : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
- **DTNB** : Acide dithio-bis2-nitrobenzoïque
- **E. coli** : *Escherichia coli*
- **EAG** : Equivalent d'acide gallique
- **EDTA** : Acide éthylène Diamine Tétracétique
- **EQ** : équivalent de Quercetine
- **ERN** : Espèces réactives de l'azote
- **ERO** : espèces réactives de l'oxygène
- **ES**: Ecart-types.
- **F**: Feuilles
- **Fe** : Fer
- **FeCl₃** : Chlorure de fer
- **FVT** :Flavonoïdes totaux.
- **G** : gramme

- **GPx** : Glutathion peroxydase.
- **GR** : Glutathion réductase
- **GSH** : Glutathione réduit.
- **GSSG** : Glutathionoxydé.
- **GSSG-Red** : La glutathion réductase
- **GST** : Glutathion S-transférase
- **H%** : pourcentage d'hémolyse
- **H**: heure.
- **H₂O₂** : peroxide d'hydrogène
- **HCl**: Chlorure d'hydrogène
- **I.P** : Intra péritonéale
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice 50
- **In** : Inflammation
- **ISO** : Organisation Internationale de Normalisation.
- **LDL** : Low density lipoproteins
- **Lis** : Listeria sp
- **M** : Médicament (vitamine E)
- **MDA** :Malondialdéhyde
- **mg** : milligramme
- **min** : minute
- **ml** : millilitre
- **Mmol** : millimole
- **Moy** : moyenne
- **N** : Azote
- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **NAD** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
- **NADH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
- **NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
- **NaHCO₃** : bicarbonate de sodium
- **NH₃** : ammoniac
- **NH₄Cl** : Chlorure d'ammonium
- **Nm** : nanomètre
- **NO•** : monoxyde d'azote

- **NS** : différence Non Significative
- **Nz** : Nécrose zonale
- **O₂** : l'oxygène singulet
- **O₂•** : l'anion superoxyde
- **OH•** : radical hydroxyle
- **PAL** : La phosphatase alcaline
- **pc/j** : Poids corporelle par jours
- **PH** : potentiel Hydrogène
- **POD** : peroxydase
- **PPM** : Parties par million
- **prot** : protéine
- **Pseud**: Pseudomonas aeruginosa
- **R** : Racine
- **RL** : radicaux libres
- **RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire
- **RNS**: Reactive nitrogen Spices (espèces réactive de nitrogène)
- **ROS**: Reactive Oxygen Spices (espèces réactive de l'oxygène)
- **Salm**: salmonella sp
- **SDS** : Sodium Dodecyl Sulfat
- **SOD** : superoxyde dismutase
- **T** : témoin
- **TBA** : Acide thiobarbiturique
- **TCA** : Acide trichloroacétique
- **TGO** : Glutamopyruvate Transférase
- **TGP** : Glutamooxaloacétate Transférase
- **Tm** : Température de fusion
- **TNF α** : Facteur de nécrose tumorale alpha
- **TP** : Témoin positif.
- **Tr/min** : Tour par minute.
- **Tris** : Trishydroxyméthylaminométhane
- **trs** : Tours
- **UI/L** : Unité internationale par litre.
- **UV-VIS** : Ultra-Violet Visible

- **ZI** : Zone d'inhibition
- **Zn** : Le zinc
- **γGT** : Gamma-Glutamyl Transférase.

Introduction générale

Introduction générale

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du «stress oxydant», c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux libres toxiques. Les espèces réactives oxygénées et azotées ROS/RNS sont des radicaux libres qui sont produites en continu dans le corps humain et elles sont contrôlées par les antioxydants enzymatiques comme (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, la catalase) et l'antioxydant non enzymatique. En effet, les concentrations élevées en espèces réactives de l'oxygène induisent un stress oxydant, qui est due à un déséquilibre entre le système antioxydant et les molécules oxydantes, celle-ci est considérée comme le moteur qui génère d'autres complications comme les maladies cardiovasculaires et les cancers (BONNEFONT-ROUSSELOT, 2010). Quand il y a une surproduction de ces espèces, suite à une exposition à des substances oxydantes externes ou un déséquilibre dans les mécanismes de défense (ARUOMA, 1998), provoqué des dommages. Ces derniers sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de divers biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules (MOON et SHIBAMOTO, 2009).

Egalement au cours des dernières décennies, la résistance microbienne a évolué jusqu'au point où elle se présente actuellement comme un majeur problème de la santé publique. Une importante diminution de l'efficacité des agents antimicrobiens se dévoile avec l'apparition de nouvelles souches multi résistantes entraînant souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. Cette résistance est une réponse adaptative par laquelle les microorganismes commencent à tolérer la concentration d'un antibiotique qui serait normalement inhibitrice (OMS, 2016 ; LAURENCE, 2016).

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire. Et malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (NEWMAN *et al.*, 2000 ; CALIXTO, 2005).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte

de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (MAURICE, 1997). cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie et il est principalement utilisé pour traiter les maladies (Telles que les maladies causées par le stress oxydatif) , parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (BAHORUN *et al*, 1996). et aussi utilisées pour leur propriété antibactérienne, en tant que sources des antibiotique , mais on existe des plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (MACHEIX *et al*, 2005).

En Algérie, où les médicaments à base de plantes sont toujours utilisés par de nombreuses populations pour des soins sanitaires, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu de façon empirique (KOFFI *et al.*, 2009).

La flore algérienne comprend plusieurs astragales, dont *Astragalus gombo*. Plusieurs espèces d'*Astragalus* trouvent des applications en médecine traditionnelle et moderne. les feuilles d'*Astragalus gombo* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des hémorroïdes, *Astragalus mongholicus* et *caprinus* et aussi *Astragalus gombo* sont utilisées comme remède pour plusieurs maladies (LEI *et al*, 2003 ; SEMMAR *et al*, 2002 ; YIN *et al*, 2006). Plusieurs constituants des astragales pharmacologiquement actifs, tels que les saponines et les polysaccharides, polyphenols et flavonoïde ont des effets hépatoprotecteurs, immunostimulants et antiviraux et antioxydants antibactérienne (RIOS *et al*, 1997).

Ce travail vise à étudier in vitro de cette espèce végétale (*Astragalus gombo*) Et connaissant la teneur de composés actifs essentiels(polyphéols et les flavonoïde) Trouvé dans les différentes parties (feuilles et racines) et d'en évaluer leur pouvoir biologique (l'activité antioxydant (in vivo et in vitro) et antibactérienne).

Ce travail sera présenté comme suit:

Une première partie est une synthèse bibliographique: le premier chapitre sur les aspects botaniques et phytochimiques de la plante, ensuite. En parallèle, la deuxième chapitre qui contient un rappel sur les activités biologiques (antioxydante et antibactérienne). La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées. Par ailleurs, la troisième section est consacrée à la présentation l'ensemble des résultats obtenus et leurs discussions, en détaillant les points suivants :

- Etude quantitative des composés phénoliques par le dosage des polyphénols totaux.
- Etude quantitative des flavonoïdes totaux.
- Etude du pouvoir antioxydant de la plante par mesure du pourcentage d'inhibition du radical DPPH.
- Etude de l'effet antibactérien de l'*Astragalus gombo* vis-à-vis plusieurs souches bactériennes.
- Etude de l'effet antioxydant de l'*Astragalus gombo* chez des rattes exposées au pesticide Metribuzin.

Enfin, le manuscrit est ponctué d'une conclusion générale et de perspectives envisageables.

PREMIERE PARTIE

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

botanique d'Astragalus

Chapitre I description botanique d'*Astragalus*

I.1. Description botanique d'*Astragalus*

I.1.1. La famille des Fabaceae

La famille des Fabacées ou Légumineuses est l'une des plus importantes du règne végétal (OZENDA, 1991), la troisième après les Orchidaceae et les Asteraceae par le nombre d'espèces. Elle compte environ 765 genres regroupant plus de 19 500 espèces (JUDD *et al*, 2002) dans l'Algérie on enregistre 53 genres et 339 espèces (QUEZEL et SANTA, 1962)

Sur le plan économique, les Fabaceae sont la deuxième famille en importance après les Poaceae et constituent une source de protéines végétales très appréciée pour l'alimentation humaine (FRANCOIS, 2008). à métabolisme azoté et acides aminés élevé, souvent nodules racinaires contenant des bactéries de fixation d'azote (*Rhizobium*) (JUDD *et al*, 2002).

Les Fabacées, au sens large, sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres. C'est une famille à répartition cosmopolite, présente dans tous les continents (à l'exception de l'Antarctique), des zones froides aux zones tropicales.(JUDD *et al*, 2002)

- Cette famille subdivisée en 3 grande sous famille:

Tableau N° 1: Caractères diagnostiques des sous familles des Fabaceae (=Leguminosae)
(JUDD *et al*,2002)

	Mimosoideae	Caesalpinoideae	Papilionoi Deae
Genres /Espèces	40/2500	150/2700	429/12.615
Genres Principaux	Acacia, Albizia, Calli, Andra, Inga Leucaena , Mimosa, Parkia, Pithecellobium	Bauhinia , Caesalp , Inia , Cassia , Chamaecrista , Cercis , Delonix , Gleditsia , Parkinsonia , Senna , Tamarindus	Arachis, Astragalus , Baptisia , Crotalaria , Desmodium, Glycine , Indigofera , Lupinus , Melilotus , Phaseolus , Pisum , Robinia , Tephrosia , Trifolium , Wisteria.

Port	Arbres ou buissons, rarement plantes herbacées	Arbres ou arbustes, rarement plantes herbacées	plantes herbacées, buissons, ou arbres
Feuilles	Généralement composées Bipennées	Généralement composées pennées ou bipennées	composées pennées ou trifoliolées, rarement unifoliolées
Corolle	Actinomorphe Zygomorphe	Généralement zygomorphe (parfois Actinomorphe)	Zygomorphe (la Plupart)
Ligne en U sur la graine	Présente	Généralement Absente	Absente

I.1.2. La Sous famille de Papilionacée

Le nom papilionacées vient de l'aspect de la fleur qui fait penser aux ailes de papillon. (PUY M., 2015). La sous famille de papilionaceae est la plus important des fabaceae car elle compte plus de 3 genres, dont une vingtaine dans la flore saharienne. (OZENDA, 1977)

I.1.3. Genre d'*Astragalus*

Le genre *Astragalus* est le genre le plus important chez les plantes à fleurs et donc également le plus important de la famille des Fabacées (légumineuses) (FRANCOIS, 2008). Il comporte environ 3270 espèces et caractérisé par son fort taux de diversification morphologique et sa large répartition géographique (RIOS, 1997). Certaines espèces de ce genre peuvent présenter des indices de spéciation et d'endémisme (BOUMLIK, 1995).

L'origine probable du genre *Astragalus* est l'Eurasie et plus précisément les régions situées entre les montagnes du sud-ouest asiatique et le plateau de l'Himalaya et certaines zones désertiques. (HASSENT et *al*, 2012).

I.1.3.1. Le genre *Astragalus* en Algérie

En Algérie, le genre *Astragalus* est assez bien représenté (QUEZEL et SANTA, 1962). En effet, la flore algérienne comporte 40 espèces d'Astragales, parmi eux *Astragalus gombo* qui a fait l'objet de cette étude. Ces espèces se divisent en espèces annuelles et vivaces qui colonisent plusieurs types d'habitat et appartiennent à différentes aires de répartition (CHOUANA, 2017).

I.2. Présentation d'espèce étudiée (*d'Astragalus gombo*)

I.2.1. Définition

Astragalus gombo une des plantes caractéristiques des dunes de sable (Figure 1), où il est largement répandu dans ces environnements et participer à la diversification de la société végétale de cette région, il est considéré comme une plante pastorale importante, il se nourrit d'animaux en particulier les chameaux (CHOUANA, 2017).

- Cette espèce caractérisée par:

- **Habitat** : la zone principale pour la propagation de cette espèce est des environnements de dunes de sable en pieds isolés ou en petites colonies, dans les terrains sablonneux (CHEHMA, 2006).
- **Répartition** : assez commun dans tout le Sahara Endémique (CHEHMA, 2006).
- **Période de végétation** : il pousse et fleurit au printemps, floraison en mars – avril (CHEHMA, 2006). La croissance des espèces du genre *Astragalus* se produit de l'automne au printemps, elles demeurent vertes pendant l'hiver quand l'herbe est peu disponible (COLEGATE *et al*, 1985).



Figure N° 1 : *Astragalus gombo* (photo originale, 2018)

I.2.2. Position systématique

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (QUEZEL et SANTA, 1962 ; BOUMLIK, 1995 ; CHEHMA, 2006) synthétisée dans (le tableau2)

Tableau N° 2 : Systématique d'*Astragalus gombo*

Règne	Plantes (Végétal)
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Fables
Famille	Fabaceae
Sous famille	Papilionaceae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	Gombo
Nom scientifique	<i>Astragalus gombo</i>
Nom vernaculaire	(الفيلة) Faila

I.2.3. Description botanique de l'espèce (*Astragalus gombo*)

La description botanique de l'espèce (*Astragalus gombo*) est résumée dans (le tableau3)

Tableau N° 3 :Description botanique de l'espèce (*Astragalus gombo*).

Description botanique	
Feuilles	Feuilles de cette plante généralement composées, pennées à folioles entières, stipulées. (PAUL et al, 1836), peuvent avoir jusqu'à quarante-cinq folioles, quelques espèces possèdent des feuilles trifoliées (GEOFF et al, 2003).  Figure N°2 : Feuilles d'<i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)
Fleurs	Les fleurs qui font penser aux ailes de papillon leur diamètre 25 mm et jaunes, regroupées en grappes compactes axillaires, sessiles (dépourvues de pédoncules) ou presque, insérées à l'aisselle des feuilles terminales. composée par un calice tubulaire en cloche, à cinq dents subégales ou très inégales. Les pétales généralement longuement onguiculés (Ozenda, 2004)  Figure N° 3 : Fleurs d'<i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)

Fruits	Est une gousse de forme variée, rarement uniloculaire, généralement à deux loges (QUEZEL, et SANTA., 1962) . Le gousse divisée longitudinalement en deux loges par une cloison (OZENDA , 1977). et peut développer également une fausse cloison longitudinale par intra flexion (DUPONT et GUIGNARD, 2012).	 Figure N° 4 : Fruits d'<i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)
Tiges	Les tiges sont dressées, tomenteuses (cotonneuses) recouvertes par poils épais blancs, et leur couleur sont claire (OZENDA , 1977).	 Figure N° 5 : Tige d'<i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)
Racines	Elle constitue la partie souterraine de la plante, la racine se ramifie ,au cours de son développement, pour former un réseau de racines appelé système racinaire (REYNIER, 1991).	 Figure N° 6 : Racine d'<i>Astragalus gombo</i> (photo originale, 2018)

I.2.4. Constituants chimiques principaux du genre *Astragalus*

Les constituants chimiques principaux d'*Astragalus* sont consignés dans(le tableau 04) (BAYKAL, 1998 et ; HARBORNE, 2000 et; ALI. *et al*, 1998)

Tableau N° 4 : Constituants chimiques principaux d' *Astragalus*

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques
Anthocyanosides	O-glucosides du cyanidol et du péonidol
Acides phénols	Acide monocaféyl-tartrique, acidesphénylpropanoïques
Tanins	Tanins hydrolysables (esters du glucose et des acides gallique et déhydrohexahydroxydiphénique)
Hétérosides de flavonols	Glucosides de flavonols : quercétine-3-O- β -D-glucuronide, isoquercitrine (quercétine-3-O β -glucoside), et kaempférol-3glucoside

I.2.5. Répartition géographique

L'Astragalus gombo est représenté partout dans le monde localisées surtout dans les pays du bassin méditerranéen ont été décrites en Afrique du Nord et aussi dans Sahara Algéro-Marocain (OZENDA, 1958). Cette plante est connue dans toute l'Algérie, notamment dans les zones désertiques (JOHANDIEZ *et al*, 1932 ; RAYNAUD, 1982). .

I.2.6. Astragales toxiques

Les espèces toxiques de ce genre sont classées selon la nature de la toxine dominant et le type d'intoxication qu'elles provoquent, et se divisent en trois catégories (TARAZONA et SANZ, 1987) :

- Les astragales accumulatrices de sélénium (MOLYNEUX *et al*, 1985)
- Les astragales synthétisant des produits nitrés (ALAOUI, 1981)
- Les astragales contenant des alcaloïdes indolizidiques (MOLYNEUX *et al*, 1985) dont certaines espèces causent les mêmes troubles neurologiques que ceux observés lors de l'intoxication. (RAYNAUD, 1982 ; WILLIAMS, 1981)

I.2.7. Intérêts médicinaux de la plante étudiée (*Astragalus gombo*)

L'Astragale contient des nombreux éléments actifs, tels que des flavonoïdes, des polysaccharides, des glycosides tri terpènes, des acides aminés et des traces de minéraux. Les différentes recherches sur l'Astragale démontrent que:

- Les propriétés immunitaires de cette plante semblent ramener à un niveau normal le nombre de cellules T (un globule blanc de la famille des lymphocytes) dans les cas de certains cancers (GAO, 2001).
- Les recherches en laboratoire sur certains extraits de la racine ont démontré un effet protecteur au niveau des cellules hépatiques soumises à certains toxiques et un effet anti-inflammatoire a également été constaté (LYONS et NAMBIAR, 2005).
- L'Astragale contient également un flavonoïde nommé astragalée, qui est un puissant antioxydant (TULSIANI *et al.*, 1985)
- Comme agent thérapeutique, l'astragale est recommandé dans les cas de faiblesse engourdissements, asthme, nervosité, tendance aux infections, transpirations nocturnes, rhumes et gripes, douleurs arthritiques, déficience du système immunitaire et insuffisance de production d'urine (SAOUDO, 2007).
- Les feuilles d'*Astragalus* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des hémorroïdes (HASSEN *et al.*, 2012)
- **Autres usages**

L'astragale soigne les organes sujets à prolapsus, notamment l'utérus, et se montre efficace en cas de saignements utérins et d'anémie (ISERIN, 2001).

CHAPITRE II

Les activités biologiques

Chapitre II les activités biologiques

II. Généralités sur les activités biologiques

Les activités biologiques des extraits végétal et leur propriétés biologiques très variés. cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles biologiques importants . Parmi les activités les plus importantes que possèdent la plupart des plantes se trouve : (l'activités antioxydants et l'activités antibactérienne)

II.1. L'activités antioxydants

II.1.1. Généralités

L'oxygène (O_2) est une molécule indispensable à la vie (PINCEMAIL *et al*, 2002). Il est essentiel pour le métabolisme aérobie en tant qu'accepteur final des électrons de la chaîne respiratoire. Cette réaction est associée à la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique. Les processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfaits car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO) (KOPPENOL, 2001).

Cette production physiologique d'ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (superoxyde dismutase (SODs), catalase, glutathion peroxydase (GPx's) (MOREL ET BAROUKI, 1998 , DELATTRE *et al*, 2005) et de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines, glutathion...) et de protéines telles que la transferrine (COYLE *et al*, 2002).

Dans un premier temps, la cellule ne modifie pas ses propriétés biologiques, si les ERO continuent à s'accumuler, une adaptation plus consistante de la cellule est nécessaire avec l'induction de gènes codant des enzymes anti- oxydantes et des enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN (Adénosine désoxy-nucléotide) et des protéines. On observe aussi une répression des systèmes susceptibles de libérer des ERO, notamment la chaîne respiratoire (BAROUKI ET MOREL, 1998). Ces derniers endommagent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). L'évolution de cette oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telles que le cancer, les infections inflammatoires, les maladies cardiaques et accélèrent le processus de vieillissement (DASGUPTA, 2007).

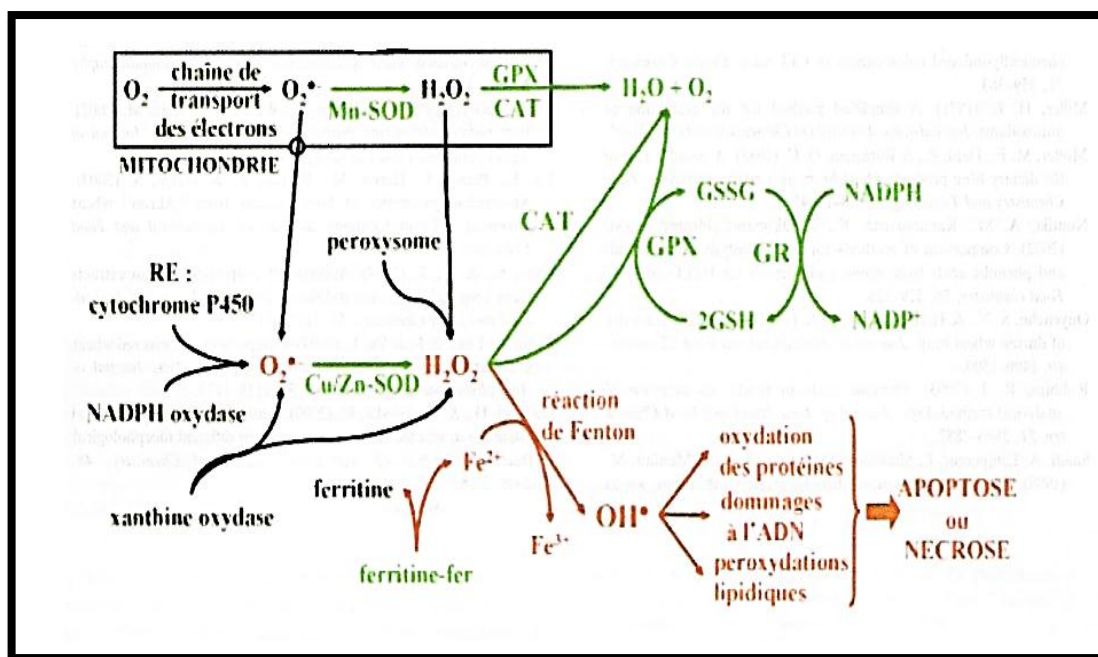


Figure N° 7 : Schéma représentant les sources de ROS et les systèmes de détoxification de la cellule (MOREL, 2007)

Les ROS sont produites par des mécanismes cellulaires très divers (en noir). La cellule possède des systèmes enzymatiques qui permettent la transformation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (en vert) tel que Mn- et Cu/Zn-SOD : superoxyde dismutase dépendante du manganèse (dans les mitochondries) ou du cuivre et du zinc (dans le cytoplasme). En présence de fer libre intracellulaire, le radical hydroxyle (OH°) est produit à partir de H₂O₂ et peut oxyder les constituants de la cellule (en rouge).

II.1.2. Le stress oxydant

II.1.2.1. Définition

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres (SIES, 1991), suite à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme (HALENG *et al*, 2007; BAROUKI, 2006), ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (PINCEMAIL *et al*, 1999).

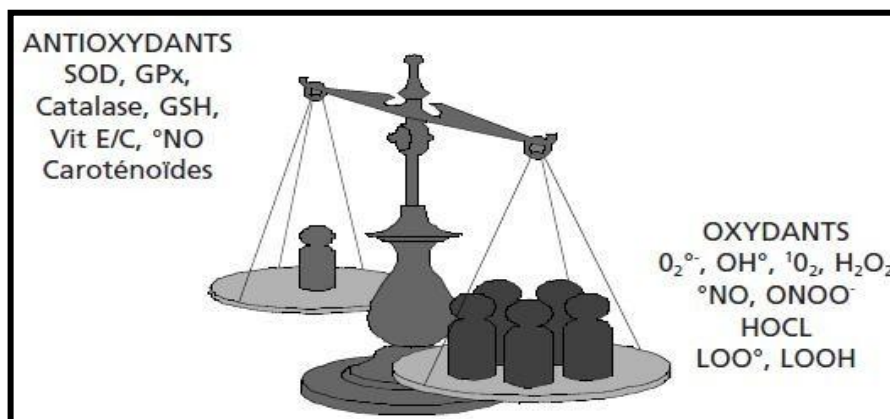


Figure N° 8: Déséquilibre Antioxydant /Oxydant (GUEYE, 2007).

II.1.3. Radicaux libre

I.1.3.1. Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe (JADOT, 1994), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (MARTINEZ-CAYUELA, 1995). Les radicaux libres peuvent être produits d'origine exogène (UV, radiation ionisantes, xénobiotiques, pesticides ou certains médicaments...etc) (LEVERVE et al, 2001), ou par des processus cellulaires normaux: la respiration mitochondriale (THIEBAULD et SPRUMONT, 2005).

II.1.3.2. Différents type des radicaux libres

Dans les cellules On peut distinguer les radicaux libres

a) Les radicaux libres primaires (radicalaires) :

Ils dérivent directement de l' O_2 par une réaction de réduction (GUEYE, 2007; MONGENS, 2013) qui jouent un rôle particulier en physiologie (Favier, 2003). Tels que l'anion superoxyde $O_2^\bullet$ et le radical hydroxyle $OH^\bullet$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote $NO^\bullet$.

b) les radicaux libres secondaires (non radicalaires) :

Tels peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$) ils sont formés par la réaction des radicaux libres primaires sur des composés biochimiques cellulaires (GUEYE, 2007 ;MONGENS, 2013).

c) Les espèces actives de l'oxygène :

Ce sont des molécules ne possédant pas d'électron non apparié mais au fort pouvoir oxydant car elles peuvent donner naissance à des radicaux libres (GUEYE, 2007).

Tableau N° 5 : les différents espèces radicalaires impliquées dans le stress Oxydant (GUEYE, 2007).

Les radicaux libres primaires et secondaires		Les espèces actives de l'oxygène	
RO ₂	Radical Peroxy	ONOOH	Nitroperoxyde
		1/O ₂	Oxygène singule
O ₂	Radical Superoxyde	ONOO	Peroxynitrite
OH	Radical Hydroxyle		
HO ₂	Radical Perhydroxyle	H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
RO	Radical Alkoxyde		
ROOH	Hydro peroxyde Organique		
NO	Monoxide D'azote		

NB : (Le symbole • indique la présence d'un électron célibataire).

II.1.3.3. Origine des radicaux libres

- Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques (Figure 9). Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions superoxydes se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. (MONGENS M, 2013).
- Les rayonnements UV sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres. (MONGENS M, 2013).
- L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux et L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (MOHAMMEDI, 2005).

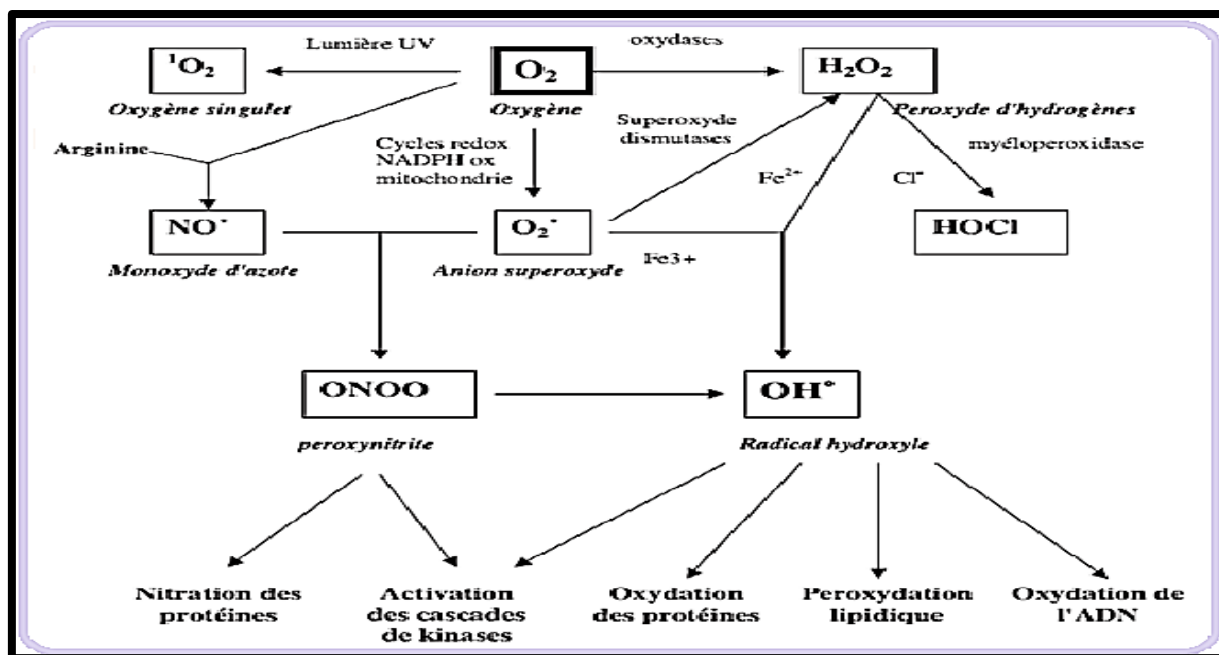


Figure N° 9: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (FAVIER, 2003).

