République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Frères Mentouri-Constantine
Institut des Sciences Vétérinaires
معهد العلوم البيطرية

N° d'ordre :
Série :

THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES VETERINAIRES

SPECIALITE : BIOCHIMIE

OPTION : METHODOLOGIE ANALYTIQUE EN MEDECINE VETERINAIRE

ETUDE DE L'EFFET HEPATO PROTECTEUR DU LAIT ET DES URINES DE CHAMELLE SUR L'EVOLUTION DES HEPATO-TOXICITES D'ORIGINE MEDICAMENTEUSE

Présentée par : Madame BENHIZIA Selma

Soutenue publiquement le 19 / 04 /2022

Membres du Jury :

BERERHI El-Hacene	**Président**	**Professeur**	**Univ. Constantine 1**
ARZOUR- LAKEHAL Nedjoua	**Dir. de thèse**	**Professeur**	**Univ. Constantine 1**
DJERROU Zouhir	**Examinateur**	**Professeur**	**Univ. Skikda**
AYADI Ouarda	**Examinateur**	**MCA**	**Univ. Sétif 1**
BOUDEBZA Assia	**Examinateur**	**MCA**	**Univ. Constantine 1**

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Mes gracieux remerciements s'adressent à ***DIEU***, notre créateur tout puissant qui m'a donné la volonté, la patience et m'a fourni l'énergie nécessaire pour mener à bien ce travail.
Ensuite mes remerciements s'adressent:

- A Monsieur **BERERHI. EL hacene.** Professeur à ISVK Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de jury du mémoire, Hommage respectueux.

- A Mon encadreur madame **ARZOUR-LAKEHAL Nedjoua.** professeure à ISVK
Qui a dirigé ce travail, pour son appui précieux, qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma gratitude.

- A Madame le Docteur **AYADI Ouarda** de l'université de Sétif 1 faculté des sciences et de la nature, pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.
Sincères remerciements.

- A Monsieur le Professeur **DJERROU Zouhir** de l'université 20 Aout 1955 Skikda, faculté des sciences, pour m'avoir fait l'honneur de faire partie du jury.
Je lui adresse mes remerciements les plus vifs et les plus sincères.

-A Madame le docteur **BOUDEBZA Assia** de l'institut des sciences vétérinaires, pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail, hommage respectueux.

-Je tiens à remercier également Docteur ***REBAI Karima*** médecin chef au niveau du SEMEP El Khroub, Constantine, et Docteur ***BOULDJENIB Fayza*** médecin au service d'anatomie-pathologique du CHU Constantine pour la pertinence de leurs conseils et la constance de leur soutien tout au long de ce travail.

DÉDICACES

Je saisis cette occasion pour dédier le fruit de ce modeste travail aux plus chères personnes du monde, à mes parents pour leur soutien inconditionnel, leurs sacrifices, leur tendresse, leur amour infini, ……

À mon très cher mari, *miloud* qui s'est tellement sacrifié pour moi, à celui qui mérite toute ma reconnaissance, que Dieu le protège pour moi. Je lui souhaite une bonne santé et une longue vie Merci infiniment !

À mon très cher fils, *djoud yahya* que Dieu le protège pour moi. Je lui souhaite une bonne santé et une longue vie.

À mon cher frère houssem qui a toujours été serviable
À mes très chères et adorables sœurs, *Imen* *Dana * Nouna * Ikram* Ikram* et yasmine pour l'affection que j'ai reçu d'elles.

À mes neveux mohamed, anes, adem, ilies et a ma belle nièce dana razan

À mes ami(e)s : hanan, sara, moncef, amar, et Brahim

À tous mes collègues de l'Institut des Sciences vétérinaires El Khroub .
À tous mes enseignants du primaire au… post-universitaire.
À toute ma famille.

Table des matières

Introduction 01

Partie bibliographique

Premier chapitre : Le foie et les hépato-toxicités médicamenteuses 04

1. Rappel sur l'anatomie et histologie d'un foie normal 04

1.1. Architecture du foie 04

1.2. Structure microscopique 06

1.2.1. Cellules hépatiques 06

1.2.1.1. Cellules non parenchymateuses 07

1.2.1.2. Hépatocytes 08

2. Fonctions hépatiques 09

2.1. Rôles métaboliques 09

2.2. Métabolisme hépatique des médicaments 12

2.2.1. Biotransformation hépatique 12

2.2.2. Conséquences hépatiques 13

3. Hépato-toxicités médicamenteuses 14

3.1 Tableau clinique et biologique d'hépato-toxicités médicamenteuses 14

3.1. 1. Atteintes hépatiques aiguës 14

3.1.2. Atteintes hépatites chroniques 15

3.2. Exploration hépatique 15

3.2.1. Tests de cytolyse hépatique 15

3.2.2. Examen histologique 17

3.2.3. Exploration de la fonction excréto-biliaire 17

3.2.3.1. Bilirubine 17

3.2.3.2. Acides biliaires 18

3.2.4. Tests d'insuffisance hépatocellulaire 18

3.2.4.1. Protéines plasmatiques 18

3.2.4.2. Albumine 19

3.2.4.3. Lipides 19

3.2.4.4. Urée 19

3.2.4.5. Glucose 19

3.2.4.6. Mesure des temps de coagulation 19

3.2.4.7. Mesure de l'activité de la phosphatase alcaline 19
3.2.5. Imagerie médicale 20
4. Principaux médicaments hépatotoxiques 20
4.1. Hépato-toxicité induite par les xénobiotiques : cas de l'isoniazide et la rifampicine 22
4.1.1. Rifampicine (RMP) 23
4.1.1.1. Pharmacocinétique de la RMP 23
4.1.2. Isoniazide (INH) 24
4.1.2.1. Pharmacocinétique de l'INH 25
4.1.3 Mécanismes d'hépatotoxicité par l'INH et RMP 26
4.1.3.1. Formation des métabolites toxiques 26
4.1.3.2. Stress oxydant 27
4.1.3.3. Interactions médicamenteuses 30
4.1.3.4. Réaction immunitaire 30
5. Critères diagnostiques d'une hépatopathie médicamenteuse 30
5.1. Critères chronologiques 30
5.2. Critères cliniques 31

Deuxième chapitre : Composition et utilisation thérapeutique du lait et des urines de chamelle 33
1. Généralités sur le lait camelin 34
1.1. Caractéristiques organoleptiques et physicochimiques 34
1.1.1. Caractéristiques organoleptiques 34
1.1.2. Caractéristiques physicochimiques 34
1.2. Composition chimique du lait camelin 34
1.2.1Eau 35
1.2.2. Matière grasse 35
1.2.3. Fraction azotée 35
1.2.3.1. Azote protéique 35
1.2.3.1.1. Caséines (CN) 36
1.2.3.2. Protéines sériques 36
1.2.4. Glucides 36
1.2.5. Sels minéraux 36
1.2.6. Vitamines 38
2. Utilisation médicinale et thérapeutique du lait de chamelle 38

2.1. Effet hépato-protecteur du lait de chamelle 38
2.2. Effet anti-infectieux 42
2.3. Effet antimicrobien 42
2.4. Effet anti-oxydant 44
2.5. Effet anticancéreux 44
2.6. Effet antidiabétique 44
2.7. Facteurs stimulants : la vitamine C 44
2.8. Propriétés antiallergiques reconstituantes 45
3. Généralités sur l'urine cameline 45
3.1 Rein du dromadaire 45
3.2. Urine du dromadaire 46
3.2.1. Description et composition 46
3.2.2. Urino-thérapie 47
3.2.2.1. Historique et avantages de l'urino-thérapie 47
3.2.3. Activités biologiques exercées par l'urine de la chamelle 48
3.2.3.1. Effet hépato-protecteur des urines de chamelle 48
3.2.3.2. Effet gastro-protecteur des urines de chamelle 49
3.2.3.3. Activité anticancéreuse 49
3.2.3.4. Activité anti-oxydante 50
3.2.3.5. Activité antifongique 50
3.2.3.6. Activité antibactérienne 50
3.2.3.7. Activité antiplaquettaire 50

Partie expérimentale

Premier Chapitre : Etude Physicochimique, Biochimique Et Microbiologique De Quelques Paramètres Du Lait Et Des Urines De La Chamelle 51
Introduction 51
1. Matériel et méthodes 52
1.1. Matériel biologique 52
1.1.1. Collecte du lait et des urines de chamelle 52
1.2. Appareillage 52
1.3. Méthodes 53
1.3.1. Analyses physicochimiques et biochimiques du lait 54

1.3.1.1. Analyses physicochimiques 54
1.3.1.1.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) 54
1.3.1.1.2. Détermination de la densité de lait 54
1.3.1.1.3. Acidité 54
1.3.1.2. Analyses biochimiques du lait 55
1.3.1.2.1. Dosage de la matière grasse (MG) 55
1.3.1.2.2. Dosage des protéines 55
1.3.1.3. L'examen bactériologique du lait 55
1.3.1.3.1. Préparation des dilutions décimales 56
1.3.1.3.2. Ensemencement et incubation 57
1.3.1.3.3. Dénombrement 58
1.3.2. Analyses physicochimiques et biochimiques des urines 58
1.3.2.1. Analyses physicochimiques 58
1.3.2.1.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) et détermination de la densité des urines 58
1.3.2.2. Analyses biochimiques des urines 59
1.3.2.2.1. Acide urique 59
1.3.2.2.2. Calcium 59
1.3.2.2.3. Phosphore 59
1.3.2.2.4. Magnésium 59
1.3.2.2.5. Fer 59
1.3.3. Examen cytologique des urines 60
1.3.4. Examen bactériologique des urines 60
1.3.5. Test de la cytotoxicité 60
1.3.5.1. Principe de la réaction 60
1.3.5.2. Lecture des résultats 60
1.3.6. Activité anti-oxydante des urines 61
1.3.6.1. Test d'ABTS (2-2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) 61
1.3.6.1.1. Principe 61
1.3.6.1.2. Procédure 61
1.3.6.2. Piégeage du radical libre DPPH (2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 62
1.3.6.2.1. Principe 62
1.3.6.2.2. Mode opératoire 62
2. Résultats et discussion 63

2.1. Résultats des analyses physico-chimiques du lait 63
2.1.1. pH 63
2.1.2. Densité 64
2.1.3. Acidité Dornic du lait camelin 64
2.2. Résultats des analyses biochimiques du lait camelin 65
2.2.1. Teneurs en matière protéique 65
2.2.2. Teneurs en matière grasse 66
2.3. Résultats des analyses microbiologiques du lait camelin 67
2.4. Résultats des analyses physicochimiques et biochimiques des urines de la chamelle 69
2.5. Résultats de l'examen cytobactériologique ECBU des urines de chamelles 69
2.6. Résultats de l'activité anti-oxydante 74
2.6.1. Activité anti-radicalaire: test ABTS 74
2.6.2. Piégeage du radical libre DPPH 75
Conclusion 1 77

Deuxième chapitre : Effet hépato protecteur du lait et des urines de chamelle sur l'hépato toxicité induite par l'association de l'isoniazide et la rifampicine 78

Problématique 78
1. Matériel et méthode 80
1.1. Modèle animal 80
1.2. Préparation du lait et de l'urine de chamelle 80
1.3. Choix du médicament hépatotoxique 80
1.4. Préparation des médicaments 81
1.5. Protocole expérimental 81
1.6. Étapes de l'application de la sonde naso-œsophagienne 82
1.7. Échantillonnage de sang et manipulation des tissus 83
1.8. Examen anatomopathologique 83
1.8.1. Examen macroscopique 83
1.8.2. Examen histo-pathologique 83
1.8.2.1. Fixation 83
1.8.2.2. Circulation 83
1.8.2.3. Inclusion 84
1.8.2.4. Microtomie (réalisation des coupes) 85

1.8.2.5. Déparaffinage et coloration 85
1.8.2.6. Montage 85
1.8.2.7 Observation microscopique 85
1.9. Analyses biochimiques 85
1.9.1. Protéines totales 86
1.9.2. Créatinine 86
1.9. 3. Urée 87
1.9.4. Cholestérol 88
1.9.5. Triglycérides 90
1.9.6. Glucose 90
1.9.7. ASAT (TGO) 91
1.9.8. ALAT (TGP) 91
1.9.9. Bilirubine totale 91
1.10. Analyses statistiques 92
2. Résultats et discussion 92
2.1. Résultats du questionnaire 92
2.2. Résultats et discussion des analyses biochimiques 94
2.2.1. Variation des bio-marqueurs de la fonction hépatique (PAL, ALAT, ASAT, Bilirubine) 96
2.2.2. Variation des marqueurs de la fonction rénale (urée, créatinine) 101
2.2.3. Variation des taux plasmatiques du cholestérol et triglycérides 103
2.2.4. Variation des taux plasmatiques du glucose, protéines totales 105
2.3. Résultats et discussion de l'analyse anatomo-pathologique 107
2.3.1. Variation du poids corporel et hépatique 107
2.3.2. Variation macroscopique et histologique du foie 110
2.3.2.1. Variation macroscopique du foie 110
2.3.2.2. Variation histologique du foie 112
Conclusion 2 118
Conclusion générale et perspectives 119
Résumés 121
Références bibliographiques 124
Publication
Annexes

Liste des tableaux

N°	Tableaux	Pages
01	Abondances des différents types cellulaires hépatiques	**06**
02	Principales fonctions du foie	**09**
03	Liste de quelques médicaments hépatotoxiques	**21**
04	Critères cliniques positifs et négatifs	**31**
05	Teneur des minéraux (mg/ml) du lait de chamelle	**37**
06	Composition minérale du lait de chamelle, en comparaison avec celle du lait de vache	**37**
07	Rétrospective d'études montrant l'effet hépato-protecteur du lait de chamelle	**38**
08	Composition des urines de chamelle	**46**
09	Conditions de culture	**57**
10	Résultats des analyses physicochimiques des échantillons du lait	**63**
11	Résultats des analyses physicochimiques des échantillons du lait	**65**
12	Résultats des analyses microbiologiques des échantillons du lait	**67**
13	Résultats des analyses physicochimiques et biochimiques des échantillons des urines de chamelle	**70**
14	Pourcentage d'inhibions des urines des chamelles contre le radical libre DPPH.	**74**
15	Pourcentage d'inhibions des urines des chamelles (test ABTS)	**75**
16	Protocole expérimental	**82**
17	Protocole du dosage des protéines totales	**86**
18	Kit créatinine	**87**
19	Kit urée	**88**
20	Protocole du dosage de l'urée	**88**
21	Kit cholestérol	**89**
22	Moyenne et écart-type des paramètres biochimiques	**95**
23	Moyenne et écart-type des enzymes hépatiques et la bilirubine	**95**
24	Modifications du poids corporel et du poids du foie dans les groupes témoins et expérimentaux	**107**
25	Scores morphologique globaux du foie de différents groupes expérimentaux	**110**

Liste des figures

N°	Figures	Pages
01	Structure lobulaire normale du foie (Natter, 2004)	05
02	Organisation structurale du foie: lobule et acinus (Stevens; Lowe, 2006)	05
03	Les cellules hépatiques (Anonyme 1)	07
04	Représentation schématique de la structure histologique du foie (Monfort, 2016)	08
05	Coupe fine d'inclusion en paraffine colorée a l'Hemalun Eosine d'hépatocytes en microscopie optique (Stevens ; Lowe, 1993).	09
06	Mode d'action des antituberculeux (Van Vooren, 2010).	25
07	Métabolisme hépatique de l'isoniazide (Teixeira *et al.* 2013)	27
08	Origine des différents radicaux libres impliqués en biologie (Sahnoun *et al*, 1998).	29
09	Réactions en chaine de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).	29
10	Protocol expérimental	53
11	Protocole expérimental des analyses microbiologiques	56
12	Méthodes de dilution et d'ensemencement (Bezzalla et Gouttaya, 2013)	57
13	Forme libre et réduite du DPPH (Alam *et al*., 2013).	62
14	Pourcentage des patients qui ont présenté une toxicité hépatique suite à un traitement anti bacillaire (année 2016/2017)	92
15	Pourcentage de femmes et hommes qui ont présenté une toxicité hépatique suite à un traitement anti bacillaire (année 2016/2017)	93
16	Pourcentage du type de la tuberculose (année 2016/2017)	93
17	Délais d'apparition d'une toxicité hépatique après début du traitement	93
18, 19	Variation plasmatique de la phosphatase alcaline et de la bilirubine	100
20	Variation plasmatique de TGO (ASAT)	101
21	Variation plasmatique de TGP (ALAT)	101
22	Variation plasmatique de la créatinine	102
23	Variation plasmatique de l'urée	103

24	Variation plasmatique du cholestérol	105
25	Variation plasmatique des triglycérides	105
26	Variation plasmatique du glucose	106
27	Variation plasmatique des protéines totales	107
28-29	Poids corporel initial et final du groupe contrôle (CN) et groupe intoxiqué (RI)	108
30-31	Poids corporel initial et final du groupe RIL et RIU respectivement	108
32	Poids corporel initial et final du groupe RILU	108
33	Variation du poids du foie dans les différents groupes	109

Liste des Photos

N°	Photos	Pages
01	Bandelette de test pour analyse d'urine URS-10	A
02	Mindray chemistry analyzer BS- 300	A
03	Batterie expérimentale (Photo personnelle)	C
04-05	Préparation des médicaments d'induction d'hépato toxicité	C
06-07	Application d'une sonde naso-œsophagienne (photos personnelles)	D
08	Automate de traitement des tissus	84
09	Moules	D
10	Bac de paraffine fondue	D
11	Plaque de refroidissement	D
12	Station d'inclusion	D
13	Foie des lapines du groupe 1	111
14	Foie des lapines du groupe 2	111
15	Foies des lapines des groupes 1 et 2	111
16-17	Foies des lapines des groupes 3 et 4	112
18	Foie des lapines du groupe 5	112
19	Architecture normale du foie : Lapines du groupe 1 contrôle.	114
20	Cholestase : Lapines du groupe 02.	114
21	Clarification du cytoplasme et stéatose microvisiculaire : Lapines du groupe 02.	115
22	Présence de corps de councilman et binucleation : Lapines du groupe 02.	115
23	Portite et infiltrat lympho-plasmocytaire : Lapines du groupe 02.	116
24	Architecture restaurée du foie : Lapines du groupe 03.	116
25	Stéatose microvisiculaire discrète : Lapines du groupe 04.	117
26	Architecture restaurée du foie : Lapines du groupe 05.	117
27/28	Site du prélèvement du lait et des urines: Outaya , Droue (Biskra)	G
29	Microplaque résultat du test DPPH et ABTS	Q

Liste des abréviations

1O2 : Anion superoxyde

A : Absorbance

ABTS : L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Ac: Absorbance du contrôle.

ADP : Adénosine diphosphate

ALAT : Alanine Aminotransferase

ANOVA : Analyse de la variance

APAP : Acétaminophène

ARN : Acide ribonucléique

ASAT : Aspartate Aminotransferase

At: Absorbance d'extrait ou standard.

ATP : Adénosine triphosphate

BHA : Hydroxyanisol butylé

BHT : Butylhydroxytoluène

BL : Bactéries lactiques

BNC : Bilirubine non conjuguée

CAL : Standard (éthalon)

CAT : Catalase

CB : Canalicule biliaire

CCl4 : Tétra chlorure de carbone

CHOL : Cholestérol

CHU : Centre hospitalier universitaire

CK : Créatine kinase

CN : Contrôle normal

CRBT : Centre de recherche et de biotechnologie

CREA : Créatinine

CS : Capillaire sinusoïde

CUPRAC: Reducing antioxydant capacity

CYP : Cytochromes P450

D° : Dégrée Dornic

DDPH : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

D-GalN: La galactosamine

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ECBU : Examen cytobactériologique des urines de chamelle

EC50 (IC50) : Concentration Inhibitrice à 50 %

EMB : éthambutol

FAMT : Flore aérobie mésophile totale

FDA : Food & Drug Administration aux USA

FIC : Face intercellulaire

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

g/L : gramme par litre

GGT : la gamma-glutamyltranspeptidase

GLU : Glucose

GPO : glycérol phosphatase oxydase

GST : Glutathion transférase

H: hépatocyte

H2O : Molécule d'eau

H2O2 : le peroxyde d'hydrogène

HCl : L'acide chlorhydrique

HDL : High Density Lipoproteins

HK : Hexokinase

IL : Interleukine

INH : isoniazide

ITELV : l'Institut Technique des Elevages

katG : le gène de la catalase-peroxydase mycobactérienne

Kg : Kilogramme

LDL : Low Density Lipoprotein

LMG : Listeria monocytogenes

LPS : Les lipopolysaccharides

MG : Matière grasse

mmol/L : millimole par litre

MTB : Mycobacterium tuberculosis

NAT : N-acétyltransférases

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide H

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate H

OMS : organisation mondiale de santé

ONOOH : Nitro peroxyde

PAL : la phosphatase alcaline

PF : poids final

pH : potentiel d'hydrogène

PI : poids initial

Pt : protéines totales

PZA : pyrazinamide

RBP : Retinol binding protein

RI : Rifampicine- isoniazide

RIL : Rifampicine- isoniazide lait

RILU : Rifampicine- isoniazide lait urine

RIU : Rifampicine- isoniazide urine

RMP : Rifampicine

RNS : Espèces réactives de l'azote

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SGOT : Transaminase glutamique oxaloacétique

SGPT : Transaminase glutamique pyruvique

SOD : Superoxyde dismutase

SOR : Superoxyde réductase

TB : La tuberculose

TBP : La tuberculose pulmonaire

TEP : Tuberculose extra-pulmonaire

TG : Triglycéride

TGO : Oxaloacétate de glutamate

TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique

TNF : Facteur de la nécrose tissulaire

UFC/mL : Unité formant colonie par mililitre

UI/L : Unité internationale par litre

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

INTRODUCTION

Introduction générale

L'aphorisme de CLAUDE BERNARD « Tous les médicaments sont en définitive des poisons, ils n'en diffèrent que par l'intensité moins grande de leur action », reste encore vrai. Aucun médicament ne peut être formellement exclu de cette liste **(Mamadou, 2008).**

Chacun a chez soi des médicaments de première urgence ou destinés à soigner les petits maux de tous les jours. Cependant, le fait de pouvoir s'en remettre à soi-même pour se soigner banalise l'emploi des médicaments de la pharmacie familiale et peut faire oublier qu'il y a des précautions à prendre avec tout médicament, sans exception. L'utilisation d'un médicament, aussi courant soit-il, n'est jamais anodine, et comporte toujours des risques potentiels.

En Algérie, l'automédication est une pratique très répondu malgré le danger de l'ingestion des médicaments d'une manière anarchique.

Le foie est l'un des organes majeurs du corps animal et humain, en taille, mais surtout de par la large étendue de ses fonctions.

En effet, il joue un rôle important dans la digestion, et dans l'épuration de nombreuses molécules endogènes et exogènes dont l'accumulation pourrait être toxique pour l'organisme, il est donc la principale cible de la toxicité**.**

Les hépatites médicamenteuses sont un défi pour le clinicien en raison de la difficulté de leur diagnostic et des conséquences de la poursuite d'un traitement susceptible d'aggraver des lésions aiguës ou d'aboutir au développement de lésions chroniques **(Christian, 1998).**

La gravité de ces lésions varie d'une modification non spécifique mineure dans la structure hépatique, à une insuffisance hépatique, cirrhose et parfois au cancer du foie **(Moul El Bab, 2009)**. C'est pour cette raison qu'elles représentent la première cause de retrait du marché d'un médicament **(Michel, 2000).**

Les formes aiguës en sont la principale manifestation, représentant plus de 90 % des cas, plus rarement, il s'agit d'atteintes chroniques.

Souvent, l'atteinte ne se manifeste que par une augmentation modérée des transaminases, principalement l'alanine aminotransferase (ALAT) ou des phosphatases alcalines (PAL). Elle peut disparaitre malgré la poursuite du traitement, signant un phénomène d'adaptation de l'organisme au médicament, sans gravité **(Pessayre et *al.*, 1999 ; Biour et *al.*, 2011).**

L'hépatite médicamenteuse peut s'associer à des signes cliniques souvent peu spécifiques comme une fatigue, des troubles digestifs ou de façon plus sévère, un ictère **(Larrey, 2013).**

Plus de 1 200 médicaments sont répertoriés comme hépatotoxiques, auxquels il faut ajouter des plantes médicinales et des produits toxiques **(Larrey, 2013).**

L'Isoniazide et la Rifampicine, médicaments de première intention utilisés pour la chimiothérapie antituberculeuse, sont très fréquemment associés à une hépato toxicité**.**

Cette toxicité est souvent due à la transformation des médicaments en métabolites réactifs ou radicaux libres toxiques, surtout par les cytochromes P450 hépatiques (CYP). Habituellement, ces métabolites sont détoxifiés par divers systèmes de protection, en particulier la conjugaison au glutathion et les époxydes hydrolases. Quand ces mécanismes sont insuffisants ou dépassés, l'accumulation de métabolites toxiques entrainent des lésions moléculaires et cellulaires aboutissant à une atteinte mitochondriale, une apoptose et/ou une nécrose cellulaire et des réactions immunes toxicologiques **(Larrey, 2013).**

Le renforcement de système de détoxification nécessite l'utilisation de molécules anti oxydantes d'origine végétale ou animale y compris le lait et l'urine de chamelle.

Le lait de chamelle est considéré comme un aliment complet et peut être consommé exclusivement, car répondant à tous les besoins nutritionnels. Le lait de chamelle est différent des autres laits de ruminants ; il possède un faible taux de cholestérol et de sucres, une teneur élevée en lactoferrine et en minéraux (sodium, potassium, fer, cuivre, zinc et magnésium), une teneur élevée en vitamine C, B2, A et E **(Mohamed et *al*., 2011).**

Cette haute teneur en vitamine C peut être jusqu'à 10 fois supérieure à celle du lait de vache **(Konuspayeva et *al*., 2010).** De plus, le lait de chamelle peut être conservé à température ambiante plus longtemps que le lait des autres animaux **(Thnaian et *al*., 2013).**

Les tests de laboratoire ont indiqué que l'urine de chamelle contient des niveaux élevés de potassium, ainsi que d'albumine et de magnésium, et de petites quantités d'acide urique, de sodium et de créatinine **(Konuspayeva et *al*., 2010).**

Les effets anti-tumoral, antimicrobien, et antioxydant du lait et des urines de chamelle sont les utilisations les plus étudiées **(Abdul Rahman et *al*., 2016).**

A notre connaissance, les variations des paramètres biochimiques tels que les biomarqueurs hépatiques et rénaux liés à l'utilisation hépato protectrice du lait et des urines de chamelle ont été peu étudiées.

L'objectif principal de la présente étude est de montrer l'effet protecteur du lait et des urines de chamelle contre la toxicité hépatique d'origine médicamenteuse.

Ce manuscrit est composé de deux parties principales :

- Une revue bibliographique composée de deux chapitres : le premier chapitre est consacré à l'étude des principales fonctions hépatiques, aux principaux médicaments hépatotoxiques et aux modalités du diagnostic des hépatotoxicités et d'exploration hépatique. Le second est consacré à l'étude de la composition biochimique ainsi qu'aux effets biologiques du lait et des urines de la chamelle.
- Une partie expérimentale répartie en deux autres chapitres :

  Le premier chapitre porte sur les études physico-chimique, biochimique et microbiologique du lait et des urines de chamelle.

  Le deuxième chapitre traite l'effet hépatoprotecteur du lait et des urines de chamelle sur l'hépatotoxicité induite par l'association de l'Isoniazide et de la Rifampicine.

  Chaque chapitre décrit les matériels et méthodes utilisés lors de l'expérimentation, expose les résultats obtenus et la discussion de ces derniers avec des arguments statistiques soutenus par des travaux antérieurs, récents, réalisés de par le monde.

  Ce travail est finalement clôturé par une conclusion générale, les travaux en perspectives seront également proposés.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Premier chapitre

Le foie et les hépato-toxicités médicamenteuses

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à l'étude des principales fonctions hépatiques, aux principaux médicaments hépatotoxiques, à l'exploration hépatique, et aux modalités du diagnostic des hépatotoxicités.

1. Rappel sur l'anatomie et histologie d'un foie normal

Le foie est la glande la plus volumineuse du tube digestif. Il est situé dans la partie supérieure et droite de la cavité abdominale **(Bouchet et Cillert, 1983).** Il a des fonctions métaboliques complexes et indispensables à la vie **(Casing et Veilhan, 2008).**

Le foie est constitué de cellules hépatiques (hépatocytes) organisées en travées sinusoïdes **(Jakson *et al*., 1995**).

1.1. Architecture du foie

Pendant des années, le lobule hépatique été considéré comme l'unité structurale du foie. Ce lobule hépatique possède une forme schématiquement hexagonale et il est centré sur une veinule hépatique terminale appelée veinule centrolobulaire **(Figure 1)**. Les angles de cet hexagone correspondent aux espaces interlobulaires ou espaces portes, constitués de tissu conjonctif. Le lobule hépatique est donc divisé en zone centrolobulaire, zone intermédiaire (ou mediolobulaire) et zone periportale (ou perilobulaire).

Le parenchyme hépatique est constitué par des cordons cellulaires : les travées de Remak, anastomosées et constituées habituellement d'une seule couche cellulaire. Ces travées sont à disposition radiée et sont situées entre les capillaires sinusoïdes. Un réseau abondant de fibres de réticuline, anastomosées, formant une sorte de grillage, se trouve autour des travées de Remak. Entre les membranes plasmatiques des hépatocytes adjacents passent de fins canaux sans paroi propre appelés canalicules biliaires qui véhiculent la bile sécrétée par les hépatocytes **(Jakson *et al*., 1995 ; Bari *et al*., 2010 ; Baghriche, 2011).**

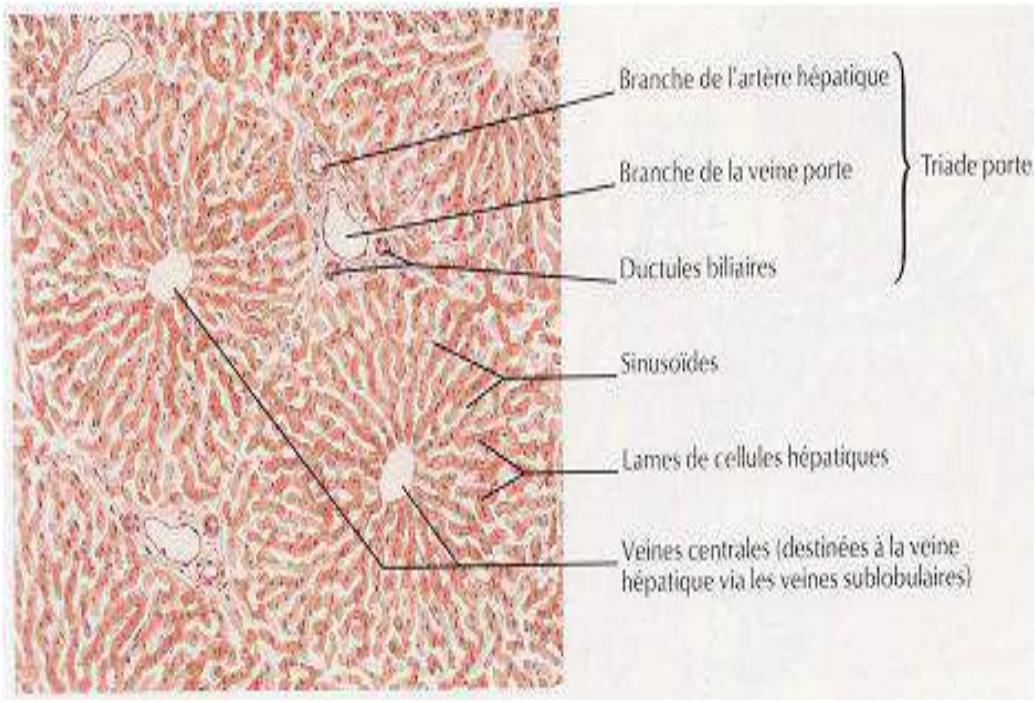


Figure 01. Structure lobulaire normale du foie **(Natter, 2004)**

En parallèle, la conception architecturale de rapport propose de considérer l'acinus hépatique **(Figure 02)** comme l'unité structurale fonctionnelle du foie au lieu du lobule hépatique.

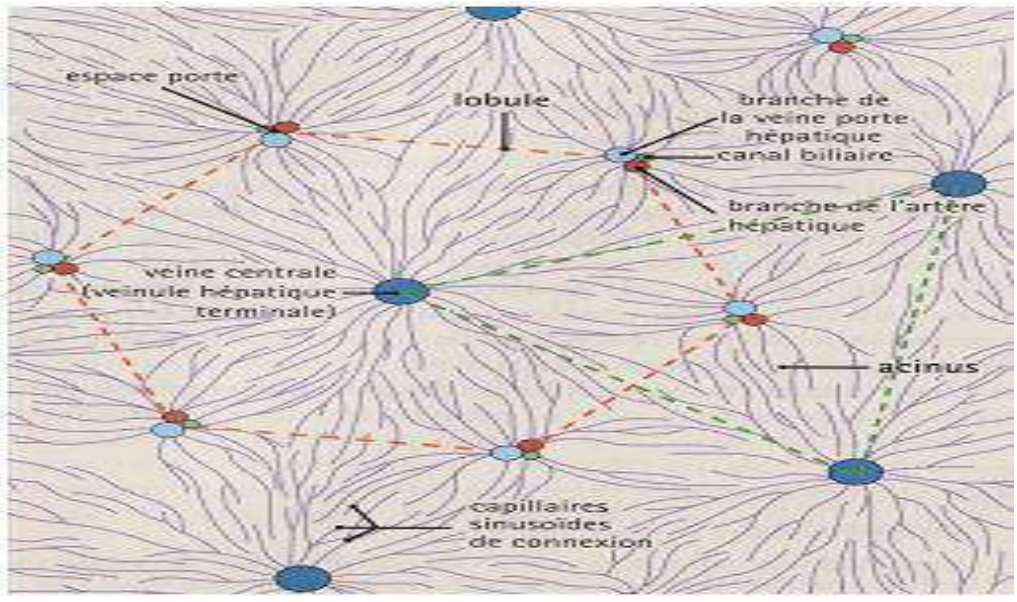


Figure 02. Organisation structurale du foie: lobule et acinus **(Stevens et Lowe, 2006)**

Si le centre du lobule hépatique est la veine centrale, l'acinus hépatique est centré sur l'espace porte **(Figure 02)**. De forme sénilement triangulaire en coupe transversale, il est délimité par

trois veines centrales et se divise en trois zones arciformes comportant des hépatocytes **(Stevens et Lowe, 2006).**

Le foie est irrigué par deux circulations sanguines afférentes et d'une simple vascularisation efférente **(Valette et De Baere, 2002 ; Natter, 2004 ; Castaing et Veilhan, 2006).**

L'artère hépatique provenant des branches du tronc cœliaque issu de l'aorte approvisionne le foie en sang oxygéné aux structures non parenchymateuses, notamment aux conduits intra hépatiques **(Natter, 2004).**

La veine porte fournit 75 % à 80 % du sang au foie qui est destiné au parenchyme hépatique (hépatocytes). Il contient 40 % d'oxygène de plus que le sang qui retourne au cœur par le circuit systémique. Ce sang provient du tube digestif.

Après leur entrée dans le foie par le hile, ces deux vaisseaux se ramifient de manière répétée, leurs branches terminales cheminent dans les espaces portes pour se déverser dans les sinusoïdes où le sang artériel se mélange avec le sang du système veineux porte. Ces sinusoïdes sont drainées par des rameaux veineux des veines sus-hépatiques, qui rejoignent la veine cave caudale et constituent l'unique vascularisation efférente **(Natter, 2004).**

1.2. Structure microscopique

1.2.1. Les cellules hépatiques

Le foie est doté de cellules parenchymateuses, les hépatocytes et de quatre types cellulaires non parenchymateux lui conférant une hétérogénéité cellulaire **(Tableau 1).**

Tableau 1. Abondances des différents types cellulaires hépatiques **(Benhamou et Erlinger, 2008).**

Type cellulaire	Nombre (%)	Volume (%)
Hépatocytes	60-65	78
Cellules endothéliales	15-20	2,8
Cellules de Kuppfer	8-12	2,1
Cellule de Ito	3-8	1,4
"Pit cell"	<2	–

1.2.1.1. Les cellules non parenchymateuses

Différents types de cellules hépatiques contribuent à la régulation des fonctions hépatocytaires et réparent les lésions tissulaires **(Figure 03).**

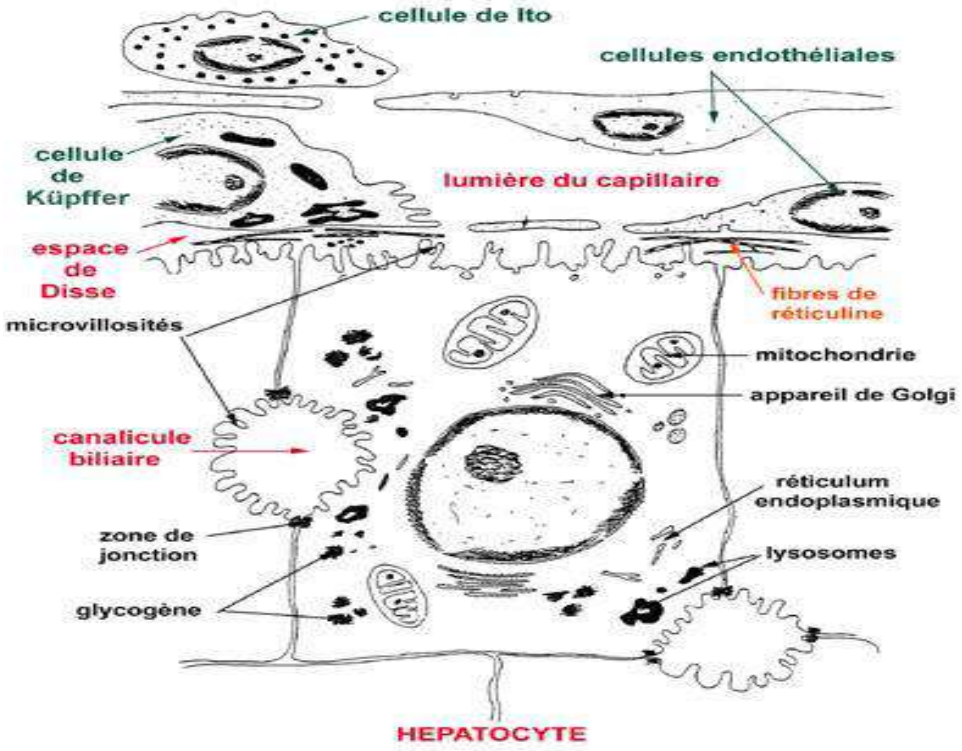


Figure 03. Les cellules hépatiques **(Anonyme 1)**

- **Cellules endothéliales sinusoïdales:** ces cellules bordent la sinusoïde et permettent les échanges de petites molécules entre le sang et les hépatocytes.
- **Cellules kupffer:** (macrophages), ces cellules sécrètent des cytokines et des enzymes lysosomiales.
- **Cellules étoilées ou Ito:** les vacuoles lipidiques du cytoplasme sont riches en vitamine A, 80% de vit A ; différents constituants de la matrice extracellulaire sont synthétisés par ces cellules.
- **Cellules lymphocytes granulaires:** Elles sont impliquées dans la défense antivirale et anti tumorale **(Bouwens et *al*., 1992 ; Benhamou et Erlinger, 2008 ; Ishibashi et *al*., 2009).**

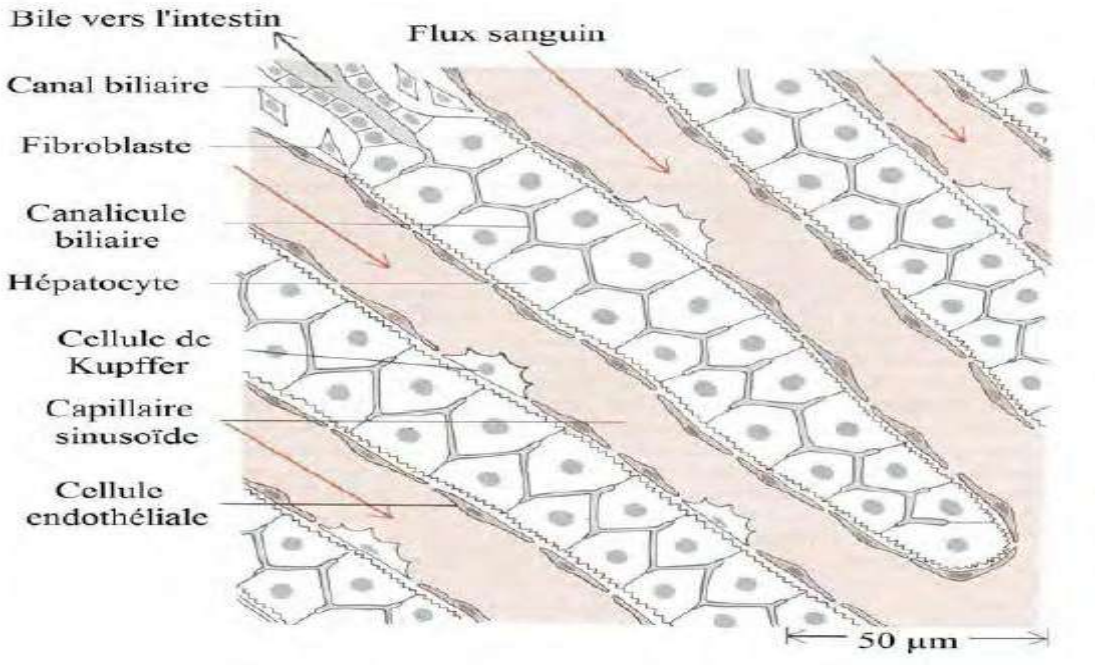


Figure 04. Représentation schématique de la structure histologique du foie **(Monfort, 2016)**

1.2.1.2. Les hépatocytes

Les hépatocytes sont de grandes cellules polyédriques mesurant 20 à 30 µm de diamètre au noyau arrondi dont le nucléole est proéminent et la chromatine dispersée en périphérie **(Figure 05).** La taille des noyaux est très variable, en fonction du nombre de chromosomes de la cellule : il existe en effet des hépatocytes tétraploïdes ou polyploïdes (surtout nombreux chez les rongeurs). Des cellules binucléées (ici encore surtout chez les rongeurs) peuvent également être observées dans le foie normal. Le cytoplasme contient de nombreuses mitochondries, des ribosomes abondants, ainsi que de nombreux granules de glycogène (principalement dans les zones riches en réticulum lisse) et des granules de lipofuscine chez les individus âgés. Des enclaves lipidiques peuvent aussi être rencontrées à l'état normal en région perilobulaire pendant la digestion, également chez la femelle gravide et le jeune animal. Le réticulum endoplasmique lisse se présente sous la forme d'un réseau tubulaire en communication avec le réticulum endoplasmique granuleux lui-même disposé en citernes empilées. La membrane plasmique des hépatocytes présente des microvillosités au voisinage des capillaires, accroissant fortement la surface d'échange entre le sang et le foie, et détermine les canalicules biliaires au contact d'autres hépatocytes. De chaque coté du canalicule, les membranes des deux hépatocytes sont maintenues jointives par un système de jonctions intercellulaires. L'appareil de Golgi est constitué de plusieurs parties à proximité des canalicules biliaires. Les hépatocytes étant disposés en couches unicellulaires, chaque

hépatocyte a donc au moins deux de ses faces en contact avec les capillaires sanguins **(Monfort, 2016).**

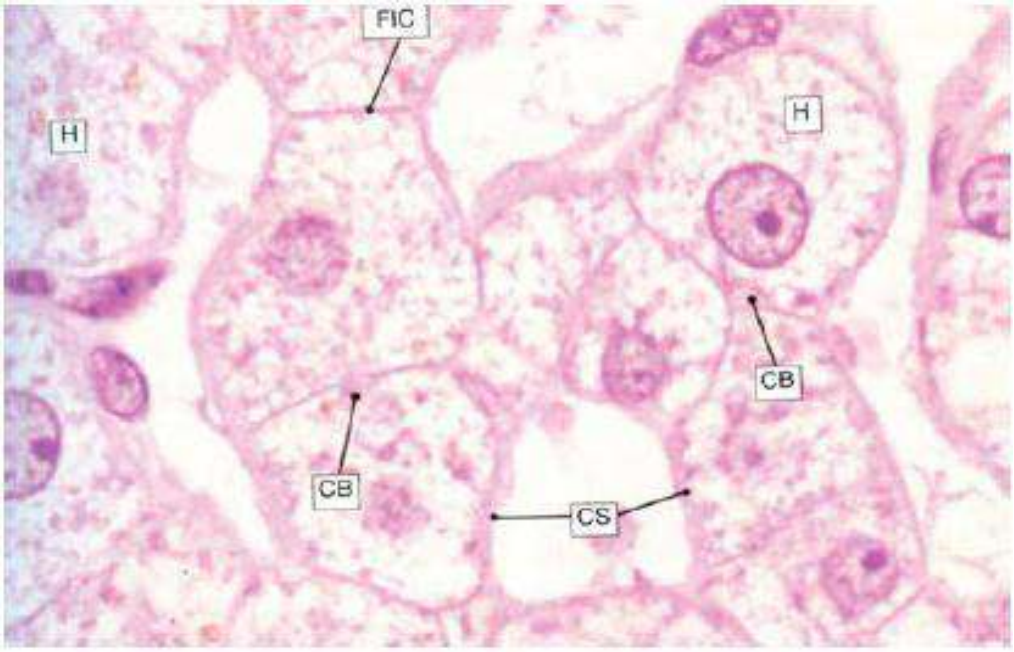


Figure 05. Coupe fine d'inclusion en paraffine colorée à l'Hémalun Eosine d'hépatocytes en microscopie optique **(Stevens et Lowe, 1993)**.
CB : canalicule biliaire, CS : capillaire sinusoïde, FIC : face intercellulaire, H: hépatocyte

2. Les fonctions hépatiques

2.1. Fonctions métaboliques

Le foie est le premier organe traversé par les substances absorbées dans l'intestin: nutriments, vitamines, médicaments et toxiques. Ces substances sont ensuite extraites de la circulation sanguine et pénètrent dans les hépatocytes afin d'y être stockées, métabolisées ou excrétées dans la bile **(Bonnas, 2002 ; Moore et Dalley, 2007 ; Young et *al*., 2008)**.

Les principales fonctions physiologiques sont présentées dans le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2. Principales fonctions du foie

Rôles	**Métabolisme glucidique**	- Le foie possède l'exclusivité de la néoglucogenèse et de l'intégration des oses exogènes (lactose, fructose et mannose) au métabolisme glucidique. - Le foie est un organe majeur dans le contrôle de la glycémie, sous la dépendance des hormones gluco régulatrices, insuline et glucagon.

		- Il possède de grandes capacités de réserve en glucose et maintient donc efficacement l'homéostasie du glucose. L'hypoglycémie est par ailleurs rare lors d'atteinte hépatique, car la glycémie est maintenue constante avec seulement 30 % de parenchyme fonctionnel **(Moore et Dalley, 2007 ; Young et *al.*, 2008 ; Sartor, 2015 ; Monfort, 2016).** Le foie a également un rôle important dans la dégradation de l'insuline et du glucagon ainsi que dans la régulation de l'hormone de croissance **(Maitre et Blicklé, 2008)**
	Métabolisme protéique	- Le foie réalise une grande partie des réactions de transaminations et de désaminations oxydatives. - La créatine musculaire est également synthétisée par le foie avant d'être exportée. - Le foie est le seul organe capable de synthétiser l'urée à partir de l'ammoniac produit par les bactéries intestinales ou issu du catabolisme protéique (80 a 90 % de l'ammoniac parvenant au foie est ainsi transformé en urée, l'ammoniac résiduel étant consommé par la synthèse hépatique de la glutamine). - Cet organe est également le lieu de la synthèse d'un certain nombre de protéines indispensables au métabolisme général, en particulier l'albumine, les apoprotéines, les protéines de transport, l'érythropoïétine inactive, les hétéroprotéines, les enzymes et de la majorité des globulines sériques excepté les immunoglobulines. Le foie produit ainsi 70 à 90 % des α-globulines et 50 % des β-globulines **(Monfort, 2016).**
	Métabolisme lipidique	-Le foie est le siège de la synthèse du cholestérol (synthétise plus de 50 % du cholestérol produit dans l'organisme), des triglycérides et des enzymes capables de capter et d'estérifier les acides gras (lipoprotéine lipase et phospholipase). - L'anabolisme des acides gras est essentiellement réalisé au niveau hépatique

		- Cet organe synthétise également la lipase hépatique, qui hydrolyse les phospholipides de surface présents sur les lipoprotéines et qui favorise les interconversions des différentes classes de HDL (High Density Lipoproteins) et le catabolisme des VLDL (Very Low Density Lipoprotein) en LDL (Low Density Lipoprotein). **(Moore et Dalley, 2007 ; Young et *al*., 2008 ; Monfort, 2016).**
	Cétogenèse	Les corps cétoniques, qui sont les métabolites énergétiques préférentiels de certains tissus périphériques (cœur, cerveau, rein) sont synthétisés uniquement dans le foie à partir de l'acétyl coenzyme A
	Métabolisme des vitamines	Le foie participe au métabolisme des vitamines hydrosolubles en réalisant la synthèse, l'activation et le stockage des vitamines B1, B6, B12, des acides foliques, de l'acide nicotinique et de la riboflavine. Par ailleurs, il participe également au métabolisme des vitamines liposolubles par l'activation, la synthèse et le stockage des vitamines A, D, E et K (la vitamine A étant stockée dans les cellules de Ito encore appelées cellules stellaires). Le foie peut également synthétiser et stocker des protéines qui permettent l'exportation des vitamines comme la RBP (Retinol binding protein) et la préalbumine pour la vitamine A, ou la transcobalamine pour la vitamine B12 **(Monfort, 2016).**
	Métabolisme des minéraux	Le foie intervient dans le stockage des minéraux (notamment le cuivre mais également le fer et le zinc) et dans la synthèse des protéines transporteuses comme la transferrine pour le fer ou la ceruloplasmine pour le cuivre **(Monfort, 2016).**
Fonctions diverses	**Sécrétion biliaire**	Le foie assure la sécrétion de la bile qui intervient dans la digestion des aliments gras et qui sert de véhicule pour l'excrétion de plusieurs métabolites **(Marieb, 2005).**
	Biotransformation de la bilirubine	Dans l'hépatocyte, la bilirubine est conjuguée à l'acide glucuronique par la bilirubine uridine diphosphate glucuronosyltransférase. La bilirubine conjuguée peut être éliminée dans la bile **(Miglani, 2015).**
	Fonction	Le foie est un organe hématopoïétique chez le fœtus. Cette fonction

	hémato-poïétique	d'hématopoïèse extra médullaire peut réapparaitre chez l'adulte dans certains cas pathologiques telles que l'anémie sévère ou la défaillance de la moelle osseuse **(Monfort, 2016).**
	Fonction de régulation endocrine	Le foie participe à la dégradation des hormones polypeptidiques et à la conjugaison, à la dégradation et à l'excrétion des hormones stéroïdiennes. Il synthétise également des protéines de transport pour diverses hormones **(Monfort, 2016).**
	Rôles dans la coagulation	Le foie réalise la synthèse de tous les facteurs de coagulation excepté le facteur VIII et le calcium. Il est donc le lieu de la synthèse de la prothrombine, du fibrinogène, du plasminogène, de l'antithrombine III et des facteurs V, VII, IX, X, XI, XII et XIII. Cet organe est également responsable de l'élimination des facteurs de coagulation active et des enzymes fibrinolytiques de la circulation sanguine. Le foie protège donc l'organisme contre les hémorragies, contre la fibrinolyse excessive et contre la consommation de facteurs de coagulation **(Denninger, 2006).**

2.2. Rôle du foie dans le métabolisme des médicaments

2.2.1. Biotransformation hépatique

Les animaux et l'homme sont entourés d'une multitude de substances organiques ne faisant pas partie des constituants normaux des cellules animales. Ces molécules organiques étrangères doivent être éliminées. Celles qui sont hydrosolubles sont dissoutes dans l'eau des urines ou de la bile, tandis que celles qui sont solubles dans les graisses doivent être d'abord transformées en métabolites hydrosolubles. Certaines molécules sont d'emblée conjugables à de petites molécules très solubles dans l'eau. D'autres molécules étrangères doivent être métabolisées en deux étapes.

- La première étape est catalysée par le cytochrome P-450 ; celui-ci, entre autres, peut hydroxyler la molécule étrangère.

- La deuxième étape est une conjugaison de l'hydroxyle ainsi formé, ces conjugués très hydrosolubles peuvent être éliminés dans les urines ou dans la bile.

Les métabolites ainsi obtenus sont stables, moins toxiques que la molécule mère et plus rapidement éliminés. Dans certains cas, cependant, les métabolites stables peuvent être aussi actifs et même plus actifs que la molécule mère et sont capables de réagir spontanément avec les constituants hépatiques, ils sont dits chimiquement réactifs **(Diquet et Soubrie, 1998 ; Ebelle Lottin, 2007 ; Buyse et *al*., 2007).**

De nombreux médicaments hépatotoxiques sont transformés dans le foie, par le cytochrome P-450, en métabolites réactifs et leur toxicité potentielle est limitée par divers mécanismes de protection :

- Destruction du cytochrome P-450 par le métabolite réactif (auto-limitant ainsi sa propre formation).
- Transformation d'un époxyde réactif en dihydrodiol stable par les époxydes hydrolases.
- Conjugaison du métabolite réactif au glutathion.
- Prévention de la peroxydation lipidique par la vitamine E, la glutathion peroxydase ; le glutathion, et la vitamine C.

Grâce à ces mécanismes de protection, seule une petite partie de métabolite réactif formé va réagir avec les macromolécules hépatiques en se fixant irréversiblement sur les protéines, les lipides insaturés, ou les acides nucléiques **(Michaud et Turgeon, 2002 ; Guéguen et Mouzat, 2006).**

2.2.2. Conséquences hépatiques

La fixation covalente des métabolites toxique peut être à l'origine soit d'une hépatite toxique, soit d'une hépatite immuno-allergique.

Une hépatite toxique est due à la formation abondante de métabolites réactifs qui peut entraîner diverses lésions moléculaires qui vont aboutir à une multitude d'anomalies structurales et fonctionnelles dont l'aboutissement final est une nécrose hépatocytaire. Elle va survenir en deux circonstances :

- Lorsque le médicament est ingéré à dose massive, on parlera d'hépatite toxique aux fortes doses. Le médicament peut être ingéré à des doses usuelles mais provoquer de façon imprévisible une hépatite toxique dite idiosyncrasique. Cette imprédictibilité dépend de nombreux facteurs tels que les facteurs génétiques, physiologiques, nutritionnels et médicamenteux associés.
- Les hépatites immuno-allergiques surviennent lorsque les métabolites réactifs se fixent sur les protéines de la membrane plasmique de l'hépatocyte. Ces protéines ainsi modifiées ne

seront plus reconnues comme faisant partie du soi, entraînant une immunisation contre ces néo-antigènes. Il est probable que des facteurs génétiques interviennent dans la survenue de cette immunisation **(Ebelle Lottin, 2007).**

3. Les hépato-toxicités médicamenteuses

3.1 Tableau clinique et biologique d'hépato-toxicités médicamenteuses

Dans cette partie, nous allons décrire les principales lésions hépatiques rencontrées dans les cas d'intoxication sans préjuger de la nature du toxique incriminé, et envisager les examens complémentaires possibles afin de connaitre la nature et l'étendue des lésions hépatiques.

3.1. 1. Atteintes hépatiques aiguës

Les hépatites aigues sont caractérisées par la fréquence dans le lobule hépatique ou l'espace porte, d'un infiltrat inflammatoire sans fibrose. Cette inflammation aiguë peut s'accompagner de nécrose (hépatite cytolytique), ou de cholestase (hépatite cholestatique), ou encore de nécrose et de cholestase à la fois (hépatite mixte) **(Larrey, 2002).**

Les formes asymptomatiques sont les plus fréquentes. Elles sont reconnues par des anomalies des tests hépatiques (élévation des amino-transférases et/ou des phosphatases alcalines) effectués soit systématiquement, soit devant des symptômes non spécifiques telles qu'une asthénie, des nausées ou des douleurs abdominales **(Larrey, 2002).**

Les hépatites cholestatiques présentent un tableau clinique dominé par une cholestase : prurit, ictère, urines foncées, selles décolorées ; elle est parfois précédée de douleurs abdominales et de fièvre. Il existe une élévation de la bilirubine conjuguée, une forte augmentation des phosphatases alcalines et de la gamma glutamyl transpeptidase, et une augmentation moindre des aminotransférases. L'échographie ne montre pas de dilatation des voies biliaires intra-hépatiques. Après l'arrêt du médicament, la cholestase diminue progressivement : la guérison est complète. Dans certains cas, la régression est lente **(Larrey, 2003).**

Les hépatites cytolytiques présentent un tableau dominé par l'ictère. Nous pouvons aussi avoir une hépatite anictérique avec nausées, douleurs abdominales, asthénie, anorexie et parfois hépatomégalie. Les aminotransférases sont très élevées ; les phosphatases alcalines et la gamma glutamyl transpeptidase sont normales ou modérément élevées. Ces hépatites peuvent évoluer, selon l'étendue de la nécrose vers une forme sévère voire fulminante menaçant la vie du sujet.

Les hépatites mixtes combinent les manifestations cliniques et les anomalies des tests hépatiques des hépatites cholestatiques et cytolytiques.

Il est à noter qu'à côté de ces hépatites précédemment citées nous pouvons également rencontrer les hépatites aigües granulomateusess, les stéatoses et les lésions pseudo-alcooliques et phospholipidoses **(Benhamou, 1986 ; Larrey, 2002 ; Larrey, 2003 ; Larrey, 2005 ; Godeau et *al*., 2004).**

3.1.2. Atteintes hépatiques chroniques

L'utilisation prolongée d'un traitement entraînant une nécrose hépatocytaire peut aboutir à la constitution d'un tableau histologique (fibrose et inflammation portales, nécrose), et clinique (ictère, hépatomégalie, ascite), d'hépatite chronique ou même de cirrhose. Ceci se voit lorsque l'hépatite initialement sub-clinique est longtemps passée inaperçue, ou bien lorsque l'hépatite ayant été décelée, son étiologie médicamenteuse n'ayant pas été reconnue. Dans ce cas, l'activité sérique des transaminases est élevée **(Dhumeaux et Mallat, 1993 ; Ebelle Lottin, 2007 ; Radi, 2018).**

3.2. Exploration hépatique

3.2.1. Tests de cytolyse hépatique

La mesure de l'activité sérique d'enzymes provenant des hépatocytes constitue un test de cytolyse. Le terme cytolyse correspond à l'ensemble des perturbations cellulaires qui conduisent à une augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique, et donc à tous les états de souffrance des hépatocytes.

Les cellules en cytolyse présentent une altération au moins partielle de leur activité métabolique. Au plan tissulaire, par contre, il est possible de ne pas observer des troubles lésionnels, car l'ensemble des cellules n'est généralement pas atteint simultanément et les tissus possèdent, chez l'animal normal, une quantité excédentaire de cellules pour assurer leurs fonctions (on estime que 30 % des cellules du foie suffisent pour assurer un métabolisme normal).