II.1.4. Les antioxydants

II.1.4.1. Définition

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. ces substances ont pour rôle d'une manière directe ou indirecte, d'empêcher les ERO et ERN d'atteindre les cibles biologiques (acides nucléiques, protéines, lipides...), pouvant assister considérablement les mécanismes cellulaires (BOUHADJRA, 2011) . Il existe une quantité innombrable d'antioxydants et ceux-ci peuvent être non enzymatiques ou enzymatiques (YOU *et al*, 2003).

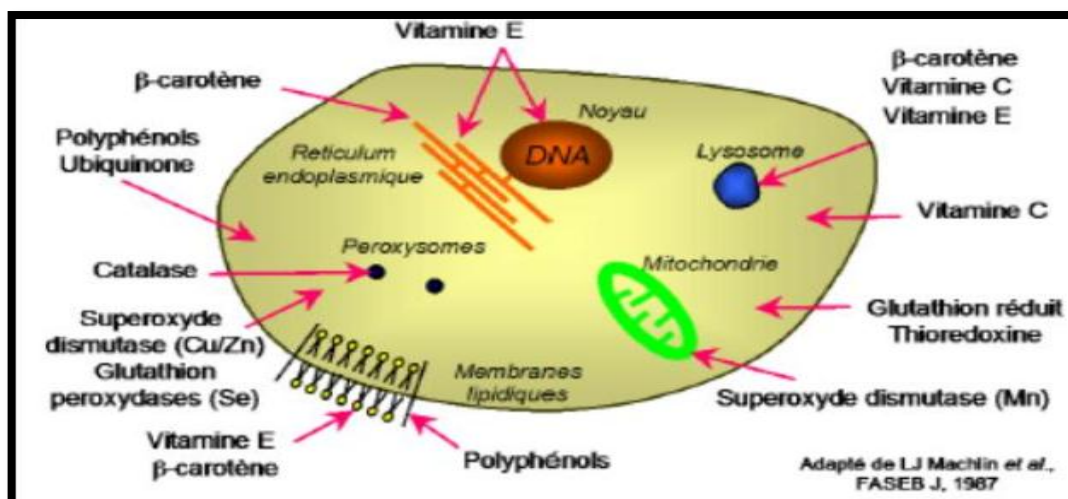


Figure N° 10 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule
(Mn-SOD) : superoxyde dismutase mitochondriale, (Cu/Zn-SOD) : superoxyde dismutase cytosolique, (GPx) : glutathion peroxydase, (GSH) : glutathion réduit (GARAIT., 2006)

a) Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué la première barrière de cette défense antioxydante, qui est constituée de trois métalloenzymes essentielles : les superoxydes dismutases, la catalase et les glutathions peroxydase (SIES, 1991). Ces enzymes ont une action complémentaire sur l'activité radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (MARFAK, 2003).

b) Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation (Vitamine C et E, polyphénols,...) (SORGE, 2004), dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. (LEVERVE, 2009).

II.1.4.2. Mécanisme d'action de antioxydant

II.1.4.2.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques reposent sur superoxyde dismutase SOD, catalases et glutathion peroxydases (LEVERVE, 2009).

a) Superoxyde dismutase (SOD)

Superoxyde dismutase est une metalloenzyme Accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs isoenzymes de SOD , SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) (PIQUET et HEBUTERNE, 2007). Les iso enzymes diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, structure et leur localisation cellulaire (GUEYE, 2007; TBAHRITI et al, 2014)

**b) Catalases (CAT)**

Catalase joue un rôle important dans les voies de défense antioxydantes (LINFORD et al, 2006). C'est un tétramère localises surtout dans les peroxysomes hépatiques, dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH sur la catalase augmente son efficacité et le protège contre l'inactivation (KIRKMAN et al, 1999), et il agit en tant que catalyseur son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (GOUDABLE et FAVIER, 1997)

**c) Glutathion peroxydase (GPx)**

Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes tétramériques à sélénium localise dans le cytosol ainsi que dans la mitochondrie (LACOLLEY, 2007). La glutathion peroxydase (GPx) détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques. La réduction de ces dérivés réactifs est couplée avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH). La glutathion réductase (GR) a pour rôle la régénération de GSH à partir du GSSG tout en présence du cofacteur NADPH (SORGE, 2004).

d) Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase (GSSG-Red) régénère le glutathion réduit à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme cofacteur (DEATON et al, 2003), est localisée avec la glutathion peroxydase, elle se trouve dans le cytosol et les mitochondries (BUTTERFIELD et al, 2002).

e) Glutathione-S-transférase(GST)

Glutathion S-transférase est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes (RENUKA et *al*, 2003). La glutathion-S-transférases (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (ZHIHUA et *al*, 2004).

L'activité de conjugaison du GSH avec les composés électrophiles est présentée comme suit:



II.1.4.2.2. Antioxydants non enzymatiques

a) Vitamine E

La vitamine E (Figure 11) est un antioxydant liposoluble majeur (GROUSSARD et *al*, 2003) sous forme d' α - tocophérol, se localise surtout dans la membrane externe des mitochondries et dans celle du réticuline endoplasmique. Elle est présente dans tous les organes , à l'exception du cerveau dans le foie , le cœur ,les reins, les pommons ,la rate ,les muscle squelettiques et le tissu adipeux que son activité est la plus forte (Martini et seiller, 2006), joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant (BENHAMOU, 2012 ;GROUSSARD et *al*, 2003 et REICHL, 2010) .

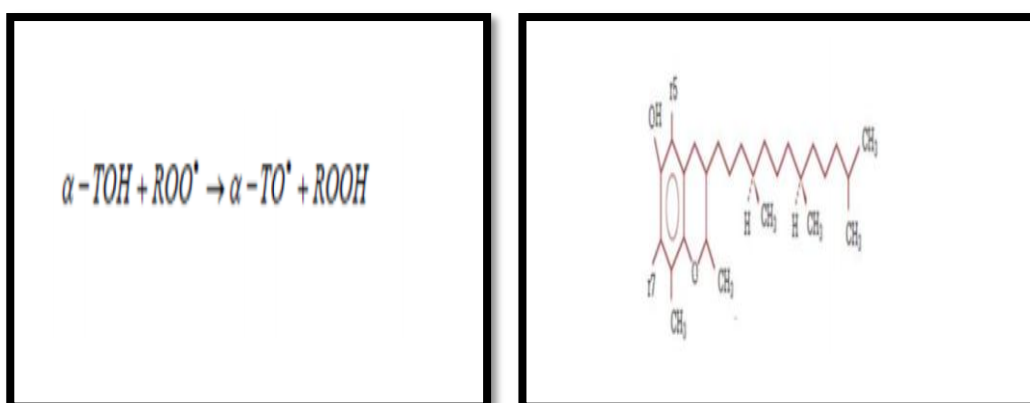


Figure N° 11 : Structure chimique d' α -tocophérol (LAURO ; ROLIH,1990).

b) Vitamine C (acide ascorbique)

C'est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires. La vitamine C peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme $\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$ (et leur forme protonée $\text{H}_2\text{O}\cdot$), ce qui est tout à fait remarquable puisque ces derniers sont connus pour être très peu réactifs. (GARDES-ALBERT *et al*, 2003).

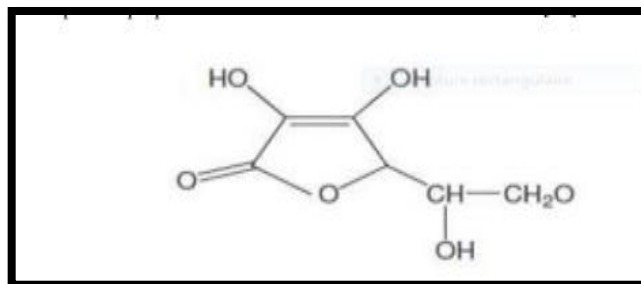


Figure N° 12: L'acide ascorbique (LAURO ; ROLIH , 1990).

La vitamine C réduit le radical α - tocophérol qui permet une bonne efficacité de la vitamine E (GARDES-ALBERT *et al*, 2003).

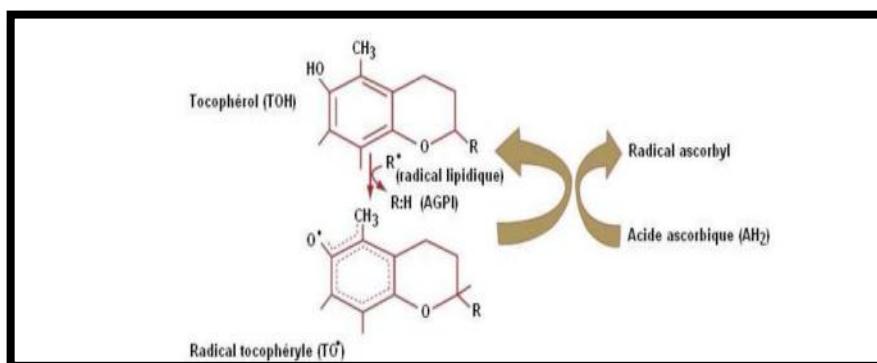
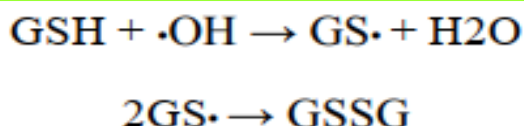


Figure N° 13: Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique (Lauro C; Rolih C.(1990).

c) Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) (LI *et al*, 2005), joue un rôle important comme antioxydant endogène et dans le maintien de l'équilibre d'oxydoréduction. En fait, le GSH participe à l'élimination du H_2O_2 et des LOOH , en servant de co-substrat à l'enzyme GSH-Px (FERRARI *et al*, 1991). Le GSSG formé par cette première réaction est à nouveau réduit en GSH par la GSH réductase, une enzyme qui utilise le NADPH comme cofacteur. Le GSH peut inhiber la peroxydation des lipides et s'avère efficace comme piègeur direct de certains ERO, tels les radicaux $\text{OH}\cdot$ et l'oxygène singulet O_2 (HALLIWELL, 1996).



d) Oligo-éléments

Ces oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments, le zinc, le sélénium cuivre...etc., ont une action définie (FAVIER et HININGER-FAVIER, 2005).

***Zinc**

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de SOD (Powell., 2000). Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions (FAVIER ET HININGER-FAVIER, 2005), en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de fenton. Il protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires. L'activité antioxydant du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (DELATTRE et *al*, 2005).

***Sélénium**

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases séléno-dépendantes, et à l'activité biologique anti-radicalaire des sélénoprotéines (BURK., 2002).

***Cuivre**

Le cuivre est un oligo-élément indispensable, essentiel dans de nombreuses réactions enzymatiques et dans la synthèse de neurotransmetteurs (TROCELLO et *al*, 2010). Il est un cofacteur de divers enzymes à activité antioxydant. Élément catalyseur pour efficacité de la SOD (DELATTRE et *al*, 2005).

e) Polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (DELATTRE et *al*, 2005).

Tableau N° 6: la nature et les mode d'action des Principaux antioxydant enzymatique et non enzymatique (K. BOUHADJRA ,2011)

	NATURE	MODE D'ACTION
Défenses non enzymatiques	Vitamine E	C'est un protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique
	Vitamine C	piéger des radicaux libres
	Polyphenole	inhiber la peroxydation lipidique
	Flavonoïde	piéger des radicaux libres
	Glutathion réduit (GSH)	l'élimination du H ₂ O ₂ et des LOOH
Défenses enzymatiques	Superoxyde dismutase(SOD)	Accélère la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydro peroxydes
	Glutathionne-S-transférase (GST)	protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène par la conjugaison le glutathion avec les composés électrophiles

II.1.5. Méthode utilisée pour évaluer l'activité anti-oxydante

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses et peuvent être qualitatives ou quantitatives. La méthode qualitative, utilisée pour repérer l'activité antioxydante de composés, sont relativement peu nombreuses, mais il existe plusieurs essais quantitative in vitro et une vivo.

Les méthodes utilisées , les noms dérivent, généralement, du nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, parmi celles-ci, on cite (Tableau 7).

Tableau N° 7 : Les différents tests pour la mesure de la capacité antioxydante globale in vitro (TLILI, 2015)

Méthode	Nom	Générateur de radicaux	Standard Mesure/Calcul
TEAC	Total équivalent antioxydant capacité	ABTS + horseradisch peroxydase +peroxyd d'hydrogène formation du radical (ABTS•+)	Décoloration du radical ABTS•-: $\lambda=734$ nm Unité : équivalent Trolox
FRAP	Ferric reducing ability of plasma	Réduction du Fe(III) (TPTZ) ₂ Cl ₃	Changement d'absorbance à $\lambda=593$ nm Unité : FRAP par rapport à une solution de Fe(II)
DPPH	2,2-diphénylpicrylhydrazyl	DPPH	Diminution de l'absorbance $\lambda=515$ nm Unité : équivalent Trolox
TRAP	Total radical trapping parameter	2,2-azobis (2-amidinopropane) dichlorohydrate (APPH) radicaux peroxydes de nature hydrophile	Diminution de la fluorescence de la β -phycoérythrine ($\lambda=495$ nm et $\lambda=575$ nm). Unité : équivalent Trolox

Le méthode utilisé dans cette étude est DPPH:

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520nm (KHOLKHAL et *al*, 2013). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 14). De couleur violette qui réagit avec des composés qui peuvent donner un atome d'hydrogène, mais il est sensible à la lumière, à l'oxygène, au PH et à la nature du solvant utilisé (POPOVICI et *al*, 2009).

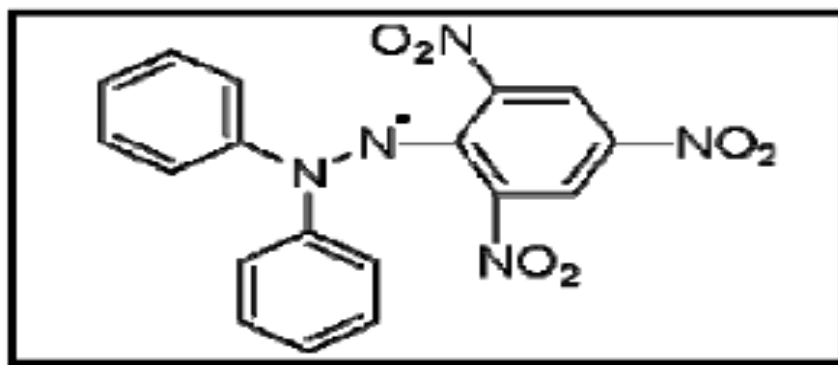


Figure N° 14 : Structure chimique du radical libre DPPH (POPOVICI et al, 2009)

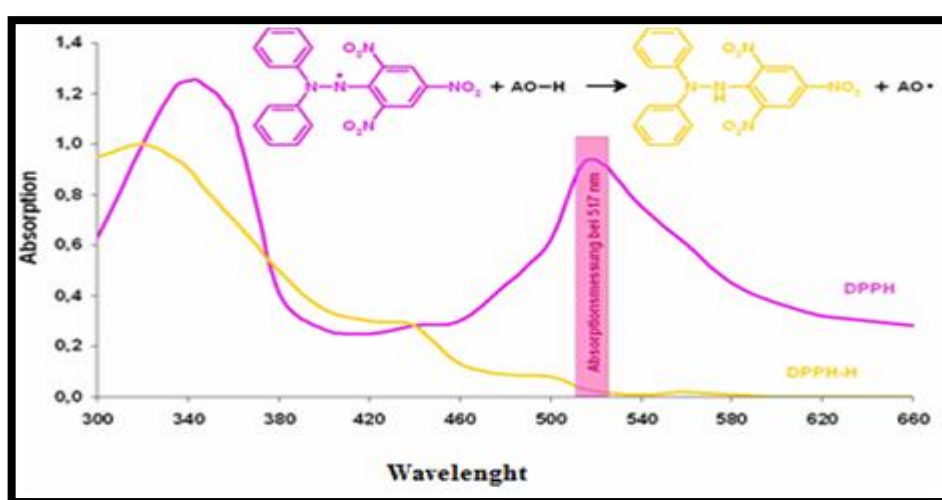


Figure N° 15: Schéma de transformation du DPPH de sa forme active (POPOVICI et al, 2009).

II.1.6. Effet des antioxydants sur la santé humaine

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances anti oxydantes pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et des enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisés. De plus, Ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante : celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis à vis des radicaux libres produits par les radiations. Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou des produits dérivés de ceux-ci. Il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardio-vasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus antiviellissement et leurs implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif (WOLFF, 1968 ; TURRENS et al., 1985).

II.2. Activité antibactérienne

II.2.1. Généralités

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes (KAUFMANN, 1997) comme les bactéries, sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires) (NAUCIEL et VILDE, 2005). Les bactéries qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux, pour résister à ces microorganismes par nombreux moyens sont mis en jeu (KAUFMANN, 1997).

II.2.2. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne correspondant à activité d'une molécule (comme le médicament) ou composé présent au sein d'un végétal (NICOLASE et DANIEL, 1998). Capable à faible dose de tuer ou d'inhiber la croissance du germe par un mécanisme particulier jouant sur ses mécanismes vitaux (OKUSA, 2012). Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques, mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales (ALI-SHTAYEH et *al*, 1998).

II.2.3. Rappel sur les bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal.

Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule. Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

- Les bactéries se reproduisent selon deux modes :
 - La division simple ou scissiparité.
 - La sporulation, la spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physicochimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés : milieux de culture (LECLERC *et al*, 1995 ; MADIGAN *et al*, 1997 ; MARC *et al*, 2001).

II.2.3.1. Les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- **Locale**: lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- **Générale**: lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme.
- **Focale** : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine. (POCIDALO *et al*, 1989 ; MARC *et al*, 2001).

II.2.3.2. Principales substances antibactérienne

II.2.3.2.1. D'origine végétale

- **Activité antibactérienne des polyphénols**

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (COWAN, 1999). Une contamination des végétaux par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (FLEURIET, 2005). Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, et dégradation de protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. (COWAN, 1999).

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre d'activité antibactérienne (DIDRAK, 1999 ; MODAK, 2001 ; OKIGBO, 2005) les études scientifiques menées au cours des dernières années a généré un intérêt croissant dans leur rôle potentiellement important dans le maintien de la santé humaine. Un nombre considérable de plantes médicinales contiennent des flavonoïdes, qui ont été rapportés par de nombreux auteurs comme ayant des propriétés antibactériennes (MAMATHA, 2005).

L'activité de la quercétine par exemple, a été au moins partiellement attribuée à l'inhibition de l'ADN gyrase d'*E coli* et rapporté que les flavonoïdes ont montré in vitro une activité antimicrobienne contre les souches de *Klebsiella pneumoniae* (COWAN, 1999).

II.2.3.2.2. D'origine syntactique

- **Les antibiotiques(médicament)**

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. (BERGOGNE-BEREZIN et DELLAMONICA, 1995).

II.2.4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Tableau N° 8 : Aspect morphologique des micro-organismes étudiés

Les souches	Caractéristiques				
	Habitat	Morphologie	Culture	Biochimie	Pouvoir pathogène
<i>Escherichia coli</i>	Cette espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif (NAUCIEL et VILDE, 2005).	Bacille , Gram négatif, La plupart sont mobiles à ciliature péritriche ,d'autre sont immobile (BERCHE et <i>al.</i> , 1989) .	se cultive en 37°C et après 24h en donnant des colonies de 2 à 3 mm de diamètre (BERCHE et <i>al.</i> , 1989) .	sont identifiées par les tests suivant : fermentation du lactose, du mannitol et de sorbitol, production d'indole, présence de β -galactosidase. (BERCHE et <i>al.</i> , 1989) .	La plupart sont associée à voies digestives : diarrhées aussi peut être provoquent par fois hémorragiques avec fièvre et douleur abdominale , cystites traduisant par une dysurie, une pollakiurie (BERCHE et <i>al.</i> , 1989)

<i>Salmonella enterica ssp .Arizonae</i>	ces espèce colonisent les muqueuse intestinale et l'iléum chez l'homme. (BERCHE et al, 1989).	bacille , Gram négatif, de 2 à 3 µm de longueur et 0,6 µm de large, mobile grâce à ciliature péritriche (BERCHE et al, 1989).	se cultive facilement sur milieu ordinaire en 24h. Les colonies sont lisses, à bords réguliers mesurant 2 à 3mm après 24h d'incubation à 37 C° (Berche et al, 1989).	sont identifiées par les tests suivant : présence oxydase, fermentation de glucose+production de gaz , production de l'hydrogène sulfuré, production de lysine-decarboxylase (BERCHE et al, 1989).	sont l'une des principales causes des syndromes gastro-enteritiques qui sont dûs à des toxi-infections alimentaires , Elle cause une fièvre à 39°C- 40°C, des douleurs abdominales, des nausées des vomissements (BERCHE et al, 1989)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cette espèce est largement répandu dans l'environnement. qui vit à l'état saprophyte dans l'eau, le sol, les végétaux, et sur des surfaces inorganiques (FLORET, 2009).	bacille fin gram négatif de 1,5 à 3 µm de longueur et 0,5 à 0,8 µm de largeur (CHAKER H, 2012)., non sporulée , strictement aérobie et très mobile grâce à la présence de plusieurs flagelles polaires (BERCHE et al., 1989) .	se cultive sur la gélose nutritive , les colonies sont d'une grande taille (1-3 mm), à bord irréguliers, lisses et bombées. (BERCHE et al, 1989) .	sont identifiées par les tests suivant :la réduction des nitrates, la présence d'oxydase , la présence d'une lécithinase et la dégradation du glucose et du D-arabinose (LILET et al, 1983).	Les infections à surviennent chez les sujet âgés et les immunodéprimés (cancéreux), présentant des affections intercurrentes (insuffisance rénale , respiratoire, brûlure) (LILET et al, 1983).

Listeria innocua	Cette espèce est trouvée dans l'environnement dans les sols, l'eau et sur les végétaux (BERCHE et al, 1989).	petit bacille, Gram positif, régulier, non sporulant, de 0,4 à 0,5 mm de diamètre et 0,5 à 2 mm de longueur, aux extrémités arrondies, non capsulées, aérobies anaérobies facultatifs, Peu ou pas mobiles à 37° C, <i>Listeria</i> est toujours mobile à 22- 25° C. La ciliature est de type péritriche, avec un nombre de flagelles compris entre 1-5. (EUZEBY, 2000)	se cultive sur la gélose, les colonies de 24-48h à 37°C ont un diamètre de 0,5 à 1,5 mm, sont arrondies, lisses à bords régulières et transparentes. (ROCOURT, 2002; LARPENT, 2004)	sont identifiées par les tests suivant : présence oxydase ,catalase, uréase ,gaz en glucose . (LARPENT, 2004)	<i>L.monocytogenes</i> est une bactérie opportuniste de deux types d'infections chez l'homme : • Listeriose de l'adulte et de l'enfant : méningites, méningo-encéphalites, encéphalites, septicémie. • Listériose de la femme enceinte : infection bénigne pour la femme, se traduisant souvent par une simple fièvre mais grave pour le fœtus, pouvant provoquer un avortement, la mort in utero. (ROCOURT, 2000).
-------------------------	---	---	--	--	---

II.2.5. Méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne

L'activité biologique d'un extrait est liée à sa composition chimique. Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou biocide et une inhibition de la croissance ou activité biostatique (ATTOU, 2011). La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car un antimicrobien peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet (PIBIRI, 2006).

La plusieurs examen fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des extraits.

- Les différents protocoles peuvent être classés :
 - selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'extrait, soit liquide soit solide.
 - selon la nature du contact avec le germe : diffusion sur disque, ou dispersion dans un émulsionnant (PIBIRI, 2006).

II.2.5.1. Méthode Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (PIBIRI, 2006).

L'aromatogramme se réfère à la diffusion d'un agent antimicrobien d'une concentration spécifique à partir de disques dans le milieu de culture solide. La méthode est basée sur la détermination d'une zone d'inhibition proportionnelle à la sensibilité bactérienne à l'antimicrobien présent dans le disque. Plus le diamètre de zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (PIBIRI, 2006) (Figure 16) . Les disques devraient être distribués de sorte que les zones d'inhibition autour des disques ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. La méthode des disques est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement onéreux (MANUEL TERRESTRE DE L'OIE, 2008)

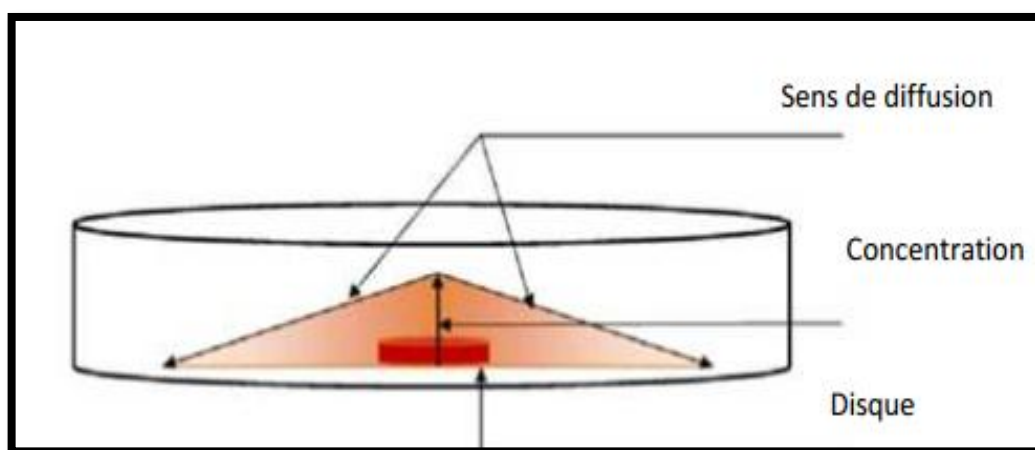


Figure N° 16 : Schématisation du principe de méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (ALLANE, 2009)

II.2.5.2.Méthode de diffusion en puits

Proposé par Cooper et Woodman en 1946, reprise par Shroder et Messing (1949), elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition clair et facilement mesurable à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'extrait de concentration connu (HELLAL, 2011).

II.2.5.3. Méthode de micro-atmosphères

Le protocole des microatmosphères est techniquement proche de celui des aromagrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri (PIBIRI, 2006).

II.2.5.4. Méthode de dilutions en bouillon et en gélose

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/ml ou mg/litre) (PIBIRI, 2006).

CHAPITRE III

Les pesticides

Chapitre III les pesticides

III.1. Définition

Le mot pesticide composé de deux parties: le suffixe « cide » qui a pour origine le verbe latin «caeder» qui signifie « tuer ». On lui a adjoint la racine anglaise « Pest » qui signifie animal ou plantes nuisibles à la culture (FOURNIER et al., 2002),. Les pesticides sont des substances ou préparations permettant de lutter contre les ennemis des cultures et des produits récoltés. Leur composition élémentaire et leur structure chimique très variées sont à la base de propriétés physico-chimiques et biologiques très diverses. (AMADOU, 2013). Il existe, parallèlement, de nombreuses autres appellations des pesticides telles que produits phytosanitaires, produits agro-pharmaceutiques, produits antiparasitaires, les produits phytopharmaceutique, ou encore produits agri sanitaire (MORGAN., 2001).

III.2. Classification des pesticides

III.2.1. Le premier système de classification

Tient compte la nature chimique, la substance active qui compose majoritairement les produits phytosanitaires. Selon (CALVET *et al.*, 2005), celle-ci est donnée par sa composition élémentaire, sa composition fonctionnelle et par sa structure c'est-à-dire par l'arrangement dans l'espace des atomes qui constituent la molécule. Les principaux groupes chimiques sont cités dans le tableau au-dessous.

III.2.2. Le deuxième système de classification

Repose sur le type de parasites à contrôler il existe principalement trois grandes catégories de pesticides selon la nature des cibles visées : les herbicides, les fongicides et les insecticides (**Tableau N° 09**).

Tableau N° 9: Système de classification des produits phytosanitaires (El Mrabet, 2008).

Deuxième système de classification		Premier système de classification
En fonction de la cible	Spectre d'action	En fonction de la nature chimique de la substance active
Herbicides	Les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance.	

Fongicides	Les champignons ou encore les bactéries responsables des phytomaladies.	• Organochlorés • Organophosphorés • Les carbamates • Les pyréthrynoïdes • Les triazines • Les urées-substituées
Insecticides	Protection des plantes contre les insectes	
Acaricide	Acariens.	
Némantocides	Contre les vers du groupe Nématodes.	
Rodenticides	Contre les rongeurs	
Molluscicides	Contre les limaces et les escargots	
Taupicides	Contre les taupes	
Corvicides et corvifuges	Contre les corbeaux et les autres oiseaux, ravageurs des cultures.	

III.3. Composition des pesticides

Un pesticide comprend une ou des substances actives (ou matières actives) et des matières additives. Les substances actives ne sont pas utilisées telles quelles mais elles sont formulées. Selon (FOURNIER et al., 2002), la formulation des pesticides vise à assurer une efficacité optimale à la substance active et à en faciliter l'application pour l'agriculture. Le produit commercial est donc un mélange de plusieurs composants il contient la substance active associée à divers formulant :

- les diluants (solvants, charges).
- les additifs (matière colorante ou odorante).
- les adjuvants (produits destinés à améliorer la performance de la substance active) qui peuvent eux-mêmes présenter une certaine toxicité pour la plante traitée et l'utilisateur (FOURNIER et al., 2002).

III.4. Mode d'action des pesticides

III.4.1. Les herbicides

Peuvent agir sur les adventices se trouvant en concurrence avec une culture donnée. Suivant leur dose et leur période d'utilisation, ces composés peuvent être sélectifs ou non sélectifs en possédant différents modes d'actions sur les plantes, ils peuvent être :

- Perturbation de la photosynthèse (les triazines) et la division cellulaire (les carbamates) et inhibition de la synthèse des caroténoïdes (isoxazolidinones).
- Inhibiteur de la synthèse des lipides (les cyclohexanediones), la synthèse des acides aminés (les acides phosphoriques) et de cellulose (les benzamides) (LOUCHAHI, 2015).

III.4.2. Les insecticides

Les insecticides agissent par contact, par inhalation ou par ingestion des molécules par l'insecte. Ils interviennent en éliminant ou empêchant la reproduction des insectes avec différentes manières : (LOUCHAHI, 2015).

- Les insecticides agissant sur la respiration cellulaire (phenoxypyrazole....).
- Les insecticides de type régulateurs de croissance (thiadiazines...).
- Les insecticides agissants sur les systèmes nerveux (Organophosphorés).

III.4.3. Les fongicides

Ils peuvent agir différemment sur les plantes comme étant : (LOUCHAHI, 2015).

- Des fongicides affectant les processus respiratoires (dithiocarbamates) ainsi que la division cellulaire (benzimidazoles).
- Inhibiteurs de la biosynthèse des stérols, des acides aminés ou des protéines et le métabolisme des glucides.

III.5. La métribuzine

III.5.1. Définition

Les herbicides de type triazine peuvent être divisés en quatre classes structurales différentes; chlorotriazine, méthylthiotriazines, méthoxytriazines et triazines atypiques ou asymétriques. Le groupe de chlorotriazine comprend; atrazine, simazine, propazine, terbuthylazine et cyanazine. Le groupe méthylthiotriazine comprend l'amétryne, la prométryne, et terbutryne. Le groupe de méthoxytraizine comprendra prometon et secbuméton. Hexazinone et métribuzine ont été choisis pour représenter le groupe de traizine atypique (MCFARLAND *et al.*, 2011).

III.5.2. Propriétés physico-chimiques, utilisations et sources de contamination

La métribuzine (C₈H₁₄N₄O₅) est un herbicide de la famille des triazines, employé en prélevée et en postlevée pour lutter contre les mauvaises herbes qui parasitent diverses

cultures agricoles. Au Canada, on en utilise entre 100 000 et 500 000 kg chaque année.¹ La solubilité de la métribuzine dans l'eau est de 1,2 g/L à 20°C; sa pression de vapeur, à 20°C, est inférieure à $1,3 \times 10^{-3}$ Pa.² Son logarithme du coefficient de partage octanol-eau est de 1,70;³ par conséquent, il est peu probable que cette substance produise une bioaccumulation importante. La dégradation microbienne est la principale voie d'élimination de la métribuzine du sol. La métribuzine serait rapidement détoxifiée par désamination par le champignon du sol *Cunninghamella echinulata*.⁴ Elle est également adsorbée modérément sur les sols à fortes teneurs en argile ou en matières organiques; le degré d'adsorption diminue avec une augmentation du pH.² Le degré de lixiviation de la métribuzine dans la nappe phréatique est fonction inverse de la teneur du sol en matières organiques.² Sa demi-vie dans les sols varie de 2,5 à quatre mois,⁵ et, dans les eaux stagnantes, elle est d'environ sept jours.⁶ (AMADOU, 2013)

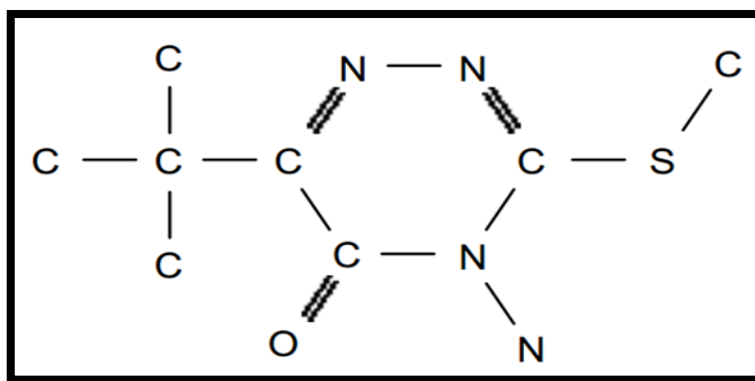


Figure N° 17 : Structure de métribuzine (MORGAN., 2001).

III.5.3. Toxicité

La métribuzine expose des différents effets nocifs (POHANISH., 2012) :

- **L'exposition à court terme:** la métribuzine peut vous affecter quand respiré et en passant par votre peau. L'intoxication aiguë peut causer la respiration et de la somnolence difficile. Expositions élevées peuvent provoquer des maux d'estomac, la fatigue et la dépression du système nerveux central, provoquant une mauvaise coordination, des tremblements et une faiblesse. Humaine Tox = 200,00000 ppb (très faible).
- **L'exposition à long terme:** forte exposition ou autre répétée peut provoquer des modifications des enzymes hépatiques, le goitre, et peut affecter la fonction thyroïdienne.
- **Points d'attaque:** système nerveux central, de la thyroïde, du foie.

III.6. Métabolisme des pesticides

Le terme «métabolisme» décrit les réactions qui permettent à un système pour enlever une substance étrangère, ou xénobiotique (AÏSSAOUI, 2013)., ou est un mécanisme important par lequel les organismes à se protéger contre l'effet toxique des xénobiotiques (produits chimiques étrangers) dans leur approvisionnement alimentaire. Les différents organes, notamment le foie, peuvent être impliquées, en fonction de la substance chimique. L'énergie utilisée pour métaboliser les pesticides et autres produits chimiques xénobiotiques (étrangers) n'est pas disponible pour d'autres fonctions du corps et peut sérieusement nuire à la croissance et la reproduction de l'organisme (ALPAS et al., 2011).

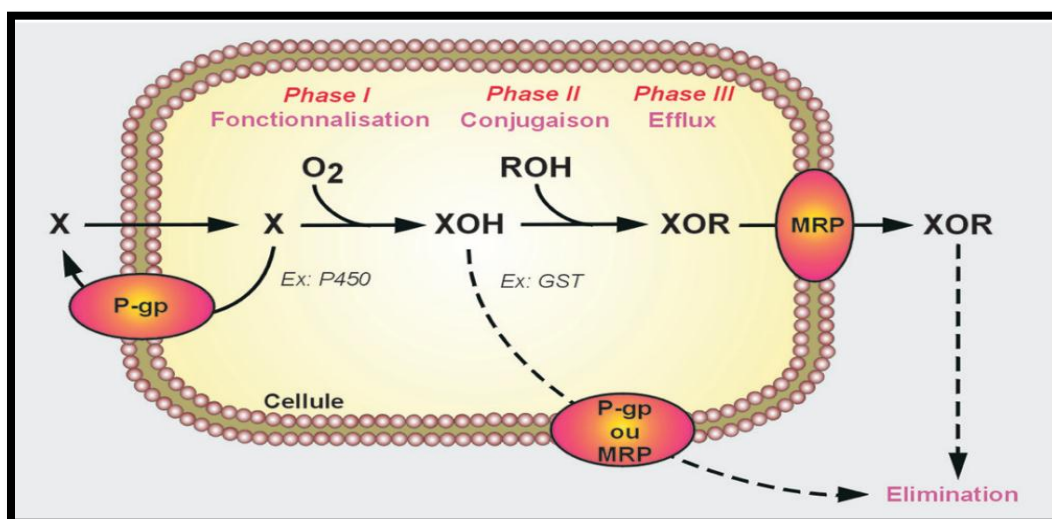


Figure N° 18 : Processus de détoxification et de biotransformation des xénobiotiques (INSERM., 2013).

Comme tous les xénobiotiques, les pesticides peuvent être absorbés par voie cutanée, orale ou pulmonaire et distribués dans les tissus de l'organisme de manière active ou passive. L'absorption dépend de la barrière à franchir (peau, poumon, paroi intestinale...), des propriétés physicochimiques des molécules. Les petites molécules peuvent franchir une ou plusieurs barrières de manière passive (figure 18). Les substances lipophiles (hydrophobes) semblent capables de traverser plus facilement les membranes cellulaires dont les constituants sont principalement des phospholipides alors que les substances ionisées (hydrophiles) seront arrêtées sauf au niveau des pores ou des transporteurs membranaires pour les plus petites molécules. La membrane des cellules constitue ainsi une barrière efficace protégeant les cellules contre des xénobiotiques hydrosolubles. Après pénétration dans une cellule, le xénobiotique est rapidement pris en charge par des transporteurs membranaires ou pompes

d'efflux qui vont l'exporter à l'extérieur de la cellule. Il peut également être transformé par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques au cours de plusieurs réactions afin de faciliter son excrétion. Les enzymes du métabolisme des xénobiotiques représentent un système complexe essentiel à la protection de l'organisme. La première étape (phase I) ou phase de fonctionnalisation met souvent en jeu des cytochromes P450 (CYPs). Elle consiste en une activation métabolique qui conduit à la formation d'intermédiaires électrophiles hautement réactifs qui seront alors soumis aux enzymes de la phase II (enzymes de conjugaison ou transférases comme la glutathion-S- ou glucuro- transférase), capables de greffer des résidus hydrophiles (comme le glutathion). Les métabolites ainsi transformés sont excrétés de la cellule par des transporteurs membranaires d'efflux dits de phase III (INSERM., 2013).

III.7. Effets des pesticides sur les humains

Les pesticides peuvent se retrouver dans l'organisme humain directement par ingestion, inhalation ou pénétration cutanée ou indirectement par l'intermédiaire des sols, des poussières, d'eau ou d'aliments contaminés (WHO, 1992). Les résidus de pesticides peuvent entraîner des désagréments pour la santé comme : des troubles de la reproduction, le développement du système nerveux. Une toxicité neurologique aigue, l'affaiblissement du développement neurologique chronique, un dysfonctionnement des systèmes immunitaires de la reproduction et endocrinien ont également été rapportés (AISSAOUI, 2013). L'exposition aux pesticides peut aussi être la cause du développement de cancer (HERCEGOVA et al., 2007). Certains pesticides sont aussi considérés comme étant des perturbateurs endocriniens, c'est-à-dire qu'ils interfèrent avec les hormones en stimulant leur action par ailleurs, il a été montré que chez les agriculteurs, les cancers de la prostate et de l'estomac étaient plus fréquents (MEYER et al., 2003).

DEUXIEME PARTIE

Études expérimentales

CHAPITRE I

Matériel et Méthodes

Chapitre I Matériels et Méthodes

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique qui fait partie de faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued.

I.1. Principe d'étude

L'objectif de mon étude est d'estimer la teneur de cette espèce végétale (*Astragalus gombo*) en composés actifs essentiels tel que les polyphénols et les flavonoïdes obtenus dans les différentes parties (feuilles et racines) et évaluée leur pouvoir biologique (l'activité antioxydante (in vivo et in vitro) et l'activité antibactérienne).

I.2. Matériels utilisés

I.2.1. Matériels biologiques

I.2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est une espèce médicinale appartenant à la famille des Fabacées correspond la partie aérienne composée les feuilles et partie sous aérienne composée les racines de l'espèce *Astragalus gombo*.

La récolte de cette plante est effectuée au stade floraison le 11/02/ 2018 au niveau de la localité de Hassi Khalifa (wilaya d'El Oued).



Figure N° 19 : *Astragalus gombo* (photo originale,2018)

I.2.1.1.1. Caractères généraux de site de prélèvement

Les échantillons de la plante ont été prélevés à partir de la région de Hassi-khalifa qui est située au Nord de la ville d'El Oued à 30 Km, elle s'étend sur une superficie de 1112 Km² (33° 35' N. et 7° 02' E.), elle est caractérisée par un climat saharien, avec la diminution de la pluie et l'alternation de la température entre le jour et la nuit. Les vents qui caractérisent cette région sont les vents chauds (chihili) surtout à la saison d'été et les vents de sable à la saison du printemps (GUEZOUL *et al*, 2013).

La commune de Hassi Khalifa est délimitée administrativement comme suit:

- Au nord par la commune Ben Ghecha.
- Au sud par la commune Debila et Triffaoui .
- A l'est la commune Taleb Elarbi .
- A l'ouest la commune Elmagren (GUEZOUL *et al*, 2013).

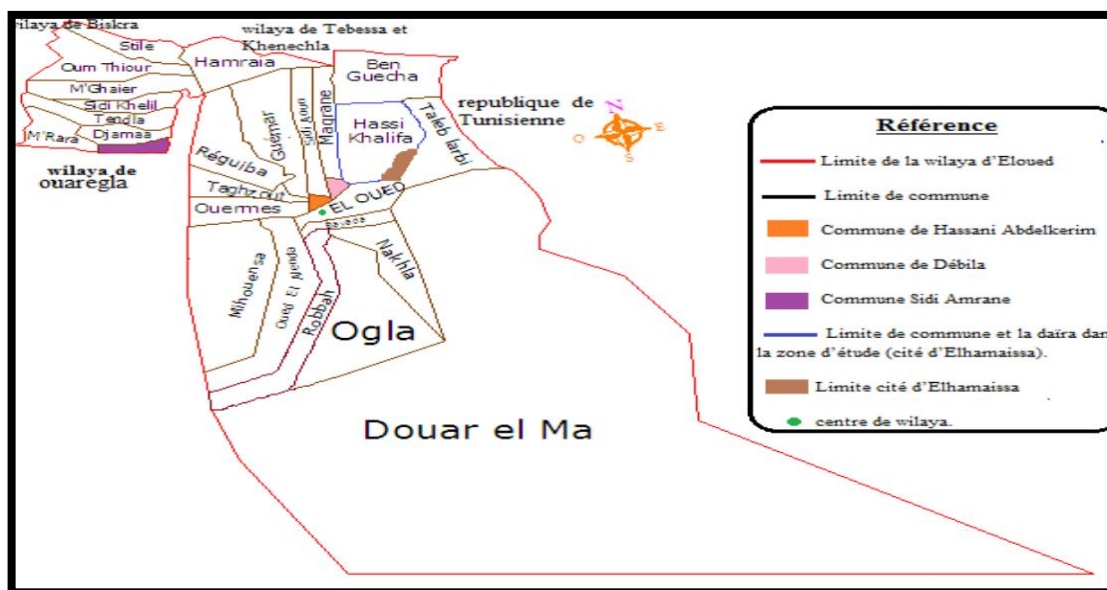


Figure N° 20 : Localisation géographique de la zone d'étude (KHOLLADI, 2005)

I.2.1.2. Matériel vivant

I.2.1.2.1. Microorganismes utilisées

Les quatre souches bactériennes utilisées dans ce travail sont de référence de type ATCC et disponibles au sein de notre laboratoire de recherche.

Tableau N° 10 : Quelques propriétés des souches testées.

Nom de souche et Code référence	Quelques propriétés des souches testées
Les bactéries Gram négative	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. <i>Escherichia coli</i> est habituellement une bactérie commensale, elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies.(OLIVER ET JAPER, 1997)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C'est l'espèce reconnu comme un pathogène nosocomial majeur chez les patients immunocompromis ou affaiblis, ainsi que dans le cadre de la mucoviscidose. <i>P. aeruginosa</i> toujours été considéré comme une cible difficile en chimiothérapie anti-infectieuse (OLIVER ET JAPER, 1997).
<i>Salmonella enterica</i> ssp <i>Arizonae</i> CIP 81-3	Sont des bacilles aigus, gram négatifs, aérobies et en forme de tige de la famille bactérienne <i>Enterobacteriaceae</i> . Le genre <i>salmonelle</i> est obligatoirement pathogène et est divisée en cinq sous-genres qui comprennent environ 2000 sérovars. <i>Les salmonelles</i> peuvent infecter une grande variété de mammifères, d'oiseaux, de reptiles et d'autres animaux (WIGLEY, 2004).
La bactérie Gram positif	
<i>Listeria innocua</i> CLIP 74915	Ces espèces présentent sous la forme de petits bacilles de manière isolée ou groupés en V ou en L ou en palissades ou parfois en courtes chaînes ou petits amas. Ce sont des bactéries à gram positif, non acido-résistantes, non capsulées, non sporulées, aéro-anaérobies facultatives.(OLIVER et JAPER, 1997).

I.2.1.2.2. Animale utilisé

Afin d'éviter la variabilité entre les deux sexes, j'ai utilisé que des rattes femelles de souche *Wistar albinos* (Figure 19) fournies par les laboratoires de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont divisés en cinq lots dans des cages en plastique (Cinq rattes par cage : $n=5$) munies d'un porte étiquette où le nom du lot est mentionné selon le traitement et hébergées au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'université Echahid Hamma Lakhdar. Les rattes sont soumis à une période d'adaptation (15 jours) où ils ont un accès libre à l'eau et à l'aliment sous des conditions de lumière et de température contrôlées (12 heures d'éclairage / Température de 20- 25°C).

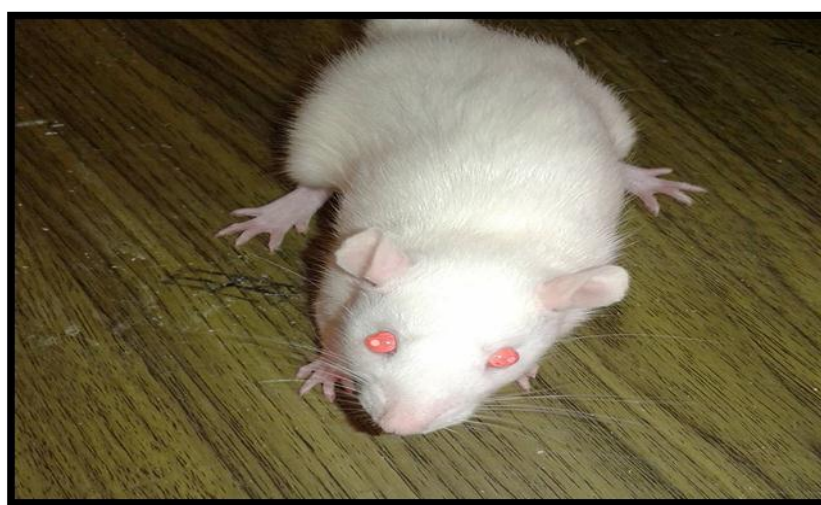


Figure N° 21 : Ratte blanche de la souche *Wistar albinos* (photo originale)

I.2.2. Matériels de laboratoire

- Autoclave.
- Plaque chauffante.
- Papier Filtre.
- Bec Benzène.
- Ans de platine.
- Ecouvillons stériles.
- Disques vides stériles.
- Pince stérilisée.
- Réfrigérateur.
- Boîtes de pétrie.
- Bain de glace.
- Verreries: Entonnoir, Erlenmeyers, Béchers, Eprouvettes graduées, Tubes à essais, Pipetteet micropipette (de 1000µl, de 100µl et de 10µl).
- Spectrophotométrie.
- Etuve
- Rotavapeur de type Buchi R-200.
- Balance de précision.
- Agitateur.
- Mortier.

- Vortex.
- Bain marie.
- portoir pour tubes spéciaux de centrifugation.

I.2.3. Produits chimiques

- Chlorure de sodium (NaCl).
- Phosphate de potassium. monobasique(KH_2PO_4).
- Acide trichloroacétique (TCA).
- Acide thiobarbiturique (TBA).
- Butylhydroxytoluène (BHT).
- Acide éthylène Diamine Tétracétique(EDTA).
- Bleu de Coomassie.
- Glutathion réduite (GSH).
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).
- Acide salicylique.
- Acide salicylique.
- Eau distillée.
- Métribuzine.
- Trichloride d'aluminium (AlCl_3) 2%;
- magnésium .
- Folin Ciocalteau .
- 2,2'-diphényle-1- picryl hydrazyl (DPPH) .
- acide ascorbique .
- acide gallique.
- Vanilline (99,5%) .
- diméthyle sulfoxyde (DMSO) ;
- acide phosphorique (H_3PO_4) .
- Trishydroxyméthylaminométhane (Tris).
- Ethanol.
- Méthanol.

I.3. Méthodes

I.3. 1 .Les méthodes utilisés pour matière végétaux

I.3.1.1 Séchage

Le séchage consiste à extraire l'eau contenue dans la plante. Généralement, le séchage se fait par évaporation de l'eau de la plante dans l'air. Le séchage fait intervenir à la fois des transferts de matière (eau), et aussi des transfert d'énergie (chaleur). Ces échanges ont lieu du fait des écarts de température et d'humidité à la périphérie du produit (BERT, 2008 ; CHALAL et *al*, 2008) le but du séchage est de déshydrater un produit de façon à abaisser sa teneur en eau en dessous d'une valeur permettant sa conservation à température ambiante (AGBOSSOU et *al*, 2013).

Séchage à l'étuve 40°C

Un échantillon est séché par circulation d'air chaud. Pour intensifier les conditions de séchage ou ménager les substances sensibles à la chaleur, le séchage s'effectue souvent sous vide. le taux d'humidité est obtenu par pesée différentielle avant et après le séchage (TOLEDO, 2002). Les matières végétales médicinales (feuilles et racines) doivent être coupé à petites morceaux et couvrir bien dans un papier d'aluminium, et on met ce papier dans l'étuve à 40 °C.

I.3.1.2. Préparation des extraits aqueux

I.3.1.2.1. Macération

10 g de la plante sèche *Astragales gombo* (feuilles et racines) est broyé et mélangé avec 100 ml d'eau distillée puis macérés à une température ambiante et dans l'obscurité. Après 24h, la préparation est filtrée 3 fois avec du papier Wattman, ensuite évaporés à 60°C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R- 200 (MATKOWSKI et PIOTROWCKA, 2006). Puis séché à l'étuve à une température ne dépasse pas 40°C, et conservé jusqu'à son utilisation (BABA, 1999).

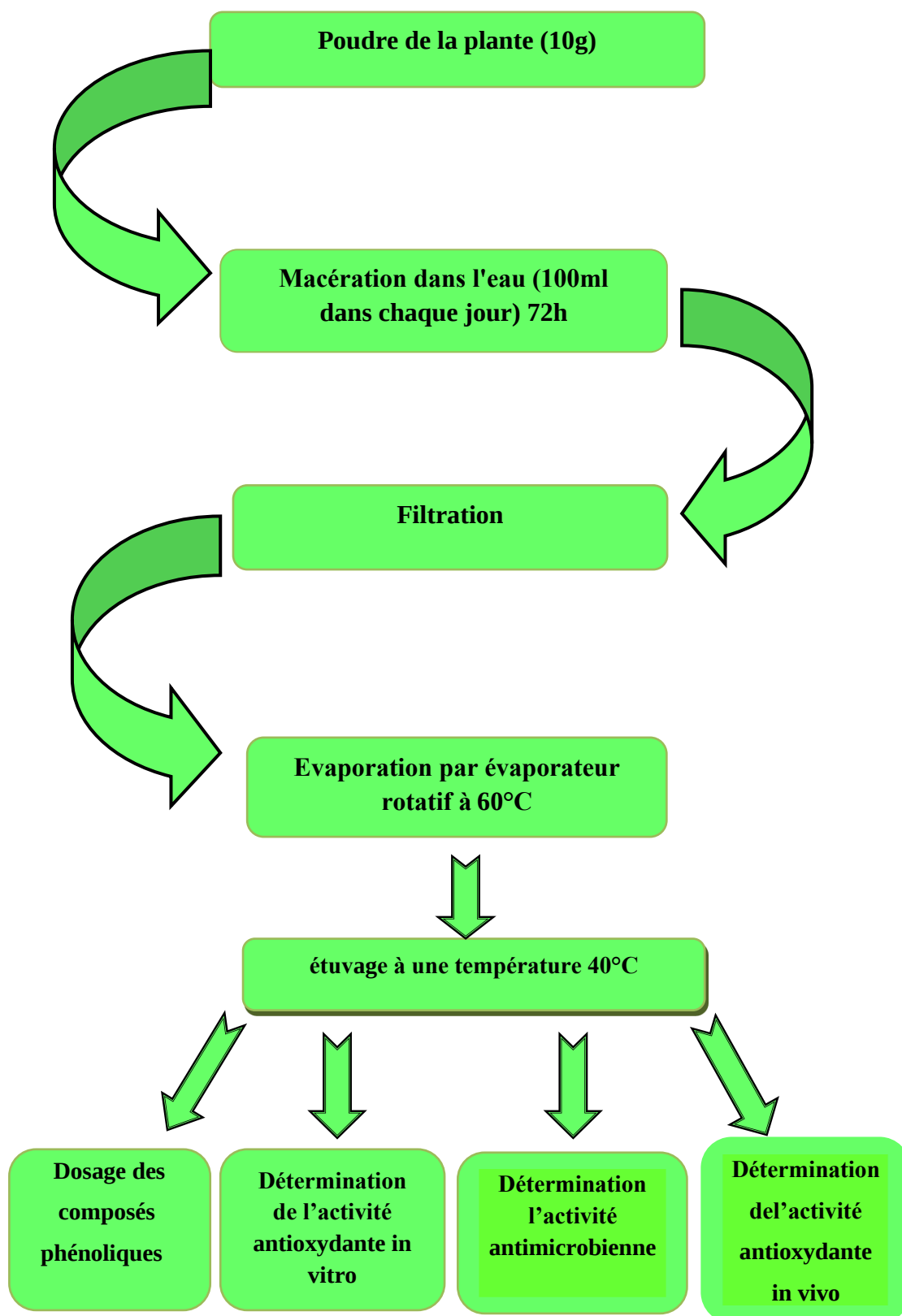


Figure N° 22: Protocole de préparation de l'extrait aqueux

I.3.1.3. Calcul du rendement des extraits

Le rendement des extraits bruts aqueux, macérât isolés ont été quantifié selon la formule :

$$R \% = \text{PEB}/\text{PMV} \times 100$$

- **R** : rendement
- **PEB** : poids de l'extrait brut (g).
- **PMV**: poids de matière végétale (g).

I.3.1.4. Analyses phytochimiques

Les tests photochimiques ont été réalisé sur les deux extraits préparés de la plante (feuilles et racines) macérât, ce test basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur les extraits (HARBORNE, 1998) .

A. Test des polyphénols

2 ml de chaque extrait est ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique(FeCl_3) à 2%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée (BIDIE et al, 2011).

B. Test des flavonoïdes

Pour mettre en évidence les flavonoïdes, la réaction dite "la cyanidine" ou (réaction de Shibata) a été utilisée 2 ml de chaque extrait a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique (4ml EtOH + 1ml HCl concentré), en ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose-orangée ou violacée est apparue (BEKRO et al, 2007).

C. Test des Tannins

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml d'une solution aqueuse du chlorure ferrique (FeCl_3) à 2%, la présence des tanins est indiquée par une coloration bleu-noirâtre ou verte (KOFFI et al, 2009).

D. Test des saponines

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml de chacun des extraits aqueux dans un tube à essai. le tube est agité pendant 15 secondes (s) puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (BIDIE et al, 2011).

E. Test des sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits végétaux par le réactif de Fehling. Pour 5 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (BEKRO et *al*, 2007).

F. Test des alcaloïdes

1ml d'extrait végétal aqueux sont additionné d'une goutte de HCl concentré, la solution obtenue est ajoutée 2 gouttes de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration blanc ou brun-rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes (BAGRE et *al*, 2007).