L'augmentation de l'activité sérique des enzymes témoigne de l'existence d'une lésion tissulaire active, c'est-à-dire en cours d'évolution. Ceci est lié au métabolisme très rapide des enzymes sériques. En effet, d'une part, l'augmentation de l'activité sérique de ces enzymes apparait seulement quelques heures après l'atteinte tissulaire, et d'autre part, la demi-vie sérique de ces enzymes est courte (entre quelques heures et quelques jours).

L'alanine et l'aspartate amino-transférases (ALAT et ASAT) sont les enzymes marqueurs de cytolyse hépatique les plus couramment utilisées en pratique.

L'ALAT est présente dans le cytosol des cellules de différents organes mais majoritairement dans les hépatocytes. L'augmentation de l'activité sérique de l'ALAT est typiquement associée à des lésions de la membrane cellulaire et une fuite des enzymes de l'hépatocyte **(Keller, 1981).**

Une augmentation rapide et importante (x10) de son activité plasmatique est en faveur d'une hépatite aigue avec cytolyse. Un accroissement modéré (au moins x2) est plus en faveur d'une affection chronique ou d'une cholestase **(Medaille, 2006).** En terme de pronostic, c'est la cinétique de l'activité de l'ALAT sur plusieurs semaines qui est utile : le retour aux valeurs de base en 2 à 3 semaines dans le cas d'atteintes aigues et brèves est d'un bon pronostic ; la persistance d'une élévation au-delà de 2 mois sans maladies émergentes extra-hépatiques, même sans signes cliniques, est indicatrice d'une lésion nécessitant un diagnostic précis par biopsie du foie.

Chez le lapin, l'activité de l'ALAT dans le foie est moins importante que dans d'autres espèces et est moins spécifique du foie **(Rosenthal, 2000).** Son manque de spécificité et sa demi-vie courte (5h) en font un paramètre d'intérêt limité chez le lapin par rapport au chien **(Varga, 2014).** Cependant, une élévation franche de l'activité de l'ALAT semble tout de même indiquer une atteinte hépatocellulaire. Les processus à l'origine d'une souffrance hépatique peuvent être variés. Ainsi, le dosage de l'activité sérique de l' ALAT permet la mise en évidence de lésions de cytolyse mais ne permet pas de faire une distinction entre ces lésions **(Denys et Furon, 2014).** La demi-vie de l'ALAT étant courte, une augmentation de sa concentration sérique témoigne d'une lésion tissulaire active ou récente.

L'ASAT est présente à la fois dans le foie et dans les muscles cardiaques et squelettiques : de ce fait, une élévation plasmatique de son activité peut être liée à une inflammation musculaire, ce qui peut être confirmé par la mesure de l'activité d'une autre enzyme musculaire, la créatine kinase (CK).

Toutefois, de part sa répartition essentiellement mitochondriale dans les hépatocytes, et de son temps de demi-vie très court, elle est souvent considérée par les cliniciens comme un marqueur fiable de la gravité et de la persistance d'une nécrose hépatique.

De plus, elle augmente modérément lors de cholestase et sous l'action des corticoïdes.

Chez le lapin, une atteinte hépatique (inflammation, néoplasie, nécrose, hypoxie, toxique, traumatisme…) à l'origine d'une cytolyse hépatocellulaire, provoque une libération de

l'ASAT contenue dans les hépatocytes et entraine donc une augmentation de son activité sérique. La biochimie sanguine permet de mettre en évidence une souffrance hépatique, mais ne permet pas d'indiquer l'origine **(Stockham et Scott, 2008 ; Harkness *et al.*, 2010 ; Denys et Furon, 2014 ; Mazelier et Vergneau, 2014).**

Lors d'atteinte hépatique, l'augmentation de la concentration en ASAT est néanmoins moins importante que l'augmentation de l'ALAT. Du fait de sa demi-vie courte, une augmentation de l'ASAT indique une souffrance hépatique active **(Harkness *et al.*, 2010).**

3.2.2. Examen histologique

La biopsie est utile pour le diagnostic et le pronostic lors de pathologie hépatique. L'examen histo-pathologique du foie apporte des informations sur l'origine, la chronicité et le caractère réversible ou non de la maladie. Cependant, la fiabilité des résultats repose sur la qualité et la taille de l'échantillon du foie. Chez l'Homme, des échantillons contenant 6 à 11 triades portales sont recommandés pour assurer une interprétation exacte. Les échantillons avec peu de triades portales ou ceux qui sont déchirés en de multiples morceaux sont considérés comme inadéquats **(Kemp *et al.*, 2015)**. Actuellement, quatre méthodes sont applicables :

- Par voie percutanée, avec une aiguille à biopsie ;
- A travers une petite ouverture faite dans la peau ;
- Par laparoscopie, à l'aide d'un fibroscope rigide et d'une pince à biopsie ;
- Par laparotomie.

Le ou les prélèvements sont ensuite disposés dans des liquides de fixation appropriés : Bouin, formol, etc.

L'examen histologique est également réalisé suite à l'examen nécropsique en cas d'euthanasie, ou de décès naturel de l'animal.

3.2.3. Exploration de la fonction excréto-biliaire

3.2.3.1. La bilirubine

Traditionnellement, la bilirubine est le premier pigment biliaire à être dosé pour évaluer la fonction excréto-biliaire hépatique.

L'hyper bilirubinémie est possible lors d'atteinte hépatique (par défaut de captation, de conjugaison et d'excrétion de la bilirubine libre par les hépatocytes), ou d'atteinte des voies biliaires (hyper-bilirubinémie extra-hépatique par défaut d'écoulement biliaire ou rupture des voies biliaires). On peut également observer une hyper bilirubinémie lors d'hémolyse

importante (hyper bilirubinémie d'origine pré hépatique par augmentation de la fraction non conjuguée de la bilirubine (BNC).

L'hyper bilirubinémie est très fréquente lors d'une atteinte hépatique aigue et moins fréquente lors d'une maladie chronique **(Hernandez, 2008).**

Dans les cas d'insuffisances hépatiques aigues, la bilirubinémie fait partie des outils utilisés pour évaluer la gravité de l'atteinte et donner un pronostic. L'hyper-bilirubinémie dans cette situation est souvent causée par une cholestase intra-hépatique, qui peut être due, dans un contexte de toxicité, à la rupture des jonctions serrées qui séparent les canalicules biliaires du sang ou plus rarement par hypertrophie ou par nécrose hépatocytaire. Gràce à la large capacité de réserve du foie, l'ictère dû à la cholestase intra-hépatique est seulement apparent quand le foie est affecté sévèrement et de manière diffuse **(Weingarten et Sande, 2015).**

3.2.3.2. Les acides biliaires

L'augmentation de leur concentration à jeun est fortement en faveur d'une atteinte hépatique chronique. Toutefois, elle ne permet pas de préciser la nature de l'affection. Les anomalies parenchymateuses, vasculaires ou des voies biliaires peuvent toutes être à l' origine de cette augmentation. De plus, l'ampleur de l'augmentation n'est pas corrélée à l'importance des lésions **(Hernandez, 2008).**

3.2.4. Tests d'insuffisance hépatocellulaire

Dans la majorité des cas, les fonctions du foie peuvent être réalisées seulement par 30 % de la masse hépatique, cela implique qu'une insuffisance n'apparait que lorsque le parenchyme a subi des lésions massives **(Michaux, 2013).**

3.2.4.1. Les protéines plasmatiques

Les protéines totales sont normalement synthétisées à 90 % par les hépatocytes, à l'exception des immunoglobulines qui sont synthétisées par les plasmocytes. Suite à une lésion cellulaire, la capacité de synthèse est réduite et la concentration de ces constituants diminue. La demi-vie des protéines plasmatiques est plus longue que celle des enzymes, et le taux de synthèse nécessaire pour maintenir un taux plasmatique normal est plus bas. Ainsi, une baisse du taux de protéines tend à signifier une lésion chronique ou des dysfonctionnements hépatiques graves (cirrhoses) **(Medaille et Briend- Marchal, 2008).**

3.2.4.2. L'albumine

Une hypo-albuminémie est fréquemment observée lors de cirrhose par exemple. Toutefois, elle n'est pas spécifique de maladies hépatiques puisqu'on peut également l'observer lors d'entéropathies exsudatives, de glomérulopathies ou lors de réactions inflammatoires systémiques **(Hernandez, 2008).**

3.2.4.3. Les lipides

Le foie est le site majeur de synthèse du cholestérol et de sa conversion en acides biliaires. Lors de la plupart des épisodes de cholestase, la synthèse du cholestérol augmente, et résulte en une élévation de sa concentration plasmatique.

Une hypo cholestérolémie est possible dans les cas de cirrhose et d'insuffisance hépatique.

Le dysfonctionnement du métabolisme lipidique dans les affections hépatiques a des conséquences variables et non spécifiques sur les dosages des triglycérides sanguins **(Medaille et Briend-Marchal, 2008).**

3.2.4.4. L'urée

Une hypo-urémie peut être mise en évidence lors d'une atteinte hépatique. Elle découle généralement d'un dysfonctionnement grave du foie affectant le cycle de l'urée. Isolément, une hypo-urémie n'est pas spécifique des maladies hépatiques **(Hernandez, 2008).**

3.2.4.5. Le glucose

L'hypoglycémie est rarement observée lors d'insuffisance hépatique acquise compte tenu de l'efficacité du métabolisme du glucose **(Hernandez, 2008 ; Medaille et Briend-Marchal, 2008).**

3.2.4.6. Mesure des temps de coagulation

Le foie étant l'organe de synthèse et d'activation de la quasi-totalité des facteurs intervenants dans la coagulation, il est fréquent d'observer une anomalie des temps de coagulation (augmentation des temps de Quick, temps de céphaline et kaolin et temps de prothrombine) **(Hernandez, 2008).**

3.2.4.7. Mesure de l'activité de la phosphatase alcaline

Dans la littérature, on observe une grande variation dans les valeurs de référence des phosphatases alcalines chez le lapin selon les auteurs ; 4.1-16.2 UI/L **(Collins, 1988 cité par**

Schmand, 2020), 10-670 UI/L **(Gillet, 1994, cité par Schmand, 2020),** 112-350 UI/L **(Harkness et Wagner, 1995)**. Les différentes méthodes d'analyse peuvent représenter un biais pour les valeurs citées. Dans une autre étude sur les paramètres sanguins en relation avec le métabolisme du calcium, l'équipe de Harcourt-Brown a remarqué que les valeurs de PAL sériques variaient largement sur des animaux apparemment sains (**Harcourt-Brown et Baker, 2001).** Des variations physiologiques tels que l'âge, la race, ou encore l'état physiologique de l'animal (gestation, lactation) influencent la concentration plasmatique en PAL **(Fox et Laird, 1970 ; Viard-Drouet *et al.*, 1984).**

L'augmentation plasmatique des PAL est souvent due à des iso-enzymes présentes au niveau des os, du foie, du placenta, du rein, de l'intestin **(Varga, 2014).** On peut l'observer lors de stase biliaire. Ainsi, expérimentalement, la ligature du canal biliaire conduit à une augmentation moyenne des PAL de l'ordre de 600 UI/L **(Weisbroth *et al.*, 2013).** Cette stase s'observe chez le lapin suite à un phénomène néoplasique, une hépatite à coccidiose, ou à une lipidose par exemple. Dans ces cas, on observe généralement également une augmentation de l'ALAT, de la bilirubine, et de la gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) **(Varga, 2014).** Toutefois, l'augmentation des PAL est détectable plus précocement que celle de la bilirubinémie **(Mazelier et Vergneau, 2014).**

3.2.5. Imagerie médicale

Plusieurs techniques d'imagerie peuvent être utilisées pour l'exploration du foie :

– la radiographie pour mettre en évidence la taille du foie et parfois ses contours ;

– l'angiographie mésentérique pour étudier la circulation sanguine et ses ramifications dans le foie.

– l'échographie.

– le scanner.

4. Principaux médicaments hépatotoxiques

De très nombreux médicaments peuvent être responsables d'une hépatite. Nous énumèrerons ceux qui sont fréquemment impliqués soit du fait d'une hépatotoxicité assez nette, soit du fait d'une large utilisation.

Dans cette partie, nous insisterons sur l'hépato toxicité due à des antituberculeux, particulièrement à l'association de la Rifampicine et l'Isoniazide ; les deux molécules utilisées dans la partie expérimentale.

Tableau 3. Liste de quelques médicaments hépatotoxiques **(Ebelle Lottin, 2007).**

HEPATITES AIGUES	
Hépatites cytolytiques	Hépatites cholestatiques ou mixtes
Anesthésie	
Halothane *Ether éthylique* *Chloroforme* *Trichloro-éthylène*	
Cancérologie	
Carmustine *Vincristine*	*Azathioprine* *6-Mercaptopurine* *Cyclosporine*
Cardiologie	
Acide tiénilique *Méthyldopa* *Dihydralazine* *Papavérine* *Furosémide* *Suloctidil* *Hydralazine* *Vérapamil*	*Captopril* *Nifédipine* *Diltiazem* *Papavérine* *Hydralazine Quinidine* *Méthyldopa* *Vérapamil*
Dermatologie	
Etrétinate *Iodure de pividone*	*Isotrétinoïne*
Endocrinologie	
Acétohéxamide *Glythiazole* *Carbutamide*	*Chlorpropamide* *Tolbutamide* *Glibenclamide*
Hépatogastro-entérologie	
Acide chénodésoxycholique *Oxyphénisatine*	*Cimétidine* *Ranitidine*
Maladies infectieuses et parasitaires	
Amodiaquine *Mébendazole* *Clindamycine* *Oxacilline* *Cotrimoxazole* *Pipérazine* *Ethionamide* *Sulfadiazine* ***Isoniazide***	*Acide nalixidique* *Josamycine* *Céphalexine* *Nitrofurantoïne* *Chloramphénicol* *Quinine* *Cotrimoxazole* ***Rifampicine*** *Erythromycine*

Sulfadoxine *Kétoconazole* *Sulfaméthoxazole*	*sulfaméthoxazole* *Griséofulvine* *Thiabendazole*
Neuropsychiatrie	
Acide valproïque *Imipramine* *Amitriptyline* *Iproniazide* *Désipramine* *Phénytoïne*	*Amineptine* *Imipramine* *Carbamazépine* *Phénobarbitol* *Chlordiazépoxyde* *Phénytoïne* *Chlorpromazine* *Tiazolam* *Diazépam*
Nutrition et métabolisme	
Nicotinamide	
Radiologie	
Iodipamide	
Rhumatologie	
Allopurinol, Paracétamol *Aspirine, Salicylés*	*Acide niflumique, Naproxène* *Colchicine, Piroxicam* *Diclofénac, Propoxyphène* *Ibuprofène, Sulindac* *Indométhacine Probénécide*
HEPATITES CHRONIQUES OU CIRRHOSES	
Amiodarone, Aspirine, Halothane *Amodiaquine , Isoniazide, Méthyldopa* *Nitrofurantoïne, Paracétamol, Vitamine A*	

Nous ajouterons que les cholestases pures (sans nécrose, ni inflammation) ne sont observées qu'avec de rares médicaments (contraceptifs oraux, œstrogènes, androgènes anabolisants). Il n'y a pas de manifestation allergique. Il semble s'agir d'un processus d'interférence avec les mécanismes de la sécrétion biliaire.

4.1. Hépato-toxicité induite par les xénobiotiques : cas de l'isoniazide et de la rifampicine

Le traitement antituberculeux consiste à prendre tous les jours pendant 3 à 6 mois minimum, plusieurs antibiotiques en même temps parmi les suivants : isoniazide (**INH)**, rifampicine (**RMP)**, pyrazinamide (**PZA)** et éthambutol (**EMB)**.

En général, le schéma utilisé est :

-Les 4 antibiotiques pendant les deux premiers mois,

-Puis isoniazide et rifampicine pendant les quatre mois suivants **(Has, 2007 ; Arazola *et al.*, 2010 ; Meyssonnier, 2012).**

4.1.1. Rifampicine (RMP)

La rifampicine a été isolée à partir de *Amycolatopsis rifamycinica* pour la première fois en 1957, elle est commercialisée depuis 1971. Cet antibiotique fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

La RMP est le deuxième médicament antituberculeux mais aussi le plus important de la première ligne. Elle fait partie des antibiotiques du groupe des rifamycines ayant une activité bactéricide. Son mécanisme d'action se traduit par l'inhibition de l'activité ARN polymérase qui synthétise l'ARN messager à partir de son modèle ARN (**Figure 6**). Elle présente un effet bactéricide précoce contre les *M. tuberculosis* métaboliquement actifs et une excellente action stérilisante tardive contre les courtes bouffées d'activité métabolique des micro-organismes en état de semi-dormance. Alors que la mono-résistance à l'INH est courante, la mono-résistance à la RMP est rare. **(Has, 2007).**

La molécule RMP est un puissant inducteur enzymatique microsomal, provoquant d'importantes interactions médicamenteuses, en particulier avec les oestroprogestatifs, les anticoagulants oraux. La rifampicine colore les excrétas (larmes, urines, sperme) en rouge orange et peut aussi induire des phénomènes immuno-allergiques (thrombopénie), surtout lors des prises discontinues du médicament **(Perriot *et al*., 2010).**

4.1.1.1. Pharmacocinétique de la RMP

-Résorption: Bonne par voie orale. Pic sanguin en 2 à 4 heures, si elle est absorbée à jeun et à distance des repas, sinon la résorption est retardée.

-Diffusion: Sa fixation aux protéines plasmatiques est de 75%. La diffusion est excellente, sauf dans les organes riches en lipides (système nerveux central) et dans les épanchements, mais elle est bonne dans le poumon, suffisante dans le liquide céphalorachidien.

-Biotransformation: La rifampicine est un puissant inducteur enzymatique du système microsomal oxydatif hépatique, elle induit son propre métabolisme. Sa demi-vie passe de 6 heures le premier jour d'administration à 3-4 heures au septième jour. Elle peut augmenter le catabolisme hépatique de certains médicaments associés et compromettre leur efficacité.

-Elimination : La RMP subit une élimination biliaire et un cycle entérohépatique, elle est contre-indiquée en cas d'obstruction complète des voies biliaires. Elle est donc éliminée par les fèces, l'urine (20%), la salive et les larmes **(Hmamouche *et al.*, 2007).**

4.1.2. Isoniazide (INH)

L'INH, également appelé **isonicotinyl hydrazine** ou **hydrazide de l'acide isonicotinique** est un dérivé de l'acide isonicotinique. C'est un antibiotique utilisé en première intention pour la prévention et le traitement de la tuberculose latente et de la tuberculose active. Cette molécule est synthétisée au début du XX^{e} siècle, mais son activité contre la tuberculose n'est signalée pour la première fois que dans les années 1950. Elle fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'Organisation Mondiale de la Santé. Elle est un pro-médicament qui doit être activé dans les espèces myco-bactériennes qui y sont sensibles. L'activation de l'INH produit un certain nombre de composés fortement réactifs capables de léser la paroi des cellules mycobactériennes. Il est impliqué dans l'inhibition de la biosynthèse des acides mycoliques qui sont les constituants importants de la paroi cellulaire mycobactérienne **(Figure 06).** Comme les acides mycoliques ne se retrouvent que dans les mycobactéries, cette action pourrait expliquer le degré élevé de sélectivité de l'activité antimicrobienne de l'isoniazide. L'association entre cette enzyme et l'activation de l'INH a été démontrée quand le gène de la catalase-peroxydase mycobactérienne (*katG*) a été cloné et séquencé. Des mutations de ce gène ont été observées dans 70 à 80 % des isolats cliniques hautement résistants à l'INH **(Zhang *et al.*, 2009 ; Van Vooren.,2010) .**

L'INH est actif sur les bacilles des cavernes et à un moindre degré sur les bacilles intra macrophagiques mais il n'a pas d'activité sur les bacilles du caséum solide. Les principaux effets secondaires sont : nausées, simple élévation des transaminases ou hépatite médicamenteuse dose-dépendante, polynévrites sensitivo-motrices (surtout en cas de carence en vitamine B6), troubles neuropsychiques, névralgies cervico-brachiales (syndrome épaule-main) et syndromes rhumatoïdes. La supplémentation en pyridoxine (vitamine B6) est recommandée pour limiter la toxicité neurologique de l'INH chez le patient dénutri **(Perriot *et al.*, 2011).**

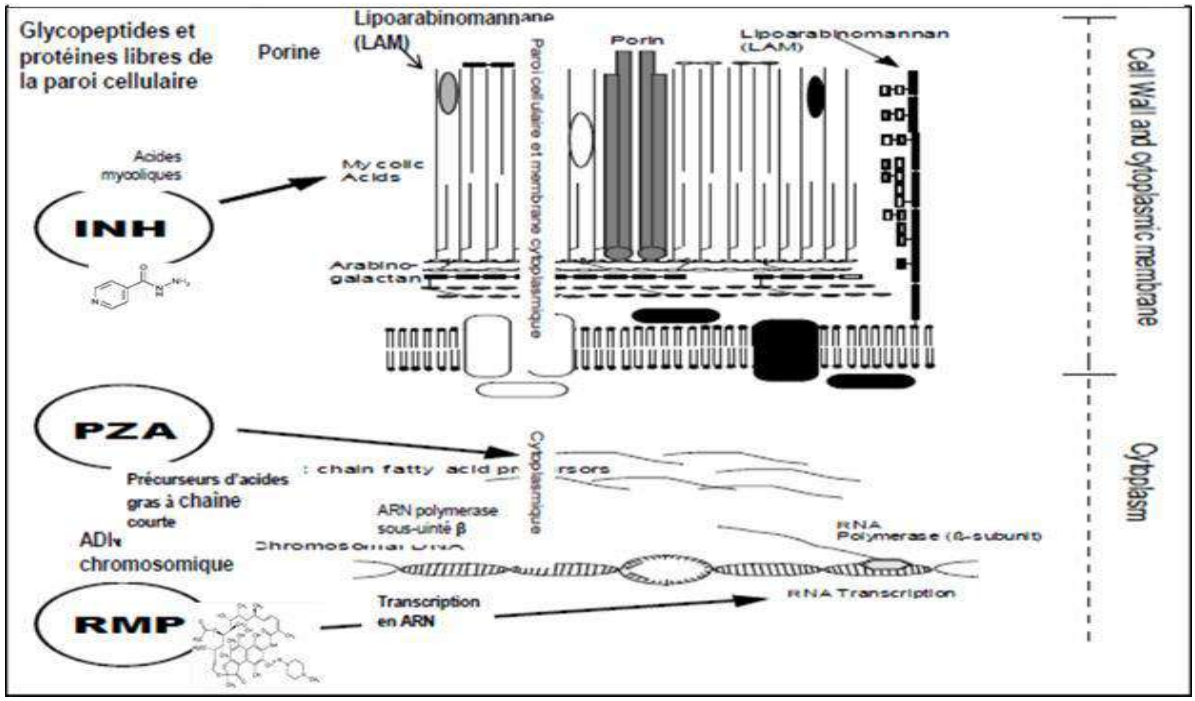


Figure 06. Mode d'action des antituberculeux **(Van Vooren, 2010).**

4.1.2.1. Pharmacocinétique de l'INH

-Résorption : Résorption orale très bonne, taux sériques maximum atteints entre 1 à 2 heures, des concentrations plasmatiques entre 1 et 5 µg/ml sont largement efficaces, et une seule prise par jour à distance des repas semble être suffisante.

-Diffusion : La petite taille de la molécule facilite sa diffusion dans les liquides biologiques (pleural, céphalo-rachidien...), dans tous les organes (foie, rein, cerveau, poumon..) et dans toutes les cellules **(Perriot *et al*., 2011).**

-Biotransformation : Elle est réalisée dans différents organes mais essentiellement au niveau du foie par acétylation, le dérivé acétyle est inactif. L'acétylation est variable selon chaque individu et dépend du polymorphisme des *N*-acétyltransférases (NAT). Ces enzymes sont une famille unique d'enzymes de la phase II de biotransformation des xénobiotiques, qui acétylent les composés arylamines, arylhydrazines et arylhydroxylamines, en utilisant l'acétylcoenzyme A (acétylCoA) comme cofacteur. Elles agissent comme des enzymes importantes dans la voie métabolique des amines primaires, des hydrazides et hydrazines **(Benhamou *et al.*, 1998).** Le polymorphisme des *N*-acétyltransférases représente l'un des exemples de variation pharmacogénétique décrits les plus documentés, depuis sa découverte au début des années 1950, en même temps que celle de la grande efficacité de l'INH dans le traitement de la tuberculose **(Perriot *et al* ., 2011).**

4.1.3. Mécanismes d'hépatotoxicité par l'INH et RMP

Ce n'est que depuis les années 1970, qu'a été reconnue l'apparition de lésions hépatiques graves comme effets secondaires de l'utilisation de ces molécules, et entraînant la mort de certains patients **(Teixeira *et al.*, 2013).** Une hépatotoxicité induite par INH, RMP et PZA constitue l'effet secondaire le plus fréquent. D'ailleurs, l'hépato toxicité liée à l'INH augmente avec la dose, l'âge du sujet (très rare chez le sujet jeune, et environ 2 % chez les 50 ans), l'abus d'alcool ainsi que la malnutrition. La RMP potentialise l'hépato toxicité de l'INH mais n'est que peu hépatotoxique par elle-même (occasionnellement inductrice de cholestase). La PZA peut causer de rares hépatites fulminantes de nature immuno-allergique. Voilà pourquoi il ne convient pas de recourir à nouveau à ce traitement médicamenteux lorsqu'il a été suspecté d'être à l'origine de graves troubles de la fonction hépatique lors d'un traitement antérieur **(Jurg *et al.*, 2012**).

Globalement, l'INH peut être responsable d'une augmentation des transaminases à 10 % alors que l'hépatite clinique ne dépasse pas une augmentation de 1 %. Cette hépatite apparaît entre le premier et le quatrième mois du traitement , elle se manifeste cliniquement par un ictère précédé de prodromes faits d'asthénie, arthralgies, troubles digestifs, douleurs abdominales avec hépatomégalie et fièvre, alors que biologiquement on note une augmentation de la fraction conjuguée de la bilirubine, des transaminases et de la phosphatase alcaline. Parmi les facteurs favorisants, il y a l'hépatite préexistante active et une médication hépatotoxique **(De Souza et *al.*, 1996 ; El Ftouh et *al.*, 1998 ; Nadir et *al.*, 2001 ; Madhi, 2004 ; Aouam et *al.*, 2007)**

4.1.3.1. Formation des métabolites toxiques

Les antituberculeux responsables des atteintes hépatiques sont l'INH, le PZA, la RMP, et l'EMB. C'est leur association qui augmente le risque d'hépato toxicité. La réintroduction du traitement antituberculeux est possible après normalisation du bilan hépatique **(Bouchenouf *et al.*, 2011).** L'ictère, les vomissements et les douleurs abdominales sont souvent révélateurs. L'hépato toxicité est légère à modérée dans 82 % des cas. Le pyrazinamide et l'isoniazide sont les plus incriminés **(Hmamouche *et al.*, 2007 ; Meunier, 2017).** L'INH subit une acétylation pour donner le N-acétylisoniazide. Ce dernier est hydrolysé en acétylhydrazine, qui subit par la suite une bioactivation par le CYP450 pour donner le radical acétyle (**Figure 7**), une espèce réactive détoxiquée par le glutathion. Le mécanisme exact par lequel ce radical réactif induit des dégâts hépatocytaires reste à élucider, de même que les raisons de l'augmentation de l'incidence d'hépato toxicité quand la thérapie de combinaison est utilisée. Cependant, il a été

trouvé que l'hépato toxicité est accrue par l'association avec la rifampicine : par un mécanisme d'induction enzymatique **(Perriot *et al*., 2010).** Cette toxicité se traduit par une élévation relativement fréquente des transaminases.