I.3.1.5. Dosage des composés phénoliques totaux des extraits

I.3.1.5.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (GHOUINI, LAMINI, 2015). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption environs 725- 750 nm (BONNAILLIE et *al*, 2012).

➤ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits phénoliques a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. A 200 µl de chaque solution d'extrait est ajoutée 1ml de réactif de Folin Ciocalteu (1/10) puis 0,8 ml d'une solution de bicarbonate de sodium (7,5%) a été ajoutée. Après 30 min, le contenu phénolique a été mesuré à 725nm avec UV-Vis spectrophotomètre (VUORELA, 2005).

La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (50 -500µg/ml), dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (mg EAG/g MS). Toutes les mesures sont répétées 3 fois (BONNAILLIE et *al*, 2012).

I.3.1.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

Les flavonoïdes des extraits ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (BAHORUN *et al*, 1996), 1 ml de chaque échantillon (préparés dans l'eau distillée ou dans le méthanol pour avoir des concentrations convenables) a été ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2 % dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait a été calculée à partir des courbes d'étalonnage établies avec la quercétine (0-50 $\mu\text{g/ml}$), a été préparée dans le méthanol et exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg de Querc / g MS). (MEZITI, 2009).

I.3.1.6. Evaluation l'activité anti-oxydante In vitro de les extraits d' *Astragales gombo*

Le test proposé pour la mise en évidence du pouvoir antioxydant in vitro de mon extraits ont été réalisé par de test DPPH.

➤ Piégeage du radical libre DPPH

Pour étudier l'activité antioxydante des extraits d' *Astragale Gombo* in vitro, j' ai utilisé la méthode de DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre, selon le protocole décrit par (TAKAO *et al*, 1994) ; LICINA *et al*, 2013). L'utilisation le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune en présence decapteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (CUENDET *et al*, 1997). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

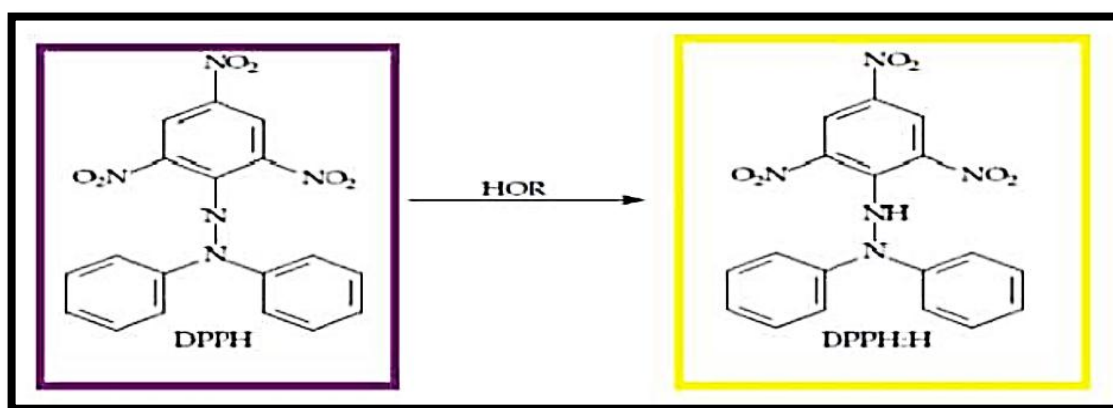


Figure N° 23: Forme libre et réduite de DPPH (SORGE, 2004).

➤ Mode opératoire

La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu. 200 µl de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 800 µl de DPPH. Des solutions d'antioxydant de référence ou acide ascorbique sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Le témoin négatif est constitué uniquement de DPPH et du méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min jusqu'à décoloration. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm (CUENDET *et al*, 1997).

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$I \% \text{ DPPH radical scavenging} = [(A_0 - A_1)/A_0] * 100$$

Où:

- **I %**: pourcentage d'inhibition
- **A0**: absorbance du contrôle.
- **A1**: absorbance de l'échantillon (Mohammedi ,2013).

➤ Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀%

L'IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, ils sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés Les résultats sont exprimés en mg/ml (TORRES *et al.*, 2006). La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC₅₀ est petit (POPOVICI *et al*, 2009) et comparée avec celle du acide ascorbique (CUENDET *et al*, 1997).

I.3.2. Méthodes Utilisé pour Matière vivo

I.3.2.1. Etude de l'effet antibactérienne de extrait d'*Astragalus gombo* partie arienne (les feuilles) sur les bactéries

Les méthodes utilisées pour étudier l'interaction entre le extrait aqueux des feuilles d'*Astragales gombo* et les espèces microbiennes sont basées sur la diffusion de cette extrait dans de milieux de culture pour inhiber la croissance d'un microorganisme pathogène.

L'activité antimicrobienne été déterminée par la méthode de diffusion des disques cité par (MEDDOUR *et al* , 2013). On a travaillé sur 4 espèces pathogènes qui sont: (*Salmonella enterica ssp . Arizonae* CIP 81-3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli*

ATCC 25922 gram négatif) et(*Listeria innocua* CLIP 74915gram positif). Ces espèces sont procurées par le laboratoire de biologie d'université Echahid hamma lakhdar d'El Oued.

I.3.2.1.1. Repiquage des souches

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées (ATHAMENA *et al*, 2010).

I.3.2.1.2. Préparation de l'inoculum

Des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). Puis on agite au vortex (KARATAS *et al*, 2010 ; SARAC *et al*, 2007; RAHAL *et al*, 2005).

I.3.2.1.3. Test de l'aromatogramme (méthode des disques)

Pour réaliser le test de l'aromatogramme, J'ai réalisé par les étapes suivantes :

- ↳ Une suspension de chaque germe est préparée dans l'eau physiologique stérile et ajustée.
- ↳ Chaque souche estensemencée par inondation sur des boîtes de pétri contenant le milieu Muller – Hinton. La surface des milieux est ensuite séchée sous hotte à flux laminaire en laissant le couvercle des boîtes de pétri légèrement ouvert.
- ↳ Dépôt de disques (papier Whatman stériles de 0.6 cm de diamètre) préalablement imprégnés des concentrations (C1= 5mg/ml, C2= 10mg/ml , C3= 15mg/ml , C4= 20 mg/ml) d'extrait aqueux des feuilles d'*Astragales gombo* à la surface du milieu Muller–Hinton agar (MHA) contenant une souche donnée (PIBIRI, 2006).
- ↳ Des disques de diméthyle sulfoxyde (DMSO) et disque antibiotique (Gentamicine (50µg/disc) sont déposés à la surface du milieu géloséensemencé avec les différentes souches bactériennes pour préparer les témoins.
- ↳ Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures(FRANZIN *et al*, 2000).



Figure N° 24: test d'antibiogramme (photo originale, 2018)

I.3.2.1.4. Lecture

Après incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve, les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition (YEN TAN *et al*, 2006).

- L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations autour des disques. et comparée avec celle de DMSO comme contrôle négatif et d'un antibiotique comme contrôle positif.

I.3.2.2. Etude de l'effet antioxydant *In vivo* de les extraits aqueux d'*Astragalus gombo* (feuilles et racines) sur les animaux (rattes femelles de souche WISTAR ALBINOS)

I.3.2.2.1. Préparation de la solution du pesticide

Le métribuzine a été solubilisé dans l'eau potable à raison de 30mg/Kg de poids corporel (OUAFA ET SABRINE, 2017) durant 30 jours.

I.3.2.2.2. Préparation des solutions des extraits végétaux

Les concentrations des extraits de l'espèce végétale *Astragalus gombo* (feuilles et racines) macérât sont préparés extemporanément, les extraits sont dilués dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0,9%) en fonction de la concentration désirée. La concentration de l'extrait est calculée en fonction du poids de l'animal.

I.3.2.2.3. Traitement des animaux

les rattes divisé en cinq lots de cinq individus (n=5), ils ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, puis ils ont été traités pendant 45 jours. Les 30 premiers jours, les rattes ont reçu seulement le pesticide, les 15 jours suivants ils reçoivent les doses des extraits bruts aqueux d'*Astragalus gombo* et le médicament. La dose du pesticide (métribuzine) est diluée dans de l'eau distillée, puis mis dans des biberons, les extraits aqueux d'*Astragalus gombo* injecté par voie intra-péritonéal (400 mg/ml par le racine et 300 mg/ml par les feuilles) a été solubilisé dans l'eau physiologique est aux rattes des lots 3 et 4, et finalement les rattes des lots 5 traitée par le médicament (vitamine E 200 mg/ml) a été solubilisé dans huile de paraffine.



Figure N° 25: Le mode de traitement des animaux (photo originale)

Le protocole expérimental est résumé comme suit :

- **Lot 1 (T) :** rattes saines (groupe témoin)
- **Lot 2 (TP) :** rattes à l'exposition au métribuzine durant 45 jours.
- **Lot 3 (R) :** rattes à l'exposition au métribuzine durant 30 jours et traitées par dose 400 mg/kg les extraits aqueux d'*Astragalus gombo* (racines 400mg/Kg) pendant 15 jours.
- **Lot 4 (F) :** rattes à l'exposition au métribuzine durant 30 jours et traitées par dose 300 mg/kg les extraits aqueux d'*Astragalus gombo* (feuilles 300mg/kg) pendant 15 jours.
- **Lot 5 (M) :** rattes à l'exposition au métribuzine durant 30 jours et traitées par les médicaments vitamine E dose 200 mg/ml pendant 15 jours.

I.3.2.2.4. Sacrifice des rattes et prélèvement du sang et des organes

Les rattes sont anesthésiées par chloroforme (94%) après 24h de la dernière administration des extraits de la plante et le médicaments (vitamine E) (c'est-à-dire les rattes sont jeûnes) et sont sacrifiées. Le prélèvement sanguin s'effectue au moment de sacrifice dans des tubes secs pour les analyses biochimiques, la glycémie est mesurée par le glucomètre pour chaque ratte. Le sang est recueilli dans des tubes secs qui seront centrifugés à 3000 tr/min pendant 5 min. Le sérum est récupéré puis conservé au froid (4 °C) Pendant 5 heures en vue des analyses biochimiques.

Après la dissection de l'abdomen, les foies, les reins et les poumons sont attentivement prélevés, et bien lavés par une solution physiologique NaCl 0.09 % (0.9g de NaCl dissout dans 100 ml d'eau), ensuite pesés.

Les foies divisés en deux parties, la première est fixée dans une solution de formol à 10% pour la réalisation des coupes histologiques et la deuxième est conservée avec les autres organes (les reins et les poumons) est utilisé pour la préparation de l'homogénat pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (protéines tissulaire, glutathion réduit, catalase et MDA).

I.3.2.2.5. Dosage des paramètres biochimiques et enzymes sériques

Les paramètres analysés sont : Glutamate Oxalo acétate-Transaminase (TGO), (TGP), Transaminase glutamique pyruvique. gamma-glutamyl transférase (γ -GT), Phosphatase Alcaline (PAL), urée, créatinine, les tests sont effectués dans le laboratoire de l'hôpital Al-Bachir Ben –Nasser EL-oued et laboratoire ALMAJD. Les dosages sont réalisés grâce à un analyseur clinique automatisé. Les mesures sont effectuées à une longueur d'onde caractéristique pour chaque dosage.

I.3.2.2.6. Dosage des paramètres du stress oxydatif

A. Préparation de l'homogénats tissulaire

Un gramme de tissu (foie, reins, et poumon) de chaque ratte des différents groupes étudiés, a été broyée avec 9 ml de solution tampon appelée Tris-buffered saline (TBS), composée de, Tris 50 m M, NaCl 150 m M avec un pH 7.4, la suspension cellulaire est centrifugée à 3000 trs/min pendant 15 minutes. Puis le surnageant obtenu est conservés dans la glace à (- 20°C). Cette surnageant est utilisé pour les dosages des paramètres du stress oxydatif.

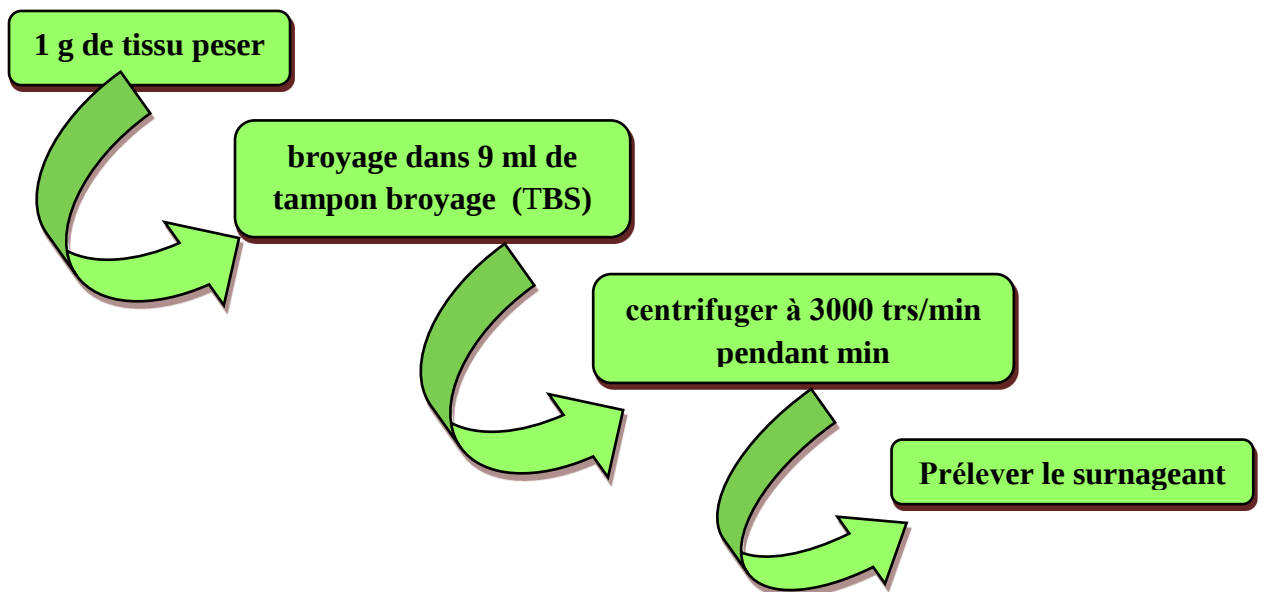


Figure N° 26: Protocole de préparation de l'homogénats tissulaire

B. Dosage des protéines tissulaire

Il est nécessaire de connaître la concentration totale de l'ensemble des protéines contenues dans les tissus. Le dosage des protéines se fait par la méthode de BRADFORD (1976) qui utilise la fixation du Bleu de Coomassie sur les protéines et en particulier sur les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité, correspond à la concentration des protéines.

➤ **Mode opératoire**

- ❖ Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- ❖ Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- ❖ Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- ❖ Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.
- ❖ La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.
- ❖ La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions (Annexe).

C. Méthode de dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires**➤ Principe**

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm (YAGI, 1976).

➤ Réactif

Acide trichloroacétique (TCA) 20% P/V; Acide thiobarbiturique (TBA) 0,375% P/V; Butylhydroxytoluène (BHT) 0,01% P/V ; Chlorure d'hydrogène (HCl) 1 N. 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0,01g de BHT, 25 ml de HCl 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml et le volume complété à l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

➤ Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai à vis en verre, 300 µl d'échantillon, 1200 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ Expression des résultats

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol/l.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon} / 1,53 \times 10^5) / \text{mg de p}$$

D. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaires**➤ Principe**

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de (WEKBEKER ET CORY, 1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5- mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) existant dans le GSH.

➤ **Mode opératoire**

- ❖ Prendre 0.8 ml de l' homogène et 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25%.
- ❖ Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 trs/min pendant 5 min.
- ❖ Prélever 0.5ml de surnagent.
- ❖ Ajouter 1ml de solution tampon tris (tris 0.4mol, NaCl 0.02mol, pH 9,6)
- ❖ Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01M (dissous dans le méthanol absolu).
- ❖ Laisser le mélange 5min à température de chambre puis lire l'absorbance avec spectrophotomètre d'absorption molaire à 412 nm contre le blanc (eau distillé).

➤ **Méthode de calcul**

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$(GSH)(nM /mg \text{ de pro}) = (D.O \times 1 \times 1.525) / (13133 \times 0.8 \times 0.5 \times mg \text{ de protéine})$$

- **13133**: Constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.
- **DO**: La lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.
- **1.525 ml**: Volume total de mélange.
- **0.5 ml**: Volume de surnagent.
- **1**: Volume de mélange de protéine.
- **0.8 ml**: Volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.
- **GSH**: Concentration de glutathion.
- **d** : facteur de dilution.

E. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

➤ **Principe**

L'activité enzymatique du catalase est déterminée dans les tissus cellulaires selon la méthode de (FLOHE et al, 1984). Le dosage de l'activité enzymatique du catalase est basé sur la diminution de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du superoxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la catalase.

➤ **Mode opératoire**

Dans des tubes à essais en mélanger 1ml de tampon phosphate (KH₂ PO₄, 0.1 M, pH 7.2), 0.975 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (homogénat). L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes (AEBI, 1984).

➤ **Expression des résultats**

L'activité enzymatique est calculée en termes d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine), selon la formule :

$$UI/g = (2.3033/T) \times (\log A1/A2) / g \text{ de protéine.}$$

- **A1** : absorbance à la première minute.
- **A2** : absorbance à la deuxième minute.
- **T** : intervalle de temps en minute.

I.3.2.2.7. Préparation des échantillons pour l'étude histologique

Après la fixation des échantillons (fragment des foies) dans le formol à 10% permettant l'immobilisation et la fixation des structures et constituants cellulaires, puis mise de ces échantillons tissulaires dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides ,puis se fait l'analyse histologique a été réalisée au niveau d'une clinique privée de Touggourt. La technique utilisée est celle décrite par (HOULOT, 1984) qui comporte les étapes suivantes:

➤ **Déshydratation**

Déshydratation des échantillons à l'aide d'un appareil automatique qui permet le passage automatiques et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 95% et 100%).

➤ **Inclusion et réalisation**

Les tissus sont alors plongés dans 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 (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.

➤ **Coloration**

Pour la coloration, la technique utilisée est celle 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 (100ml 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 Déparaffinage et hydratation des lames à l'eau du robinet puis rinçage à l'eau distillée. Puis sont mises dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux). Les lames sont plongées dans l'alcool acide (1 à 2 plongées); ensuite dans un bain d'eau du robinet avec vérification de la différenciation au microscope. Mises dans un bain d'eau ammoniacale, puis 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 (GERARD, 2012).

➤ **Observation au microscope**

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

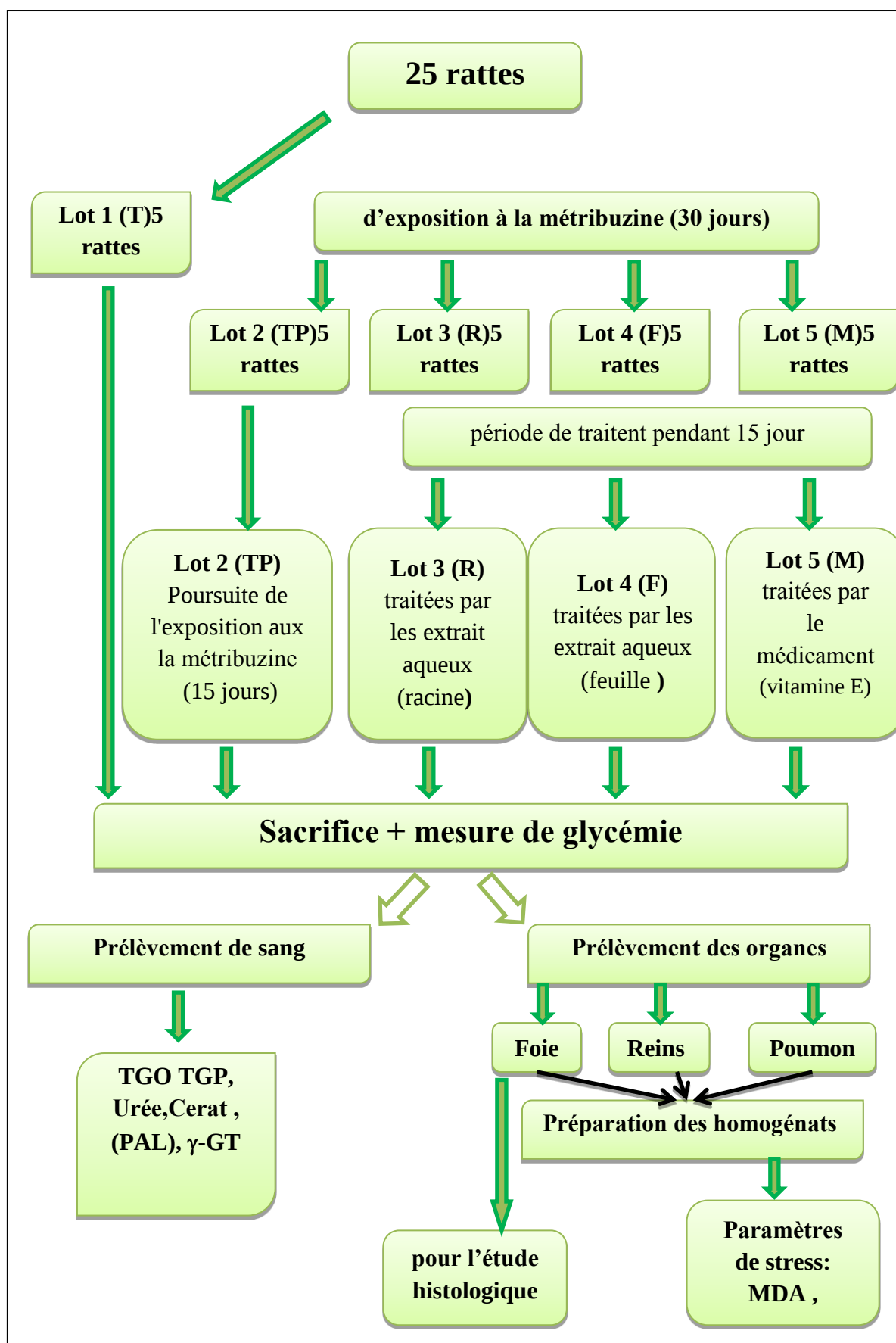


Figure N° 27 : Protocol expérimentale de l'étude

I.3.2.2.8. Méthode d'analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type. L'analyse des données a été effectuée par application du test T de Student, qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes, en utilisant le logiciel MINITAB (Version13Fr) et EXCEL (2007) qui nous ont aidé pour faire les tests et les courbes.

CHAPITRE II

Résultats et discussion

Chapitre II résultats et discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Etudes phytochimiques

II.1.1.1. Rendement des extraits aqueux

L'extrait obtenu après une macération dans l'eau pendant 3 jours successifs, évaporé sous pression réduite et séché, a été pesé pour déterminer son rendement.

Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau (10).

Tableau N° 11: Pourcentage de rendement de l'extrait brut aqueux (feuilles et racines) d'*Astragalus gombo*.

	Poids sec utilise (g)	Poids sec obtenus (g)	Pourcentage d'extrait (%)
Feuilles	10	1.531±0.3	15.31(%)
Racines	10	1.2±0.1	12 (%)

La préparation des extraits bruts aqueux des feuilles et racines a donné un rendement de l'ordre de 15.31 % et 12 % respectivement.

II.1.1.2. Criblage phytochimiques (Secrining chimique)

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles des composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique de l'espèce végétale d'*Astragalus gombo* sont reportés dans le tableau (11).

Tableau N° 12: Résultats des tests phytochimiques d'*Astragalus gombo*

Composée	Remarque	Résultats	
		feuilles	Racines
Alcaloïdes	Apparition d'un précipité blanc	+	+
Tanins	coloration bleu-noirâtre ou verte	+	+
Saponosides	Le hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm	+++	+
Flavonoïdes	Apparition d'une couleur rouge	+++	++
Sucres réducteurs	La formation d'un précipité rouge-brique	+	+
Polyphénols	coloration bleu noirâtre	+++	++

(+) Positif,

(++) Moyennement positif

(+++) fortement positif

A partir des résultats de l'analyse phytochimique, on remarque que les deux extraits obtenus de la plante sont caractérisés par la présence des : alcaloïdes, tanins, sucres réducteurs et la présence fortement flavonoïdes, polyphenols, saponosides.

II.1.1.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

II.1.1.3.1 Dosage des composés polyphénoliques totaux(PPT)

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir des extraits bruts aqueux a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence (l'acide gallique). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique, ayant l'équation: $Y=7.4963x+0.0405$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0.995$. Figure (26)

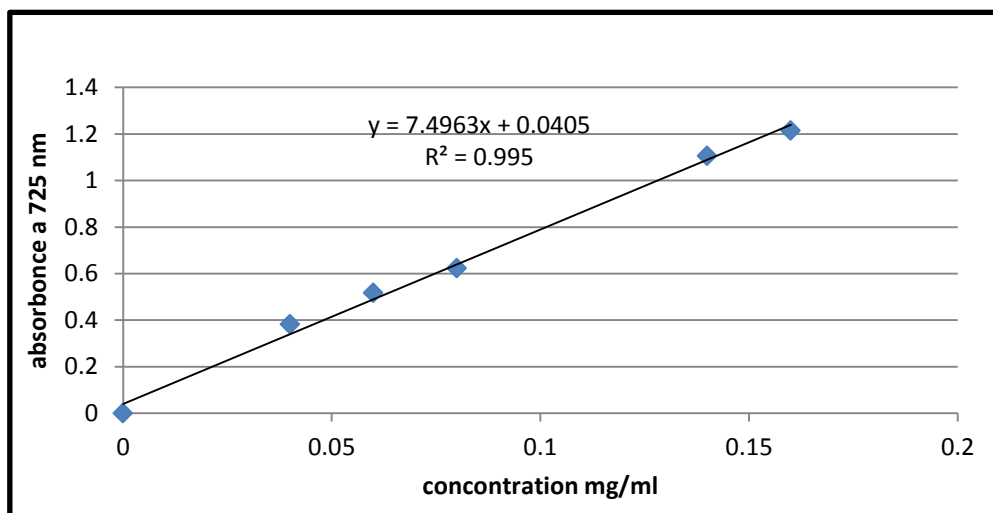


Figure N° 28 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

Tableau N° 13 : Teneurs en polyphénols totaux dans les deux extraits aqueux

Polyphénols (mg d'AG/g MS)	Moyenne $\pm$ S.E.M
Feuilles	65.7 $\pm$ 0.02
Racines	14.49 $\pm$ 0.006

Les résultats du dosage des phénols totaux révèlent que les extraits bruts aqueux (feuilles et racines) d'*Astragalus gombo* contiennent une teneur de l'ordre de 65.7 et 14.49 respectivement (mg éq d'acide gallique /g de matière sèche).

II.1.1.3.2 .Teneurs en flavonoïde total (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de MS). Les taux des flavonoïdes des deux extraits ont été obtenu à partir du courbe d'étalonnage qui suit une équation de type : $y=24.743x+0.0093$ sachant que $R^2 = 0,9934$ figure(27)

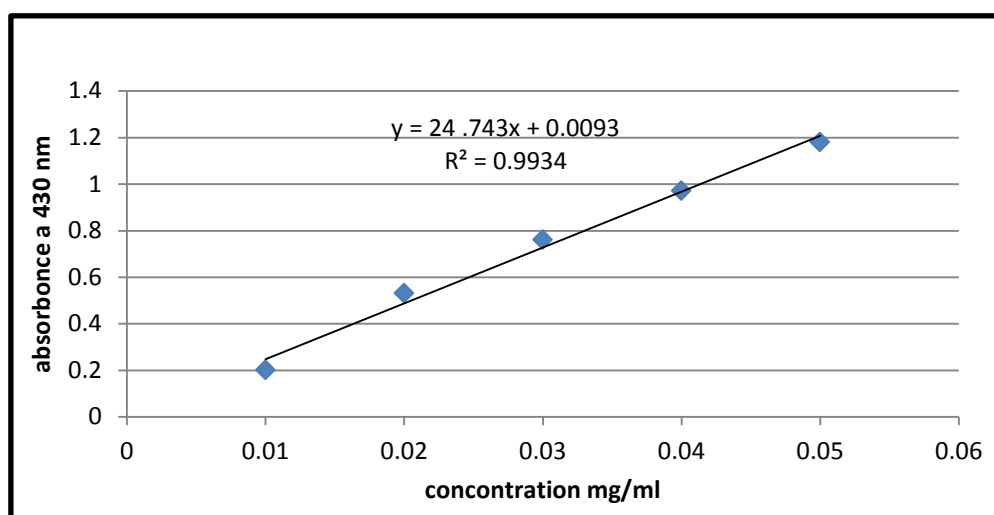


Figure N° 29 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Tableau N° 14 : Teneurs en flavonoïdes totaux dans les deux extraits aqueux

Flavonoïdes (mg de Querc /g MS)	Moyenne ± S.E.M
Feuilles	32.65±0.05
Racines	4.36±0.042

Le tableau ci-dessus montre que le teneur en flavonoides des l'extraits aqueux d'*Astragalus gombo* (feuilles et racines) l'ordre de 32.65et 4.36 respectivement mg éq de quercétine / g matière sèche.