Ces métabolites réactifs sont transformés par différents systèmes de protection en particulier la conjugaison au glutathion et les époxydes. Lorsque ces mécanismes sont insuffisants, les métabolites réactifs peuvent se lier de façon covalente sur certains constituants des hépatocytes et entraîner la mort cellulaire ou en déclenchant des réactions immunologiques. Les accidents surviennent soit par formation de métabolites toxiques (accidents hépatiques) soit par un surdosage **(Zhang et Yew, 2009).**

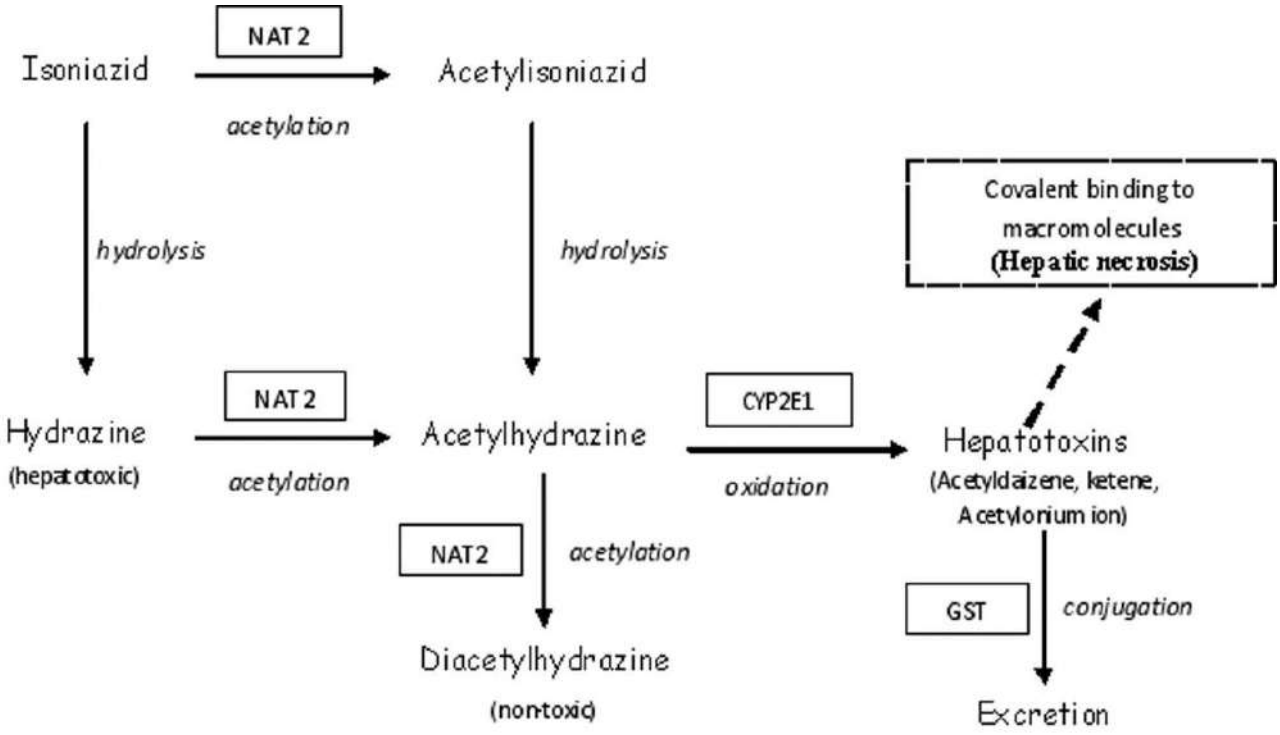


Figure 07. Métabolisme hépatique de l'isoniazide **(Teixeira *et al*., 2013)**

4.1.3.2. Stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération des radicaux et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies. Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut du stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimaliser nos défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres au

niveau des macromolécules cellulaires **(Haleng, 2007).** Les radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels que l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle $OH^{\bullet}$, ou de l'azote tel que le monoxyde d'azote $NO^{\bullet}$. D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet $^1O_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitro peroxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactivés et peuvent être des précurseurs de radicaux **(Sahnoun *et al.*, 1997 ; Favier., 2003).** L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Figure 8**). Certain ROS sont produits durant la toxicité par les antituberculeux **(Teixeira *et al.*, 2013).**

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par les ROS capables d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyle. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyle formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué **(Favier, 2003 ; Sahnoun *et al.*, 1998).** Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides, pour libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonenal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes **(Figure 09)**. La toxicité aux antituberculeux a été attribuée à la formation des ROS, à la peroxydation lipidique et à une déplétion du système anti-radicalaire endogène **(Sahnoun et *al.*, 1998 ; Teixeira *et al.*, 2013).**

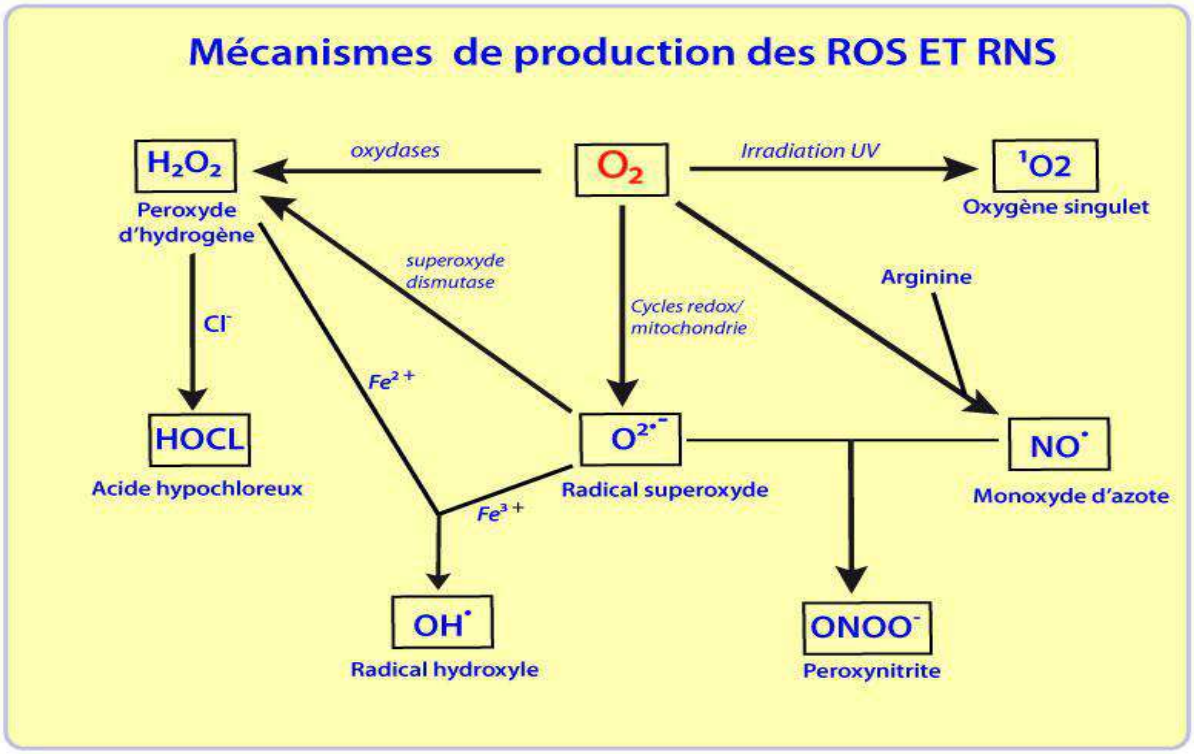


Figure 08. Origine des différents radicaux libres impliqués en biologie **(Sahnoun *et al,* 1998).**

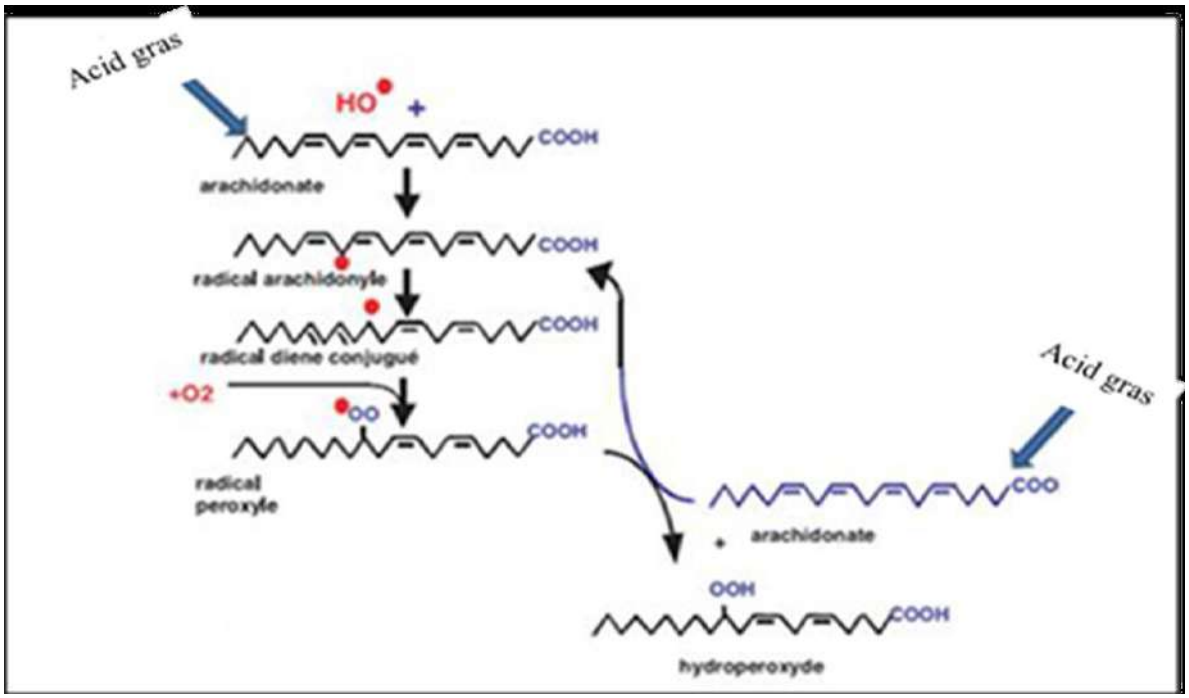


Figure 09. Réactions en chaine de la peroxydation lipidique **(Favier, 2003).**

4.1.3.3. Interactions médicamenteuses

Les inducteurs enzymatiques (surtout la rifampicine) favoriseraient la fabrication, à partir d'un métabolite de l'isoniazide, d'un dérivé hydroxylé hépatotoxique. La surveillance hépatique doit être accrue lors de ces associations (or l'association INH et RMP est la règle). La posologie de l'INH doit être réduite et adaptée individuellement en cas d'hépatite. L'isonaizide peut exercer lui-même des effets inhibiteurs enzymatiques, par exemple vis à vis de la phénytoïne, médicament antiépileptique dont les concentrations plasmatiques et tissulaires augmentent avec des risques d'accidents lors de surdosage **(Perriot *et al.*, 2011).**

4.1.3.4. Réaction immunitaire

Dans les hépatites immuno allergiques, la réaction est dirigée contre un néo-antigène résultant de la fixation covalente des métabolites réactifs sur les constituants de l'hépatocyte présents sur la membrane plasmique. Parfois la survenue de phénomènes auto immunitaires conduit à la formation d'auto anticorps sériques. L'hépatotoxicité peut être favorisée par différents facteurs **(Sahnoun *et al.*, 1998 ; Kaplowitz , 2004)**:

- Le jeûne prolongé ou la dénutrition qui diminuent les capacités de détoxification par baisse du glutathion.
- L'induction enzymatique qui peut augmenter la transformation du médicament en métabolites réactifs par exemple la rifampicine et l'isoniazide, ou l'alcoolisme chronique, et la prise de paracétamol.
- Les facteurs génétiques qui entrainent une faible capacité d'acétylation et une déficience dans le mécanisme de détoxification des métabolites réactifs.

5. Les critères de diagnostiques d'une hépatopathie médicamenteuse

5.1. Critères chronologiques

- Le premier critère est l'intervalle entre le début du traitement suspecté et le début de l'atteinte hépatique. Cela varie beaucoup. Le délai est considéré comme suggestif lorsqu'il est compris entre 1 semaine et 3 mois. Une durée plus courte, de 1 à 2 jours par exemple, peut être observée chez des patients qui ont été préalablement exposés à l'agent impliqué et qui ont été ainsi sensibilisés. Un délai compris entre 3 mois et 1 an reste compatible, mais moins évocateur. Un délai supérieur à 1 an est rare et rend le rôle du médicament peu probable pour la survenue de cas d'hépatites aigues, à moins d'avoir d'autres arguments très solides.

- Le second critère est la disparition des anomalies hépatiques après arrêt du traitement. Ce critère est très suggestif lorsque les signes cliniques disparaissent en quelques jours et quand les transaminases diminuent de plus de 50% en 1 semaine. Habituellement, une guérison complète est obtenue en quelques semaines.

- Le troisième critère est la rechute des anomalies hépatiques après une réadministration accidentelle du médicament causal. Cela constitue un excellent critère diagnostique. Cependant, cette réexposition ne doit pas être réalisée volontairement ou par le médecin car elle peut être extrêmement dangereuse et poser un problème médico-légal, surtout pour les hépatites immuno-allergiques. En effet, la réadministration d'un simple comprimé peut parfois occasionner une hépatite fulminante mortelle **(Mamadou, 2008).**

5.2. Critères cliniques

Le tableau 4 ci-dessous montre les critères clinques de confirmation des hépatites médicamenteuses.

Tableau 4. Critères clinques favorisants et d'éliminations des hépatites médicamenteuses

Critères d'éliminations	***Critères favorisants***
Antécédents de maladies hépatiques ou biliaires	Age supérieur à 50 ans
Alcoolisme chronique	Ingestion de nombreux médicaments
Hépatite virale : VHA, VHB, VHC, VHD.	Ingestion d'un agent hépatotoxique connu
Obstruction biliaire (échographie)	Auto anticorps spécifiques : anticorps anti-M6, anti-LKM2, anti-CYP
Hépatite ou cholangite auto-immune	Dosage de médicament dans le sang : paracétamol, vitamine A
Ischémie hépatique	Biopsie hépatique : dépôt de médicament (vitamine A), stéatose

Maladie de Wilson	Stéatose micro vésiculaire, infiltration éosinophile, nécrose centro-lobulaire.
Infection bactérienne (Listéria, Campylobacter, Salmonella)	Anticorps anti CYP 1A2, anticorps anti CYP 2E1

Deuxième chapitre
Composition et utilisation thérapeutique du lait et des urines de chamelle

Depuis que le prophète Mohammed (sala Allah alayhi wa salam) a révélé les vertus de l'urine de dromadaire "Si cela vous convient, allez boire du lait et de l'urine de chamelles" Hadith rapporté par AL-BOUKHARI (590), les religieux n'ont cessé de les recommander et les scientifiques musulmans de prouver leurs effets thérapeutiques. Le recours aux produits naturels pour traiter des pathologies est de nos jours un moyen très recherché. Outre les plantes médicinales, les urines humaines et animales sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des perturbations gynécologiques chez les femmes en période de ménopause et pré-ménopause **(Christy, 2000 cité par Hasni et Habita, 2015),** des maladies du foie, et même de certains cancers **(Hasni et Habita, 2015)**. En effet, les urines du dromadaire ont été largement utilisées dans le domaine biomédical comme cicatrisants des plaies et des brûlures, contre l'eczéma et les allergies, comme anti dermatophytes et anti tumoraux, et sans effets secondaires nocifs **(Al Iwadi et Al-Judaibi, 1999).**

Le lait, de par sa composition, est un aliment de choix ; il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau.

Le lait de chamelle constitue depuis des temps très lointains, la principale ressource alimentaire pour les nomades. Sa richesse en vitamine C (dont la quantité se trouvant dans 1 litre de lait couvre 40% des besoins) constitue un apport nutritionnel important dans les régions arides où les fruits et les végétaux contenant cette vitamine sont rares **(Siboukeur, 2007).** Ce lait est apprécié traditionnellement pour sa propriété anti-infectieuse, anti-cancéreuse, anti diabétique et plus généralement comme reconstituant chez les malades convalescents **(Kanaspayeva, 2007).**

Dans ce chapitre, nous avons essayé de réaliser une synthèse bibliographique traitant de la composition physicochimique et biochimique ainsi que l'utilisation thérapeutique des urines et du lait de la chamelle.

1. Généralités sur le lait camelin

1.1. Caractéristiques organoleptiques et physicochimiques

1.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Le lait de chamelle est un liquide blanc, opaque en raison de la structure et la composition de sa matière grasse relativement pauvre en beta carotène, il a un aspect moins visqueux que le lait de vache. ses caractéristiques et surtout son goût diffèrent selon l'alimentation des animaux et la disponibilité en eau. L'ingestion des fourrages comme la luzerne, donne un goût sucré, certaines plantes halophytes le rendent salé **(Farah, 1993 ; Siboukeur, 2007 ; Al Haj et al Kanhal, 2010 ; El Imam Abdalla, 2012 ; Badjidja et Djelabi, 2014 ; Medjour, 2014).** Le lait de chamelle est mousseux quand on le secoue légèrement, car il renferme des quantités plus importantes du composant-3 des protéose-peptones par rapport au lait de référence (lait de vache). Cette glycoprotéine lactostérique native est un bon agent tensioactif. En comparaison au lait de vache, le lait de chamelle s'acidifie très peu. Il peut être conservé sans réfrigération (3 jours à 30° et 2 semaines à 7°C) **(Kedda, 2016).**

1.1.2. Caractéristiques physicochimiques

Il existe une fluctuation dans les constantes physicochimiques à cause des teneurs variables des différents composants du lait. Elle même dépend de facteurs nutritionnels, saisonniers et ceux liés à l'animal : race, âge...etc.

- La densité se situe entre 1.022 à 1.032 g /cm^3.
- Le pH du lait camelin frais se situe entre 6.0 à 6.07.
- L'acidité est de 15,6° D (16± 0, 91° D), elle varie d'un auteur à un autre.
- Le point de congélation se situe entre -0.57 °C et -0.61°C **(Badjidja et Djelabi, 2014 ; Medjour, 2014 ; Belamri et *al*., 2019).**

1.2. Composition chimique du lait camelin

Le lait de chamelle a une composition similaire à celle du lait sécrété par les autres mammifères ; eau, matière grasse, lactose et protéines… etc. Selon la littérature, ces derniers présentent une large gamme de variation à cause de plusieurs facteurs : saison, environnement, alimentation, âge.

1.2.1. L'eau

La teneur en eau varie selon le degré de sécheresse (91% en saison sèche, 86% en saison d'abondance d'alimentation). Il semble que c'est un mécanisme d'adaptation au manque d'eau qui permet de protéger le chamelon de la soif **(Siboukeur, 2011 ; Siboukeur, 2012).**
La présence d'un dipôle et de doubles électrons libres confère à l'eau un caractère polaire. Ce caractère forme une solution qui varie avec les substitutions polaires comme les glucides, les minéraux et une solution colloïde avec les protéines **(Ghalem, 2015 ; Belamri et *al*., 2019).**

1.2.2. La matière grasse

C'est une source d'énergie, constituée de lipides et de substances lipoïdiques. Le lait de chamelle est faible en matière grasse. Sa teneur varie très sensiblement d'une région à l'autre et elle est estimée en moyenne à 3,15 % **(Senoussi, 2011 ; Kuoidri et Chemla, 2020).**
Lorsque il y'a une augmentation d'eau dans le lait, il y'a une diminution de la matière grasse. En comparaison au lait de vache, le lait camelin contient des globules gras à courtes chaines. Néanmoins sa teneur en acides gras volatils et en acides gras non saturés est importante **(Hamidi, 2015 ; Ghalem, 2015).**

1.2.3. Fraction azotée

La fraction azotée du lait de chamelle, comme celle du lait de vache, est répartie en deux sous fractions : l'azote protéique et l'azote non protéique. La première fraction azotée protéique représente 90 à 95% de l'azote total du lait de chamelle (contre 94 à 95% pour le lait bovin). La deuxième fraction azotée non protéique, qui représente 5 à 10%, est environ deux fois plus élevée que celle généralement retrouvée dans le lait de vache. Cette dernière fraction est caractérisée par une haute valeur biologique qui est due à sa richesse en acides aminés libres, en nucléotides et en certains précurseurs de vitamines ainsi que des peptides, de l'acide urique, de l'urée, de la créatine, …etc. **(Siboukeur, 2007 ; Kuoidri et Chemla, 2020).**

1.2.3.1. L'azote protéique

La teneur protéique est de l'ordre de 30 à 35 g/l avec quelques variations selon les auteurs. On distingue deux fractions de protéines selon leur solubilité en milieu acide majoritairement la caséine et les protéines sériques.

1.2.3.1.1. Les Caséines (CN)

Constituent la fraction protéique majeure du lait. Elle varie entre 52 et 87% des protéines totales du lait de chamelle. Ces caséines précipitent à leur pH isoélectrique égal à 4,3. Elles sont constituées de 4 protéines différentes (αs1, αs2, β et κ) ; les deux premières sont particulièrement sensibles au calcium **(Belamri et *al*., 2019)**.

1.2.3.2. Les protéines sériques

Ou protéines lactosériques ; elles possèdent une haute valeur nutritive, et présentent 20 à 28% des protéines totales **(Badidja et Djelabi ,2014).**

1.2.4. Les glucides

Le lactose est la fraction glucidique la plus importante du lait, c'est également une source d'énergie. Selon les auteurs, la variation de la teneur pourrait être due au type de plantes consommées dans les déserts. Mais celle-ci ne change quasiment pas en période de lactation et dans les conditions d'hydratation ou de déshydratation. Cependant, elle varie légèrement en fonction des races de dromadaires dans les différentes parties du monde **(Medjour, 2014).** Le lactose est le constituant le plus rapidement utilisé par les bactéries, qui le transforment en acide lactique. Le lait contient près de 4,8% de lactose **(Ghalem, 2015).**

1.2.5. Les sels minéraux

Ils sont constitués de macro et oligo-éléments qui se retrouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures et citrates) ou métaux divers (sodium, potassium, magnésium, fer, cuivre, zinc…etc.). Au niveau quantitatif, si la composition en macroéléments (Na, K, Ca, Mg...) est relativement similaire à celle du lait bovin, le lait de chamelle se caractérise par un taux élevé en oligo-éléments (Voir tableaux 5 et 6). La composition minérale du lait est fortement variable et dépend de l'alimentation et de l'état d'hydratation ; les teneurs en sodium et magnésium augmentent particulièrement lors d'une déshydratation) **(Hamidi, 2015 ; Ghalem, 2015).**

Tableau 5. Teneur des minéraux (mg/ml) du lait de chamelle **(Hamidi, 2015)**

Nature du lait	**Minéraux et oligo-élements**							**Références**
Lait de chamelle	Ca	Mg	P	Na	Fe	Zn	K	
	1060	120	630	690	2,6	4,4	1560	Sawaya *et al*., 1984
	1150	135	838	588	2,1	4,4	1730	Abu Lehia, 1987
	1200	130	886	650	1,8	6,4	1350	Mehaia et *al* ., 1997
	1027 ,3	116,2	-	668,5	2,5	4,3	1511,7	Gorban et Izzeldin, 1997
	1060 à 1570	75 à 160	580 à 1040	360 à 620	1,3 à 2,5	4 à 5	600 à 2100	Kappeler, 1998

Tableau 6. Composition minérale du lait de chamelle, en comparaison avec celle du lait de vache **(Medjour, 2014).**

Minéraux, mg/l	Lait de chamelle	Lait de vache
Calcium	1060-1570	**1000-1400**
Cuivre	1,3-1,8	**0,1-0,2**
Phosphate inorganique	580-1040	**650-1100**
Fer	1,3-2,5	**0,3-0,8**
Potassium	600-2100	**1350-1550**
Magnésium	75-160	**100-150**
Manganèse	0,08-0,2	**0,04-0,2**
Sodium	360-620	**350-600**
Zinc	**4,0-5,0**	**3,5-5,5**

1.2.6. Les vitamines

Le lait de chamelle est connu pour sa richesse en vitamines notamment la B3 ; niacine, et la vitamine C, même si elles présentent une grande variation de 25 à 60 mg/l. La teneur de cette dernière est élevée en comparaison avec celle du lait bovin, cette particularité intéressante rend le lait camelin une source nutritionnelle importante **(Hamidi, 2015).**

Le lait camelin affiche des teneurs en vitamines B3, B6 et B12 supérieures à celles du lait bovin. Toutefois, les vitamines A, B1, B2, B5, B9, et E se trouvent à des taux similaires, parfois légèrement inférieurs aux valeurs rapportées dans le lait de référence **(Chibah, 2012).**

2. Utilisation médicinale et thérapeutique du lait de chamelle

Le lait et l'urine de chamelle ont été utilisés comme remèdes dans certaines régions d'Asie et d'Afrique depuis l'antiquité, mais ce n'est que récemment que les scientifiques se sont intéressés à l'exploration de ces allégations médicinales. Certaines études cliniques indiquent que le lait de chamelle seul, et dans certains cas mélangé à l'urine, est efficace dans le traitement de diverses affections cliniques teles que le diabète sucré, le cancer, les allergies alimentaires, l'autisme, les hépatites et une panoplie d'autres infections virales, bactériennes et parasitaires. De plus, un certain nombre d'effets thérapeutiques potentiels du lait et de l'urine de chamelle ont été découverts sur le système cardiovasculaire, notamment leur action anti plaquettaire et fibrinolytique **(Abdel Galil et *al.*, 2016).**

2.1. Effet hépato-protecteur du lait de chamelle

Le tableau 7 ci-dessous regroupe certaines études qui démontrent l'effet hépato-protecteur du lait de chamelle, plusieurs aspects ont été abordés et confirment l'effet bénéfique du lait camelin contre les toxicités hépatiques.

Tableau 7. Rétrospective des études démontrant l'effet hépato-protecteur du lait de chamelle

Aspect étudié	Effets observés et interprétations	Auteurs
Effet Protecteur Du Lait De Chamelle Contre La Toxicité Induite Par Le Chlorure	Les résultats rapportés par cette étude montrent que le chlorure d'aluminium est capable de provoquer des altérations marquées dans certains paramètres biochimiques induisant des dommages oxydatifs et surtout sur les activités des enzymes anti-oxydantes.	**Al-Hachem et al., 2009**

D'Aluminium Dans Le Foie Et Le Rein Chez Les Rats Albinos	L'administration du lait de chamelle a minimisé ces risques. Par conséquent, la consommation du lait de chamelle pourrait être bénéfique pour atténuer la toxicité de l'aluminium.	
Effet Protecteur Du Lait De Chamelle Contre L'Hépato toxicité Du Tétrachlorure De Carbone Chez Le Rat	La présente étude montre que le lait de chamelle peut jouer un rôle protecteur en améliorant les dommages dans la structure histologique du foie induite par le CCl4 et l'amélioration des activités des enzymes hépatiques chez les rats. Par conséquent, le lait de chamelle peut être utilisé comme protecteur contre les effets toxiques du CCl4 et d'autres agents chimiques dans le foie.	**Thnaian, 2012**
Le Lait De Chamelle Régule L'expression Des Gènes Et Les Activités Des Enzymes Antioxydantes Hépatiques Chez Les Rats Intoxiqués Au Tétrachlorure De Carbone	Cette étude a montré que le lait de chamelle peut exercer son effet protecteur contre la toxicité hépatique induite par le CCL4 en modulant l'étendue de la peroxydation lipidique et en augmentant le système de défense antioxydant au niveau de l'activité et de l'expression des gènes	**El-Baher et *al*., 2013**
Effet Du Lait De Chamelle Sur Les Enzymes Antioxydantes Du Foie Chez Les Lapins Intoxiqués Au Tétrachlorure De Carbone	La présente étude a conclu que le lait de chamelle a un effet protecteur contre les dommages du foie induits par le CCl4, en augmentant le système de défense antioxydant et en améliorant les activités des enzymes hépatiques.	**Tahani et al., 2014**

Propriétés Hépato protectrices Du Lait De Chamelle Contre La Toxicité Induite Par Le Benzène Chez Les Rats Mâles	Les résultats de cette étude démontrent que le benzène est capable d'induire des altérations marquées des paramètres biochimiques, des dommages oxydatifs et d'inhiber la fonction des enzymes anti-oxydantes. Le lait de chamelle, administré après une exposition au benzène, a minimisé les risques associés au benzène. Par conséquent, boire du lait de chamelle pourrait être bénéfique pour atténuer la toxicité du benzène.	**Al-Fartosi et Humaidan, 2015**
Mécanisme Moléculaire De La Protection Hépato-Rénale Du Lait De Chamelle Contre Les Perturbations Du Stress Oxydatif	Le lait de chamelle a atténué la production de cytokines inflammatoires hépatiques et rénales induites par le CCl4 (IL-6, IL-1β, TGF-β1 SREBP-1c et caspase-6). Il a augmenté les marqueurs antioxydants (SOD, GST et CAT) et les mécanismes de protection et de régénération (EPO et IL-10). Par conséquent, le lait de chamelle a montré une protection hépato-rénale contre les changements histo pathologiques induits par le CCl4. Ces résultats soutiennent l'utilisation bénéfique du lait de chamelle comme adjuvant thérapeutique avec des médicaments générant du stress oxydatif, qui endommagent le foie et les reins tels que les médicaments anti tumoraux, en particulier le cisplatine.	**Zein Shaban et *al*., 2016**
Activité Protectrice D'un Mélange de Lait Et D'urine De Chamelle (Camelus Dromedarius) Contre L' Hépatotoxicité Induite Par L'Ethanol Chez Le	L'administration orale d'éthanol à la dose de 0,5 g/100g chez le rat induit des lésions chroniques des cellules hépatiques qui se manifestent par des variations biochimiques. L'utilisation du lait et des urines de chamelle a montré une diminution significative du niveau des enzymes sériques, indicateurs d'une souffrance hépatique, et témoignant d'un effet hépato-protecteur contre la toxicité induite par l'éthanol, effet encore plus marqué qu'avec le	**Elhag et *al*., 2017**

Rat	médicament de référence (Silymarine).	
Effet Hépato protecteur De L'huile D'olive Et Du Lait De Chamelle Sur La Toxicité Hépatique Induite Par L'acétaminophène Chez La Souris	Les résultats de la présente étude révèlent que la consommation d'huile d'olive et du lait de chamelle avant l'administration de l'APAP chez les souris a réduit la toxicité induite par l'acétaminophène dans le foie en abaissant les niveaux de peroxydes lipidiques, en améliorant le système de défense antioxydant, le profil lipidique et les changements histologiques. Le mécanisme par lequel l'huile d'olive réduit le stress oxydatif dans le foie pourrait être dû à sa teneur élevée en acide oléique, en tocophérols et en polyphénols, qui présentent des propriétés anti-oxydantes. Le mécanisme dans le lait de chamelle pourrait être lié à sa teneur élevée en vitamines C, A, B2, E et en magnésium. Ce résultat suggère que l'incorporation d'huile d'olive et du lait de chamelle dans l'alimentation peut offrir des avantages en terme de réduction des dommages du foie lors de la toxicité par l'APAP.	**Mahrous et *al*., 2017**
Activité Probiotique Et Hépatoprotectrice De Lactobacilles Isolés De Produits Laitiers De Chamelle De Mongolie	Dans la présente étude, 107 souches de bactéries lactiques (BL) ont été isolées à partir de produits laitiers de chamelle de Mongolie et identifiées, puis criblées pour leurs propriétés probiotiques. Ainsi, 71 bactéries Lactobacillus appartenant à 9 espèces différentes, et 36 bactéries Lactococcus appartenant à 8 espèces différentes ont pu être identifiées. Ces six souches de BL ont été administrées à des souris pendant 7 semaines, le dernier jour de l'expérience, les lipopolysaccharides (LPS) et la	**Xu et *al*., 2019**

	galactosamine (D-GalN) ont été utilisés pour induire une lésion hépatique aiguë. Après épreuve, le niveau des modificationss pathologiques du foie, la sécrétion d'aspartate aminotransférase (ASAT) et d'alanine aminotransférase (ALAT) dans le sérum et le foie, et l'expression du facteur de nécrose tumoral (TNF)-α et de l'interleukine (IL)-6 dans le foie et les intestins ont été observés et quantifiés. Les résultats ont montré que le degré des changements pathologiques du foie chez les souris nourries avec les six souches de BL était atténué à des degrés divers par rapport au groupe modèle induit par LPS/D-GalN. Les expressions d'ASAT, ALAT, IL-6 et TNF-α ont également été diminuées significativement.	

2.2. Effet anti-infectieux

Les effets médicinaux du lait de chamelle sont couramment exploités dans le traitement de quelques maladies infectieuses. En Asie centrale, l'utilisation du lait de chamelle comme traitement adjuvant dans la tuberculose humaine en sanatorium est ancien. Les auteurs certifient l'amélioration marquée des malades avec une cure de deux litres de lait de chamelle/jour soit cru, soit fermenté durant 2 à 4 mois. Ces résultats sont confirmés en Inde sur des patients tuberculeux buvant un litre de lait par jour et en Libye, avec un régime de 1,5 litre /jour, un effet bénéfique est observable dès la première semaine de traitement **(Belamri et *al*., 2019)**.

2.3. Effet antimicrobien

Le lait de chamelle possèderait un effet antimicrobien contre les bactéries GRAM positives et GRAM négatives, parmi ces bactéries on retrouve *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhimurium* **(El-Agamy *et al.*, 1992).** L'activité inhibitrice du lait et du colostrum de chamelle a été étudiée en 2004. *Bacillus*

cereus s'est montré résistant contre l'activité inhibitrice, tandis que *Listeria monocytogenes* LMG 13304 et *Escherichia coli* O78 :K80, ont semblé plus sensibles. Le lait de chamelle et le colostrum ont une propriété bactériostatique sur *Listeria monocytogenes* LMG 13304 pendant les 8 premières heures.

L'activité antimicrobienne du lait de chamelle est en moyenne supérieure à celle du lait de la vache **(Faye, 2003 ; Faye, 2009).**

Cette activité est attribuée à la présence dans le lait de chamelle de substances antimicrobiennes tels que le lysozyme, le peroxyde d'hydrogène, la lactoferrine, la Lactoperoxydase et les immunoglobulines **(El-Agamy *et al.*, 1992 ; Amany et *al*., 2005 ; Conesa et *al*., 2008 ; Mona et *al*., 2010 ; Gizachew et *al*., 2014).**

- **La lactoferrine :** Est une glycoprotéine capable de fixer deux ions ferriques (fe3+). Cette capacité explique son rôle dans le contrôle de la croissance de certaines bactéries pathogènes, comme *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, elle est thermorésistante. Cette protéine n'est pas spécifique du lait. On la retrouve dans la plupart des sécrétions de mammifères, avec une abondance dans le lait de chamelle de 30 à 100 fois plus importante que dans le lait de vache.

- **Lysozyme :** Est une protéine présente dans les laits des mammifères, c'est un facteur antimicrobien puissant et thermorésistant.

- **Lactoperoxydase** : Est une enzyme qui appartient au système non immun normal de la défense du lait. Elle n'est pas spécifique au lait, on la retrouve aussi dans les secrétions et les glandes. Ce bactéricide varie selon l'espèce microbienne. Les bactéries sensibles à l'action de cette enzyme sont *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Salmonella* spp, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes, Acinetobacter* spp …etc.

- **Immunoglobulines :** Jouent un rôle dans le système immunitaire chez les nouveau-nés. Les IgG possèdent un taux très élevé dans le colostrum. Elles ont une structure proche des IgG humaines et sont thermorésistantes.

2.4. Effet anti-oxydant

L'identification des peptides dérivés du lait comme source d'antioxydants, et de leurs avantages potentiels pour la santé, en particulier dans la prévention des maladies est de plus en plus reconnu**.** Ces peptides sont inactifs au sein de leurs protéines, mais ils deviennent libres et actifs après hydrolyse enzymatique. Ces peptides ont la propriété de piégeage des radicaux libres, chélation des ions métalliques, ainsi que la capacité à inhiber la peroxydation lipidique **(Belamri et *al*., 2019).**

2.5. Effet anticancéreux

Une action anticancéreuse du lait de chamelle a été démontrée par plusieurs études (**Khorshid et *al*., 2006 ; Alhaider et *al*., 2011 ; Korashy et *al*., 2011 ; Alhaider et *al*., 2014 ; Kanwar et *al*., 2015 ; Abdel Galil et *al*., 2016).**

A ce jour, la nature exacte des constituants anti-cancéreux dans le lait de chamelle ou dans l'urine n'ont pas été clairement identifiés.

La richesse du lait de chamelle en lactoferrine qui possède un rôle très important dans les traitements de certains cancers, et processus tumoraux, déjà étudiés notamment chez le rat, pourrait être l'explication à cet effet anti-cancéreux **(Moastafa et *al*., 2014; Hamidi, 2015 ; Ghalem, 2015).**

2.6. Effet antidiabétique

L'amélioration du statut glycémique chez les diabétiques traités au lait de chamelle serait due à la présence d'insuline en quantités importantes. L'insuline est neutralisée au niveau de l'estomac, et il semble que le lait de chamelle ne caillant pas à l'estomac, elle pourrait être conservée intacte. La consommation régulière du lait de chamelle a une action hypoglycémiante chez les diabétiques **(Agrawal et *al.*, 2003 ; Agrawal et *al*., 2005 ; Mohamad et *al*., 2009 ; Agrawal et *al*., 2011).**

2.7. Les facteurs stimulants : la vitamine C

Le taux de vitamines C dans le lait de chamelle est très élevé en comparaison à celui d'autres mammifères domestiques. Cette vitamine joue un rôle biologique considérable par ses propriétés anti oxydantes, et un rôle tonique et de lutte permanente contre la fatigue et l'infection **(Belamri et *al*., 2019).**

2.8. Propriétés antiallergiques reconstituantes

Des IgE d'enfants allergiques au lait de vache, et contre toutes les protéines du lait de chèvre, de brebis, de bufflesse et de chamelle ont réagi positivement avec toutes les protéines laitières, sauf avec celles du lait de chamelle. Les anticorps monoclonaux anti protéines laitières bovines ne reconnaissaient pas celles du lait de chamelle. Le lait de chamelle est souvent utilisé comme reconstituant chez les malades convalescents **(Ghalem, 2016 ; Kedda, 2016).**

3. Généralités sur l'urine cameline

3.1 Rein du dromadaire

Le rein du dromadaire joue un rôle capital dans le système de la régulation hydrique et dans la réabsorption de nombreux métabolites et électrolytes. Il est responsable de l'équilibre de ces deux mécanismes en cas de déshydratation et de réhydratation rapide, comme cela arrive souvent chez cette espèce (**Bengoumi et *al.*, 1997 ; Faye et *al.*, 1995 cité par Hasni et Habita, 2015).**

Le volume du rein du dromadaire est d'environ 850 cm^3 et son poids d'environ 1000 grammes. Le rein gauche est légèrement plus lourd que le droit. Les dimensions sont environ de 19 cm de long, 12 cm de largeur et 9 cm d'épaisseur (rein gauche) et 18 x 11 x 8 cm pour le rein droit **(Tayeb, 1948 cité par Hasni et Habita, 2015).** Une fois soumis à une restriction hydrique, le dromadaire peut concentrer ses urines dans le but de limiter les pertes d'eau. Cette concentration lui permet de tolérer des eaux et des plantes contenant des quantités excessives en sels. Ce phénomène est dû en partie à l'anatomie du rein qui se caractérise par un nombre élevé de néphrons dotés d'anse de Henlé très longue par rapport aux autres animaux. Cette longueur favorise une plus forte réabsorption de l'eau, rendant ainsi les urines plus concentrées **(Faye et *al.*, 1995 ; Mukassa, 1981 ; Wilson, 1984 cité par Hasni et Habita, 2015).**

Le rein du dromadaire joue aussi un rôle important dans le recyclage de l'azote alimentaire, grâce à l'activité élevée de certaines enzymes telles que l'Aspartate Aminotransferase (ASAT), Alanine Aminotransferase (ALAT), Gamma-glutamyl transferase (GGT), Phosphatase alcaline (PAL), ce qui explique la capacité du dromadaire à survivre avec des rations faiblement nutritives dans des conditions extrêmes contrairement aux autres herbivores.

3.2. L'urine du dromadaire

3.2.1. Description et composition

L'urine du dromadaire se caractérise par une forte odeur et une couleur jaune foncée, et est deux fois plus salée que l'eau de mer.

Les valeurs du pH varient pour être acides ou alcalines**.** Selon **Albie et *al.* (2017),** l'urine présente un pH basique de 7,8 et une densité entre 1,045 à 1,060.

La composition de l'urine du dromadaire est différente de celle de beaucoup d'autres mammifères.

L'urine cameline se caractérise par l'absence d'ammoniac et la présence de traces d'urée, contrairement aux urines de tous les autres animaux, y compris l'homme sachant que l'ammoniac est à l'origine de la mauvaise odeur et de la toxicité de l'urine.

Elle contient de faibles quantités de certains éléments toxiques tels que : le cadmium, le plomb, le mercure et l'arsenic (Voir tableau 8) **(Ahamad et *al*., 2010 ; Kuoidri et Chemla, 2020).**

Selon **Ahamad et *al.* (2010),** l'urine de chamelle présente de fortes concentrations en K, Mg et albumine, et de faibles concentrations d'acide urique, Na, créatine, acides aminés et sels inorganiques.

L'urine du dromadaire contient environ 10 fois plus de sels minéraux que l'urine de l'être humain et une quantité importante de créatine et de créatinine **(Alomar et El Hassan 2006).**

Tableau 8. Composition des urines de chamelle **(Ahamad et *al*., 2015).**

Nom d'élément	Concentration en ppm	Nom d'élément	Concentration en ppm
Lithium	0,006708	**Nickel**	0,086647
Bore	0,031970	**Cuivre**	0,038132
Sodium	647,344755	**Zinc**	0,05477
Magnésium	15,105697	**Arsenic**	0,000359
Aluminium	0,159909	**Sélénium**	0,002612
Phosphore	0,471004	**Strontium**	0,103021
Chlore	0,0002358	**Platine**	0,000239
Potassium	280,7982	**Or**	0,001787
Calcium	0,023656	**Mercure**	0,000258
Argent	0,000300	**Etain**	0,000461
Chrome	1,963761	**Antimoine**	0,001004
Manganèse	0,017308	**Iode**	0,000256
Fer	1.705473	**Baryum**	0,013403
Cobalt	0,001637	**Cadmium**	0,000086

3.2.2. Urino-thérapie

L'urino-thérapie est une méthode utilisant l'urine comme traitement médicinal. Elle peut s'effectuer par voie orale (en buvant de l'urine), par injection ou en usage externe. C'est une pratique ancienne qui est utilisée aujourd'hui, non seulement en cas de maladie, mais aussi à titre préventif**.**

3.2.2.1. Historique et avantages de l'urino-thérapie

L'urino-thérapie fait partie des plus anciennes formes de guérison traditionnelle mentionnée dans les civilisations antiques et les religions. L'urine animale, y compris celle de la chèvre, du mouton, du buffle, du cheval, du chameau et de l'âne, est traditionnellement utilisée pour traiter les tumeurs abdominales, l'hypertrophie abdominale, la tuberculose, les hémorroïdes, les coliques et l'anémie **(Al-Abdalall, 2010).**

Elle est bien documentée en Inde dans les scripts de Damar Tantra datant de 5000 années. Une partie du script explique en détail la consommation de l'urine pour rajeunir le corps.

Dans la religion Musulmane, elle est rapportée par AL-BOUKHARI et MOUSLIM dans leur Sahih, ils ont rapporté l'histoire des gens de Urayna qui vinrent à Médine et comme ils eurent très mal au ventre, le prophète Mohamed que le salut et la prière soient sur lui, leur dit d'aller boire du lait de chamelle et de se traiter par leurs urines *« Si cela vous convient, allez boire du lait et de l'urine des chamelles de l'aumône » Hadith* d'après Anas ibn Malîk qu'Allah soit satisfait de lui. Ce qu'ils firent jusqu'au recouvrement de leur santé.

La thérapie avec de l'urine est simple, naturelle et disponible gratuitement et d'une façon abondante, chose extrêmement importante à l'époque moderne. Elle a l'avantage de se baser sur les substances contenues dans l'urine qui sont parfaitement naturelles et ne proviennent pas de processus de synthèse chimique. Ainsi, le traitement avec de l'urine dans la plupart des cas ne produit pas d'effets secondaires ou d'allergies, comme c'est le cas des médicaments synthétiques (**Kuoidri et Chemla, 2020**).

L'urino-thérapie a des qualités diurétiques et laxatives extrêmement précieuses dans les cas d'intoxication. Elle permet d'obtenir des résultats relativement positifs dans un grand nombre de maladies, du rhume au cancer en passant par les allergies, les troubles hormonaux et digestifs et les maladies cutanées **(Hasni et Habita, 2015).**

L'urée est un agent antibactérien et antiviral efficace. Elle est l'une des meilleures substances naturelles diurétiques et un agent médicinal approuvé par le FDA (Food & Drug

Administration aux USA) dont les propriétés antinéoplasiques remarquables sont utilisées dans les médicaments et les traitements contre le cancer **(Hasni et Habita, 2015).**

L'urine de la chamelle a été traditionnellement utilisée pour traiter de nombreuses maladies dans les pays arabes **(O'haj, 1993)**. L'urine de chameau est considérée comme le prototype de l'urinothérapie et possède des effets plus bénéfiques que les autres urines animales **(Abdel Gader et Alhaider, 2016).** Elle se compose de divers constituants chimiques qui contribuent à ses effets anticancéreux, antiplaquettaires, gastro-protecteurs et hépato-protecteurs. Une étude récente **Anwar et *al*. (2021)** a montré que l'urine de chamelle possède des propriétés cytotoxiques mais pas clastogènes, avec des études à la fois in vitro et in vivo montrant que l'urine de chamelle n'a pas provoqué de clastogénicité. Cette découverte suggère que l'urine de chamelle est sûre et ne présente aucun risque de développer une toxicité génétique ; ainsi, elle pourrait être proposée comme agent thérapeutique potentiel contre diverses maladies.

3.2.3. Les activités biologiques exercées par l'urine de la chamelle

3.2.3.1. L'effet hépato-protecteur des urines de chamelle

Mahmoud et *al.* (2019) ont investigué l'effet hépato-protecteur de l'urine de chamelle contre les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone (CCl4) chez le rat après 60 jours d'étude. Ils ont révélé que l'urine de chamelle atténue significativement l'hépato-toxicité induite par le CCl4. Cet effet a été établi grâce à la propriété anti oxydante des métabolites actifs, qui empêchent les radicaux libres oxydatifs cellulaires induits par le CCl4 d'attaquer les tissus hépatiques. Vingt composants différents liés à la glycolyse, à la synthèse des acides gras, aux nucléosides, aux minéralocorticoïdes, à l'inhibiteur de la tyrosine et à la production de métabolites de l'acide arachidonique ont été identifiés dans l'urine de chamelle. De plus, 28 autres éléments inorganiques essentiels ont été identifiés avec le sodium, le potassium, le magnésium, le manganèse et le chrome présents en plus grandes quantités. La présence de ces éléments inorganiques à une dose de 100 µg a augmenté significativement les activités de piégeage du SOR, de l'H2O2 et des radicaux libres FRAPS.

Les éléments organiques essentiels qui agissent comme antioxydants, interviennent dans la haute activité de piégeage des radicaux libres **(Abdel-Salam et *al*., 2010).** Une diminution significative des taux d'Aspartate aminotransférase (ASAT) et d'alanine aminotransférase (ALAT) a été observée après le traitement par l'urine de la chamelle, ainsi qu'une réduction du taux d'albumine. Le retour à des niveaux normaux d'ASAT et d'ALAT suggère une amélioration de la fonction hépatique et une protection contre le CCl4 **(Elhag et *al*., 2017).** Les coupes de tissu hépatique traité par l'urine de chamelle ont également montré l'absence de nécrose lytique ou d'inflammation portale et une expansion moins marquée du tissu fibreux.

3.2.3.2. L'effet gastro-protecteur des urines de chamelle

Les résultats de l'étude réalisée par **Shazia et *al.* (2012),** ont montré que l'urine de chamelle présente un effet anti-ulcéreux significatif dans trois modèles de la méthode gastro-protectrice :

1) ulcère induit par HCl/éthanol (HCl/EtOH),

2) ulcère induit par le stress de la rétention d'eau (WRS)

3) ulcère induit par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Modèle indométhacine)

La formation d'ulcères a été confirmée par la présence de lésions et d'inflammation dans la partie glandulaire de l'estomac (modèle HCl/EtOH), l'apparition de stries hémorragiques sur toute la muqueuse gastrique (modèle WRS), et une lésion étendue de la muqueuse gastrique avec présence de taches hémorragiques rouges noirâtres (Modèle indométhacine).

Le traitement avec 5 ml/kg de l'urine de chamelle a montré une protection de 100 % contre un ulcère gastroduodénal dans les modèles HCl/EtOH et WRS. Dans le modèle d'indométacine, l'urine de chamelle a montré une inhibition de l'ulcère de 66,7 %.

L'urine de chamelle semble renforcer la barrière muqueuse contre les agents ulcérogènes endogènes et exogènes par la présence d'agents anti oxydants. Il a été prouvé que le cuivre et le magnésium sont deux oligo éléments présents dans l'urine de chamelle, et qui sont capables de réduire le stress oxydatif. L'urine de chamelle a montré un fort effet de cicatrisation des ulcères dans les lésions gastriques induites par l'indométacine, et ceci pourrait être considéré comme un traitement contre les ulcères dans l'avenir.

3.2.3.3. Activité anticancéreuse

L'urine de dromadaire a un effet cytotoxique sur quelques lignées cellulaires cancéreuses (mais pas toutes), avec un effet marginal sur les cellules épithéliales normales. Il a été montré

plus précisément que 216 mg/ml d'urine de dromadaire lyophilisée inhibaient la prolifération cellulaire et le déclenchement de plus de 80% des apoptoses dans différentes cellules cancéreuses. De plus, l'urine dérégule les protéines tumoro-stimulantes comme la ß-caténine ou la cycline-D1. Elle augmente également les inhibiteurs de la kinase cycline-dépendante. Des résultats de laboratoire font apparaitre que l'urine de dromadaire n'a aucun effet cytotoxique sur les cellules sanguines mononucléaires normales et présente un effet d'immuno-induction par l'inhibition des cytokines Th2 **(Al-Yousef *et al.*, 2012).**

3.2.3.4. Activité anti-oxydante

Les résultats des études réalisées par **Hasni et Habita (2015)** et **Kuoidri et Chemla (2020),** ont démontré que les urines de chamelle présentent une activité anti-oxydante testée par plusieurs méthodes comme DDPH, ABTS, CUPRAC, FRAP…etc**.**

3.2.3.5. Activité antifongique

L'efficacité de l'urine à des faibles concentrations n'a pas d'effet inhibiteur significatif sur la croissance fongique. L'inhibition ne peut être constatée que lorsqu'on procède à l'augmentation progressive de la quantité d'urine en contact du champignon **(Abdullah, 2010 ; Hasni et Habita, 2015 ; Norizam et *al*., 2021).**

3.2.3.6. Activité antibactérienne

L'urine de dromadaire a une activité bactériostatique et bactéricide vis à vis de certaines bactéries pathogènes (*Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Micrococcus* sp, *Gemella marbillarum*). Elle possède la capacité d'atteindre leurs parois cellulaires et d'empêcher leur reconstitution **(Elhassan, 2006 ; Kuoidri et Chemla, 2020).**

3.2.3.7. Activité antiplaquettaire

L'urine de dromadaire inhibe complètement l'acide arachidonique et l'adénosine di-phosphate (ADP) qui induisent l'agrégation des plaquettes humaines de manière dose - dépendante. L'urine humaine et l'urine bovine ne présentent aucune activité antiplaquettaire. Ces résultats fournissent la première preuve scientifique des propriétés thérapeutiques présumées des urines de dromadaire **(Alhaidar *et al.*, 2011 ; Hasni et Habita, 2015 ; ahamad et *al*., 2017).**

ETUDE EXPERIMENTALE

Premier chapitre
Etude physicochimique, biochimique et microbiologique du lait et des urines de chamelle

Introduction

Le lait contient des nutriments essentiels pour la santé humaine. Il fait partie des produits de large consommation en raison de sa richesse nutritionnelle : protéines, matières grasses, lactose, sels minéraux, vitamines et eau.

Le lait de chamelle, malgré sa richesse et sa production non négligeables, demeure un produit relativement peu consommé et peu transformé, car insuffisamment étudié et valorisé ; 85% du lait produit et commercialisé à travers le monde provient de la vache.

Le lait de chamelle notamment, présente des propriétés antibiotiques et un certain nombre d'effets prophylactiques **(Al-Awadi et Srikumar, 2001)**. C'est un élément important pour le régime alimentaire humain dans de nombreuses régions du monde. C'est ainsi un aliment précieux des différentes régions du Sahara, notamment pour la population nomade. Il ressemble sur certains points à celui de la vache, mais présente une similitude parfaite avec celui du lait maternel **(Siboukeur, 2007).**

L'urine et le lait de chamelle ont été utilisés traditionnellement pour le maintien d'une bonne santé, ainsi que dans le traitement de diverses maladies (**Redwan et Tabll, 2007; Konuspayeva *et al.*, 2007 ; Conesa *et al.*, 2008; Agrawal *et al.*, 2009 ; Alhaider *et al.*, 2011 ; Benmadi et Aied, 2018** ; **Bensadek, 2019).**

Cette pratique de pharmacopée traditionnelle nécessite un examen scientifique complet. Dans ce contexte, l'objectif principal du présent chapitre consiste à étudier quelques paramètres physicochimiques, biochimiques et microbiologiques du lait et des urines de chamelle.

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Collecte du lait et des urines de chamelle

Cinq échantillons de lait et des urines de mélange ont été collectés à partir de deux troupeaux camelins (*Camelus dromedarius*) de la population Sahraoui située aux parcours des communes Outaya et Droue de la wilaya de Biskra située dans le sud-est de l'Algérie (latitude : 34° 46',11'' Nord et Longitude 5° 49',06'' Est. Ces 02 troupeaux sont conduits selon un système d'élevage semi extensif : toute l'année au pâturage, sauf quelques jours d'hiver où il n'y a plus de pâture, et pendant lesquels ils sont supplémentés en orge. Les plantes les plus répondus dans cette Wilaya sont : (Drine, Halfa, Zaita, Retam, Damrane, Tarfa)

Le lait et les urines sont collectés à partir de 15 chamelles multipares et cliniquement saines dans des conditions d'asepsie strictes.

Le lait a été prélevé par traite manuelle et les échantillons du lait sont mis dans des flacons en verre stériles de 500 ml, le prélèvement des urines est effectué le matin avant la sortie du troupeau au pâturage. L'animal est laissé uriner en éliminant les premiers jets d'urine pour éviter tout problème de contamination par la flore bactérienne externe. Les urines sont ensuite récupérées dans des flacons stériles et sombres (50 ml) et transportées immédiatement dans des glacières au laboratoire d'analyse alimentaire spécifique.

1.2. Appareillage

- **Automate** (marque MINDRAY modèle BS-300),
- **Compteur de colonies** (marque FUNKE GERBER modèle COLONY STAR),
- **pH mètre** (HANNA modèle HI 2221),
- **Bain-marie** (Memmert, Allemagne),
- **Agitateur magnétique** (STUART, Allemagne),
- **Etuve** (Marque MEMMERT, Allemagne),
- **Centrifugeuse** (Marque GERBER, modèle NOVA-SAFETY8),
- **Balance analytique** (Marque Pologne),
- **Bec Bunsen**,
- **Autoclave**,
- **Hotte** (Marque BOF, Chine).

1.3. Méthodes

Les différentes étapes de la méthodologie suivie lors de la présente étude sont récapitulées dans la figure 10 ci-dessous.

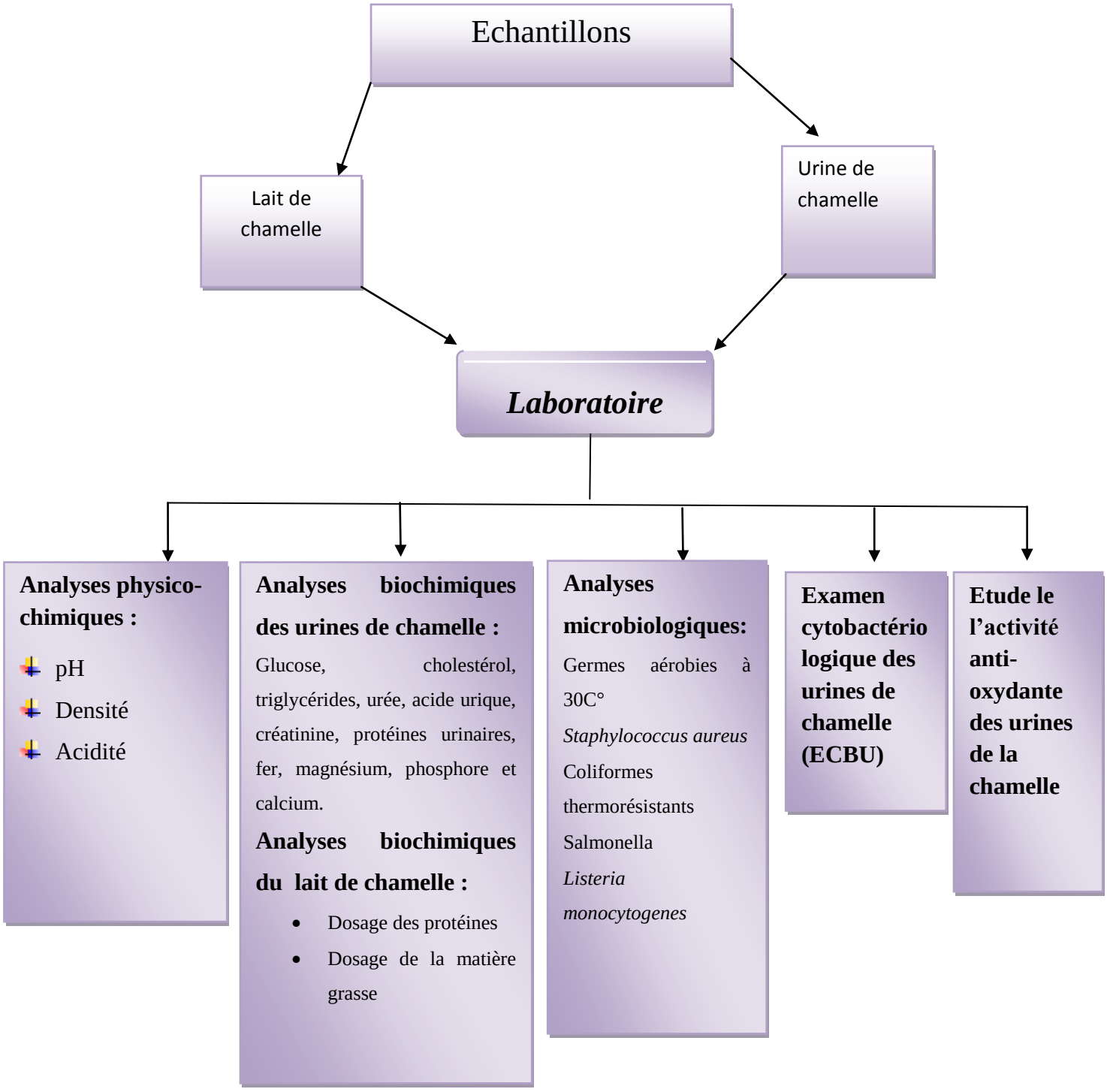


Figure 10. Protocole expérimental

1.3.1. Analyses physicochimiques et biochimiques du lait de chamelle

1.3.1.1. Analyses physicochimiques du lait

1.3.1.1.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

La valeur du pH a une importance exceptionnelle de par l'abondance des informations qu'elle apporte sur la richesse du lait en certains constituants indicateurs de son état de fraicheur, ou indicateurs de sa stabilité.

Dans notre étude, la valeur du pH est déterminée à température ambiante à l'aide d'un pH-mètre étalonné et lue directement sur l'écran de l'appareil.

1.3.1.1.2. Détermination de la densité du lait

La densité désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume en eau (dT1/T2), l'eau étant prise pour unité de poids spécifique égale à 1.

La densité du lait est donc la résultante des densités de ses divers constituants. Elle est déterminée à l'aide d'un densimètre sur un lait maintenu au repos. Elle consiste à plonger l'appareil (lactodensimètre) dans une éprouvette adéquate remplie du lait à analyser (la température du lait est de 20 °C), lorsqu'il se stabilise, la lecture de la valeur de la densité se fait directement sur l'échelle de l'instrument **(Souid, 2011).**

1.3.1.1.3. Acidité

L'acidité titrable du lait est déterminée par le dosage d'une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Elle peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré dornic (°D). 1°D = 0,1g d'acide lactique par litre de lait **(Belamri et *al*., 2019).**

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/l et exprimée en degré Dornic. La valeur de l'acidité du lait est obtenue par la formule suivante : $A=10(V/V')$ (g /l)

A : quantité d'acide lactique en (g /l).