II.1.1.4. Effet antioxydant *In vitro* des extraits d'*Astragalus gombo* (feuilles et racines) par DPPH

Le DPPH est un radical libre stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante. Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standards, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans le tableau (14) la courbe d'étalonnage figure (28), ayant l'équation: $Y=3588.5x+3.0757$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0.9822$.

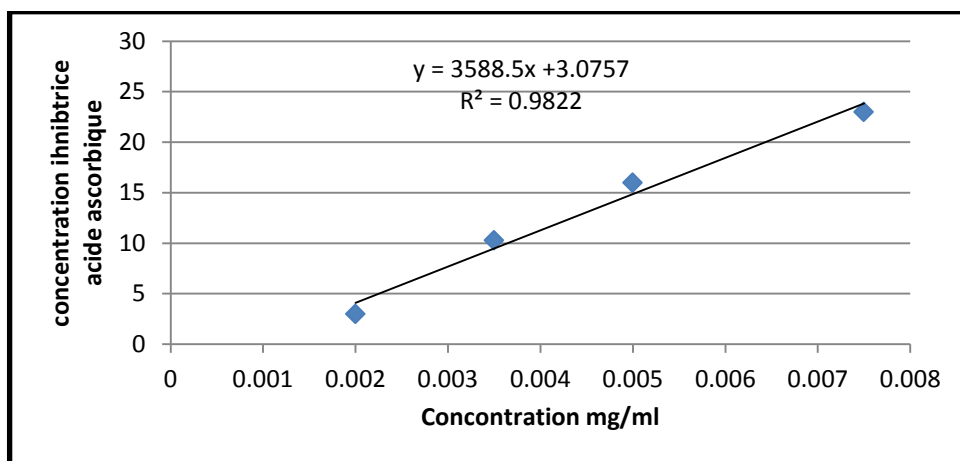


Figure N° 30: Courbe d'inhibition d'acide ascorbique

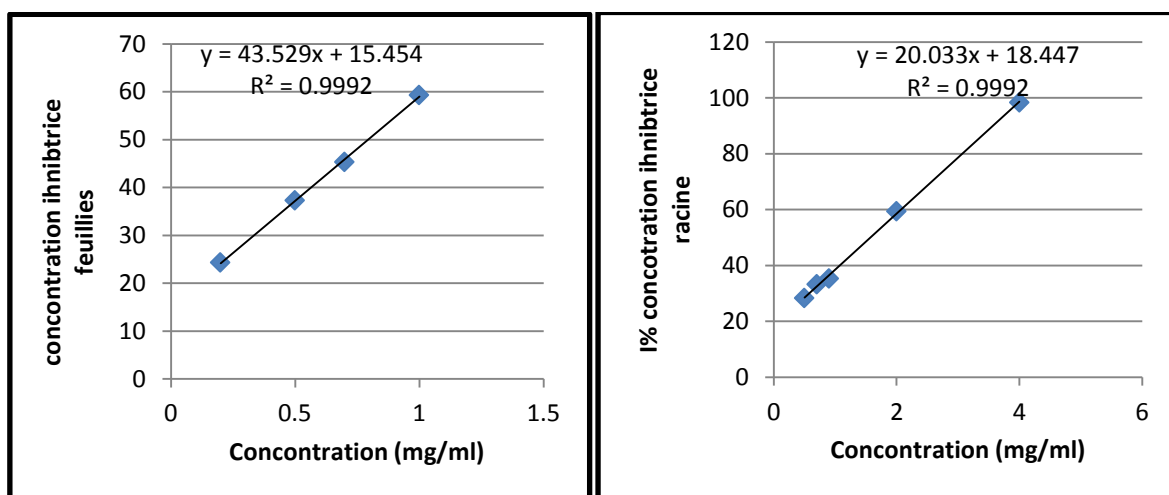


Figure N° 31 : L'activité anti-radicalaire des extraits bruts aqueux (feuilles et racines)

Tableau N° 15 : Valeur d'IC₅₀ des différents extraits d'*Astragalus gombo* en mg/ml.

Concentration inhibitrice (mg/ml)	Moyenne
Acide ascorbique	0.010
Feuilles	0.797
Racines	1.57

D'après le tableau (14) et les courbes illustrés dans la figure (29) et qui représentent l'IC₅₀ des deux extraits de notre plante et le standard (acide ascorbique), on remarque une variabilité de pouvoir réducteur dont les valeurs sont 0.797 mg/ml et 1.57 mg/ml, pour les feuilles et les racines respectivement.

II.1.2. Effet de la plante étudiée (extrait des feuilles) sur les microorganisme (Activité antibactérienne)

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extrait sont regroupés dans les Tableaux(15,16) et Figure(30,31).

Dans ce travail, quatre souches microbiennes:(*Salmonella enterica* ssp .*Arizonae* CIP 81-3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922 gram négatif) et(*Listeria innocua* CLIP 74915gram positif), ont été utilisées pour tester l' activité antibactériennes de partie aérienne de la plante (feuilles d'*Astragalus gombo*) via la méthode de diffusion sur un milieu de Muller Hinton par l'intermédiaire des disques imprégnés d'extrait. Les résultats obtenus diamètre d'inhibition (mm) indiquées les moyennes de deux mesures.

Tableau N° 16 : Résultats de l'activité antimicrobienne de extrait (feuille d'*Astragalus gombo*) sur les bactéries GRAM négatif.

Les concentration utilisée (mg/mL)	Souches bactériennes GRAM négatif									
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922					<i>Salmonella enterica</i> ssp . <i>Arizonae</i> CIP 81-3				
	5	10	5	0	ATB	5	10	15	20	ATB
Zone d'inhibition (mm)	6.50±0.10*** (mm)	8.667±0.0441** (mm)	18.0 ±0.057** (mm)	22.33 ±0.12* (mm)	28.500 ±0.028 (mm)	8.000±0.866** (mm)	8.6700±0.764** (mm)	10.17±0.321* (mm)	12.3±0.306 ^{NS} (mm)	13.667 ±0.577 (mm)

Les concentration utilisée(mg/mL)	Souches bactériennes GRAM négatif				
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853				
	5	10	15	20	ATB
Zone d'inhibition(mm)	0*** (mm)	7.20±0.370*** (mm)	11.52±0.192** (mm)	16.833±1.041** (mm)	28.66±0.577 (mm)

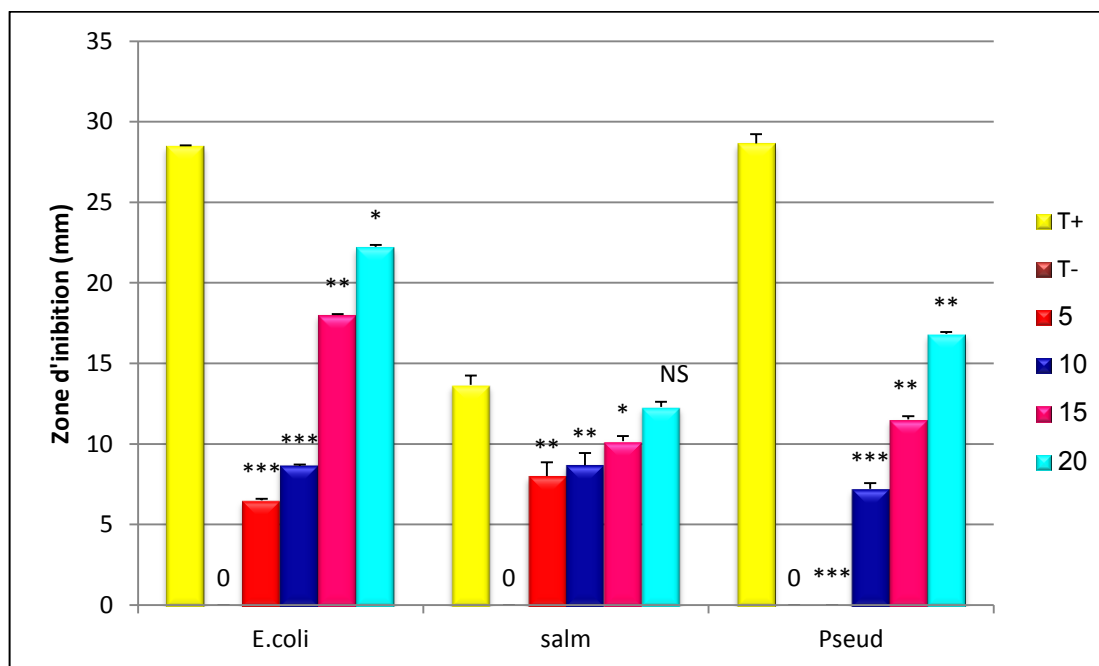


Figure N° 32 : Effet de l'extrait des feuilles d'*Astragalus gombo* sur les trois souches bactériennes gram négatif (*Salmonella enterica* ssp. *Arizonae* CIP 81-3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922) en fonction des différentes concentrations des extraits.

- T+: Témoin positif (Antibiotique gentamicine)
- T-: Témoin négatif, (DMASO).

Tableau N° 17 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait sur les bactéries GRAM positif

Les concentration utilisée(mg/mL)	Souches bactériennes GRAM positif.				
	<i>Listeria innocua</i> CLIP 74915				
	5	10	15	20	ATB
Zone d'inhibition(mm)	6±0.1323 (mm)***	8.67± 0.597*** (mm)	13.33± 0.202*** (mm)	27.67±0.451 ^{NS} (mm)	29.02± 1.258 (mm)

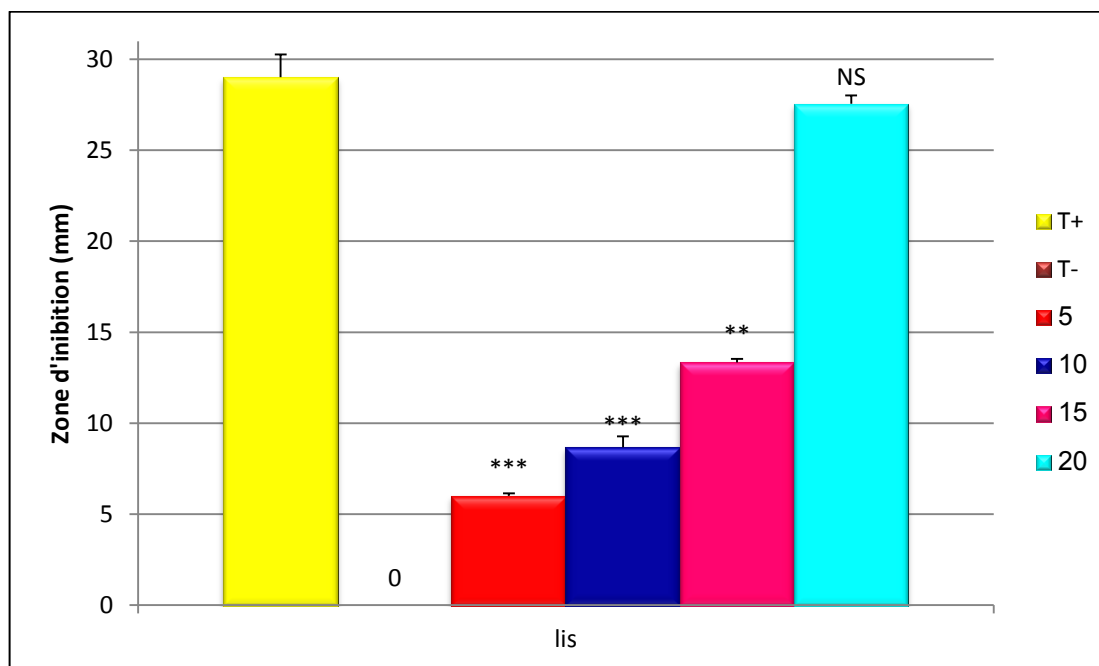


Figure N° 33 : Effet de l'extrait des feuilles d'*Astragalus gombo* sur le souche des r les bactéries gram positif (*Listeria innocua* CLIP 74915) en fonction des différentes concentrations des extraits.

- T+: Témoin positif (**Antibiotique gentamicine**)
- T-: Témoin négatif, (**DMASO**)

D'après le tableau(16), et la figure(31), les résultats révèlent clairement un effet remarquable de l'extrait aqueuse des feuilles d'*Astragalus gombo* sur les quatre souches étudiées (*Salmonella enterica* ssp .*Arizonae* CIP 81-3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922 gram négatif) et (*Listeria innocua* CLIP 74915 gram positif). On montrée une activité antimicrobienne plus ou moins importante de l'extrait sur toutes les souches testées avec des zones d'inhibitions variables (de 6 jusqu'à 27mm) on notée aussi, dans tous les types de bactéries étudiées l'augmentation de la concentration de extrait de la plante (feuilles) mener à l'augmentation de zone d'inhibition (Relation de corrélation directe).

II.1.3. Etude in vivo

II.1.3.1. Effet de la plante étudiée *Astragalus gombo* (feuilles et racines) sur les animaux (rattes femelle de souche *Wistar Albinos*)

II.1.3.1.1. Effet de traitement par les deux extraits (feuilles et racines) et le médicament (vitamine E) sur le poids corporel et le poids relatif des organes chez les rattes exposées au métribuzine

Après sacrifice des rattes et prélèvement les organes (les foies, les reins, et le poumon) puis peser pour calculer les poids relatif de ces organes (**poids de l'organe *100/poids de ratte**) et aussi peser les rattes avant et après le traitement pour calculer le gain de poids (**Poids finales(g) - Poids initiales(g) / Nombre des jours de traitement**)

Tableau N° 18: Poids initiale, gain du poids et poids relatif des organes (foie, reins , poumon) chez les différents groupes expérimentaux.

		Les groupes expérimentaux				
Paramètres		LOT1(T) N=5	LOT2(P) N=5	LOT3(R) N=5 400 mg/kg	LOT4(F) N=5 300mg/kg	LOT5(M) N=5
Poids initial (g)		178.60 ± 5.67	204.40 ± 4.22	207.60 ± 2.69	210.20 ± 4.60	215.80 ± 5.63
Gain de poids (g/j)		0.3180 ± 0.0196	0.4220 ^{**} ± 0.0325	0.2920 ^{NS c} ± 0.0329	0.3040 ^{NS b} ± 0.0319	0.3120 ^{NS b} ± 0.0677
poids Relatif (%)	Foies	2.4910 ± 0.063	3.8643 ^{**} ± 0.225	3.068 [*] ± 0.156	2.8609 ^{NS a} ± 0.052	2.589 ^{NS b} ± 0.0853
	Reins	0.590 ± 0.014	0.7783 ^{**} ± 0.048	0.607 ^{NS c} ± 0.007	0.612 ^{NS c} ± 0.057	0.592 ^{NS c} ± 0.056
	Poumons	0.967 ± 0.057	0.996 ^{NS} ± 0.066	0.972 ^{NS a} ± 0.041	0.930 ^{NS b} ± 0.068	0.970 ^{NS a} ± 0.053

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =5).

- *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.
- a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001 comparaison avec le lot témoin pesticide
- P : seuil de signification.
- a, * : Différence significative (P ≤ 0,05).

- **b,**** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$).
- **c,***** : Différence très hautement significative ($P \leq 0,001$).
- **NS** : Différence non significative $p > 0.05$.

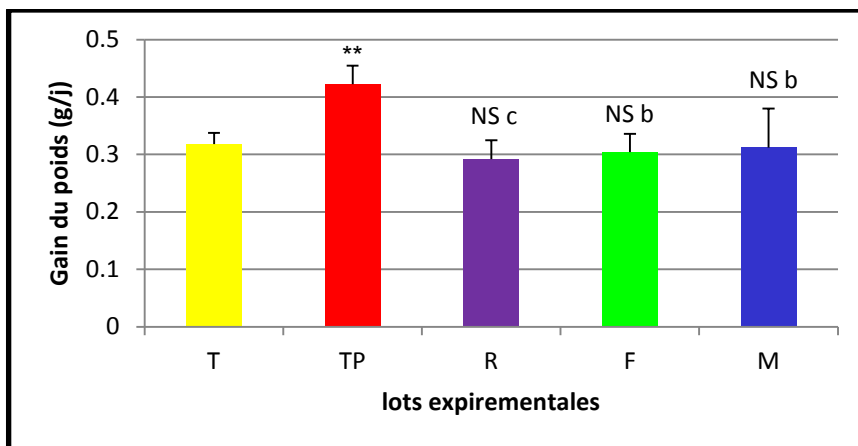


Figure N ° 34 : Variation de gain du poids chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin, **a** $p < 0.05$; **b** $p < 0.01$; **c** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, $N=5$

D'après nos résultats illustré dans le tableau (17) la figure (32), le poids corporel des rattes est affecté par le pesticide (métribuzine), on a remarqué que l'exposition des rattes au pesticide augmente le gain du poids par façon significative ($p < 0.01$) par rapport les rattes témoins. En revanche, les résultats aussi sont indiqués une diminution significative le gain du poids chez les rattes de lots R ($p < 0.001$) et également les lots F et M ($P \leq 0,01$) comparativement au lot TP.

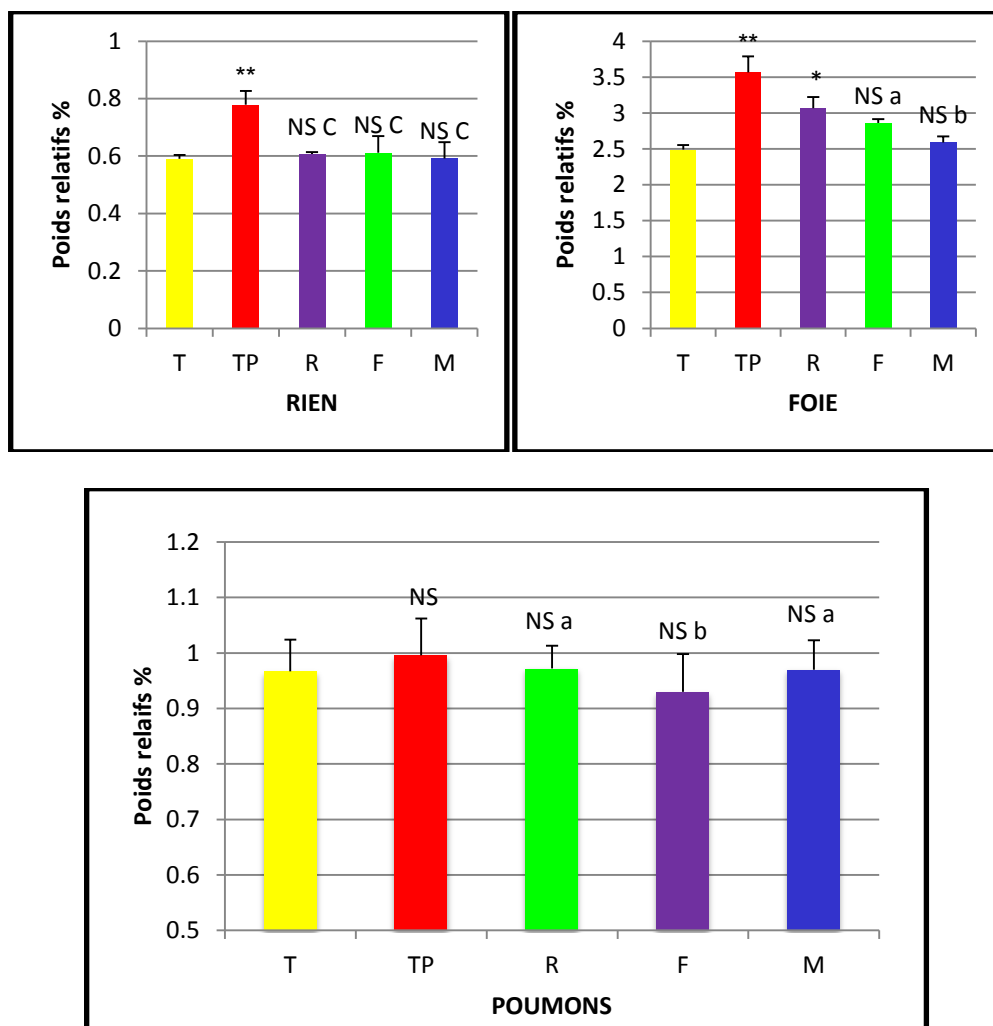


Figure N° 35 : Variation de poids relatif du foie, rein et poumon (%) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin, a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, N=5

L'analyse du poids relatif des organes obtenus dans le tableau (17) et la figure(33) montre une augmentation importante du poids relatif de foie et de reins ($p < 0.01$) chez les ratte exposé au métribuzine (TP) en comparaison au groupe témoin. Tandis que les ratte exposées au métribuzine (TP) et traitées par les extraits de la plante (feuilles ou racines) et le médicament, notée une diminution remarquable de poids relatif de foie ($p < 0.05$) chez le groupe traité par les feuilles et ($p < 0.01$) chez le groupe traité par le médicament. Aussi, il y a une diminution du poids relatif des reins ($p < 0.001$) chez les trois lots par rapport à groupe TP, on notée aussi le traitement des ratte par les deux extraits de plante (feuilles et racines) et de médicament provoque une peu d'augmentation remarquable de poids relatif de poumon par rapport à groupe TP.

II.1.3.1.2. Effet de traitement par les deux extraits (feuilles et racines) et le médicament (vitamine E) sur les paramètres biochimiques chez les rattes exposées au métribuzine

Les analyses biochimiques ont été réalisées au laboratoire ALMAJDet laboratoire Al-Bachir Ben –Nasser à El oued.

Tableau N° 19 : Concentrations des marqueurs biochimiques (l'activité enzymatique des transaminases , de la phosphatase alcaline sérique et teneurs sériques en glucose, urée, créatinine et γ GT chez le groupe témoin et différents groupes expérimentaux.

		Les groupes expérimentaux.				
Paramètres		LOT 1(T) N=5	LOT2 (P) N=5	LOT 3 (R) N=5 400 mg/kg	LOT4 (F) N=5 300 mg/kg	LOT 5 (M) N=5
Bilan hépatique	TGO(UI/L)	196.40 ±3.42	230.80*** ± 5.86	214.00** ^b ±3.16	203.20 ^{NS c} ± 4.02	199.20 ^{NSc} ± 3.26
	TGP(UI/L)	76.20 ± 2.58	92.32** ± 2.75	84.80* ^b ± 0.75	79.25 ^{NS b} ± 3.37	74.67 ^{NSc} ±0.37
	Phosphatase alcalines(UI/ L)	115.80 ± 5.54	197.00*** ± 10.6	178.08*** ^a ± 6.8	160.60** ^a ±4.6	139.20*** ^b ±5.7
	γ GT(UI/L)	1.220 ±0.194	4.84*** ± 0.316	2.236** ^b ±0.583	1.4347 ^{NS c} ±0.6 10	1.40 ^{NSc} ±0.510
Bilan rénale	Urée (g/L)	0.487 ±0.0141	0.5841** ± 0.0173	0.5294* ^b ±0.0103	0.5710** ±0.0263	0.494 ^{NS b} ±0.0093
	Créatinine (mg/L)	3.620 ± 0.268	6.102*** ± 0.145	3.810 ^{NS c} ±0.206	4.740*** ^b ±0.40	3.200 ^{NS c} ±0.356
Autres paramètres	Glycémie (g/L)	1.0190 ± 0.0653	1.8220** ± 0.0375	0. 945 ^{NS c} ±0.0526	1.9520** ±0.0773	1.1083 ^{NS b} ±0.194

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =5).

- *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.
- ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot témoin pesticide
- P : seuil de signification.
- ^a, * : Différence significative (P ≤0,05).

- **b,**** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$).
- **c,***** : Différence très hautement significative ($P \leq 0.001$).
- **NS** : Différence non significative $p > 0.05$

II.1.3.1.2.1. Bilan hépatique

TGO, TGP PALE et γ GT

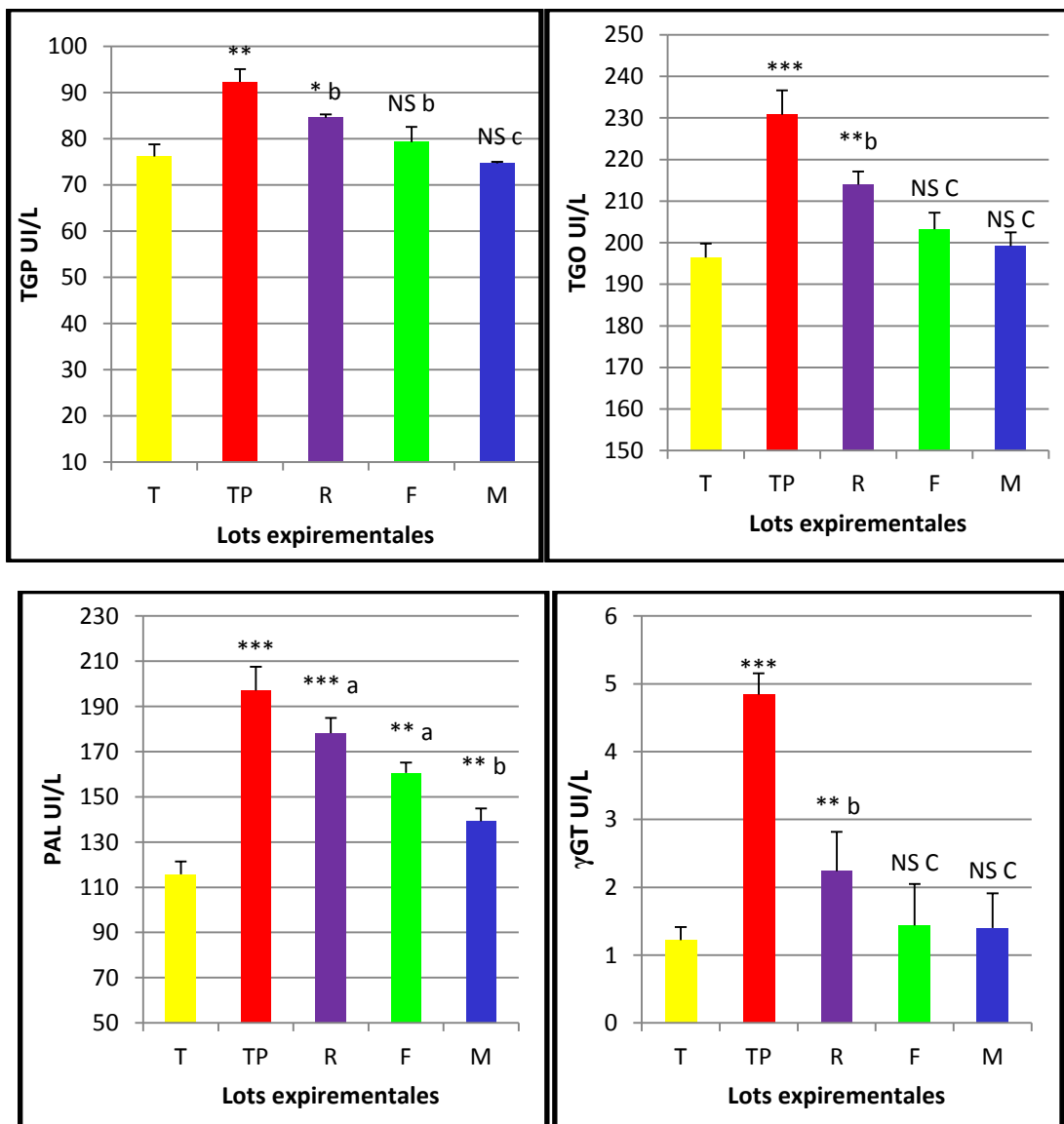


Figure N °36 : Effet de traitement par les deux extraits de plante (racines et feuilles) et (vitamine E) sur les enzymes hépatique (TGO, TGP) et le taux de PAL, la concentration de protéine γ GT chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin, **a** $p < 0.05$; **b** $p < 0.01$; **c** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, N=5

Les résultats rassemblés dans le tableau (18) et la figure(34) montrent que l'exposition des ratte au métribuzine provoque une augmentation très important de l'activité enzymatique des TGO, PAL, γ GT ($p < 0.001$) et TGP ($p < 0.01$),aussi, on observe une grande augmentation de taux du (phosphatase alcalin) chez tous les lotes expérimentaux par rapport aux ratte sains. En revanche, le traitement des ratte par le extrait aqueux de feuille (F) et par le médicament provoque une diminution très hautement significative de taux du TGO, TGP et γ GT ($p < 0.001$) et une diminution hautement significative de ces paramètres chez les lotes des ratte traités par le racine de plante. En plus on remarque une diminution significative de taux de PAL chez les lotes traités par rapport aux ratte exposées au métribuzine (témoin pesticide).