V : volume de solution de NaOH utilisée (ml).

V′ : volume de l'échantillon (ml).

Pour obtenir l'acidité titrable en degrés DORNIC (D°), la valeur de A est multipliée par 10. Un échantillon précis de 10 ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1

ml de phénolphtaléine à 1% dans l'alcool à 95%. La soude est rajoutée (à la burette) jusqu'au virage au rose. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes.

1.3.1.2. Analyses biochimiques du lait

1.3.1.2.1. Dosage de la matière grasse (MG)

Elle est déterminée par la méthode de **GERBER (Anonyme 2, 1990).** Après dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, la séparation de la matière grasse du lait est effectuée par centrifugation dans un butyromètre après attaque des éléments du lait par l'acide, excepté la matière grasse. La séparation de cette dernière en une couche claire et transparente est favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool isométrique.

On met 10 ml d'acide sulfurique dans un butyromètre, ensuite on ajoute 11 ml de lait et 1ml d'alcool iso amylique. Après bouchage du butyromètre, on procède à l'agitation jusqu'à dissolution complète de la caséine qui se coagule au contact de l'acide, sans laisser refroidir le butyromètre. On centrifuge durant 5 min à une vitesse de rotation de 12000 tours par minute. À la sortie de la centrifugeuse, on obtient dans la partie graduée du butyromètre une colonne claire et transparente de la matière, on en lit la hauteur, la valeur est exprimée en gramme par litre.

1.3.1.2.2. Dosage des protéines

Le dosage des protéines du lait est effectué par la méthode de référence qui est la méthode de Kjeldahl **(Guillou *et al.*, 1976)**. Elle consiste à réaliser une minéralisation complète des molécules organiques, transformant l'azote présent en ammoniac qui peut être dosé par différentes techniques.

Les échantillons du lait de chamelle sont minéralisés en présence d'acide sulfurique concentré et chaud. Le carbone, l'oxygène et l'hydrogène sont transformés en gaz carbonique et en vapeur d'eau, alors que l'azote reste en solution sous forme de sulfate d'ammonium. L'adjonction d'acide perchlorique ou d'eau oxygénée permet une minéralisation plus poussée. Trois techniques permettent de doser cet ammoniac (titrage, colorimétrie et potentiométrie).

1.3.1.3. L'examen bactériologique du lait

Les étapes suivies lors de la présente étude sont récapitulées dans la figure 11 ci-dessous.

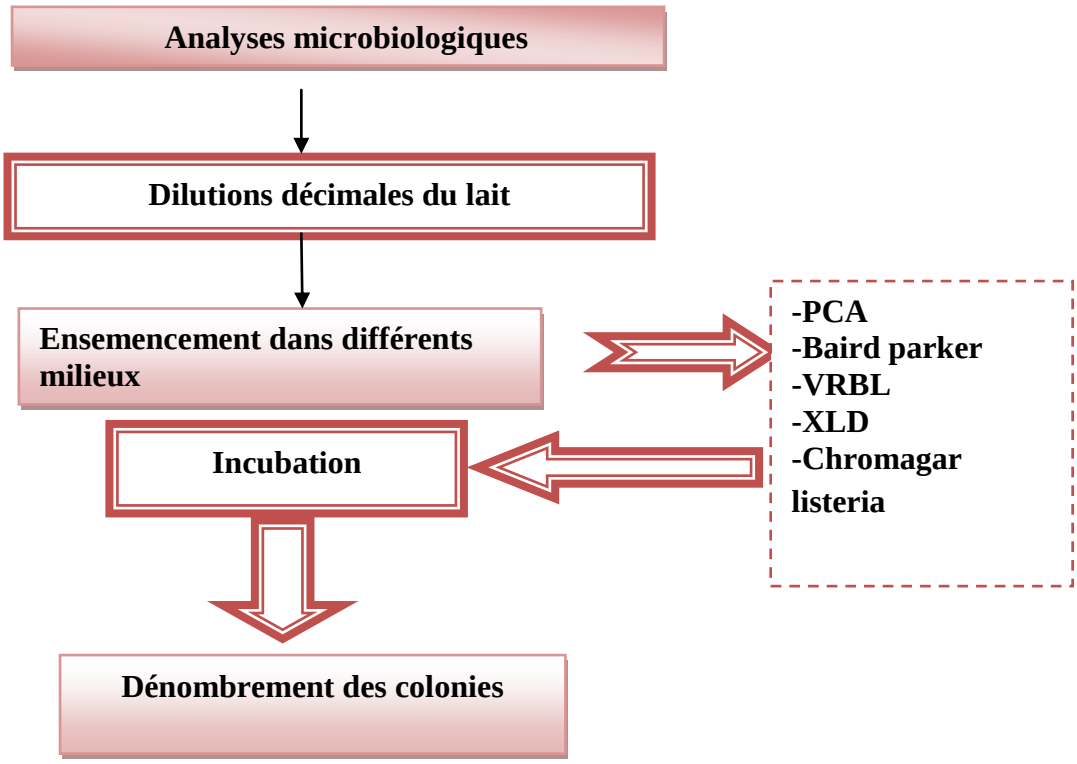


Figure 11. Protocole expérimental des analyses microbiologiques

1.3.1.3.1. Préparation des dilutions décimales

Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques et rigoureuses. On prépare autant de tubes qu'il y a de dilutions à effectuer en prenant des tubes stériles dans lesquels on pipette aseptiquement 9 ml de liquide diluant. Ceci permet d'obtenir une précision maximale.

On prélève 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette de 1 ml après l'avoir homogénéisé soigneusement, on la porte dans le premier tube de dilution (10^{-1}). La pipette ne doit pas entrer en contact avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette de 1 ml, on homogénéise par aspiration et soufflage le contenu de ce tube 10^{-1} et on ensemence le tube 10^{-2} et ainsi de suite pour les autres dilutions en changeant à chaque fois de pipette pour ne pas perturber les dilutions **(Guiraud et Rosec, 2004).**

La préparation des dilutions décimales dans cette étude a été réalisée selon les normes (**ISO 4833**)**.** La méthode de dilution est représentée dans la figure 12 ci-dessous.

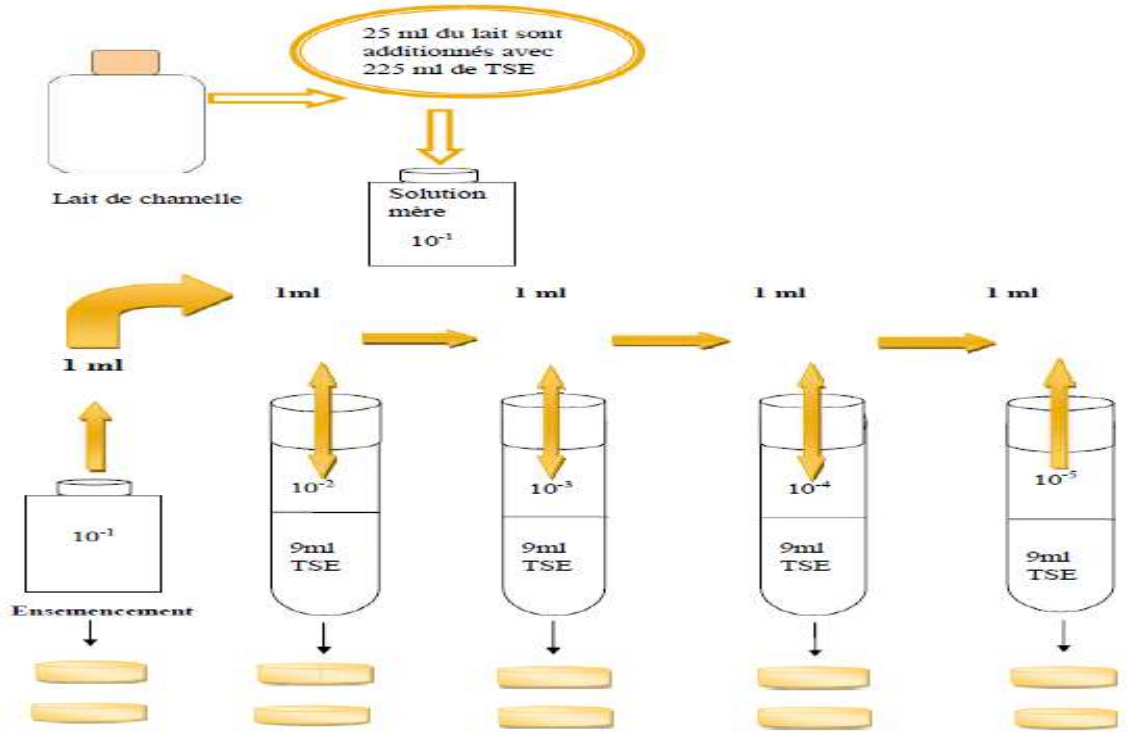


Figure 12. Méthodes de dilution et d'ensemencement (Bezzalla et Gouttaya, 2013)

1.3.1.3.2. Ensemencement et incubation

Les conditions de culture sont rapportées dans le tableau 9 ci-dessous

Tableau 9. Conditions de culture

Les bactéries recherchées	**Milieu utilisé**	**Type d'ensemencement**	**Durée d'incubation**	**Température**
Germes aérobies	PCA	profondeur	3 Jours	30 °C
Staphylococcus aureus	BAIRD PARKER	Surface	24h/48h	37 °C
Coliformes thermorésistants	VRBL	Surface	24h	44 °C
Salmonella	XLD	Surface	3 Jours	30 °C à 44 °C
Listeria monocytogènes	Chromagar Listeria	Surface	24h/48h	37 °C

1.3.1.3.3. Dénombrement

Dans cette partie, nous avons procédé au dénombrement et à l'identification de quelques groupes de bactéries susceptibles d'évoluer dans les échantillons de lait de chamelle cru à l'aide d'un compteur de colonies.

Le nombre total = nombre de colonies × 0,11

1.3.2. Analyses physicochimiques et biochimiques des urines

1.3.2.1. Analyses physicochimiques des urines

1.3.2.1.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) et détermination de la densité des urines

La densité urinaire permet d'évaluer la capacité du rein à concentrer les urines et de suivre indirectement la quantité d'eau consommée. Elle représente le total des substances dissoutes dans l'urine principalement (créatinine, urée, sodium, calcium…, etc). Le pH urinaire est la mesure de l'acidité des urines. Un pH acide favorise la formation de cristaux d'acide urique, de cystine et d'oxalate de calcium. Un pH alcalin favorise la lithiase infectieuse et phosphocalcique.

La valeur du pH et la densité des urines sont déterminées à température ambiante à l'aide de bandelettes **(voir photo 1, Annexe 1).**

1.3.2.2. Analyses biochimiques des urines

Les analyses des composés urinaires ont été réalisées au niveau d'un laboratoire d'analyse spécialisé, à l'aide d'un spectrophotomètre de type MINDRAY modèle BS-300.

Les paramètres dosés sont le glucose, la créatinine, le cholestérol, les protéines urinaires, les triglycérides, l'urée, l'acide urique, le calcium, le phosphore, le magnésium et le fer.

Les méthodes des analyses urinaires pour le glucose, les protéines, le cholestérol, les triglycérides, l'urée et la créatinine sont les mêmes que celles décrites pour le plasma dans le premier chapitre de la partie expérimentale.

Les méthodes utilisées pour les dosages urinaires de l'acide urique, calcium, phosphore, magnésium et fer sont décrites ci-dessous.

1.3.2.2.1. Acide urique

La détermination de la concentration de l'acide urique est basée sur la méthode de (**Trivedi et *al.*, 1978) et (Kabasakalian et *al.*, 1973)**. L'acide urique est oxydé en allantoïne

par l'uricase avec production de peroxyde d'hydrogène (H2O2). Le H2O2 réagit avec la 4 - aminoantipyrine (4-AAP) et le 2,4,6-acide tribromo-3-hydroxybenzoïque (TBHB) avec la présence de la peroxydase pour former un colorant qui est la quinone-imine. L'absorbance du composé coloré (quinone-imine) est mesurée à 548nm, la quantité de la lumière absorbée est proportionnelle à la concentration d'acide urique dans l'échantillon.

1.3.2.2.2. Calcium

La méthode CPC (O-Crésol Phtaléine Complexon) dérivée de Moorehead et Briggs permet le détermination du calcium total dans le sérum, plasma ou les urines.

En milieu alcalin, le CPC réagit avec le calcium pour former un complexe coloré rouge foncé dont l'absorbance, mesurée à 570 nm est proportionnelle à la concentration en calcium dans le spécimen **(Moorehead et Briggs, 1974).**

1.3.2.2.3. Phosphore

Le phosphate inorganique réagit avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe : le phospho-molybbdate d'ammonium qui réduit en bleu de molybdène. L'absorbance à 340 nm est directement proportionnelle à la concentration du phosphore inorganique dans l'échantillon **(Fiske et Subbarow, 1925)**.

1.3.2.2.4. Magnésium

Le dosage du magnésium repose sur l'utilisation du colorant **arsenazo** qui a une affinité particulière avec le magnésium. L'absorbance du complexe **arsenazo-** magnésium est proportionnelle à la concentration en magnésium dans l'échantillon et est mesurée à 572 nm. L'interférence avec le calcium est évitée par l'ajout d'un agent de chélation du calcium **(Burtis et Ashwood, 1994).**

1.3.2.2.5. Fer

On libère le fer de la transferrine grâce à l'action d'un acide. Le fer ferrique est converti en fer ferreux par l'action de l'hydrochlorure d'hydroxylamine. Le fer ferreux libéré réagit avec le FERENE pour former un complexe FERENE-Fer coloré. L'absorbance du complexe FERENE-Fer est proportionnelle à la concentration du fer dans l'échantillon et est mesurée à

604 nm. On ajoute de la thiourée et un détergent afin d'empêcher, respectivement, l'interférence avec le cuivre et la turbidité (**Tietz, 1986)**.

1.3.3. L'examen cytologique des urines

Ce test est réalisé en déposant une goutte d'urine de chamelle entre lame et lamelle suivie par une observation au microscope optique avec un grossissement 400 pour éventuellement détecter une concentration anormalement élevée en leucocytes, signe d'une infection.

1.3.4. L'examen bactériologique des urines

On a procédé à l'ensemencement d'une goutte d'urine à 37°C dans des milieux de culture pendant 24h. Les milieux de culture utilisés sont :

- Gélose nutritive
- Chapman pour la recherche des Staphylocoques
- Hektoen pour la recherche des Salmonelles et Shigelles.

1.3.5. Test de la cytotoxicité

Le test de la cytotoxicité a été réalisé dans le centre de recherche en Biotechnologies (CRBT) au niveau du laboratoire de pharmacologie et toxicologie.

1.3.5.1. Principe de la réaction

L'activité cytotoxique (Activity Using Brine shrimp) est déterminée par la méthode de **Meyer (1982).** Cette technique nécessite comme réactifs des larves d'*Artemia*, ethanol, eau de mer et diméthylsulfoxyde DMSO.

Principe : Mélanger 100 µl d'urine de chamelle de chaque dilution + dix larves d'*Artemia* + ajuster jusqu'à 5 ml avec de l'eau de mer à 70% + incubation pendant 24 heures sous éclairage.

- Pour chaque concentration, cinq tubes sont préparés.
- Une série de tubes témoins est réalisée aux concentrations suivantes: (2%, 1%, 0,2%) avec le DMSO et (1 %, 0,2%, 0,1%) avec l'éthanol.

1.3.5.2. Lecture des résultats

Après 24 heures, le nombre de larves survivantes est compté à l'aide d'une loupe dans chaque tube et la mortalité est calculée à chaque concentration.

Mortalité: % morts = (% morts essai - % morts témoin) / (l00 - % morts témoin).

La mortalité témoin ne doit pas excéder 15%.

1.3.6. Activité anti-oxydante des urines

L'étude de l'activité anti-oxydante des urines de chamelle a été réalisée au niveau du centre de recherche en Biotechnologies (CRBT) dans le laboratoire de pharmacologie et toxicologie. On a d'abord procédé au séchage des urines à 37°C pendant 18h dans le but de déterminer les déférentes constituants antioxydants retrouvés dans les urines.

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration et la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel (méthodes colorimétriques).

Dans notre étude, nous avons utilisé deux tests chimiques à savoir : le test ABTS (2-2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) et DPPH (2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

1.3.6.1. Test d'ABTS (2-2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

1.3.6.1.1. Principe

La méthode du radical ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration en radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3-éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS).

$$\mathbf{ABTS} \rightleftharpoons \mathbf{ABTS^{+} + e^{-}}$$

Le radical ABTS préformé est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium **(Re et *al.*, 1999).** Cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleue intense. En présence d'un donneur d'hydrogène (agent antioxydant), le passage du radical ABTS à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

1.3.6.1.2. Procédure

Le radical ABTS+est produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) et une solution de potassium (K2S2O8, 2,45 mM), utilisée comme oxydant.

Ce mélange est agité pendant 16h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de 0, 700 ± 0,02. Une prise (160 µl) de cette solution d'ABTS+ est ensuite mélangée avec 40 µl d'urine à différentes concentrations. Après 10 mn d'incubation à

température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm contre un blanc (Témoin négatif) et comparée à celle des antioxydants de synthèse : BHT, BHA.

Les résultats permettent de calculer le pourcentage d'inhibition et d'exprimer cette activité anti radicalaire **(Re et *al.*, 1999).**

L'activité ABTS+ a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

ABTS+ scavenging effect (%) = (AControl - ASample / AControl)* 100

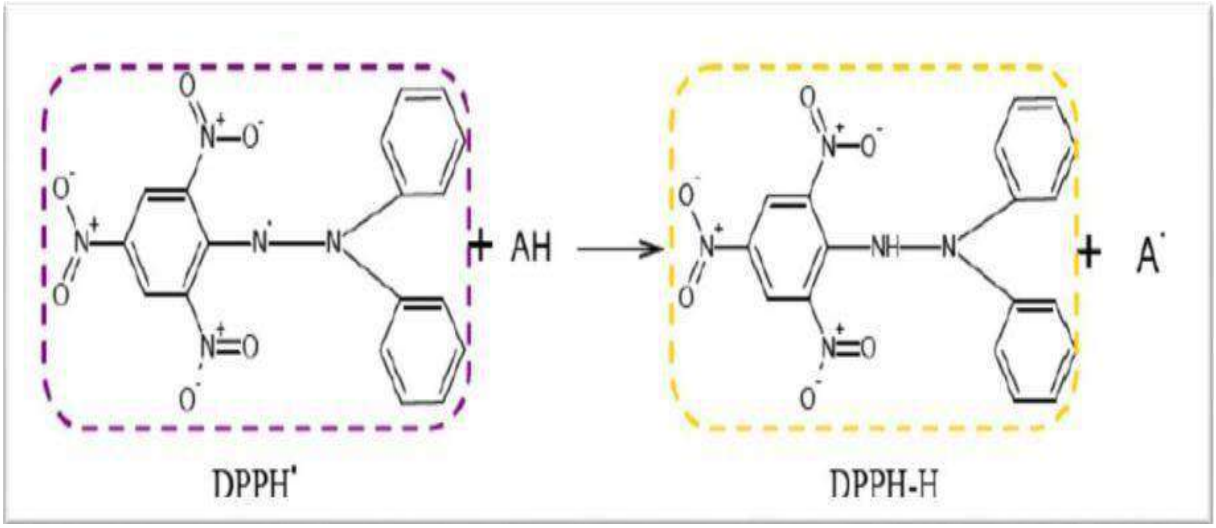
1.3.6.2. Piégeage du radical libre DPPH (2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

1.3.6.2.1. Principe

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) **(Brand-William *et al*., 1995).**

Le pouvoir antioxydant des urines est exprimé par la donation d'un électron ou d'un atome d'hydrogène mesuré par une méthode spectrophotométrique **(Burits et Bucar, 2000).** Le radical libre 2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est utilisé comme un réactif **(Figure 13)**. Les BHT et le BHA sont utilisés comme des standards antioxydants.

1.3.6.2.2. Mode opératoire



Diphenylpicrylhydrazyl (Radical libre) Diphenylpicrylhydrazyl(forme réduite)

Figure 13. Forme libre et réduite du DPPH **(Alam *et al*., 2013).**

• **Préparation de la DPPH**

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière.

• **Procédure**

Après préparation du DPPH, on prend notre microplaque et on ajoute 160 µl (DPPH) mélangés avec 40 µl d'urine à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm contre un témoin négatif. Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

Activité anti radicalaire (%) = [(Ac - At)/ Ac] x100

Ac: Absorbance du contrôle.

At: Absorbance d'extrait ou standard.

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats des analyses physico-chimiques du lait

Le tableau 10 ci-dessous présente les valeurs moyennes et les écart-types des différents paramètres recherchés.

Tableau 10. Résultats des analyses physicochimiques des échantillons de lait

Paramètre	Moyenne et écart-type
pH	**6,34 ± 0,07**
Densité	**1,024 ± 0,41**
Acidité Dornic (°D)	**11, 7 ± 0,1**

2.1.1. pH

Les échantillons de lait camelin analysés, présentent un pH de l'ordre de **6,34 ± 0,07**. Cette valeur du pH est légèrement plus acide que le lait humain ; 7,01, et bovin ; 6,55 **(Abulehia, 1994)**, 6,77 **(Khaskheli, 2005)**, 6,51 ± 0,31 dans les régions sahariennes et 6,69 ± 0,04 dans les régions steppiques **(Alloui-Lombarkia et *al*., 2007)**, 6,6 **(Siboukeur, 2007),** 6,57 **(Omer et Eltinay, 2009)**, 6,53 **(Boudjenah, 2011)**, 6,5 **(Yamina *et al*., 2013)**, 6,48 **(Bensadek, 2019)**, 6,66 **(Kuoidri et Chemla, 2020)**.

D'après **Gorban et Izzeldin (1997)**, le pH et le goût du lait peuvent être affectés par l'alimentation, la disponibilité en eau, le stade de lactation et l'état sanitaire de la mamelle. Selon **Carole (2002),** le pH dépendrait également de la présence de caséines et d'anions phosphoriques.

Un faible changement du pH vers les valeurs acides a des répercussions importantes sur l'équilibre en minéraux (formes solubles et insolubles) **(Alais et Linden, 1997).**

Ce pH bas du lait camelin pourrait être dû selon **Yagil (1982)** à sa composition et sa forte concentration en acides gras volatils**,** à sa richesse en acides organiques divers : acide citrique, acide orotique et acide butyrique **(Haddadin et *al.*, 2008)** et sa teneur relativement élevée en vitamine C **(Saley, 1993).**

2.1.2. Densité

Le résultat obtenu est égal à **1,024 ±0,41.** Ce résultat se situe dans la fourchette des valeurs obtenues par certains auteurs ; 1,020 **(Abidi, 2001)**, 1,029 **(Alloui-Lombarkia et *al.*, 2007),** 1,023 ± 0,0045 **(Siboukeur, 2007),** 1,020 ± 0,0032 **(Sboui** et *al*., **2009)**, et moins dense par rapport aux valeurs rapportées par **Farah (1993) :** 1,029**, Kamoun (1995) :** 1,028 ± 0,002, **Bensadek (2019) :** 1,028, **Kuoidri et Chemla (2020) :** 1,0263.

Labioui (2009) a rapporté que la densité dépend de l'augmentation de la température de l'air ambiant et des disponibilités alimentaires. Elle dépend aussi de la teneur en matière sèche qui est fortement liée à la fréquence de l'abreuvement **(Siboukeur, 2007).**

2.1.3. Acidité Dornic du lait camelin

Le lait camelin cru est légèrement acide, car il contient des substances acides (caséine, vitamine C, acides organiques, phosphates…), il peut présenter par la suite une acidité développée, provoquée par l'acide lactique et les autres acides issus de dégradation du lactose par les microorganismes **(Badaoui, 2000)**. L'acidité titrable du lait dépend du nombre de moles d'acides présentes dans ce produit, elle est inversement proportionnelle à son pH **(Mathieu, 1998).** Les variations dans la valeur de l'acidité sont généralement dues à la variation de l'alimentation des animaux, aux conditions environnementales ainsi qu'à la période de lactation **(Abu-Tarboush et *al.*, 1998).** Ainsi, cette acidité titrable permet de mesurer indirectement la richesse du lait en caséines, phosphates, citrates et hydrogénocarbonates **(Mathieu, 1998)**.

Il est important de préciser que le lait camelin est caractérisé par un effet tampon plus élevé par rapport au lait bovin **(Kamoun et Ramet, 1989).** Cela signifie que le pH arrive à se maintenir approximativement au même niveau malgré l'élévation de l'acidité dornic.

Les valeurs obtenues dans cette étude présentent une acidité moyenne égale à **11, 7 ± 0,1°D,** cette valeur est plus faible que celles retrouvées par l'ensemble des auteurs ; **Kamoun (1995)** avec une moyenne de 15 °D ; **Siboukeur (2007)** avec 18,2 °D ± 2,93, **Konuspayeva (2007)** avec 26 °D, **Faye *et al*. (2008)** avec 24,04 °D, **(Chethouna (2011)** avec 18°D±0,79, **Bensadek (2019**) avec 17,33 ± 0,69, **Kuoidri et Chemla (2020)** avec 18,16.

A la lumière des résultats obtenus dans la présente étude, et qui concernent l'acidité titrable, nous pouvons affirmer que les échantillons de lait analysés possèdent une bonne qualité hygiénique, parce que l'acidité titrable ne dépasse pas les 21°D **(Guiraud, 1998).**

2.2. Résultats des analyses biochimiques du lait camelin

Le tableau 11 ci-dessous montre les teneurs en matière protéique et en matière grasse dans le lait de chamelle.

Tableau 11. Résultats des analyses physicochimiques des échantillons du lait

Paramètre	Moyenne et écart-type
Matière protéique	**24, 20 ± 0,15 g/L**
Matière grasse	**30, 80± 0,26 g/L**

2.2.1. Teneurs en matière protéique

La teneur moyenne en matière protéique du lait camelin dans le présent travail est égale à 24, 20 ± 0,15 g/L. Celle-ci est inférieure à celle du lait bovin (32 g/l), et est deux fois plus élevée par rapport à celle du lait humain (12 g/l).

Les taux que nous avons relevés lors de la présente étude se situent dans la fourchette de quelques auteurs **Ellouze et Kamoun (1989) :** 22,26 g/L, **Khaskheli *et al.* (2005) :** 25,4 g/L, et **Haddadin *et al.* (2008)** avec une teneur de 26,9 g/l.

Par contre, ces valeurs sont plus faibles que celles rapportées par **Attia *et al.* (2001)** : 33 g/l, **Kamal *et al.* (2007)** : 34,6 g/l, **Shamsia (2009) et Chethouna (2011) :** 28,25, **Ghalem, (2016) :** 28,25 g/l, **Ould moustapha et Ould hamadi (2016**) : 33,2g/l±1,66, **Bensadek (2019**) : 32,76 g/l et **Kuoidri et Chemla (2020) :** 28,81 g/l.

Yagil et Etzion (1980) ont signalé que la variation de la teneur en matière protéique est maximale juste après la parturition et arrive à atteindre 11,6 %, puis elle diminue et atteint des valeurs comprises entre 4,6 et 5,7 % en régime hydraté ou entre 2,5 et 3,3 % en régime peu hydraté. La composition des protéines totales varie en fonction des stades de lactation.

Selon **Kamoun (1994)**, les deux premiers mois de lactation se caractérisent par une diminution des taux protéinique et butyreux du lait camelin. Ces derniers atteignent une valeur minimale coïncidant avec le pic de lactation, puis retrouvent, en fin de lactation, un niveau comparable à celui de départ.

2.2.2. Teneurs en matière grasse

Le lait camelin est faible en matière grasse comparativement à d'autres espèces. Sa teneur varie très sensiblement d'une région à l'autre et, est estimée en moyenne à 3,15 % (31,5g/L) **(Senoussi, 2011 cité par Kuoidri et Chemla, 2020).**

La teneur en matière grasse permet d'évaluer la qualité du lait. Dans notre étude, la valeur déterminée est égale 30, 80± 0,26 g/L**,** cette valeur est proche de la valeur moyenne déjà citée dans la partie bibliographique et aux résultats rapportés par certains auteurs tels que **Labsson- raznikiewicz et mohamed (1994) :** 30g/L, **Haddadine *et al.* (2008)** : 29,5 g/L, **El-Hatmi *et al*. (2006)** : 30g/L et **Bensadek (2019**) : 30,95±1,26 g/L.

Cette teneur est supérieure à celle retrouvée par **Desal et *al*. (1982)** : 27g/L, **Sawaya et *al.* (1984)** : 29g/L, et **Elamin et Wilcox (1992)** : 28g/L.

Elle est par contre plus faible que celle rapportée par **Gorban et izzeldin (1997) :** 33g/L, **Kamal et *al*. (2007)** : 37,8g/L, et beaucoup plus faible que celle mentionnée par **Serikabeva et Toktamysova (2000)** avec une valeur de 51,7 g/L.

L'augmentation de la teneur en matière grasse est en relation avec l'alimentation particulièrement riche en concentré (blé, orge, maïs), en ensilage et en fourrage qui affecte directement la teneur en matière grasse du lait **(Belaid, 2016).**

La traite ayant fait l'objet de notre recherche est surtout matinale, or de nombreux auteurs parmi eux **Rico (2014)** cité par **Lauriane (2015**) rapportent que le taux de matière grasse est

largement variable durant la journée, et que cette teneur est plus élevée surtout pendant la traite du soir.