II.1.3.1.2.2.Bilan rénale

l'urée et de la créatinine

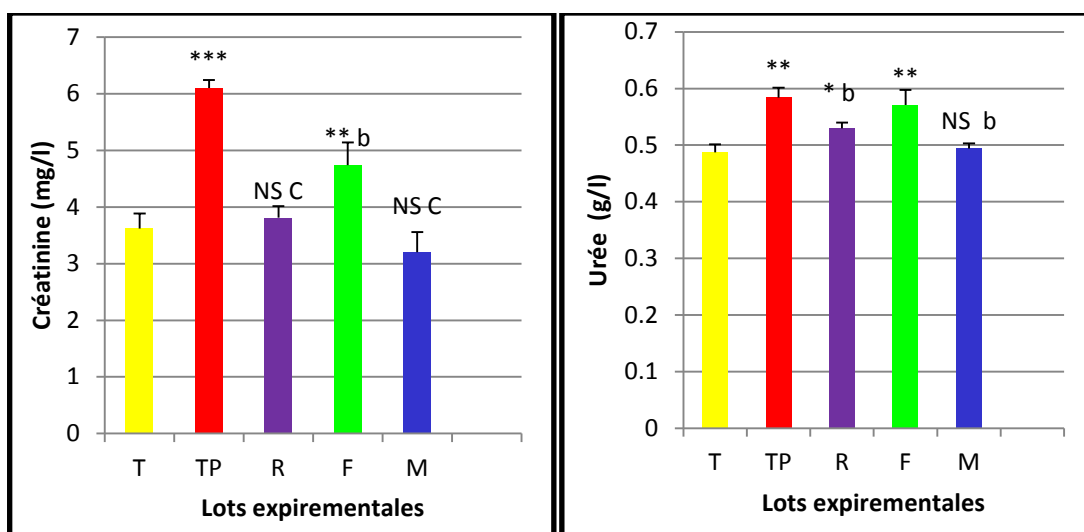


Figure N °37 : Effet de traitement par les deux extraits de plante (racines et feuilles) et (vitamine E) sur le bilan rénal (urée, créatinine) chez le lot témoin et les lotes expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin, a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, N=5

Les résultats présentées dans le tableau (18) et la figure(35) révèlent l'exposition des ratte au métribuzine provoque une augmentation remarquable des concentrations de l'urée ($p < 0.01$) et de créatinine ($p < 0.001$) par rapport aux ratte saines. nos résultats sont également montrée que les traitement par la plante n'ont aucune effet signalé sur les concentrations de l'urée. mais, on a enregistré une diminution important des concentrations de créatinine

surtout chez le groupe traitée par les racines et le médicament $p < (0.001)$ et le groupe traitée par feuille ($p < 0.01$) par rapport aux rattes exposées au métribuzine (témoin pesticide)

II.1.3.1.2.3. Autres paramètres :

Glycémie

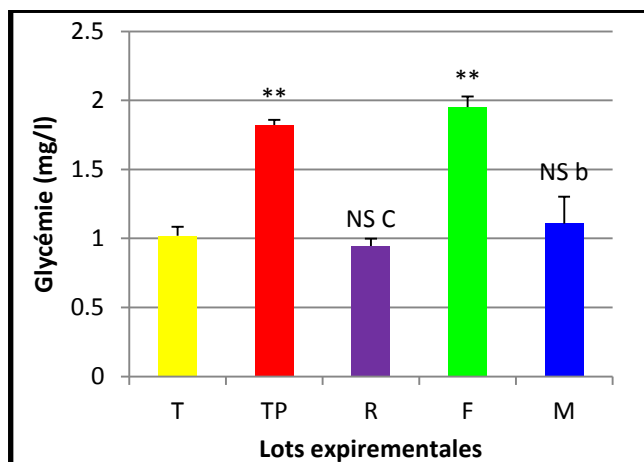


Figure N °38 : Effet de traitement par les deux extraies de plant(racine et feuille) et (vitamine E) sur les concentrations sériques de glucose chez le lot témoin et les lottes expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin, a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, $N=5$

Les résultats obtenus dans le tableau (18) et la figure(36) indiquent que le groupe des rattes exposées au métribuzine seul et le groupe traitée par le extrait aqueux des feuilles de la plante provoque une augmentation hautement significatif de la concentration de glucose ($p < 0.01$) par rapport aux rattes saines.

En revanche, le traitement des rattes par l'extrait aqueux de racine et par le médicament provoque une diminution significatif de la glycémie ($p < 0.001$) pour les groupe des racines et ($p < 0.01$) pour les groupe de médicament par rapport le groupe TP.

II.1.3.1.3 Effet de traitement par les deux extraits (feuilles et racines) et le médicament (vitamine E) sur les paramètres tissulaires du stress oxydatif chez les ratte exposées au métribuzine

Tableau N °20 : La concentrations tissulaires de Malondialdéhyde (MDA), glutathion réduit(GSH) et l'activité enzymatique de catalase (CAT) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.

		Les groupes expérimentaux				
Paramètres		LOT1 (T) N=5	LOT2 (P) N=5	LOT3 (R) N=5 400 mg/kg	LOT4 (F) N=5 300mg/kg	LOT5 (M) N=5
Malondialdéhyde (MDA) (µM/mg prot)	Foies	0.5175 ± 0.128	1.837*** ± 0.372	0.9 23** ^b ± 0.069	0.634 ^{NS c} ± 0.014	0.672 ^{NS c} ± 0.046
	Reins	0.92 ± 0.069	2.29*** ± 0.035	0. 7914* ^c ± 0.025	0.8628 ^{NS c} ± 0.066	0.8853 ^{NS c} ± 0.051
	Poumons	0.274 ± 0.031	0.266 ^{NS} ± 0.0069	0.237 ^{NS a} ± 0.0237	0.216* ^a ± 0.030	0.247 ^{NSa} ±0.0185
Glutathion réduit(GSH) (nM/mg prot)	Foies	0.180 ± 0.015	0.0487*** ± 0.008	0.092** ^b ± 0.020	0.203 ^{NS c} ± 0.031	0.179 ^{NS c} ± 0.037
	Reins	0.335 ± 0.013	0.237** ± 0.023	0.3602 ^{NS b} ± 0.036	0.2915* ^a ± 0.033	0.3519 ^{NS b} ± 0.035
	Poumons	0.590 ± 0.086	0.1492*** ± 0.074	0.324** ^c ± 0.105	0.2312*** ^b ± 0.008	0.279** ^b ± 0.026
Catalase (CAT) (UI/g prot)	Foies	24.82 ± 0.235	31.63** ± 0.479	26.01 ^{NS b} ± 1.87	25.20 ^{NS b} ± 1.30	22.091* ^c ± 0.312
	Reins	39.79 ± 0.812	51.932** ± 0.58	39.85 ^{NS c} ± 0.842	42.93* ^b ± 0.735	38.14 ^{NS c} ± 0.593
	Poumons	49.93 ± 1.33	66.85** ± 0.896	57.12* ^a ± 0.862	55.62* ^a ± 0.932	53.30± ^{NSb} 0.730

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =5).

- *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 comparaison avec le lot témoin.
- ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001 comparaison avec le lot témoin pesticide

- P : seuil de signification.
- a, * : Différence significative ($P \leq 0,05$).
- b, ** : Différence hautement significative ($p \leq 0,01$).
- c, *** : Différence très hautement significative ($P \leq 0,001$).
- NS : Différence non significative $p > 0,05$

II.1.3.1.3.1 Effet sur la concentration tissulaire de Malondialdéhyde (MDA)

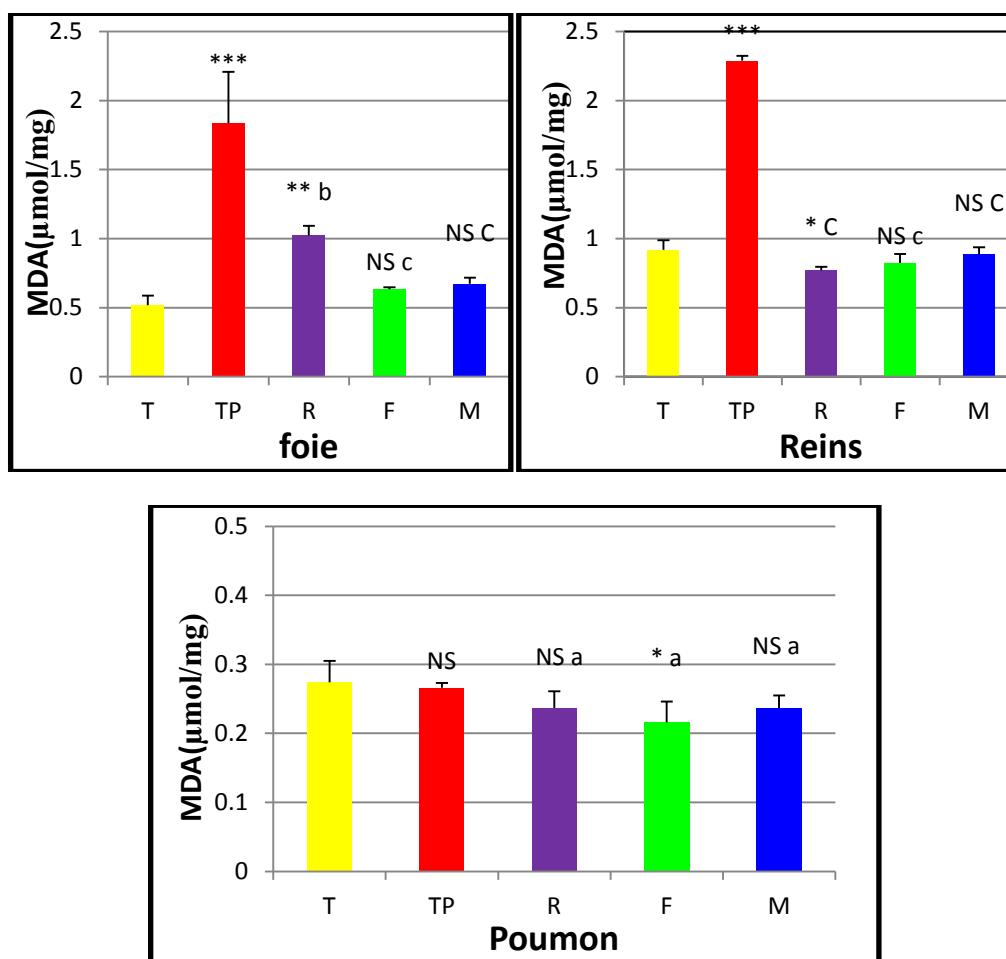


Figure N° 39: Variation de la Concentrations hépatique rénal et pulmonaire de Malondialdéhyde (MDA) (μmol/mg de prot) chez le lot témoin et les lotes expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparaison avec le lot témoin, a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, N=5

Le tableau (19) et la figure(37) indiquent une nette augmentation des taux du marqueur de stress oxydant la malonalaldéhyde (MDA) des rattes exposées au métribuzine dans les cellules hépatique et rénal($P \leq 0,001$) par rapport aux rattes saines.

L'injection intra péritonéal des deux extrait aqueux d' *Astragalus gombo* (racines et feuilles) et le traitement par le médicament induit une diminution du taux de MDA hépatique et rénal avec une différence très hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport aux rattes exposées au métribuzine (témoin pesticide).

II.1.3.1.3.2. Effet sur la concentration tissulaire de glutathion réduit (GSH)

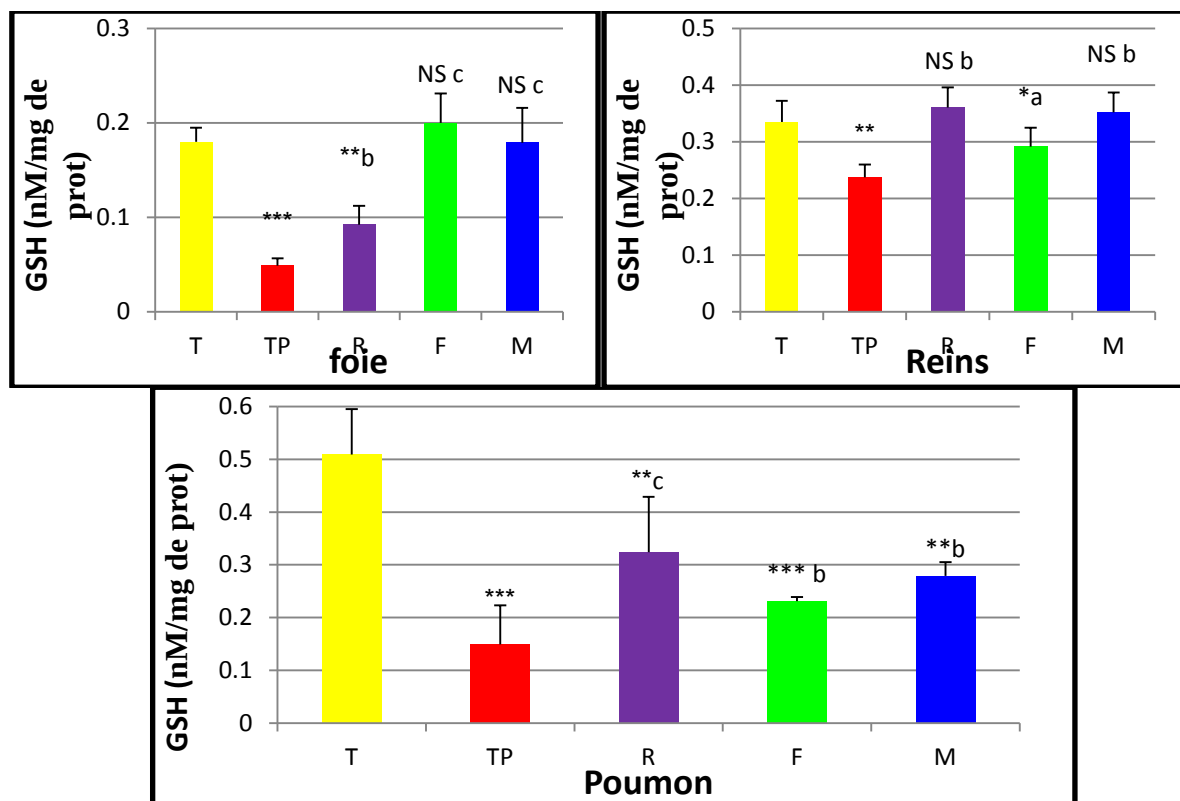


Figure N° 40: Variation de la Concentrations hépatique rénale et pulmonaire en glutathion réduit (nmol/mg de protéine) chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin, a $p < 0.05$; b $p < 0.01$; c $p < 0.001$ comparaison avec le lot témoin pesticide, N=5

Ainsi que concerne le GSH (au niveau le foie ,les reins et le poumon), on remarque une diminution de leur concentration ($P \leq 0,001$) dans les cellules hépatique et pulmonaire et ($p \leq 0.01$) dans les cellules rénale chez le lot exposé au pesticide par rapport aux rattes témoins. D'autre part, afin d'étudier l'effet de les extraits aqueux d'*Astragalus gombo* sur la concentration de GSH; on observe une augmentation de taux hépatique de glutathion avec une différence très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez les lots (F et M) et hautement significative ($p \leq 0.01$) dans les tissus hépatique et rénale pour le lot (R) et Légèrement réduit dans le tissu pulmonaire par rapport aux rattes exposé au métribuzine.

II.1.3.1.3.3. Effet sur la concentration tissulaire de Catalase (CAT)

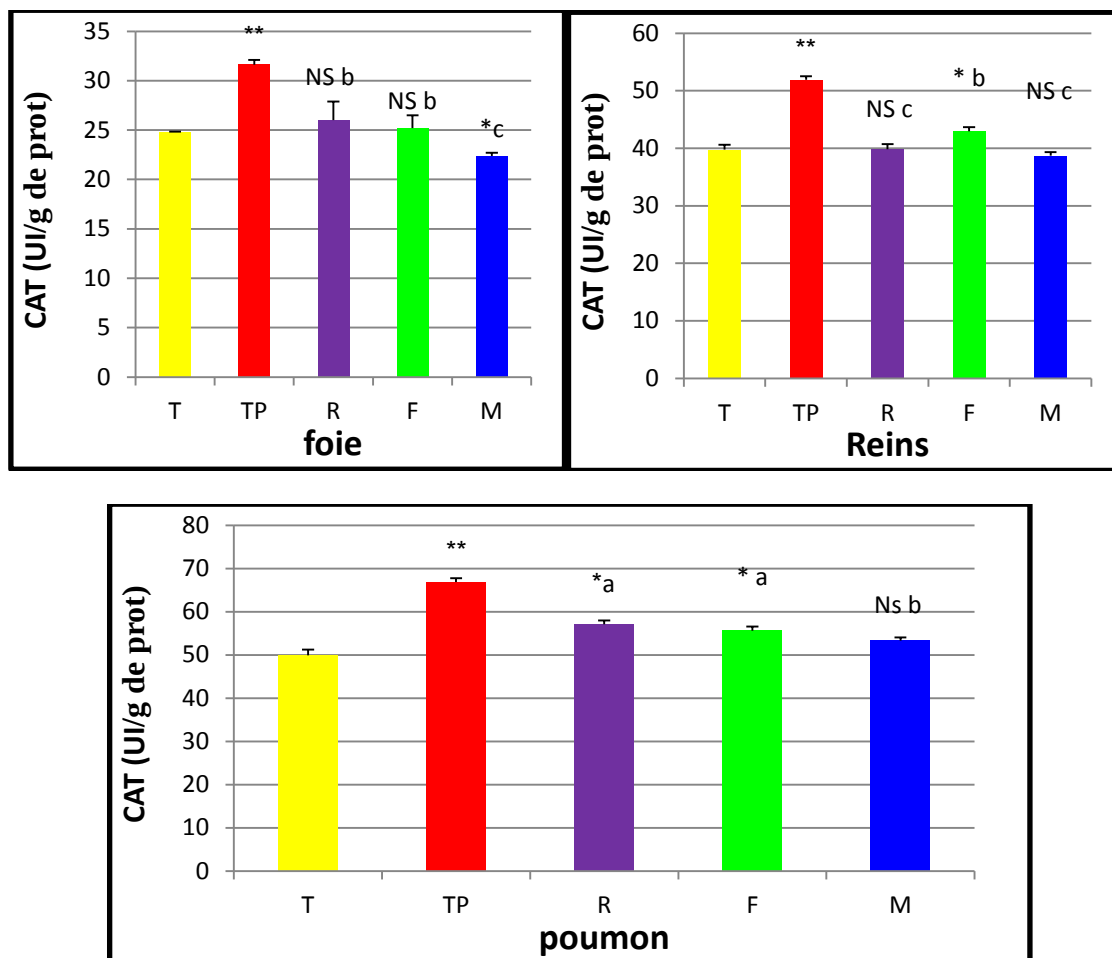


Figure N °41: Variation de l'activité du catalase dans les foie , reins et poumon (UI/min/g prot) n chez le lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement.*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 comparaison avec le lot témoin, ap < 0.05; b p < 0.01; cp <0.001 comparaison avec le lot témoin pesticide,N=5

Les résultats obtenus dans le tableau (19) et la figure(39) montrent que l'exposition des rattes au métribuzine provoque une augmentation de l'activité enzymatique de catalase dans tous les tissue ($p \leq 0.01$) par rapport aux rattes saines.

Aussi, on note l' effet de traitement les rattes par le extrait de racine de la plante induite une diminution significative d'activité de catalase au niveau de reins ($p \leq 0.001$), le fois ($p \leq 0.01$) et le poumon ($P \leq 0,05$) par rapport le lot exposée au pesticide seulement.

Tandis que, le traitement des rattes exposées au pesticide par le extrait de feuille de la plante et le médicament (lots F et M) entraine une diminution importante de l'activité de catalase dans tous le tissu étudiés ($p \leq 0.01$) pour les feuille et ($p \leq 0.001$) pour le médicament par rapport les témoins pesticide.

II.1.3.1.3.4. Etude histologique de foie

Les foies de tous les lots sont prélevés pour faire le test histologique, les observations des coupes histologiques permettent de confirmer l'effet toxique du pesticide (métribuzine) et le pouvoir détoxification des extraits de la plante d'*Astragalus gombo* (feuilles et racines) sur les rats. Généralement, traitement des rats par les deux extraits aqueux de la plante étudiée on note une efficacité remarquable contre l'inflammation et des nécroses causées par l'exposition au pesticide (métribuzine) au niveau du tissu hépatique.

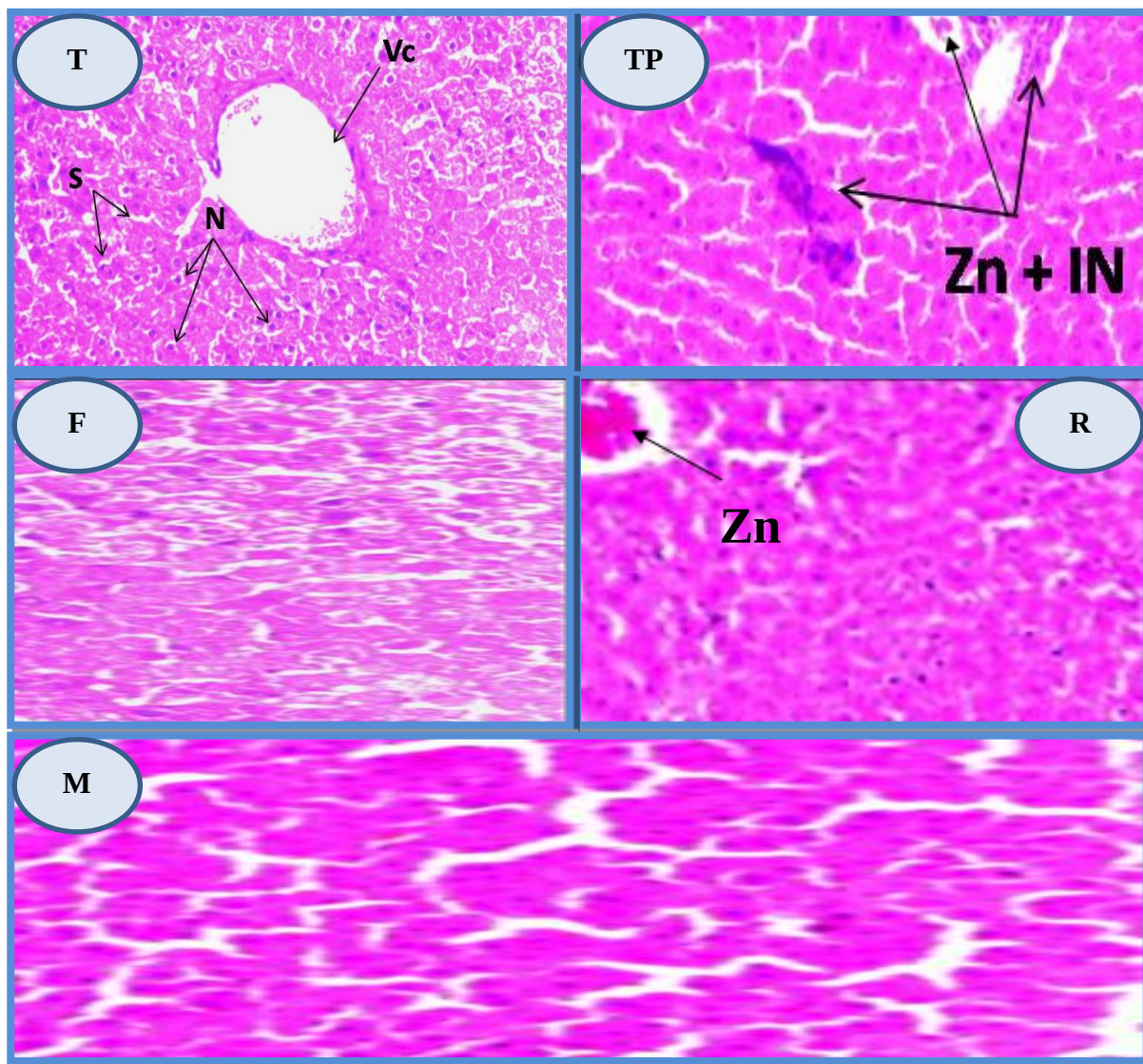


Figure N° 42: Observation microscopique d'une coupe histologique du foie, chez les rats du lot témoin et les lots expérimentaux pendant 15 jours de traitement. (x40) (Photos originales, 2018)

T: Témoin, **TP:** Témoin Pesticide; **R:** Racine, **F:** Feuille, **M:** Médicament

Zn+ IN: Zone de nécrose avec inflammation.

II.2. Discussion

À la lumière des dernières études, la plupart des chercheurs sont devenus déterminent la toxicité des xénobiotiques (comme les pesticides) et leur effets néfastes dans l'organisme vivant, et de prendre les plantes comme source médicale pour détoxification et de neutralisation (source thérapeutique).

L'objectif primordial assigné par cette étude vise à rechercher les principes actifs obtenus par macération des feuilles et des racines de la plante d' *Astragalus gombo* grâce à des tests phytochimiques et d'estimer la teneur de certains composés actifs essentiels, les polyphénols et les flavonoïdes obtenus dans les deux parties et d'en évaluer leur pouvoir biologique (l'activité antioxydante (in vivo et in vitro) et antibactérienne).

Les tests phytochimiques dans notre étude, elle m'a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires (alcaloïdes, Tannins, flavonoïdes, les composés réducteurs, Saponosides et les polyphénols) au niveau de la partie aérienne (feuilles) et partie souterraine de la plante d' *Astragalus gombo* mais à différentes quantités. Ces résultats sont concordants avec ceux trouvés par (SELAMI et BOUKHEZZA, 2014).

La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et changement de couleur. (KANOUN, 2011) cette analyse a déterminé qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante (RIRA, 2006). En effet les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (RIBERAUGAYON et REYNAUD, 1968), les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action antiradiculaire (MAKHLOUFI, 2010). Également, les tanins sont responsables des propriétés hémostatiques (ASQUITH et BUTLER, 1986). Et leur présence de tanins suggère la capacité de cette plante à jouer un rôle majeur comme un agent anti-diarrhéique et antihémorragique (AWOYINKA *et al*, 2007). La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses. (MILCENT et CHAU, 2003) ils jouent un rôle à faibles doses d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludique, d'antitumoraux (CHENNI, 2010) la plante est très riche en polyphénols présentée à une quantité élevée dans la partie aérienne (feuilles) par rapport à la partie souterraine ils ont divers effets sur la physiologie végétale de par leurs actions antibactériennes et antifongiques (ALI, *et al* 1998) et aussi limitent les dommages dus aux radiations UV, ils agissent par effet antioxydant (MADIGAN, 1997). Les saponosides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antioedémateuses, ils sont

particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques (BOUHADJERA, 2005).

De plus, la teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu les résultats montrent que les composés polyphénoliques sont abondants dans la partie aérienne 65.7mg EAG/g par rapport au souterraine 14.49mg EAG/g La teneur élevée en polyphénols dans l'extrait aqueux est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires (GHEDADBA *et al*, 2014), mais les résultats obtenus sont supérieurs en comparaison avec l'étude de (SELAMI et BOUKHEZZA, 2014) leurs résultats que ceux obtenus par extraction à chaud avec l'eau, cela peut être dû à la méthode d'extraction (WOJDYLO, 2007).

Les résultats quantitatifs des flavonoïdes, révèlent que leur teneur est importante dans les deux extraits (feuilles et racines) 32.65 et 4.36 (mg de Querc /g MS) respectivement. Alors que ces résultats sont en accord avec les travaux (CHOUNNA, 2017). On note que les plantes réagissent aux agressions de l'environnement en augmentant la production des polyphénols surtout les flavonoïdes, ces composés phénoliques peuvent être soumis à l'importantes fluctuations face à ces agressions (YOUNG *et al.*, 1997; CARPENTER et SMITH, 1975).

Les teneurs élevées en composés phénoliques par comparaison aux logiques étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols (BOUSSAHEL, 2011). Les flavonoïdes sont ceci peut être aussi expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de la plante; en plus, l'existence d'une liaison avec les conditions climatiques défavorables et les conditions de collections telles que les températures élevées, la durée d'exposition solaire, la nature du sol et la saison de croissance (DJERIDANE *et al*, 2005).