Belamri et *al*. (2019) ont réalisé une étude comparative entre le lait camelin de OUED SOUF et celui de BISKRA et ont déclaré que la teneur en matière grasse varie selon le mode d'élevage et la région. Les résultats de cette étude démontrent une valeur de 29g/L pour le lait d'OUED SOUF et 33 g/L pour le lait de BISKRA.

2.3. Résultats des analyses microbiologiques du lait camelin

Les résultats des analyses microbiologiques de 5 échantillons de lait de mélange sont rapportés dans le tableau 12 ci-dessous.

Tableau 12. Résultats des analyses microbiologiques des échantillons de lait.

Flore microbienne	**Moyenne et écart-type**
Germes aérobies à 30C°	**$4{,}86.\ 10^4 \pm 3{,}03.10^4$**
Staphylococcus aureus	**9.10^2**
Coliformes thermorésistants	**$3{,}66.\ 10 \pm 0{,}20$**
Salmonella	**0**
Listeria monocytogènes	**0**

A la lecture du tableau 12, les résultats obtenus indiquent la présence de germes aérobies (FAMT), de quelques germes de contamination (coliformes, staphylocoques), et l'absence totale des salmonelles et *listeria monocytogènes*. Il faut signaler d'après la consultation des

normes algériennes sur le lait, qu'il n'y a aucune norme microbiologique spécifique au sujet du lait de chamelle.

Les résultats obtenus concernant la flore aérobie mésophile totale (FAMT) sont de **4,86. 10^4 ± 3,03.10^4 UFC/ml**. Cette valeur retrouvée dans la présente étude est inférieure à celle publiée au JORADP n° 39/2017 par l'arrêté interministériel fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires avec un intervalle entre 3.10^5 à 3.10^6 UFC/ml pour le lait cru de vache. Elle est aussi inférieure à la valeur de 10^5 germes/ ml rapportée par **Farris (2009),** et se situe dans l'intervalle des résultats révélés par **Younan (2004)** à savoir 10^3 à 10^5 UFC/ml. Elle est par contre supérieure à celle de **Bensadek (2019**) qui rapporte des résultats dans la fourchette de 1,6.103 à 4,4.103 UFC/ml.

Donc, il est nécessaire d'imputer les résultats obtenus aux bonnes pratiques au moment du prélèvement, transport des échantillons et manipulation.
La réglementation Algérienne selon le journal officiel de la république N° 39 datant du 2 Juillet 2017 **(Annexe 02)** fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires, et concernant la limite microbiologique des staphylocoques à coagulase positive, a fixé un maximum de 10^3 UFC/ml. Les résultats obtenus dans notre étude sont de **9.10^2** UFC/ml. Cette valeur est proche des résultats de **Bensadek (2019**) se situant à 2.10^2 UFC/ml.
Concernant la présence des coliformes, ceux-ci ont longtemps été considérés comme un indice de contamination fécale. Bien que la présence de la plupart des espèces incriminées soit fréquente dans les fèces des animaux et de l'homme. Il s'agit donc de marqueurs de la qualité hygiénique générale.

De nombreux coliformes ne sont pas dangereux du point de vue sanitaire sauf en cas de prolifération extrêmement abondante **(Guiraud et Rosec, 2004).**
L'augmentation continue de la charge des coliformes est plus importante au niveau de l'échantillon entreposé à T° ambiante que celle à 4°C. Ceci est justifié par la sensibilité de ces germes à la température du réfrigérateur.
Dans la présente étude, le résultat obtenu est de 3,66. 10 UFC/ml. Ces résultats sont en accord avec les normes Algériennes fixant la limite à 5.10^3 UFC/ml, ceci confirme la bonne pratique du prélèvement et de la manipulation.

L'augmentation du nombre de coliformes au fur et à mesure du temps présage d'une contamination de départ déjà trop importante. Cette contamination est attribuée aux conditions non conformes de traite, voire de collecte **(Abidi, 2001 ; Bezzalla et Gouttaya, 2013.).**

La recherche de salmonelles et de *listeria monocytogènes* dans l'ensemble des échantillons pendant cette étude a révélé l'absence totale de ces germes, ce qui confirme aussi la bonne qualité hygiénique de nos échantillons.

2.4. Résultats de l'examen cytobactériologique ECBU et test de cytotoxicité des urines de chamelles

- L'examen cytologique a montré l'absence de leucocytes, d'hématies, de cellules épithéliales, de cylindres, de cristaux, de levures et de spermatozoïdes dans les échantillons des urines étudiés
- L'examen bactériologique était négatif, absence totale de germes dans les urines
- L'essai sur *Artemia* est un test de toxicité générale facile à mettre en œuvre et largement utilisé dans l'évaluation de la toxicité générale d'extraits naturels. Toutes les larves d'*Artemia* sont restées en vie, ce qui confirme la non-toxicité des urines de chamelle.

2.5. Résultats des analyses physicochimiques et biochimiques des urines de chamelle

Les valeurs des paramètres biochimiques et physicochimiques des urines des chamelles ayant fait l'objet de notre investigation, ainsi que les valeurs rapportées par **Hasni et habita (2015)** pour les chamelles élevées en intensif et en extensif, et pour l'homme, sont consignées dans le tableau 13 ci-dessous.

Tableau 13. Résultats des analyses physicochimiques et biochimiques des urines de chamelles

Paramètres	Moyenne et écart-type	Urine de l'être humain (Hasni et Habita, 2015)	Urine de chamelles menées en extensif (Hasni et Habita, 2015)	Urine de chamelles menées en intensif (Hasni et Habita, 2015)
pH	8,00 ± 0 ,00	4,6 - 8	6.67 ±0.70	6.69 ±1.03
Densité	1, 030 ±0,00	1,010- 1,030	/	/
Glucose (g/L)	0,05 ± 0,042	/	0.05 ± 0.01	0.73 ± 0.03
Cholestérol (g/L)	0,36 ± 0,14	/	0.026± 0.01	2.47 ±0.05
Triglycérides (g/L)	2,23 ± 0,07	/	0.12 ± 0.01	12.4 ± 0.16
Urée (g/L)	1,15 ± 0,01	20 – 35 g/24H	0.96 ± 0.04	1.19 ± 0.45
Créatinine (mg/L)	30,3 ± 0,04	15 – 25mg/24H	20.4 ± 11.81	11.46 ± 2.09
Acide Urique (mg/L)	5,15 ± 0,91	250 – 750 mg/24H	4.63 ± 1.18	0.13 ± 0.02
Protéines urinaires (g/L)	≤0,01	<0,15g/24H	0.79 ± 0.21	0.24 ± 0.04
Fe (mg/dl)	0,57 ± 0,45	0.55 – 1.55	0.91 ± 0.08	0.62 ± 0.18
Mg (mmol/L)	29,7 ±1,83	3.00 – 7.00 mmol/24H	10.37 ± 0.11	14.38 ± 0.38
P (mmol/L)	5,95 ± 2,19	0.90 – 1.50 mmol/24H	0.24 ± 0.08	0.90 – 1.50
Ca (mg/L)	196 ± 8,48	100 – 250 mg/24H	190 ± 91	9.0 – 10.6

Un bilan urinaire global a été réalisé afin de quantifier les différents constituants organiques et inorganiques des urines de chamelles. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 13 qui rapporte les valeurs moyennes et les écart-types pour chaque paramètre mesuré.

Le prélèvement d'urine est un acte non invasif et il devrait faire partie intégrante de l'examen clinique d'un ruminant. Actuellement, l'exploration urinaire de routine rassemble, d'une part, l'examen macroscopique de l'urine et des analyses du laboratoire : densité urinaire, biochimie et cytologie urinaire. Néanmoins, ces examens para cliniques nécessitent l'existence de valeurs de référence.

La valeur moyenne du pH dans la présente étude est de **8** et la densité de **1, 030.** Ces valeurs sont dans les normes citées par **Alkhamees et Alsanad (2017)** qui ont mentionné que la densité relative variait de 1,01 à 1,07, tandis que les valeurs du pH variaient d'un pH acide à alcalin.

Hasni et Habita (2015), ont étudié le pH des urines collectées à partir de chamelles conduites en intensif et en extensif et ont mentionné des valeurs qui varient entre 5.75 et 7.92 avec des valeurs moyennes de 6.69 ±1.03 et 6.67 ±0.70 respectivement.

Al-Abdullah (2010), a mentionné que l'urine des animaux est généralement acide, et que celle du chameau a un pH basique supérieur à 7,8. Il a également montré que l'urine de chameau diminuait les risques de thrombose (en agissant contre l'agrégation plaquettaire). Elle aurait aussi une activité inhibitrice de la croissance de moisissures comme *Candida albicans, Aspergillus niger, Fusarium oxysporum* même après chauffage à 100°C. Lors d'expérimentations réalisées *in vivo* et *in vitro,* il a été également rapporté que l'urine de chamelle en début de gestation avait des propriétés hépato-protectrices et antiparasitaires, en particulier contre la douve du foie.

D'après la littérature, la méthode la plus fiable pour évaluer la protéinurie et la glycosurie est le suivi de l'excrétion protéique et de glucose pendant 24 heures. En effet, la valeur varie selon la concentration/dilution des urines au cours de la journée. Chez les ruminants, la récolte d'urine sur 24h est difficile dans les conditions d'élevage. On va donc lui préférer un prélèvement urinaire ponctuel. En médecine humaine, la créatininurie est utilisée comme facteur de correction de la concentration/dilution de l'urine. En médecine vétérinaire, de nombreux auteurs ont également démontré la forte corrélation entre le rapport protéines sur créatinine urinaire (RPCU) et la quantité de protéines urinaires émises sur 24 heures **(Ancel, 2016).** A notre connaissance, aucun intervalle de référence n'a été établi, chez le chameau, ni pour la protéinurie, ni pour la créatininurie.

L'urine des bovins contient physiologiquement moins de 10 mg/L de protéines **(Ancel, 2016).** Des valeurs de protéinurie inférieures à 0,01g/L ont été rapportées dans notre investigations. Elles sont nettement inférieures aux valeurs mentionnées par **Hasni et Habita (2015).** Les principales affections rénales des ruminants (pyélonéphrite, glomérulonéphrite, amyloïdose, nécrose tubulaire aiguë) sont à l'origine d'une protéinurie. La détection précoce et

l'évaluation qualitative et quantitative des protéines de l'urine est donc un outil diagnostique important.

Les taux de glucose urinaire n'ont pas excédé 0,05 ± 0,042 g/L ce qui représente des taux insignifiants inférieurs aux seuils de détection de la majorité des bandelettes urinaires. De toutes les manières, pour être interprétable, la glycosurie doit être comparée à la glycémie. En effet, on peut observer une glycosurie lors d'hyperglycémie marquée car la capacité de réabsorption tubulaire est dépassée **(Ancel, 2016).**

Hasni et Habita (2015) en réalisant une étude comparative de quelques paramètres biochimiques des urines de chamelle menées en intensif et en extensif, ont mentionné que les valeurs moyennes de la créatinurie sont de 1.8 fois plus élevées dans les urines des chamelles menées en extensif que chez celles menées en intensif. Leur contenu en acide urique est 35 fois plus important. D'autres composés organiques tels que les protéines et l'urée ont des teneurs équivalentes dans les deux échantillons d'urines.

Les urines de chamelles présentent une faible concentration en éléments azotés tels que l'urée et l'acide urique par rapport aux urines humaines et urines des autres espèces.

Cette faible excrétion pourrait être considérée comme une adaptation physiologique de cet animal au milieu aride où l'apport azoté nécessaire à la synthèse des protéines est peu assuré, surtout par une végétation pauvre en ces constituants. Ces deux molécules sont recyclées par le dromadaire afin de faire face aux déficits rencontrés. Cette particularité biochimique des urines de chamelles les rend moins toxiques, faisant d'elles un remède sans effets secondaires, en comparaison aux urines des autres animaux **(Read, 1925 ; Al-Yousef et *al*., 2012 ; Al Iwadi, 2014)**. Le rôle des reins dans la filtration, le recyclage et la métabolisation (l'activité enzymatique du rein est supérieure à celle du foie contrairement aux autres espèces) est primordial pour assurer l'adaptation du chameau. De là, nombreux sont ceux qui concluent aux propriétés forcément particulières de l'urine synthétisée par les reins du chameau (**Al-Abdullah, 2010).**

La créatinine est formée à partir de la créatine musculaire. Elle est totalement filtrée par le glomérule, mais n'est pas réabsorbée. Elle est retrouvée à des taux relativement comparables dans les urines animales et humaines **(LEFEBVRE et BRAUN, 2001).**

Les résultats des analyses montrent un taux de créatinine plus important 30,3 ± 0,04 mg/L et une plus faible concentration en urée 1,15 ± 0,01g/L, et en acide urique 5,15 ± 0,91mg/L par rapport aux urines humaines.

Amer et Al-Hendi (1996) ont indiqué que le taux d'urée dans les urines de chamelle variait de 0.18 à 0.36 g/L et que la créatinine variait de 0,2 à 0,5 mg/l.

Abdullah (2010), a rapporté que l'urine de chameau n'a pas d'odeur désagréable ne contenant pas d'ammoniac, à l'inverse des autres animaux particulièrement la vache, et relativement peu d'urée, ce qui, contrairement aux urines des autres espèces, ne la rend pas potentiellement toxique.

Concernant les concentrations en cholestérol et en triglycérides, les valeurs obtenues sont de 0,36 ± 0,14 g/L et 2,23 ± 0,07 g/L respectivement. Ces valeurs sont plus élevées comparativement aux résultats de **Hasni et Habita (2015)** pour les chamelles menées en extensif, et elles sont inférieures à celles retrouvées pour les chamelles élevées en intensif.

Les urines des chamelles contiennent des quantités considérables de molécules inorganiques. En l'occurrence, **Alkhamees et Alsanad (2017)** ont mentionné que l'urine de chameau contient environ 10 fois plus de sels minéraux que l'urine humaine. **Abdullah (2010),** a relevé que l'urine de chameau concentre en moyenne 10 fois plus de sels minéraux que l'urine humaine.

Cela a été confirmé dans le présent chapitre puisqu' excepté pour le dosage urinaire du fer, tous les paramètres urinaires investigués à savoir le calcium, le phosphore et le magnésium ont présenté des valeurs supérieures par rapport aux mesures rapportées sur des prélèvements d'urine humaine, sachant que ces dernières ont été mesurées sur des échantillons collectés sur 24 heures, alors que les prélèvements ayant fait l'objet de notre investigations sont des prélèvements ponctuels.

La teneur en calcium dans la présente étude est de 196 ± 8,48 mg/L, elle est proche de la valeur obtenue par **Hasni et Habita (2015)** dans les urines des chamelles menées en extensif, elle est par contre plus élevée que celle retrouvée dans les urines des chamelles menées en intensif (tableau 24).

Les valeurs moyennes du magnésium et du phosphore sont de 5,95 ± 2,19 mmol/L ; 29,7 ±1,83 mmol/L respectivement, ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par **Hasni et**

Habita (2015) dans les deux types d'exploitations (intensif et extensif), alors que la valeur moyenne du fer est inférieure à celle citée par les même auteurs.

2.6. Résultats de l'activité anti-oxydante

Le terme « antioxydant » était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIX^{e} siècle et au début du XX^{e} siècle, les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation beaucoup plus dans les procédés industriels. Après que l'activité anti oxydante ait été très développée dans l'étude des propriétés médicinales des plantes recherchées à travers le monde, de par leur faible toxicité et leur caractère économique **(Auddy et *al*., 2003),** ces études sont concentrées aujourd'hui sur les bienfaits des composés phyto chimiques des fruits, des légumes, et des plantes en général et sur leur impact sur la santé humaine et animale. Les substances végétales sont riches en antioxydants qui sont utilisés pour lutter contre les radicaux libres responsables de plusieurs pathologies, tels que le cancer et les maladies neurodégénératives.
Les espèces consommées par le dromadaire sont très variées (légumineuses, graminées, arbres fourragers, plantes herbacées, plantes ligneuses…), avec une ration alimentaire d'un pourcentage total de fourrage ligneux de 90% en saison sèche, et de 50% environ en saison de pluie **(Faye et Tisserand, 1989).** C'est ce qui nous a dirigé vers l'étude de l'activité anti oxydante des urines de chamelle qui sont très riches en métabolites de dégradation des plantes.

2.6.1. Activité anti-radicalaire: test ABTS

Tableau 14. Pourcentage d'inhibions des urines des chamelles (test ABTS)

	% d'inhibition du test ABTS							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC_{50} µg/ml
Urine de chamelle	49,2114	52,2082	52,9968	82,1767	92,9022	91,4826	92,7445	4.07±0.89
BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.81±0.10

L'activité anti-radicalaire des urines de chamelles vis-à-vis du radical ABTS a été évaluée par méthode colorimétrique en suivant la réduction de ce radical ABTS- de couleur bleu-verte en

ABTS+ incolore. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 14.

La valeur de l'IC50 (Concentration d'inhibition à 50 %) obtenue est de 4.07 µg/mL, cette valeur est très proche du résultat des deux antioxydants de contrôles (**BHT** avec IC50 à 1.29 µg/mL et **BHA** avec IC50 à 1.81 µg/ml) ce qui confirme l'effet antioxydant des urines de chamelle. Le même effet a été décrit par **Hasni et Habita (2015**) avec IC50 à 0.008 g/L pour les urines de chamelle menées en intensif et de 0.016 g/L pour les urines de chamelle menées en extensif.

Haimed (2011), a réalisé une étude concernant la composition, l'activité antioxydante et antiproliférative in vitro du lait et des urines de chamelle et a trouvé que le colostrum et le lait mature ont révélé une capacité anti oxydante contre le radical ABTS significativement faible par rapport à l'échantillon d'urine.

La forte activité anti-radicalaire des urines de chamelles, mise en évidence par le test ABTS, peut être en relation avec leur richesse en composés phénoliques.

Les phénols sont des composés organiques qui contiennent un groupement hydroxyle lié directement à l'anneau aromatique, et l'atome d'hydrogène du groupe hydroxyle peut emprisonner des radicaux de peroxyl, empêchant ainsi d'autres composés à l'oxyder **(Bendjamaa et Krabsi, 2019).**

2.6.2. Piégeage du radical libre DPPH

Tableau 15. Pourcentage d'inhibions des urines des chamelles contre le radical libre DPPH.

	% d'inhibition du test DPPH							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC_{50} µg/ml
Urine de chamelle	8,61±2,05	14,73±1,31	7,19±0,16	26,10±1,07	43,37±5,82	53,98±1,48	76,39±0,49	83,87±6,57
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26	22.32±1.19
BHA	28,95±1,16	54,33±1,59	76,76±1,65	84,09±0,35	87,53±0,82	87,73±0,15	88,43±0,23	5.73±0.41

Les résultats du test DPPH sont exprimés en IC5O et rapportés dans le tableau 15. La valeur IC50 en µg/mL (Concentration d'inhibition à 50 %) est définie comme étant la concentration du substrat nécessaire à diminuer de 50 % l'absorbance de la solution initiale du DPPH. Les IC50 sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger, donc les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important **(Dasgupta et De, 2007 ; Maisuthisakul et *al.*, 2007).**

D'après le tableau 15, nous remarquons que le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement avec le volume d'urine avec un IC 50 de 83,87µg/ml. Cette valeur est supérieure à celle retrouvée par **Hasni et Habita (2015**) avec un IC50 de 0.014 g/L pour les urines de chamelles menées en intensif et de 0.018 g/L pour les urines de chamelles menées en extensif, et de **Haimed (2011)** avec un IC 50 de 44.3 µg/ml, alors qu'elle est proche des résultats cités par **Kuoidri et Chemla (2020)** avec un IC 50 de 0,066 g/L pour les urines de chamelle de la wilaya de Ouargla et de 0,081 g/L pour le mélange lait /urine.

Cette variation pourrait être due à plusieurs facteurs dont : le type d'élevage, la saison et l'alimentation qui influencent la richesse des urines en poly phénols et en vitamines.

L'étude qui a été menée par **Haimed (2011)** sur la composition, l'activité anti oxydante et antiproliférative in vitro du lait et des urines de chamelle a également montré que l'urine était l'échantillon antioxydant le plus puissant avec une activité moyenne de piégeage des radicaux DPPH de 44,3 % comparativement au colostrum et au lait de chamelle.

Dans l'ensemble, on remarque que les urines de chamelle de notre étude ont présenté une activité anti oxydante faible contre le radical DPPH en comparaison avec les antioxydants de contrôles (**BHT** avec IC50 à 22.32, **et BHA** avec IC50 à 5.73).

Conclusion 1

La composition du lait utilisé dans cette étude est caractérisée par une teneur en matière protéique de 24, 2 ± 0,15 g/L, et de matière grasse de 30, 8 ± 0,26 g/L**,** ces valeurs concordent avec les données bibliographiques.

Concernant la qualité microbiologique, nous avons révélé une charge bactérienne minime dans les échantillons de lait utilisés, cela exprime l'état de santé des chamelles ciblées et la reproductibilité des méthodes de prélèvement, de transport et de conservation.

Le bilan urinaire a révélé une particularité biochimique des urines analysées. En effet, certains éléments dont l'urée et l'acide urique ont été retrouvés à des concentrations faibles.

L'urée, constituant majoritaire de l'urine de l'homme et des animaux, n'est présente que sous forme des traces dans les urines des chamelles. En plus de la quantité négligeable d'ammoniac, les urines de cet animal représentent un remède sans risque de toxicité.

L'étude de l'activité anti oxydante des urines de chamelle a montré une activité anti-radicalaire importante contre le radical ABTS comparativement au radical DPPH.

Deuxième chapitre

Effet hépato protecteur du lait et des urines de chamelle sur l'hépato toxicité induite par l'association de l'isoniazide et de la rifampicine

Problématique

L'isoniazide (INH) et la rifampicine (RIF) sont les deux principaux schémas thérapeutiques actuellement utilisés pour le traitement de la tuberculose pendant une période allant de 4 à 6 mois **(Zeinab, 2012),** mais les effets secondaires sont souvent la rançon des succès thérapeutiques des antituberculeux dont l'hépato toxicité qui est de plus en plus fréquente est responsable de 6 à 12 % de mortalité si le traitement est poursuivi **(Kumar et *al*., 1991 ; Tayaln et *al*., 2007 ; Perriot et *al* .; 2011 ; Boukhechem, 2015).**

Au niveau hépatique, l'INH subit une acétylation pour donner le N-acétylisoniazide. Ce dernier est hydrolysé en acétylhydrazine, qui subit par la suite une bioactivation par le cytochrome P450 pour donner le radical acétyle, une espèce réactive détoxiquée par le glutathion. Le mécanisme exact par lequel ce métabolite réactif induit des dégâts hépatocytaires reste à élucider. Cependant, l'incidence de la dysfonction hépatique est plus élevée lorsque l'INH et la RMP sont utilisés en association **(Jiang et *al*., 2009).**

Ce dernier joue le rôle d'un d'inducteur enzymatique **(Perriot, 2011 ; Sahli et Rim, 2015).** Lorsque la quantité ou la puissance du toxique produit dépasse les capacités métaboliques du foie, il attaque et détruit les cellules hépatiques : c'est l'hépatite toxique.

Cependant, rares sont les études qui portent sur les produits qui ont un effet protecteur contre les composés hépatotoxiques.

Certaines études ont porté sur les caractères uniques du lait et des urines de la chamelle dans le domaine de la médecine comme des agents antimicrobiens, antidiabétiques, hépato-protecteurs, et anticancéreux **(Al-Fartosi et *al*., 2011) ; (Al-Fartosi et *al*., 2012) ; (Althnaian et *al*., 2013) ; (Hasni et Habita, 2015).** Néanmoins, peu d'études démontrent l'effet protecteur du lait et des urines de la chamelle par rapport à la toxicité hépatique induite par un traitement anti bacillaire. C'est la principale raison pour laquelle nous nous sommes lancés dans cette recherche, elle constitue à notre connaissance une première initiative en Algérie.

Dans ce chapitre, nous avons mené des essais pour mettre en évidence l'efficacité observée dans la pharmacopée traditionnelle du lait et des urines de la chamelle dans le traitement des hépato-toxicités d'origine médicamenteuse.

Le but principal de ce chapitre est de démontrer l'effet protecteur du lait et des urines de la chamelle par rapport au traitement antituberculeux, pour cela nous allons :

- Induire des hépatites expérimentales chez des lapins.
- Évaluer l'efficacité hépato protectrice du lait et des urines de chamelle.
- Réaliser une étude histologique des foies sains et intoxiqués.
- Doser et interpréter certains paramètres de la fonction hépatique.

1. Matériel et méthode

1.1. Modèle animal

Depuis toujours, les chercheurs semblent s'intéresser aux lagomorphes. En effet, ce modèle animal convient relativement bien, car il est phylogénétiquement le plus proche de l'homme. Sa manipulation est aisée, et sa taille permet d'obtenir facilement des échantillons tissulaires et sanguins **(Dewree et Drion, 2006).**

L'expérience a été réalisée sur 40 lapines sexuellement mâtures obtenues de l'Institut Technique des Élevages « ITELV » Constantine de la race ITELV 2006 cette dernière été obtenu après croisement des femelles locales et des males de la souche INRA 2666. Leur poids vif a varié de 2 à 2,8 kg.

Les animaux ont été logés au niveau de l'animalerie de l'Institut des Sciences vétérinaires d'El Khroub- Wilaya de Constantine. Ils ont été logés dans des cages individuelles en acier inoxydable avec un cycle lumière/obscurité de 12 : 12 heures. L'alimentation et l'eau de boisson ont été distribuées *ad libitum*. Les animaux ont été apportés 7 jours avant le début de l'expérimentation pour une stabilisation de leur humeur et de leur comportement (**Photo 3 annexe 3).**

1.2. Préparation du lait et de l'urine de chamelle

Les échantillons de lait et d'urine de chamelle ont été prélevés de la même manière citée dans le premier chapitre.

1.3. Le choix du médicament hépatotoxique

Dans notre étude, le choix du médicament à effet hépatotoxique était basé sur une enquête qui a été réalisée au niveau du service d'hépato-gastro-entérologie du CHU de Constantine.

L'objectif de cette enquête était d'évaluer les classes thérapeutiques les plus impliquées dans les hépatopathies médicamenteuses, les caractéristiques démographiques et médicales des patients présentant des atteintes hépatiques, ainsi que leur fréquence par rapport à toutes les déclarations.

Les médecins de ce service nous ont orientés vers l'utilisation du traitement antituberculeux, car la plupart des cas d'hépato toxicité surviennent suite à ce type de traitement. Nous avons d'abord commencé par un petit questionnaire au sein du service de pneumologie du Centre hospitalo-universitaire de Constantine. **(Annexe 4).** Afin de mieux comprendre ce problème

sanitaire sur un plan pratique, et aussi pour une bonne maitrise de l'induction de cette toxicité hépatique chez le modèle animal, ce questionnaire a porté sur quelques facteurs de risque d'hépato toxicité induite par les antituberculeux à savoir : l'âge, le sexe, le type de traitement utilisé, le type de la tuberculose … etc.

Notre choix était en accord avec les conclusions de plusieurs études scientifiques, qui démontrent un effet hépatotoxique élevé des antituberculeux, et surtout de l'association Rifampicine- Isoniazide **(Bhupinder et *al*., 2007 ; Tung et *al* ., 2013).**

1.4. Préparation des médicaments

Les médicaments nécessaires à notre étude, à savoir l'Isoniazide et la Rifampicine, ont été fournis par le service d'épidémiologie de l'hopital d'El khroub Constantine.

Rifampicine : RIFADINE®, RIMACTAN® ; molécule obtenue par modification de la chaîne latérale de Rifamycine SV.

Isoniazide : RIMIFON® ; dérivé de l'acide isonicotinique.

Les solutions d'INH et de RIF ont été préparées séparément dans de l'eau distillée stérile **(Voir photos 4 et 5 Annexe 3),** en mélangeant une quantité d'eau distillé avec la dose nécessaire du médicament.

1.5. Protocole expérimental

L'étude a été effectuée au mois de février 2019. Les lapines ont été réparties au hasard en cinq groupes de huit animaux chacun ;

- Les lapines du groupe 01 représentent les témoins négatifs, elles n'ont reçu aucun traitement (seulement de l'eau distillé).
- Les animaux du groupe 02 ont été traités à l'Isoniazide et à la Rifampicine conformément à un protocole standard d'induction d'hépato- toxicité (**Bhupinder et *al.*, 2007**). L'Isoniazide a été administré à raison de 50 mg/kg/J. La Rifampicine a été administrée à raison de 100 mg/Kg/J.
- Les animaux des groupes 03, 04 et 05 ont reçu un traitement avec Isoniazide-Rifampicine plus du lait, de l'urine et un mélange lait /urine respectivement.

Le lait de chamelle a été administré à raison de 33 ml/kg de poids vif / jour par gavage oral à l'aide d'une sonde naso-œsophagienne **(Hassan et Emam, 2012).** L'urine a été administrée à raison de 20 ml/kg de poids vif /jour **(Mohamed et *al*., 2014).** Le mélange lait/urine a été administré à raison de 16,5 ml de lait et 10 ml d'urine/kg/J.

Trois lapines sont mortes durant l'expérimentation. Une lapine du groupe 2 (le 6ème jour du traitement), une lapine du groupe 04 (le premier jour du traitement suite à une entérotoxémie confirmée après autopsie) et une lapine du groupe 05 (suite à une fausse déglutition).