Concernant l'étude de l'effet antioxydant *in vitro* nos résultats indiquent que les feuilles présentent une activité plus élevée par rapport aux racines, vis-à-vis le piégeage du radical libre DPPH avec un IC₅₀ de 0.79 et 1.57mg/ml respectivement. Dans une étude similaire sur les extraits éthanoliques de *Astragalus Numidicus* Coss (même genre de notre espèce végétale) les auteurs ont signalé un taux d'IC₅₀ de l'ordre de 0.0675 mg/ml un taux très bas, indiquant une activité antioxydante importante comparée à la plante étudiée. Cette variabilité dans les résultats pourrait être liée aux conditions climatiques du biotope de l'espèce ou aux différentes méthodes suivies lors de l'extraction.

L'analyse chimique suggère également de partie aérienne et souterraine confirment l'existence de propriétés antioxydantes révélées par le test DPPH, dont les résultats obtenus montrent que la richesse des deux parties en polyphénols surtout en flavonoïdes, ces derniers sont des composés phénoliques connus par leurs activités antioxydantes et antiradicalaires

(BARRECA *et al*, 2011). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du des flavonoïdes (LE *et al*, 2007).

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombo* que nous avons obtenu selon la méthode de diffusion sur disque a été déterminée sur des souches bactériennes (*Salmonella enterica* ssp .*Arizonae* CIP 81-3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Escherichia coli* ATCC 25922 gram négatif) et (*Listeria innocua* CLIP 74915 gram positif).

Les résultats montrent clairement que les substances naturelles de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Astragalus gombo* (les feuilles) est capable d'inhiber la croissance bactérienne. Aussi remarqué que l'extrait entraînait une inhibition sur tous les types bactérienne plus particulièrement la souche (*Salmonella enterica* ssp .*Arizonae* CIP 81-3 et *Listeria innocua* CLIP 74915), c'était la meilleure inhibition, par rapport au témoin positif (Antibiotique gentamicine) on peut dire que notre extraite possède un large spectre d'action couvrant la bactérie. Et notée dans tous les types de bactéries étudiées l'augmentation de la concentration de l'extrait de la plante (feuilles) mène à l'augmentation de la zone d'inhibition (relation de corrélation directe). Ce résultat correspond au travail (DORDEVIC *et al.*, 2007) qui atteste que la zone d'inhibition augmente considérablement avec l'augmentation de la concentration des extraits ceci obtenue dans nos résultats.

Dans le cas de la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec (C=5; ZI=0) il y a deux possibilités: soit la dispersion de solvant sur la disque est insuffisante donc ne fait pas un contact entre l'extrait et la bactérie, ou le solvant n'est pas absorbé par la disque, enfin peut être la technique d'ensemencement est effectuée de manière erronée (MAHDIA et MOUNIRA, 2015), soit la quantité de substances inhibitrices est insuffisante pour tuer ces bactéries (parce que la concentration faible).

Ces activités observées sont par ailleurs expliquées par les résultats de l'analyse chimique de la plante (tableau 11) qui révèle la présence des composés tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes dont les propriétés antimicrobiennes ont déjà été démontrées (BOUZID, 2011).

A rapporté que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique (HARRAR, 2012). En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être

expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires ou l'interaction avec les enzymes. (DHAOUADI *et al.*, 2010).

Les saponines aussi peuvent avoir une activité antimicrobienne (KILLEEN *et al.*, 1998). sur des organismes procaryotes qu'eucaryotes, mais seulement à des faibles densités cellulaires. (COWAN, 1999).

Aussi l'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (ULANOWSKA *et al.*, 2006). les propriétés antimicrobiennes des flavonoïdes vis-à-vis de différents microorganismes pathogènes ont été mises en évidence (JASSIM et NAJI, 2003 ; TAGURI *et al.*, 2004; YADAVA et TIWARI, 2005). Les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont été rapportés posséder une activité antimicrobienne (TERESCHUK *et al.*, 1997 ; ESSAWI et SROUR, 2000 ; SATO *et al.*, 1995).

In vivo, les résultats montrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) de poids corporel des rattes exposés au métribuzine par rapport aux témoins, cet effet peut être dû par l'accélération de l'anabolisme, plus particulièrement des lipides sous l'action de pesticide, ces résultats sont similaires à ceux publiés par une l'étude de (EMARA et DRAZ, 2007 ; ZHANG *et al.*, 2008) réalisée sur les rattes.

Mais l'injection des rattes par l'extrait aqueuse d' *Astragalus gombo* (feuilles et le racines) et le médicament causée une diminution de poids corporel par rapport aux groupes témoins pesticide, ceci est en accord avec l'étude de (BOOZER *et al.*, 2001) qui affirme que cette plante favorise la perte de poids.

En ce qui concerne l'effet de métribuzine sur le poids relatif des organes, on remarque une augmentation significative de la masse relatif du foie et les reins après l'exposition au pesticide par rapport au groupe témoin. Ceci est explicable, d'une part, par l'accumulation intense de cette substance toxique dans ces organes cibles aux pesticide et d'autre part l'hypertrophie tissulaire de ces organes causé par ce pesticide (SIMONS *et al.*, 1995), ont signalé que l'augmentation des poids relatifs des organes des animaux est indicatrice de la toxicité des substances utilisées. Notre résultats sont en accord avec les données bibliographiques de (KUTZMAN *et al.*, 1986; HORIGUCHI *et al.*, 1996 ; ASAGBA *et al.*, 2002). En effet, le foie est l'organe cible du pesticide, cette augmentation du poids du foie peut être due à l'augmentation des demandes accrues de détoxification des composés toxiques

(KADOTA et al, 1976), en outre, il désigne l'augmentation de la masse cellulaire ou de la densité cellulaire. (ABSTON, P.A et al, 1976).

En revanche, le traitement par les extraits de plante étudiée (feuilles et racines) au groupe exposé aux métribuzine a entraîné une amélioration de poids relatif des organes notamment le foie et les reins. Cette amélioration est due probablement à l'effet inhibiteur de ces composés contre la l'accumulation de ce pesticide (MURRAY, 1995). Donc, les deux extraits diminuent l'effet néfaste de pesticide sur ces organes et donc diminuent leur poids relatifs. (KEERTHI, 2014 et MIGUEL, 2010).

En ce qui concerne le poumon, Je n'ai pas remarqué aucun effet du pesticide ni de les extraits aqueuse de la plante sur le poids relatif.

Concernant les paramètres biochimiques, les taux très élevés des enzymes sériques TGO, TGP, PAL, γ -GT sont des bio-indicateurs de l'endommagement des cellules hépatiques (SING et al, 1998). Dans notre étude on montre une augmentation de façon très hautement significative de l'activité des transaminases (TGO, TGP) et les concentrations sériques de γ -GT ($p \leq 0.001$) chez les lots exposés au métribuzine par rapport au lot témoin. Ces résultats sont en accord avec l'étude de (MERZOUK et al., 2013), qui a montré une augmentation de l'activité des transaminases plasmatiques (TGO et TGP) chez des ratte exposées à la métribuzine. On peut expliquer ces résultats probablement par l'effet cytotoxique de la métribuzine sur les cellules hépatiques et myocardique. En effet, les transaminases sont des enzymes essentielles de la cytolysse (KARAA., ET LABAYLE, 2008), ils sont actives essentiellement dans le foie le cœur et les muscles. elles passent dans le sérum en cas de cytolysse de ces organes (DESCROIX et al, 2014).

En effet, selon (ROUSSEAU, 1978) l'élévation de la concentration sérique de la γ -GT est un bon indicateur de l'atteinte des cellules épithéliales des canaux biliaires. Cette enzyme microsomiale est un marqueur de cholestase hépatique

Après la consommation des extraits bruts de la plante étudiée *Astragalus gombo* (feuilles et racines), et le médicament (Vitamine E) on observe une diminution du taux de TGO, TGP et γ -GT (surtout le groupe qui administre l'extrait de feuilles et le médicament) dans le sang par rapport aux animaux exposés au pesticide seule. Cette diminution est due à l'effet protecteur de l'extrait aqueux de la plante grâce à leurs composés phénoliques notamment les flavonoïdes (AKTHER et al., 2013)

En tenant compte du retour très précoce à la normale du taux de TGP par rapport à celui de la TGO, nous pouvons déduire que l'extrait aqueux exerce une action réparatrice plus

précoce sur le cytoplasme que sur les organites cellulaires (localisation essentielle de la TGO) (BOUTLELIS, 2014).

En outre La phosphatase alcaline (PAL) est responsable de la dégradation des esters de phosphate en plus, elle est utilisée comme indicateur de l'état des voies d'absorption et de transport dans la membrane cellulaire. les résultats montrent une augmentation ($P < 0,001$) de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans le plasma des rattees recevant le métribuzine puisse être due à l'augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique ou à la nécrose cellulaire, montrant l'état d'un stress dans l'animal. L'augmentation de l'activité de PAL chez les rattees provoqué par le métribuzine est en accord avec les conclusions rapportées par (El Missiry et Othman (1993), Patil et *al.* (2008), Garg et *al.* (2009a), El-Fakharany et *al.* (2011) et ElDemerdash et *al.* (2012)). D'autres études ont aussi montré l'augmentation de l'activité de PAL suite à l'exposition aux insecticides carbamates, comme le carbofuran (Pach et *al.*, 1998 ; Brkia et *al.*, 2008)

En revanche, notre résultats montrent que le traitement des rattees par les deux extrait et par la vitamine E notent une légère diminution l'activité enzymatique des PAL par rapport aux rattees exposées au pesticide, ce qui signifie que ces molécules il n'a pas beaucoup impact sur la diminution de taux de cette paramètre

En ce qui concerne les marqueurs de la fonction rénale, les résultats obtenus montrent clairement que le métribuzine affecte sur la fonction excrétrice des reins, révélée par l'augmentation significative des niveaux de l'urée et la créatinine sanguine, ces résultats sont en d'accord avec l'étude (D'EL-DAMATY et *al.*, 2012), qui présentent une augmentation significative de l'urée et la créatinine dans le sérum de rattees, sous traitement au dose en pesticides. La créatinine est un métabolite de la créatine, qui dans le muscle squelettique est phosphorylée en créatine phosphate, un composé riche en énergie libre (BOSSUYT, et BOEYNAEMS, 2001). elle est un déchet métabolique azoté, produit terminal du catabolisme de la créatine musculaire. L'urée est un catabolite des acides aminés produit par les hépatocytes. sa production est donc dépendante du fonctionnement hépatique et du catabolisme des protéines. On considère que la filtration glomérulaire est le mécanisme essentiel de l'élimination de la créatinine et de l'urée (MAUREY, 2005). Ceux-ci ont montré une augmentation de la créatinine et l'urée par différents types de pesticides avec une altération de la fonction rénale. un taux élevé de ces produits dans le sang, peut être traduit par d'un dysfonctionnement rénal du à la présence d'une néphropathie caractérisée par une réduction de la filtration glomérulaire (EL-NEKEETY et *al.* 2009)

En revanche, le traitement des rattes par les deux extraits et le vitamine E conduit à restauré la fonction rénale (surtout le extrait de racines de plante et le médicament) c'était pour ces matériaux effet protecteur a été reflété par la diminution des concentrations sériques de l'urée et créatinine chez les rattes traitées par ces molécules par rapport aux rattes exposées au métribuzine. Cela explique la capacité de ces molécules à protéger contre les dommages rénaux induits par le les pesticides.

L'augmentation des teneurs sériques en glucose chez les groupes traités par la métribuzine. Ceci peut être expliquée par le grand catabolisme du glycogène hépatique (KUMAR et RAJINI, 2009). D'ailleurs, plusieurs études ont montré, quand un organisme est exposé à des substances toxiques et les réactions émotionnelles dans le système limbique actif l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Ce dernier stimule l'hypophyse pour libérer l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) qui est un activateur de glandes surrénales pour la production et la sécrétion de cortisol dans le sang (POURRAMZANZIDESARAEI, MET *al*, 2013). Le cortisol a de nombreuses actions dont certaines conduisent à l'élévation de la glycémie (JACOTOT, et CAMPILLO, 2003). Ce qui expliquer le plus probable les résultats de glycémie. Ces résultats sont en accord avec d'autres utilisant d'autres pesticides (KUMAR et RAJINI, 2009; KSHEERASAGAR et KALIWAL, 2006).

En effet, le traitement des rattes avec les extraits (feuilles et racines) et le vitamine E ont diminuer les concentrations sériques de glycémie (surtout le groupe traitée par les racines et le médicament) mais on observe un augmentation remarquable très clairement de la glycémie sanguine chez le groupe traitée par le feuilles de plante ceux-ci pourrait expliquer non déconseillée cette plante pour les diabétiques (FETROW et AVILA, 1999) parce que cette partie de la plante très riche en polysaccharide(CHOUNNA, 2017)

L'effet de la métribuzine sur les paramètres de stress oxydatif présente une augmentation de la concentration de MDA tissulaire dans tous les organes étudiés à l'exception de poumon. ces résultats sont comparables avec l'étude de (CHIALIF, 2014),qui montre une augmentation de la concentration de MDA tissulaire chez des rattes exposées au métribuzine. Ce qui indique une diminution des antioxydants qui jouent un rôle très importants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique (VERTUANI et *al*, 2004).

La métribuzine est capable d'induire un stress oxydatif intracellulaire (MEDJDOUB et *al*, 2011), il est important de savoir que l'oxydation des lipides rendent les membranes plus rigides aboutissant au développement de beaucoup de processus pathologiques (DAS et *al*, 2004 ; LEVIN et *al*, 1990). Ces résultats aussi peuvent être expliquer par l'accumulation des

radicaux libres, générés par la métribuzine le tous se traduit par une peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques et rénaux.

Par contre les rattes traités par le médicament et les extraits aqueux de la plante étudiée qui contient des composés chémoprotecteurs cellulaires pourvus d'un pouvoir antiperoxydant (SELAMI et BOUKHEZZA, 2014). Ces composés pourrait empêcher l'altération induite par la métribuzine et jouant un rôle important dans la prévention des complications due par la peroxydation lipidique, aussi utilisée contre l'effet délétère des radicaux libres. Sur un modèle *in vivo* (souris), l'administration de l'extrait d'*Astragalus* diminuée de façon significative la teneur de malondialdéhyde (MDA) dans le foie (YAN *et al.*, 2010). Tout cela explique le maintien de MDA à ses niveaux cytosoliques normales dans les organes étudiés. Cette réparation est nettement observée chez les rattes traités par les feuilles et le médicament.

D'autre part on observe une diminution significative de l'activité de GSH tissulaire au niveau du foie, reins et poumon chez les rattes exposées au métribuzine. Le glutathion réduit (GSH) est le principal agent antioxydant non enzymatique intracellulaire (JACOB, 2007). qui possède la capacité de désintoxication où semble leur rôle dans la protection cellulaire du stress oxydatif (SCHWAB, 2011). Le GSH présente l'état majoritaire de glutathion dans les cellules, une augmentation de la forme oxydée (GSSG) de glutathion réduit (GSH) indique la présence d'un état de stress oxydatif (PELLETIER *et al.*, 2004). La transformation de glutathion oxydé en glutathion réduit est fait par la glutathion réductase (GR) dans une étude, la diminution du taux de GSH chez les rattes allaitantes et leur progéniture peut-être la conséquence de son utilisation accrue par les cellules pour piéger les radicaux (AOUACHERI, 2009)

En conséquence le traitement des rattes par les extraits aqueux d'*Astragalus gombo* et par le médicament a empêché la diminution de GSH chez les groupe exposée au pesticide et traitée par les extraits de plant et le médicament c'est-à-dire au lieu que les radicaux libres produits par le métribuzine se neutralisent par le GSH ils vont plutôt être captés par les composés phénoliques en maintenant ainsi le taux normal de glutathion cellulaire ce qui en accord avec les travaux de (YAN *et al.*, 2010).

Les enzymes antioxydantes (comme le CAT) limitent les effets des molécules oxydantes dans les tissus et jouent un rôle dans la défense contre les dommages oxydatifs cellulaires étant piègeurs de radicaux libres (GUTTERIDGE, 1995). Il constituent mutuellement une équipe de soutien de défense contre les ROS (AHMED *et al.*, 2008 ; SOUDANI *et al.*, 2011). Ont montré de notre résultats l'augmentation d'activité enzymatique de catalase dans tous les tissus chez les rattes expose au métribuzine par

rapport des rattes témoin. Ces résultats en désaccord avec plusieurs auteurs qui ont testé l'effet de certains types de pesticides entraînant l'augmentation de l'activité de la catalase chez les animaux, en raison de l'existence de ces pesticides dans l'organisme et par la suite stimulant la défense antioxydant enzymatique (SANKAR et al, 2012; SRIVASTAVA et al, 2012; ABOUL-SOUD et al , 2011; CAMPOS-PEREIRA et al, 2012; DATTA et al, 2010). Aussi L'activité élevée de la catalase est une réponse adaptative contre la génération augmentée des radicaux libres produit par le metribuzine (KONER et al, 1998)

Au cours de notre étude nos résultats montre que le *Astragalus gombo* (soit les partie arienne(feuille) ou souterraine) et aussi le médicament administré en association avec le pesticide présente une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) ont maintenu l'équilibre de la balance antioxydant/ prooxydant des cellules des tous tissus étudié . Cet équilibre est maintenu sous l'effet de l'action antioxydant de la plante contre les RL cela indique l'interférence des composés phénoliques de cette plante dans la capture des radicaux libres on note le retour progressif de la catalase à son gamme normale d'accord avec les travaux (AOUACHERI ,2009 et AHMED , 2015)

Afin de confirmer la toxicité de pesticide et l'effet thérapeutique de la plant au niveau tissulaire, j'ai réalisé de coupe histologique sur le foie, chez les rattes témoins et chez les rattes expérimentaux l'examen histologique est conçu dans le but de compléter notre résultats précédents où je note que la, metribuzine a induit des modifications structurales remarquables (l'apparition des nécroses et un infiltrat cellulaire inflammatoire) ces dommages pourraient être dus probablement à la génération de radicaux réactifs et à la peroxydation lipidique.

Cependant, le traitement par le plante avec les deux extraies (feuille et racine) et par le vitamine E (témoin positif) au groupe exposé aux métribuzine a entraîné une amélioration remarquable de tissu hépatique surtout le groupe traitée par le feuille de plant par réparation les lésions issues de pesticide, donc l'extrait aqueux d'*Astragalus gombo* possède une propriété hépatoprotectrice due à la présence d'antioxydants fournit des effets protecteurs significatifs peut être utilisé comme agent hépatoprotecteur et antioxydant pour le traitement des troubles du foie.(CHOUANNA, 2017).

*Conclusion générale
et perspective*

Conclusion générale et perspective

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Le présent travail a été pour l'objectif étudié des activités biologiques d' espèce végétale (*Astragalus gombo* : feuilles et racines), l' activité antioxydante in vitro par la méthode de DPPH et in vivo sur rattes de type *Wistar albinos* exposée à metrabazine afin de valoriser l'effet phytothérapeutique de la plante et l' activité antibactérienne vis-à-vis quatre souches bactériennes.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que les analyses qualitatives et quantitatives de la plante montrent que l'extrait aqueux de la partie aérienne et sous terrainne d'*Astragalus gombo* a mis en évidence les métabolites secondaires suivants : Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Terpènes, Saponines, polyphénols et sucres réducteurs dans les deux extraits (feuilles et racines) ce qui pourrait représenter une nouvelle source potentielle des molécules bioactives qui ont un important effet thérapeutique.

L'activité antioxydante des extraits de d'*Astragalus gombo* a été évaluée par méthodes de piégeage de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l' extrait des feuilles possèdent une activité antioxydante très importante par rapport à ceux des racines, grâce à leur constituants (composés polyphénoliques).

L'évolution l'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes (*Salmonella enterica ssp .Arizonae CIP 81-3*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, et *Escherichia coli ATCC 25922 gram négatif*) et(*Listeria innocua CLIP 74915gram positif*), selon la méthode de diffusion sur disque, les résultats montrent clairement que les substances naturelles (feuilles d'*Astragalus gombo*) sont capables d'inhiber la croissance bactérienne.

L'étude in vivo de l'effet de cette plante vis-à-vis le pesticide (métribuzine) provoque une amélioration de poids relatif de foie et reins et induit une importante restauration de certains paramètres biochimiques.

En effet, le traitement par les deux extraits d' *Astragalus gombo* diminue l'état de stress oxydant induit par l'exposition au métribuzine qui induit une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydants en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique, rénale et pulmonaire.

Enfin, les analyses histopathologiques viennent à confirmer les résultats obtenus, c'est bien que l'analyse tissulaire réalisée au niveau des foies des rattes traitées et non traitées par la plante permet de montrer que les deux extraits de plants et surtout l'extrait des feuilles possède une activité antioxydante et provoque une protection contre la nécrose et l'inflammation hépatique.

Perspective

D'après les résultats obtenus on peut dire que ce travail nécessite d'autres études et connaissance approfondies sur :

- L'identification des substances chimiques par des méthodes chromatographiques telles que le CCM, HPLC, CPGMS.....
- Utiliser autre test pour évaluer l'activité antioxydante: FRAP, hémolyse, Caroténoïdes...
- Approfondir les travaux et élargir le spectre d'étude pour connaître la dose toxique de l'extrait aqueux d' *Astragalus gombo*.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. **Abston, P.A., Yarbrough, J.D. (1976).** The in vivo effects of Mirex on soluble hepatic enzymes in the rat. *Pesti. Biochem. Physiol.*, 6: 192-199.
2. **Aissaoui A., (2013).** Evaluation du niveau de contamination des eaux de barrage de hummam Grouz de la région de Oued Atmania (wilaya de Mila) par les activités agricoles, mémoire de magistère, P: 26-28-29.
3. **Akther, N., Shawl, A.S., Sarwat, S. , Chandan, B.K., Akhter M.(2013).** Hepatoprotective activity of Marrubium vulgare against paracetamol induced toxicity. *journal of pharmacy research* (7).565-570.
4. **Alaoui . J. (1981).** Contribution à l'étude des principales plantes toxiques chez les animaux domestiques au sahara. Thèse Doctorat Vétérinaire I. A. V. Hassan II, Rabat. Maroc.
5. **Ali-Shtayeh, MS., Yaghmour, RM-R., Faidi, YR., Salem, K., Al-Nuri, MA.(1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of ethnopharmacology*, 60,265-271.
6. **Allane, T. (2009).** Etudes de pouvoirs antioxydant et antibactérien des quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires. Thèse de magister en génie alimentaire, Université M' hamed bougara, Boumerdes.
7. **Alpas H., Berkowicz S. M., Ermakova I. , 2011.** Environmental Security and Ecoterrorism. Ed. Springer Science & Business Media, Russia. 187p.
8. **Amadou D., (2013).** Diagnostic des pratiques d'utilisation et quantification des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar (Seeegal), Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale, P: 29, 31,
9. **Aruoma IO.(1998).** Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 75, 199–212.
10. **Asquith T.N. & Butler, L.G., (1986).** Interaction of condensed tannins with selected protochemistry. Vol. 25(7): 1591-1593.
11. **Attou .A. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de magister." *Produits naturels : Activités biologiques et synthèses*". Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. P 93.

12. **Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. (2000).** Bacteriologie clinique. 2^{ème} édition Marketing, paris. Pages 148-280.
13. **Awoyinka, O.A., Balogun, I.O. & Ogunnowo, A.A . (2007).** Phytochemical screening and in vitro bioactivity of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *J. Med. Plant. Res.* Vol. 1(3) : 063-065.
14. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* 46: 1086-1089.
15. **Bao X., Yuan H., Wang C., Liu J. and Lan M., (2013).** Antitumor and immunomodulatory activities flavonoids of from *Artemisia argyi*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 98: 1236-1243.
16. **Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. Inserm UMR-S490, 22, 266-272.
17. **Barreca D., Bellocchio E., Caristi C., Leuzzi U., Kumquat G.G., (2011).** *Fortunella japonica* Swingle juice : Flavonoid distribution and antioxidant properties. *Food Research International*. Vol. (44): 2190-2197.
18. **Benbrinis S., (2012).** Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Thèse de Magister en biochimie. Université Ferhat Abbas-Sétif. Algérie. 84p.
19. **Benhamou N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen, Algérie
20. **Berge p, Gaillard J, Simonet M (1989).** Les bactéries des infections humaines .1 : 100-101-102-123-236-274.
21. **Bergogne-Berezin, E., et Dellamonica, P. (1995).** Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. Masson, Paris. Cité par Harar, A.N. (2012).
22. **Bohm B. A. (1999).** Introduction to flavonoids. CRC Press. England.
23. **Boozar, C.N., Nasser, J.A. & Heymsfield, S.B. (2001).** An herbal supplement containing ma-huang-guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. *international journal obesity relat metab disord.* 25: 316–324.
24. **Bossuyt X., Boeynaems J.-M., (2001).** Repères en diagnostic de laboratoire. Ed. Garant, Belgique. 463p.

25. **Boudjouref M., (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p.
26. **Bouhadjera K., (2005).** Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse de Doctorat en chimie organique appliqué. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 143 p.
27. **Boumlik Mssaili(1995).** Botanique :systématique des spermaphytes.Edi.Ben Aknoun-Alger.91p.
28. **Boussahel S., (2011).**Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Thèse de Magister en Biologie et Physiologie végétale. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 86 P.
29. **Boutlelis, D. A.(2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de Doctorat en Biologie végétale . Université Badji Mokhtar ANNABA, Algérie. 114 p.
30. **Bouزيد W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C Et Ayachi A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Aubepine monogyne*. *Lebanese Science Journal*. Vol. (12): 59-69.
31. **Burk, R.F. (2002).**Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care*. Vol. 5: 47-49.
32. **Butterfield, D.A., Pocernich, C.B. & DRAKE, J. (2002).** Elevated glutathione as atherapeutic strategy in Alzheimer's disease. *Drug. Disc.Res*. Vol. 56: 428-37.
33. **Calixto, J. B. (2005).** Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America personal view. *Journal of Ethnopharmacology* p: 100, 131 – 134.
34. **Calvet R., Barriuso E., Benoit B., Bedos C., Charnay K., et Coquet Y., (2005).**
Les pesticides dans le sol: Conséquences agronomiques et environnementales,
Paris: Editions France Agricoles, P: 637, 255, 25,272.
35. **Carpenter S.B., Smith N.D., (1975).** Stomatal distribution and size in southern Appalachian hardwoods. *Canadian Journal of Botany*. Vol. (53): 1153–1156.
36. **Chehma A (2006)** . Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Edi. Dar El Houda, Uni d'Ouargla.140p

37. **Chenni M., (2010).** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie. 138 p.
38. **Chouana . T. (2017).** Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo* bunge.p1-5.
39. **Colegate S. M., Petter Dorling P. R. Et Hux Table C. R (1985).** The Isolation and determination of a toxic principe from, swansona canescens. *Biochem. J.*, 191 : 649-651p.
40. **Collier, A., Wilson, R., Bredley, H., Thomson, J.A., Small, M. (1992).** Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabet Med*;7:27-30.
41. **Cowan M. J. (1999).** Plants products as microbial agents. *Clin microbiol rev*, , 12: 564-582.
42. **Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM. (2002).** Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Mol Life Sci.*; 59:627–47.
43. **Dasgupta N., De B., (2007).** Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: a comparative study. *Food Chem.* 101:471 – 474.
44. **Deaton, C.M., Marlin, D.J. (2003).** Exercise-associated oxidative stress, *Clinical Techniques in Equine Practice*. Vol. 2(3): 278 -291.
45. **Delattre J, Thérond P, Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris : Lavoisier : 281-309.
46. **Delattre, J., Beaudeau, J L.& Bonnefont, R., (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Ed. Lavoisier, Paris. p 587.des galegea. Ecole Nationale Forestière des Ingénieurs. Salé. Maroc.
47. **Descroix, V., Fortin, T., Fricain, J.C. (2014).** Analysesbiologiques d'intérêtenodontologie : Prescrire et interpréter pour les pathologies générales et lésions de lamuqueuses buccale. Ed. Editions CdP, Paris. 104p.
48. **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanova E., Hamdaoui M., Fattouch S., (2010).**Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric Food Chem.* Vol. (59): 402-406.

49. **Didrak M.(1999).** antimicrobial activities of the extracts of various plants (Valex, Mimosa bark, Gallnut pownders, Salvia sp, and Phlomis sp). *Journal of biology*. 23: 241-248.
50. **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna A., Stocker C., Vidal N., (2005).**Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*. Vol. (97): 654–660. Doctorat en Biologie végétale Université Badji Mokhtar ANNABA, Algérie. 114 p.
51. **Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S., Kukic J., (2007).**Antimicrobial, antiinflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol*. Vol. (109): 458-463. édition,Edi.Elsevier Masson SAS , Espagne.300p.
52. **Dupont F Et Guignard J.L , (2012).** Botanique :les familles de plantes, 15eme édition,Edi.Elsevier Masson SAS , Espagne.300p.
53. **El-Damaty El-S. M. A., Farrag A.-R. H., Rowayshed G. Et Fahmy H. M., (2012).** Biochemical and Histopathological Effects of Systemic Pesticides on Some Functional. *Journal of Applied Sciences Research*. Vol. (11): 5459-5469.
54. **El-Nekeety, A.A., El-Kady, A.A., Soliman, M.S., Hassan, N.S. & Abdel-Wahhab, M.A. (2009) .**Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9). doi: 10.1016/j.fct.2009.06.019.
55. **El Mrabet K., Charlet P., (2008).** Les pesticides. Laboratoire National de métrologie et d'Essai „LNE“, Janvier 2008. France.
56. **Emara AM et Draz EI (2007).** Immunotoxicological study of one of the most common overthe-counter pyrethroid insecticide products in Egypt. *Inhalation Toxicology* 19(12): 9971009.
57. **Essawi T. Et Srour M., (2000).**Screening Of Some Palestinian Medicinal Plants For Antibacterial Activity. *J. Ethnopharm*. 70 : 343-349.
58. **Euzeby J. P. (2000).** Bactériologie Vétérinaire : Les Listeria. [En ligne]. Créé le : 25 Juin 2000. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html>. (Consulté le 25 Avril 2010).
59. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 106-115.
60. **Favier, M. & Hininger-Favier, I. (2005).** Zinc et grossesse. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité* .Vol. 33(4):253-258.

61. Ferrari R.C., Ceconi, S., Curello, A., Cargnoni, O., Alfieri, A., Pardini, P., Marzollo, O. Visioli., (1991).Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents. Am J Med. Vol. 91(3):95-105.
62. Fetrow, C. W. & Avila, J. R. (1999). Complementary & Alternative Medicines. Springhouse: Pennsylvania. P. 24. France-Paris.
63. Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., (2005). Composés phénoliques des végétaux unexemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.
64. Fournier J., Vedove A.D., et Morin C., (2002). formulation des produits phytosanitaires. In pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture.
65. Francois Ramade (2008) . Dictionnaire encyclopédique des science de la nature et de la biodiversité . Dunod, Paris, 737p.
66. Gao X.P, Zhao W.X, Zhang Z.L, (2001).Effect of huang qizengmian powder on interstitial response in patients with oesophageal cancer at peri-operational period. Vol 2: 3-171p.
67. Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat, UJF.198p.
68. Gardes-Albert, M., Font-Rousselot, D.B., Abedinzadeh, Z. & Jore D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. L'actualité chimique: 91 96.
69. Gatin C.L.(1965) . Dictionnaire de botanique.Edi. Kraus Reprint ,Paris, 847p.
70. Geoff . B ,Et Al., (2003). Botanica :encyclopédie de botanique et d'horticulture. Edi. place de victoires,Paris.1020p.
71. Ghabrier, J.Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1, France.
72. Goudable, J. & Favier, A . (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition clinique et metabolisme. Vol.11(2): 115-120.
73. Groussard C ;Machefer G ; Rannou F ; Faure H ; Cillard J ; Gratas-Delamarche A.(2003). Effet d'un exercice de sprint de 30 s sur le statut antioxydant plasmatique Effect of a 30s sprint exercise on plasma non-enzymatic antioxidant status. Science & Sports ;18 : 108–110.

74. **Gueye P. M .(2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. thèse pour le doctorat Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur , Strasbourg.
75. **Guezoul O., Chenchouni H., Sekour M., Ababsa L., Souttou K. Et Doumandji S., (2013).**An avifaunal survey of mesic manmade ecosystems "Oases" in algerian hot-hyperarid lands, Saudi Journal of Biological Sciences 20, pp37-43.
76. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier C et Chapelle J.P. (2007).**Le stress oxydant. Service de Biologie clinique, 62(10), 628-638.
77. **Halliwell, B. (1996).**Antioxidants in human health and disease. Annu.Rev Nutr.Vol. 16:33-50.
78. **Hammiche V(1995).** Morphologie et systématique.Edi. Ben Aknoun-Alger.190p.
79. **Harborne J.B. and Williams C.A.(2000).** Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry; 55: 481-504.
80. **Harrar A.E.N., (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.73 p.
81. **Hassen Teyet ; Olfa Houta;Wahiba Douki ; Mehamed Neffati.(2012).** Composition chimique et activité antioxydant de l'huile essentielle d'Astragalus gombo collecte à partir de deux site de la Tunis, Journal de la société chimique de Tunisie, vol 14, 63p.
82. **Heded ,M ; Aref ,M. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).51 -56P.
83. **Hellal Z., (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*: Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister." Biochimie appliquée et Biotechnologies". Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p. 16-17.
84. **Hercegovà A., dÖmÖtÖrova M., et Matisovà E. J., Chrom A., (2007).** 1153 54-73.
85. **INSERM, 2013- Pesticides: Effets Sur La Santé. Ed. Les Editions Inserm, Paris. 1001p.** 45- **JACOB L., 2007.** L'insuffisance rénale aiguë. Ed. Springer Science & Business Media, France. 344p.
86. **ISERIN P(2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres , 336p.
87. **Jacotot, B., Campillo, B. (2003).** Nutrition humaine. Ed. Elsevier Masson, Paris. 311p.
88. **Jadot, G. (1994).** Antioxydant et vieillissement. Ed, John Libbey Eurotext: Paris.

89. **Jassim S.A., Naji M.A. (2003).** Novell Antiviral Agents: A Medicinal Plant Perspective. Appl. Microbiol. 95 (3) : 412-27.
90. **Johandiez E., Maire R., (1932).**Catalogue des plantes du Maroc .Tome 2.
91. **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P.F (2002) .**Botanique Systématique: Une Perspective Phylogénétique.1ère Edition,Edi.Renne, Paris,467p.
92. **Justen U., Knuthsen P., Leth T. (1998).** Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection.Journal of Chromatography A.
93. **K. Bouhadjra (2011).** étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
94. **Kadota, T., Okuna, Kohdo, H., Mtyamoto, J. (1976).** Mammalian toxicological study of permethin, 3 phenoxy benzyl ($\pm$) atrans -2, 2- dimethyl-3-(2, 2 dichlorovinyl) - cyclopropane -1- carboxylate. Botyukgoku, 41: 143-151.
95. **Kanoun K., (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister en Biologie. Université aboubekr belkaid -Tlemcen. Algérie.110 p.
96. **Karaa, A., Labayle, D., (2008).** Pathologies digestives et soins infirmiers. Ed: 5. Wolters Kluwer France, Paris. 223p.
97. **Kaufmann, S.H.E. (1997).** Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer; R.G. Landes, New York; Austin. Cité par Harar, A.N. (2012).
98. **Keerthi, M., Prasanna, J., Aruna, M. et Rao, N. (2014).**Review on polyphenols as nature's gift world. Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, 3 (4): 445-455
99. **Kholkhal, F., Lazouni, H.A., Bendahou, M., Boublenza, I., Chabane, S.D., et Chaouch, T. (2013).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *Coloratus*. Afrique science, 9(1), 151-158.
100. **Kholladi M-K., (2005) .** SIG pour le suivi de la remontée des eaux de la wilaya d'El Oued Souf, Congrès internationale en Informatique appliquée CiiA'05 du 19 au 21 Novembre 2005 à Bordj Bou Arreridj, 10 p.

- 101.Kirkman, H.N., Rolfo, M., Ferraris, A.M. & Gaetani, G.F. (1999). Mechanisms of protection of catalase by NADPH .Kinetics and stoichiometry. J Biol Chem. Vol. 274:13908- 13914.
- 102.Koffi N., Beugré K., Guédé N., Dossahoua T., et Laurent A., (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou(Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. Vol. 6, N°2.pp 1 –15
- 103.Koppenol WH. (2001). The Haber-Weiss cycle, 70 years later. *Redox Rep*; 6:229–34.- 2
- 104.Ksheerasagar, R.L., Hiremath, M.B., Kaliwal B.B. (2011). Impairment hepaticbiochemical contents and enzymes activities during carbosulfanintoxicationin albino mice, *Int. Multidisc. Res. J.* 3 (2011) 6–15.
- 105.Kumar, J.A.R., Rajini, P.S. (2009). Reversible hyperglycemia in rats following acuteexposure to acephate, an organophosphorus insecticide: role of gluconeogenesis, *Toxicology* 257 (2009) 40–45
- 106.Lacolley, P. (2007). *Biologie Et Pathologie Du Cœur Et Des Vaisseaux*. Ed. John Libbey Eurotext, Paris. 677p.
- 107.Larpent J. P. (2004). *Listeria*. 3ème édition. Technique et documentation. Londres-ParisNew York. Lavoisier. ISBN : 2- 7430-065769. 227 p.
- 108.Laurence N., (2016). Faire face à la montée de l'antibioresistance. John Libbey EUROTEXT, 15 (4) : 286-9.
- 109.Lauro C;Roli C.(1990).observations and research on an extract of inula viscose.bollettino sosieta Italiana biological Sperrimentale.66:829-834.
- 110.LE K., CHIU F., NG K., (2007). Identification and quantification of antioxidants in Fructuslycii. *Food Chemistry*. Vol. (105): 353-363.
- 111.Lechat P.; Lagiers G.; Rouveix B. ; Vincens M.; Weber S. (1992). *Abrégé de pharmacologie médicale*. 4ème édition Masson M, Paris. P 764.
- 112.Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995). *Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien*. Doin Editeurs, Paris.
- 113.LEI H., WANG B., LI W.P., YANG Y., ZHOU A.W., M.Z(2003) . *Acta Pharmacol.* Sin , 24 : 230-234p
- 114.Leverve, X. (2009) . Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. Vol. 44(5): 219-224
- 115.Leverve, X., Cosnes, J., Erny, P.& Hasselmann, M., (2001). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*.Springer, France. 957p.

116. Li, Y. , Cao, Z. , Zhu, H. & Michael, T.A. (2005). Differential roles of 3H-1,2-dithiole-3-thione-induced glutathione, glutathione s-transferase and aldose reductase in protecting against 4-hydroxy-2-nonenal toxicity in cultured cardiomyocytes . Archives of Biochemistry and Biophysics. Vol. 439(1): 80-90.
117. Lilet. C ; Bourdon. J ; Toma. B ; N Marchal et Balbastre. C (1983) . Bactériologie médicale et vétérinaire- systématique bactérienne ;Edition DOIN : 150-190.
118. Linford, N.J., Schriener, S.E. & Rabinovitch, P.S.(2006). Oxidative Damage and Aging: Spotlight on Mitochondria .Cancer Res. Vol . 66(5): 2497-2499.
119. Louchahi M. R., (2015). Enquête sur les conditions d'utilisation des pesticides en agriculture dans la région centre de l'algérois et la perception des agriculteurs des risques associés à leur utilisation, Ecole des Productions Végétales et des Ressources Génétiques ED-APVRG, P:8-9.
120. Lyons L. et Nambiar D. (2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant. 1ère édition Catie 60p.
121. Macheix, J.J., A. Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed : Technique et documentation. Lavoisier. 10-15.
122. Madigan, M. T., Martinko, J. M. & Parker, J. (1997). Biology of Microorganisms, 8th ed. Prentice Hall Upper Saddle River Press, London, 986 pp
123. Makhloufi., (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie. 136 p.
124. Mamatha B. (2005). Screening of medicinal plants used in Rural Indian Folk medicine for treatment of diarrhea Maurice N. L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris, 1997, p. 12-14.
125. Marc T.; Gerard W.; Denis L (2001). Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. P 426.
126. Martinez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. Biochem.77: 147- 161.
127. Martini M.C ; seiller M .(2006) .actifs et additifs en cosmétologie.
128. Mcfarland j. e., burnside o. c., lebaron h. m., 2011. The Triazine Herbicides. Ed. Elsevier, Hungary. 600p.

129. **Merzouk, H., Chiali, F.Z., Merzouk, S.A., Medjdoub, A., Narce, M. (2013).** Chronic low level Metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Vol. (106): 38-44.
130. **Meyer A., Chrisman J., Costa Moreira J., Koifman S., (2003).** *Environ. Res.*, 93: P: 264-271.
131. **Meziti, A. (2009).** Activité Antioxydant Des Extraits Des Graines De Nigella Sativa L'étude In Vitro Et In Vivo. Mémoire En Magister En Molécules Bioactives, Université El-Haj Lakhdar Batna. P71
132. **Miguel, M.G. (2010).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15: 9252-9287. doi:10.3390/molecules15129252
133. **Milcent R., Chau F., (2003).** Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francois chau EDP. Paris. France. 846p.
134. **Modak B. (2001).** Actividad antibacteriana de flavonoïdes aislados des exudado resinoso de *Heliotropium sinuatum*. Efecto del tipo de estructura. *Bol Soc Quim*: 47(1): 366-421.
135. **Molyneux R. J., James L. F. and Panter K. E., (1985).** Chemistry of toxic constituents of locoweed (*Astragalus* and *Oxytropis*) species. *Plant toxicology* : 266- 276.
136. **Mongens M.(2013).** équences du stress oxydant . thèse pour le doctorat vétérinaire , D'Alfort
137. **Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2009).** Antioxidant assays for plant and food components. *J Agr Food Chem*, 57, 1655 – 1666.
138. **Morgan J., 2001.** Evidence On The Developmental And Reproductive Toxicity Of Metribuzin. Ed. DRAFT, California. 65p.
139. **Morel C. (2007).** Etude de la régulation de la sulfhydryl oxydase QSOX1 et de son implication dans l'apoptose induite par le stress oxydant. Thèse de Doctorat de l'université de Franche Comté.
140. **Morel Y, Barouki R . (1998).** Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Med Sci (Paris)* ; 14 : 713-21.
141. **Murray, M . (1995).** Ephedra. In *The Healing Power of Herbs The Enlightened. Person's Guide to the Wonders of Medicinal Plants*, 2nd edition. Prima Publishing. Chap. 3, PP.214.
142. **Nauciel C. (2005).** ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2ème édition. MASSON, Paris : 83- 85.

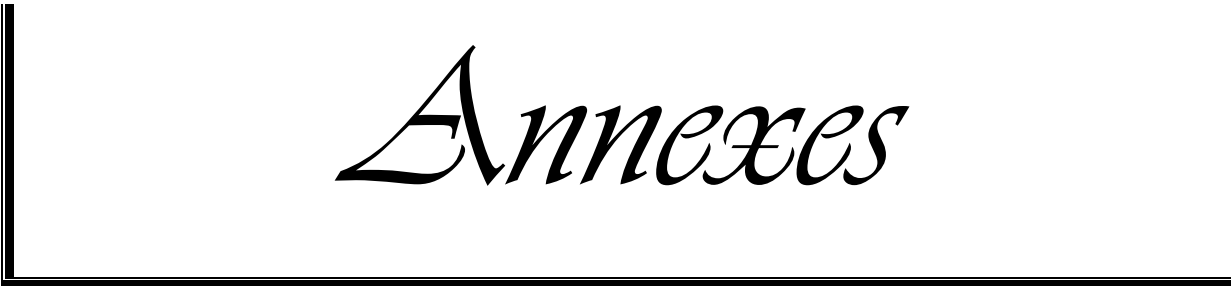
143. Nauciel. C., and Vildé J.L., (2005). Bactériologie médicale. 2ème Ed. Masson, Paris. P: 5,10.
144. Newman, D. J., Cragg, G. M., & Snader, K. M. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Report*, 17, 215 – 234
145. Nicolas, M., et Daniel, C. (1998). Activités technologiques en microbiologie- Techniques de base et méthodologie. *Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux*. Cité par Allane, T. (2009).
146. Okigbo RN, Mbajinka CS, Njoku CO. (2005). Antimicrobial potentials of (UDA) *Xylopi aethopica* and *Occinum gratissimum* L. some pathogenous of man. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.*, 1 (4): 392-7.
147. Okusa Ndjolo P., (2012). Etude phytochimique et activité antimicrobienne directe et indirecte de *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). Thèse de doctorat." Sciences Pharmaceutiques". Université Libre De Bruxelles, P. 26.
148. Oliver JD & Japer JB. *microbiologie*. (1997) . In: Doyle MP, Beuchat LR & Montville TJ. Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers. Washington DC: ASM Press. P.228-264.
149. Ozenda . P(1977) . Flore et végétation du Sahara. 2 ème édition. Edi. CNRS. Paris, 630p.
150. Ozenda P (1958) . Flore du Sahara septentrional et central. Edi. CNRS, Maroc : 298p.
151. Ozenda P(2004) . Flore de Sahara ,2Ed centre nationale de la recherche scientifique, paris, 3000p.
152. Paul G. ,Victor C. ,Pierre C. ,Andre G.,Pierre S (1836) . Le Bon Jardinier
153. Pibiri M., (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale de lausanne. 161p
154. Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002). Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 233-239.
155. Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., et Defraigne, J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5), 7.
156. Piquet MA., et Hébuterne X., (2007). Nutrition en pathologie digestive ; Ed : DOIN ; p: 16,20.

- 157.Pocidalo J-J (1989).** Des infections d'origine microbiennes ou virale. In: Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions LaDécouverte / INSERM / ORSTOM.
- 158. Pohanish r. P., 2012.** Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens. Volume 1. Ed: 6. Elsevier, USA. 3040p.
- 159.Popovici, C., Saykova, I., et Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4, 25-39.
- 160.Pourramzanzidesaraei, M., Mohammadlikhani, M., Saheli, M., Farokhrouz, M., Zamani, A., Abbasian F. (2013).** Determination of the Acute Toxicity of Pretilachlor on Liver and Gill Issues as well as Glucose and Cortisol Levels in Fingerling Grass Carps(Ctenopharyngodonidella). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. Vol. (8): 721-726.
- 161.Powell, S.R. (2000).**The antioxidant properties of zinc. *J. Nutr.* Vol. 130: 1447-1454.
- 162.Puy-Mézier Amicale des jardiniers - septembre (2015).** Les Fabacées, ces légumineuses méconnues !...) p5.
- 163.Quezel P. et Santa S., (1962-1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS Paris. Vol. 1 et 2, 1170 p.
- 164.Raynaud C., (1982) .** Eléments pour une flore pratique du Maroc, légumineuses, tribu des galegea. Ecole Nationale Forestière des Ingénieurs. Salé. Maroc. 152. Rodriguez Cordoba J. M. C., Bustos P. T., Montijano F. J. C. and Estevez M.
- 165.Reichl F.X .(2010).**cuide pratique de toxicologie 2e edition :partietoxicologie spécifique :148- 149.
- 166.Renuka, B., Rajurkar, Z.H. & Govind, T.G. (2003).**Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*.Vol. 85(9): 1355-1360.
- 167.Ribereau-Gayon J., Peynaud E., (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Édition Dunod, Paris. France. 254 p.
- 168.Rios J L.et WATERMAN P G. (1997).** A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus* phototherapy research, Vol 11, PP411-418.

- 169.RIRA M., (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p
- 170.Rocourt J. (2000).** Listeria et Listériose : Position phylogénétique et Classification du genre Listeria .Précis de bactériologie clinique. 46 : 943- 952.
- 171.Rocourt.J. (2002).** Analyse du risque .Listeria monocytogenes dans les aliments prêts à consommer .Cours national d'Hygiène et de Microbiologie des Aliment.IPA Alger. p. 1-62.
- 172.Rossant-Lumbroso, J., Rossant, L. (2016).** Cancer primitif du foie, Encyclopédie médicale.
- 173.Rousseau, P.A.J., (1978).** Intérêt diagnostique du dosage de certains enzymes plasmatiques en pathologie hépatique bovine : Etude bibliographique expérimentale. Thèse de doctorat : vétérinaire. Université Paris-Est Créteil. 89 p.
- 174.SAoudi MOUNA(2007).** Les Bactérie ondulant les légumineuses ; Caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse Astragalus Armatus , Thèse de magister ,Université Mentouri de Constantine ,27.
- 175.Sato M., Tsuchiya H., Takase I., Kureshiro H., Tanigaki S., Iinumam. (1995).** Antibacterial Activity Of Flavanone Isolated From Sophora Exigua Against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus And Its Combination With Antibiotics Phytother Res. 9 : 509-512.
- 176.SELAMI, A; BOUKHEZZA, W. (2014).** Caractérisation Physico-chimique et biochimique de l'Astragalus gombo(Bunge)17, 20 ,3940, p
- 177.Semmar N., Fenet B., Gluchoff-Fiasson K., Comte G., Jay M(2002).**Chem. Pharm. Bull., 50, 981-984p.**Sies, H. (1991).** Oxidative stress. from basic research to clinical application , 91(3), 31- 38.
- 178.Sing, B., Saxena, A.K., Chandan, B.K., Anand, K.K., Suri, O.P., Surisatti, K.A., & Surisatti. (1998).** Hepatoprotective activity of verbenalin on experimental liver damage in rodents. Fitoterapia. (69): 134-140.
- 179.Sorge, O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. Comptes Rendus Biologies. Vol. 327(7): 649-662.
- 180.Taguri T., Tanaka T., Kouno I. (2004).** Antimicrobial Activity Of 10 Different Plant Polyphenols Against Bacteria Causing Food-Borne Disease. Biol. Pharm. Bull. 27 (12) : 1965-1969.

181. Tarazona J. V., Sanz F., (1987) . Aliphatic nitro compounds in *Astragalus lusitanicus* Lam. Vet. Hum. Toxicol., 29 (6) : 437- 439.
182. Tbahriti H.F ; Messaoudi A ; Kaddous A ; Bouchenak M ; Mekki K.(2014). Le degré de l'insuffisance rénale chronique est associé aux taux de cytokines pro-inflammatoires, à l'hyperhomocystéinémie et au stress oxydant. Article de Annales de Cardiologie et d'Angéiologie ;63 : 135–139.
183. Tereschuk M. L., Riera M.V., Castro G.R., Abdala L. R. (1997). Antimicrobial Activity Of Flavonoids From Leaves Of *Tagetes Minuta*. J. Ethnopharmacol. 56 : 227–232
184. Thiebault, C., et Sprumont, P. (2005). Le sport après 50 ans (1^é éd). Université Bruxelles: De boeck.
185. Tlili M. I.(2015). Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional) diplôme de Magister en Biologie Option biochimie et analyse de . université kasdi merbah - ouargla,. 21 p.
186. Trocello, J.M., Chappuis, P., EL Balkhi, S., Poupon, J., Leyendecker, A., Chainea, P. & Woimant, F., (2010). Anomalies du métabolisme du cuivre chez l'adulte. Médecine Interne .Vol. 31: 750-756.
187. Tulsiani D. R. F., Broquist H. P., James L. F. and Touster O., (1985). Biochemical and pathological effects of swainsonine and locoweed in the pig. Arch. Biochem. Biophys., 232 : 76- 79
188. Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G., Wegrzym G., (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* Vol 184 (5): 271-278.
189. Wigley, P. (2004). Genetic resistance to *Salmonella* infection in domestic animals Research in Veterinary Science, 76(3), 165-169. doi:10.1016/S0034-5288(03)00117-6
190. Williams M. C., (1981). Nitro-compound in foreign species of *Astragalus*. Weed.Sci., 29 (3) : 261- 269.
191. Who, (1992). «Our Planet, Our Health; Report of the WHO Commission on Health and Environment, » WHO, Geneva, Switzerland.
192. Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerys R., (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* Vol (105): 940–949.
193. Yadava R.N., Tiwari L. (2005). A Potential Antiviral Flavone Glycoside From The Seeds Of *Butea monosperma*. O. Kuntze. J. Asian. Nat. Prod. Res. 7 (2): 185-188.

- 194. Yin X., Zhang Y., Yu J., Zhang P., Shen J., Qiu J., Wu H., Zhu X(2006).** J. Pharmacol. Sci, 101, 166-173p.
- 195. You, H.J., Kim, J.Y. & Jeong, H.G., (2003).** 17 beta-estradiol increases inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. Biochem Biophys Res Commun. Vol. 303(17): 1129-1134.
- 196. Young A.J., Phillip D., Savill J., (1997).** Carotenoids in higher plant photosynthesis. Ed. M. Pessaraki, Handbook of Photosynthesis, Marcel DekkerInc, New York. USA. Pp 575–596
- 197. Z. Hellal (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- 198. Z. Mohammedi (2005).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et falvonoides de quelques plantes de la région du Tlemcen , Thèse de magistère , Université-Abou Bakr Belkaid-Telemcen .
- 199. Zahar J. P., Moumile K. (2007).** Escherichia coli, définition, épidémiologie des résistances Service de microbiologie hygiène, CHU de Necker Enfants malades..
- 200. Zhang, J., Zhu, W., Zheng, Y., Yang, J. 1. & Zhu, X. (2008).** The antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides cyfluthrin and beta-cyfluthrin. Reprod Toxicol 25(4): 491-6.



Annexes



Figure : Préparation des extraies aqueux d'*Astragales gombo* (photo Originale, 2018)



Figure : phytochimie d'*Astragales gombo* (photo Originale, 2018)



Figure: Injection intrapéritonéale des extraits (photo Originale, 2018)

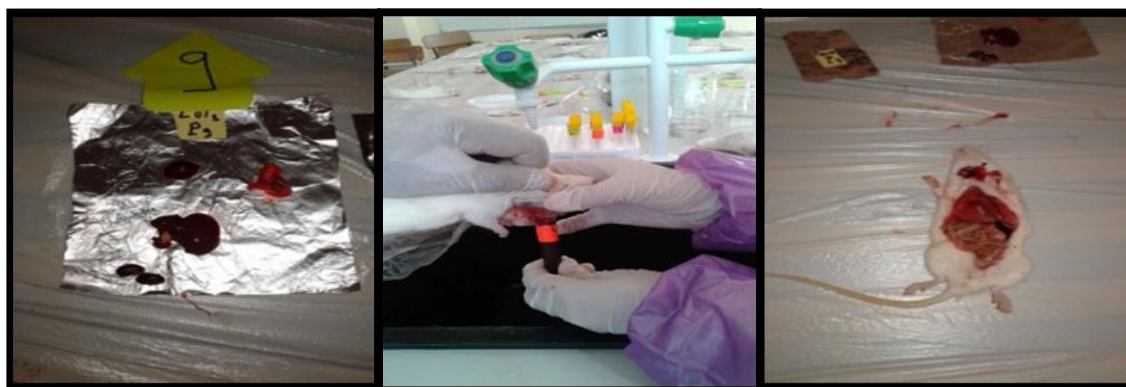


Figure: Sacrifice des rattes et prélèvement les organes (photo Originale,2018)

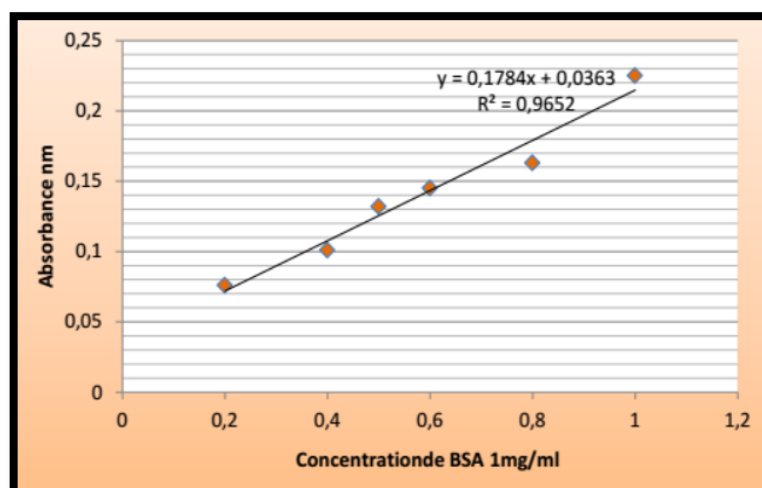


Figure: Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire.
(photo originale, 2018)



Figure: présenté test d'antibiogramme (photo originale,2018)



Figure:Disques de wattmen(photo Originale,2018).



Figure: Bain-marie de type MEMMERT(photo originale, 2018)



Figure: Centrifugeuse horizontale de type SIGMA (photo originale, 2018)



Figure : Evaporateur de type Rotavapor BUCHI Haeting bath R-491 (photo originale).



Figure : Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240 (photo Originale, 2018)



Figure :Autoclave pour stérilisation(photo Originale,201