Tableau 16. Protocole expérimental

groupes	**traitement**	**Dose**
01 (CN)	Pas de traitement (eau distillée)	/
02 (RI)	Isoniazide rifampicine	Isoniazide (50 mg/Kg/J) Rifampicine (100 mg/kg/J)
03 (RIL)	Isoniazide Rifampicine Lait de chamelle	Isoniazide (50 mg/Kg/J) Rifampicine (100 mg/kg/J) 33 ml lait/kg/J pendant 10 jours
04 (RIU)	Isoniazide Rifampicine Urine de chamelle	Isoniazide (50 mg/Kg/J) Rifampicine (100 mg/kg/J) 20 ml urine /Kg/J pendant 10 jours
05 (RILU)	Isoniazide Rifampicine Mélange lait et urine de chamelle	Isoniazide (50 mg/Kg/J) Rifampicine (100 mg/kg/J) 16,5 ml de lait et 10 ml d'urine/kg/J pendant 10 jours

1.6. Étapes de l'application de la sonde naso-œsophagienne

- Les lapines sont tranquillisées
- Elles sont maintenues en décubitus sternal par une aide, et la tète est maintenue légèrement en hauteur.
- Un anesthésique local est utilisé (spray de xylocaine) quelques secondes avant d'introduire la sonde.
- La distance jusqu'à laquelle la sonde doit être introduite est mesurée au préalable, en prenant comme repère le bout du nez, et 3 à 4 cm en avant de la dernière côte.
- La sonde est ensuite fixée par deux points (le premier au plus près de la narine, et le second entre les oreilles)
- La présence de la sonde au niveau de l'œsophage est vérifiée (instillation d'une petite quantité d'eau) **voir photos 6 et 7 Annexe 3.**

1.7. Échantillonnage de sang et manipulation des tissus

Après 10 jours de traitement, 5 ml de sang ont été prélevés directement au moment du sacrifice des animaux à partir de la veine jugulaire ; le sang a été recueilli dans des tubes héparinés, et rapidement acheminé au laboratoire d'analyse dans des conditions de froid afin de réaliser les dosages de quelques paramètres de la fonction hépatique. Des échantillons de foie ont été obtenus pour l'examen histo-pathologique.

1.8. Examen anatomopathologique

1.8.1. Examen macroscopique

Une observation des modifications de la couleur et de la consistance puis une pesée de l'organe ont été effectuées.

1.8.2. Examen histo-pathologique

Les tissus hépatiques ont été coupés en petits morceaux et immergés dans du formol tamponné neutre à 10 % pendant 24 h. Les tissus fixés ont été traités, incorporés dans de la paraffine, sectionnés, déparaffinés et réhydratés en utilisant la technique standard décrite ci dessous**.** L'examen histo-pathologique a été réalisé au niveau du service d'anatomo-pathologie du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis de Constantine.

1.8.2.1. La fixation

Les cassettes contenants les échantillons sont mises dans un bocal rempli de formol (formaldéhyde à 10%), pour fixer les échantillons.

1.8.2.2. La circulation

Cette étape consiste en une succession de déshydratations, et à faire pénétrer la paraffine au sein du tissu. Elle se réalise à l'aide d'un automate de traitement des tissus**.**

- **Fixation terminale (bocal 01)**

Bain de formol pendant 2 heures d'immersion afin de bien fixer les échantillons avant la déshydratation.

- **Déshydratation (bocaux 02 à 07)**

Bains d'alcool à concentrations croissantes correspondant aux bocaux 2 jusqu'à 7, afin de remplacer l'eau par l'alcool éthylique pour éviter la distorsion et le durcissement des échantillons.

- Immersion dans le bocal 2 (alcool à 70 %) pendant 2 heures.

- Immersion dans le bocal 3 (alcool à 80 %) pendant 2 heures.
- Immersion dans le bocal 4 (alcool à 90 %) pendant 1 heure.

Puis on termine la déshydratation avec 3 bains d'alcool absolu (alcool à 100 %) : l'immersion pendant trois heures pour chaque bain, afin d'enlever complètement toute trace d'eau des échantillons.

- **Eclaircissement (bocaux 08 à 10)**

Le panier est transféré dans les trois bains de xylène à 100 % (immersion pendant une heure pour chaque bain de xylène).

- **Imprégnation (bocaux 11 et 12)**

Se fait dans les deux derniers bocaux de l'automate, contenant les bains de paraffine chauffés à 65°C. L'imprégnation a pour but d'endurcir le tissu.

Photo 8. Automate de traitement des tissus

1.8.2.3. Inclusion

On commence par choisir un moule convenable selon la taille de l'échantillon à enrober. La paraffine préalablement fondue à 68°C est coulée dans le moule choisi, en quantité suffisante pour immerger l'échantillon.

Le moule est laissé durant quelques minutes sur une plaque de refroidissement réglée à -5°C. Ensuite on procède au démoulage, on obtient alors des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

1.8.2.4. La microtomie (réalisation des coupes)

On utilise un microtome pour isoler des rubans très fin du bloc de paraffine. Le ruban obtenu est placé dans un bain marie à 37 °C puis, récupéré sur une lame en verre. La lame est placée sur une plaque chauffante à 50°C pendant 10 minutes pour préfixer les tissus ensuite dans une étuve à 90°C pendant une heure pour les sécher **(photos 9, 10, 11,12 Annexe 3).**

1.8.2.5. Déparaffinage et coloration

Après séchage, les lames sont plongées dans différent bains :

- Bain de xylène pendant 5 minutes.
- Bain d'alcool pendant 5 minutes.
- Bain d'H2O pendant 2 minutes.
- Bain d'hématoxyline (colorant basique nucléaire) pendant 3 minutes.
- Deux rinçages successif à l'eau.
- Bain d'éosine à 1% (colorant acide cytoplasmique) pendant 1 minute.
- Deux rinçages successifs à l'eau.
- Bains d'alcools successifs à 70°, 95° puis alcool absolu.
- Mettre les lames dans le xylène jusqu'à l'assemblage.

1.8.2.6. Montage

Mettre une goutte d'Eukitt (résine) sur une lamelle puis la placer sur la lame de façon à couvrir le tissu. A la fin, on obtient des lames colorées prêtes pour l'examen microscopique.

1.8.2.7 Observation microscopique

Les lames sont observées au microscope afin de définir la présence et le degré des lésions hépatiques.

1.9. Analyses biochimiques

Les plasmas séparés ont été soumis à la détermination de la concentration de quelques paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, protéines totales, triglycérides, cholestérol et bilirubine), et les mesures des activités de l'ALAT, ASAT et de la PAL.

Les dosages qui ont porté sur 10 paramètres ont été réalisés à l'aide d'un semi-automate ; KENZA MAX (BIOLABO Dignostics, France) selon des méthodes colorimétriques.

1.9.1. Protéines totales

Principe

La méthode est basée sur la technique du biuret. C'est la méthode pratiquée par la majorité des laboratoires cliniques pour sa simplicité, sa rapidité et sa fiabilité. Le principe est que les protéines forment avec les ions cuivriques, en milieu alcalin, un complexe coloré en bleu violet. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en protéines totales dans l'échantillon et se mesure entre 530-560nm.

$$\text{Protéines} + Cu^{+2} \xrightarrow{\text{(Milieu alcalin)}} \text{Complexe Cu-protéines}$$

Protocole

Le Kit utilisé pour le dosage des protéines totales (PT) est composé de réactif biuret R et de PT CAL (Étalon) à concentration connue. Trois tubes ont été utilisés, le premier pour le blanc, le deuxième pour le standard (Étalon) et le troisième pour l'échantillon. Les volumes utilisés pour chaque tube sont représentés par le tableau ci-dessous :

Tableau 17. Protocole de dosage des protéines totales

	Blanc	standard	Échantillon
R (mL)	1	1	1
Standard (µL)	/	25	/
Échantillon (µL)	/	/	25

Après avoir incubé les trois tubes à 37₀C pendant 5 minutes, la lecture des absorbances a été réalisée immédiatement et le résultat est affiché sur l'écran de l'appareil.

1.9.2. Créatinine

Principe

La créatinine est le résultat de dégradation de la créatine, composant des muscles et qui peut être transformé en ATP. La production de créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Elle est stable jusqu'à 4 jours à température ambiante et 1 à 3 mois après congélation du prélèvement à -20°C **(Denys et Furon, 2014).**

La technique utilisée est la méthode cinétique appliquée à la réaction de Jaffé sans déprotéinisation préalable. Le principe est basé sur la mesure de la formation d'un complexe

coloré entre la créatinine et l'acide picrique dans un pH alcalin (complexe de couleur rouge). L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans l'échantillon **(Delatour et *al*, 2011).**

La lecture se fait à 492 nm.

- **Protocole**

La composition du Kit créatinine est rapportée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 18. Kit créatinine

R 1 Réactif picrique	Acide picrique 17,5 mmol/L
R 2 Réactif alcalinisant	Hydroxyde de sodium 0,29 mmol/L
Créatinine CAL	2 mg/Dl

Après avoir préparé le réactif de travail en mélangeant des volumes égaux de R1et R2, 3 tubes ont été utilisés. Un tube pour le blanc, un deuxième pour l'étalon et un troisième pour l'échantillon. Les 3 tubes reçoivent tous 1mL de solution de travail, le tube étalon reçoit en plus 100 µL de créatinine CAL et le tube échantillon reçoit 100 µL du plasma.

La réaction entre sérum et réactif est immédiate et la lecture de l'absorbance est effectuée en cinétique (en deux temps de lecture) ; T1 à 30 secondes et le T2 à 90 secondes

La concentration finale de la créatinine est lue sur l'écran de l'appareil.

1.9. 3. Urée

- **Principe**

L'urée est le produit final du métabolisme protéique, formée dans le foie lors du cycle de l'urée. L'urée est dosée par méthode colorimétrique à l'uréase (réaction de Berthelot) selon le principe suivant : L'urée de l'échantillon est hydrolysée enzymatiquement, sous l'action catalytique de l'uréase en ammoniac (NH_4) et en dioxyde de carbone (CO_2):

$$\text{Urée} + H_2O \longrightarrow 2(NH_4) + CO_2$$

Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée :

$$NH_4 + \text{Salicylate} + \text{Na CIO} \longrightarrow \text{Indophénol}$$

La lecture se fait à 580 nm.

- **Protocole**

Le tableau ci-dessous représente la composition du Kit urée.

Tableau 19. Le Kit urée

R1 Tampon	Phosphate pH 6,7 EDTA Sodium salicylate Sodium nitroprusside	50 mmol/L 2 mmol/L 400 mmol/L 10 mmol/L
R2 NaCIO	Sodium hypochlorite Sodium hydroxyde	140 mmol/L 150 mmol/L
R3 Enzymes	Uréase	30000 U/L
Urée CAL		50 mg/dL

La première étape consiste en la préparation du réactif de travail (RT) en dissolvant un comprimé de R3 enzyme dans un flacon de R1 tampon. Les volumes pipetés dans chaque tube sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 20. Protocole du dosage de l'urée

	Blanc	standard	Échantillon
R (mL)	1	1	1
Standard (µL)	/	10	/
Échantillon (µL)	/	/	10

Après une incubation de cinq minutes à 37₀C, un volume de 1mL de R2 a été rajouté dans les trois tubes. La lecture de l'absorbance est réalisée après incubation de 10 minutes à température ambiante. Les résultats obtenus sont affichés sur l'écran de l'appareil.

1.9.4. Cholestérol

- **Principe**

Le cholestérol est un lipide de la famille des stérols qui joue un rôle central dans de nombreux processus biochimiques. La concentration en cholestérol est stable pendant 5 à 7 jours à 4°C, 3 mois à -20°C et plusieurs années à -70°C.

La méthode utilisée est colorimétrique basée sur l'utilisation d'une enzyme. Les réactions impliquées sont :

Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol et Acides gras selon la réaction :

$$\text{Ester de cholestérol} + H_2O \xrightarrow{\text{(Cholestérol estérase)}} \text{cholestérol} + \text{acide gras}$$

Sous l'action de la cholestérol-oxydase, le Cholestérol est transformé en présence de l'oxygène, en cholest-4- ène- 3-one avec formation d'eau oxygénée.

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{(Cholestérol oxydase)}} \text{cholest-4-éne-3-one} + H_2O$$

En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec l'amino 4-phénazone et le phénol avec formation d'un dérivé coloré rose.

$$2\ H_2O_2 + \text{4-Aminophénazone} + \text{phénol} \xrightarrow{\text{(Peroxydase)}} \text{Quinonimine} + 4\ H_2O$$

L'intensité de la coloration développée est proportionnelle à la concentration en cholestérol dans l'échantillon qui est mesurée par photométrie à une longueur d'onde de 505 nm.

- **Protocole**

Le Kit cholestérol utilisé est composé de deux réactifs et un étalon (cholestérol CAL) voir tableau ci-dessous :

Tableau 21. Kit cholestérol

R1 Tampon	Phéno l 26 mmol/L
R2 enzymes	Cholestérol estérase 300U/L Cholestérol oxydase 300 U/L 4-Aminophenazone 0,4 mmol/L
Cholestérol étalon	200 mg/dL

Après avoir préparé le réactif de travail en mélangeant deux flacons de R1et R2, trois tubes ont été utilisés, le premier pour le blanc, le deuxième pour l'étalon contenant 10 µL de cholestérol CAL et le troisième pour l'échantillon contenant 10 µL du plasma. Les trois tubes contenaient 1mL de réactif de travail.

La lecture de l'absorbance a été réalisée après avoir incubé les tubes pendant 5 minutes à 37₀C, les résultats obtenus sont affichés sur l'écran de l'appareil.

1.9.5. Triglycérides

Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les acides gras et le glycérol.

Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) et le glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glycérol-3-phosphate est oxydé en dihydroxyacétone phosphate (DAP) par la glycérol phosphatase oxydase (GPO) en produisant du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Lors d'une réaction colorée catalysée par la peroxydase, le H2O2 réagit avec la 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol (4-CP) pour produire un colorant rouge.

L'absorbance de ce colorant est proportionnelle à la concentration en triglycérides dans l'échantillon. Cette méthode analytique repose sur la séquence de réaction décrite par **(Fossati et Prencipe, 1982** ; **McGowan et *al*., 1983**). Ce réactif utilise le 4-chlorophénol plutot que le 2-hydroxy-3,5-sulfonate de dichlorobenzène, utilisé dans les études de Fossati et McGowan.

1.9.6. Glucose

- **Principe**

Le glucose est dosé par une méthode enzymatique à hexokinase (HK) et glucose -6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) selon le principe suivant :

En présence ATP et de magnésium, l'HK catalyse la phosphorylation du glucose pour former du G-6-P et ADP selon équation suivante :

Glucose + ATP ⟹ Glucose-6-phosphate + ADP

Ensuite le G-6-P est oxydé par G-6-PDH en présence de NAD pour produire du 6-phosphogluconate et du NADH, H^+ (une mole de NAD est réduite en mole de NADH, H^+ pour chaque mole du glucose).

L'absorbance due au NADH, H^+ (concentration du glucose) est déterminée par une lecture en point final (340 et 373 nm).

1.9.7. ASAT (TGO)

L'ASAT catalyse le transfert de la fonction amine de l'aspartate vers l'α-cétoglutarate qu'elle transforme en glutamate. Dans un premier temps, l'ASAT se lie à l'aspartate puis transfère la fonction amine sur un coenzyme lié : le phosphate de pyridoxal qui devient

phosphate de pyridoxamine sans cesser d'être lié à l'enzyme. L'enzyme se dissocie alors de l'oxaloacétate. Dans le second temps, l'enzyme liée au phosphate de pyridoxamine, forme un complexe avec l'α-cétoglutarate, puis transfère la fonction amine du coenzyme qui redevient phosphate de pyridoxal, vers le second substrat qui est transformé en glutamate. Enfin, le complexe ASAT-glutamate se dissocie : l'enzyme et son coenzyme lié ont recouvré leurs structures initiales **(Bergmeyer et *al*., 1978).**

1.9.8. ALAT (TGP)

L'ALAT catalyse le transfert de la fonction amine de l'alanine vers l'α-cétoglutarate qu'elle transforme en glutamate. Dans un premier temps, l'ALAT se lie à l'alanine puis transfère la fonction amine sur un coenzyme lié : le phosphate de pyridoxal qui devient phosphate de pyridoxamine sans cesser d'être lié à l'enzyme. L'enzyme se dissocie alors du pyruvate.

Dans le second temps, l'enzyme liée au phosphate de pyridoxamine, forme un complexe avec l'α-cétoglutarate, puis transfère la fonction amine du coenzyme qui redevient phosphate de pyridoxal, vers le second substrat qui est transformé en glutamate. Enfin, le complexe ALAT-glutamate se dissocie : l'enzyme et son coenzyme lié ont recouvré leurs structures initiales **(Bergmeyer et *al*., 1986)**

1.9.9. Bilirubine totale

Les méthodes traditionnelles de mesure de la bilirubine reposent sur la réaction de la bilirubine avec un réactif diazoïque pour former un complexe coloré : l'azobilirubine. Il est possible d'accélérer la diazoréaction en ajoutant certaines molécules (méthanol, caféine, diméthyl- sulfoxide). Ces méthodes ont été modifiées entre autres par l'addition de surfactants.

La bilirubine totale (fractions conjuguée et non conjuguée) se lie avec le réactif diazoïque en présence d'un surfactant pour former de l'azobilirubine. La diazoréaction est accélérée par l'addition de surfactant qui agit comme agent de solubilisation. L'augmentation de la densité optique à 548 nm causée par l'azobilirubine est directement proportionnelle à la concentration en bilirubine totale **(Harr, 2006).**

1.10. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide de deux logiciels :

- La version 2019 du logiciel XLstat a été employée pour l'analyse statistique. Les données ont été analysées par le test ANOVA à un facteur. Le test de Tukey HSD (Honestly Significant Difference) a été utilisé pour comparer les moyennes. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque P <0,05, et très significatives lorsque P <0,01. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type.

- La version 20.0 du logiciel SPSS a été utilisée pour l'étude de l'aspect macroscopique du foie. Les données ont été analysées par le test exact de Fisher. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque P <0,05, et très significatives lorsque P <0,01.

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats du questionnaire

Le tableau 27 (annexe 5), ainsi que les figures 14, 15, 16 et 17 représentent les résultats du questionnaire concernant quelques facteurs de risques de la toxicité hépatique des antituberculeux au niveau du service de pneumologie du CHU Ibn Badis de Constantine (année 2016/2017).

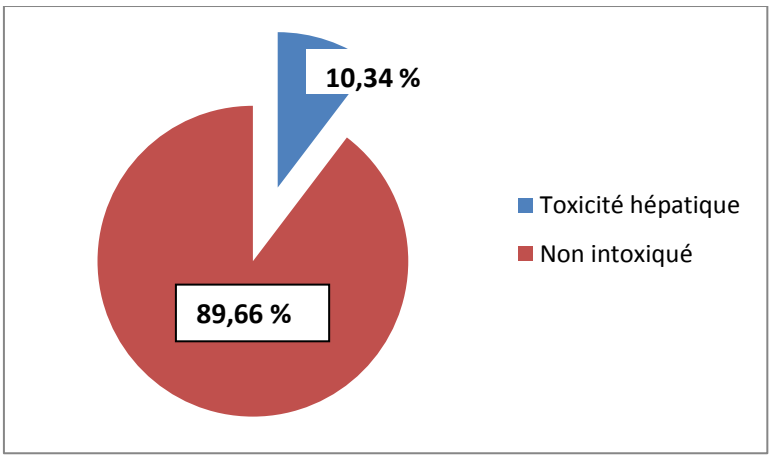


Figure 14. Pourcentage des patients qui ont présenté une toxicité hépatique suite à un traitement anti bacillaire (année 2016/2017)

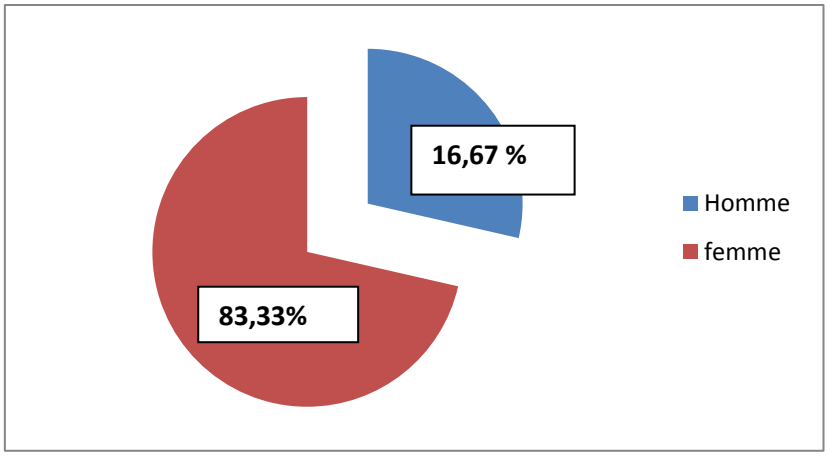


Figure 15. Pourcentage de femme et hommes qui ont présenté une toxicité hépatique suite à un traitement anti bacillaire (année 2016/2017)

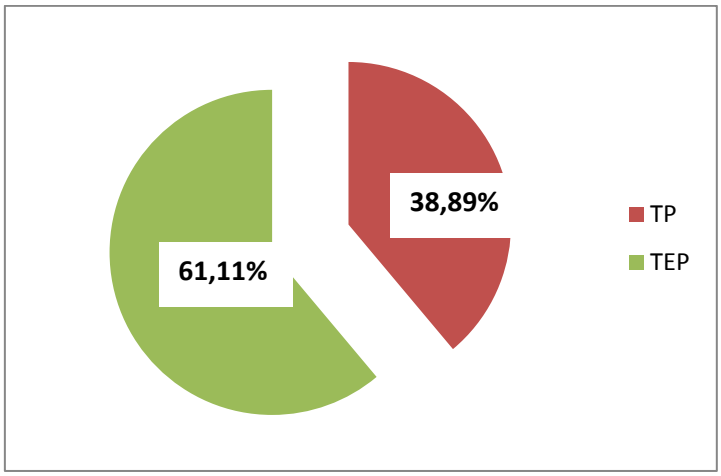


Figure 16. Pourcentage du type de la tuberculose (année 2016/2017)

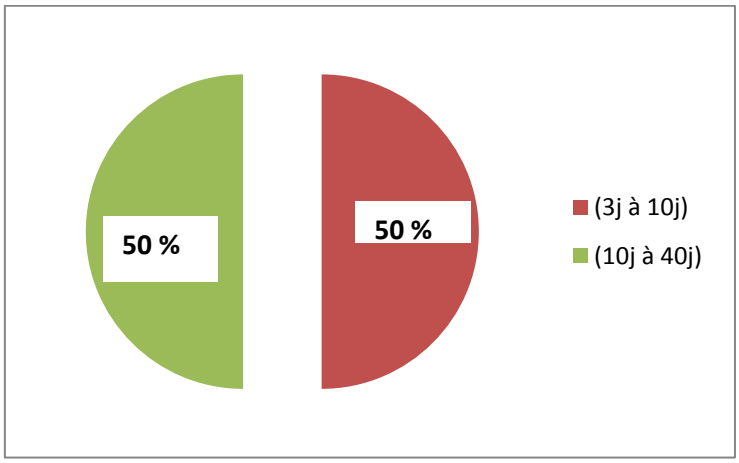


Figure 17. Délais d'apparition d'une toxicité hépatique après début du traitement

Au regard des résultats présentés dans les figures 14, 15, 16 et 17, la toxicité hépatique secondaire au traitement anti bacillaire est observée chez 10,34 % des patients tuberculeux traités durant l'année 2016/2017, avec un délai d'apparition variable allant de 3 à 10 jours chez 50 % des patients traités, et de 10 à 40 jours chez 50 % des patients traités.

Elle est prédominante chez la femme ; 15 femmes /114 femmes traitées (13,15 %) ont développé une toxicité hépatique, alors que chez les hommes elle est de (5,26 %) 3 hommes /57 hommes traités.

Elle touche des sujets de différents âges :

- 20 à 40 ans, la toxicité hépatique est de 50 %,
- 40 à 60 ans, elle est de 38,98 %
- plus de 60 ans, elle est de 11,11 %

Les sujets atteints de toxicité hépatique sont majoritairement porteurs de tuberculose extra pulmonaire (61,11%), elle est ganglionnaire le plus souvent.

Les principaux signes cliniques sont : l'ictère, les vomissements et l'asthénie.

Les résultats de notre étude concordent avec ceux rapportés par **Boukhechem (2016)** qui a montré suite à une enquête au niveau du service de pneumologie du CHU de Constantine en 2015, que l'hépato toxicité induite par les antituberculeux est plus fréquente et plus sévère chez les sujets ayant des facteurs de risque : sexe féminin, tare associée, malnutrition et hypo albuminémie. Cette toxicité a un délai d'apparition variable allant de 3 à 5 mois. La forme dissociée à dose minime est la plus évoquée : 22cas/ 24.

2.2. Résultats et discussion d'analyses biochimiques

Les tableaux 22 et 23 rapportent la valeur moyenne et l'écart-type des paramètres biochimiques étudiés.

Tableau 22. Moyenne et écart-type des paramètres biochimiques

Groupes	GLU (g/L)	CHOL (g/L)	TG (g/L)	PT (g/L)	CREA (mg/L)	UREE (g/L)
01 **Valeurs de référence**	1,23±0,38 **(0,75-1,55)**	0,77±0,23 **(0,10-0,80)**	0,78±0,47 **(1,23-1,55)**	60,88±5,87 **(54-75)**	9,85±0,89 **(5-25)**	0,47±0,04 **(0,20-0,45)**
02	1,39±0,12	1,19±0,36	1,21±0,38	55,48±7,46	14±2,88**	1 ,15±0,54**
03	1,27±0,06	1,73±0,83**	2,35±1,31	61±6,37	12,42±3,59	0,76±0,26
04	1,29±0,07	1,15±0,47	2,62±1,92*	58,57±4,89	12,57±1,98	0,87±0,10
05	1,49±0,27	2,10±0,66***,##	1,76±0,86	64,42±2,81#	11,85±2,34	0,91±0,35

Les valeurs ont été exprimées en moyenne ± écart-type, (*, # = p<0,05 ; **, ## = p<0,01 ; ***, ### = p<0,001). *comparaison avec groupe contrôle (témoin négatif)), # comparaison avec le groupe 2.

Tableau 23. Moyenne et écart-type des enzymes hépatiques et la bilirubine

Groupes	ASAT (UI/L)	ALAT (UI/L)	PAL (UI/L)	Bilirubine (UI/L)
01 **Valeurs de référence**	69 .4 ± 25 .1 **(35-130)**	77 .7±32 .0 **(45-80)**	48 .25 ± 17 .8 **(12-96)**	0 .96± 0 .09 **(0-7)**
02	174 ± 115 .9	161 .01± 86 .6	617± 286 .4 ***	8 .57± 7 .55**
03	110 .1 ± 62 .6	97 .2± 45 .4	389 .57± 92 .0***.#	4 .57± 3 .91
04	61 .1 ± 44 .1#	71 .14± 59 .1#	392 .71± 133 .7***.#	5 .57± 5 .77
05	71 .85 ± 55 .2	68 .28± 12 .6#	461 .14± 160 .6***	4 .42±1 .99

Les valeurs ont été exprimées en moyenne ± écart-type, (*, # = p<0,05 ; **, ## = p<0,01 ; ***, ### = p<0,001). *comparaison avec groupe contrôle (témoin négatif), # comparaison avec le groupe 2.

Au regard des tableaux 22 et 23, on remarque que les valeurs moyennes des différentes paramètres biochimiques du groupe témoin négatif c'est à dire le groupe 1 sont situées dans les normes déjà citées par des études antérieures **(Yao Konan et *al*., 2016 ; Makinde, 2016 ; Saad et *al*., 2017 ; Carpenter et Marion, 2018).**

L'association de médicaments antituberculeux (Isoniazide et Rifampicine) a provoqué un degré considérable d'hépato-toxicité se traduisant par une altération du bilan biologique hépatique.

Nous avons rapporté dans la présente étude, que le groupe n'ayant reçu que des suspensions d'antituberculeux, c'est-à-dire le groupe 02 présentait une augmentation non significative des concentrations plasmatiques de glucose, cholestérol, triglycérides, et de l'activité de l'ALAT et de l'ASAT par rapport au groupe témoin, une augmentation significative de la concentration de l'urée, de la créatinine, et de la bilirubine ($p < 0,05$), et une augmentation très significative de l'activité de PAL ($p < 0,001$), et enfin une diminution non significative des protéines totales.

Chez les groupes traités avec le lait et les urines de chamelle associés aux médicaments antituberculeux, c'est à dire les groupes 3, 4 et 5, nous avons remarqué une restauration des niveaux d'ALAT, d'ASAT, PAL, PT, urée, créatinine, et bilirubine par rapport au groupe 2 qui a reçu le traitement anti-bacillaire seul.

En ce qui concerne le cholestérol et les triglycérides, nous avons remarqué une augmentation non significative dans les groupes 3, 4 et 5 accompagnée d'une augmentation non significative du glucose dans le groupe 5.

La différence entre les 3 groupes qui ont été traités avec du lait, urine, et mélange lait/urine (groupes 3, 4 et 5 respectivement) n'était pas statistiquement significative.

2.2.1. Variation des bio-marqueurs de la fonction hépatique (PAL, ALAT, ASAT, Bilirubine)

Le foie est sujet à de nombreuses affections dont l'origine peut être primaire ou secondaire. Toutefois, même en cas d'affection, nous n'observons pas de symptômes dans un premier temps car le foie est un organe de grande taille, qui est capable d'une compensation fonctionnelle importante. Les symptômes d'affection hépatique n'apparaissent que lorsqu'une majeure partie du foie (plus de 70 %) est atteinte. Les signes cliniques d'insuffisance ou d'atteinte hépatique sont variés. On peut retrouver: amaigrissement, hépatomégalie, ictère, vomissement, diarrhée, anorexie, abattement, asthénie, ascite, polyuro-polydipsie (PUPD), encéphalopathie hépatique **(Michaux, 2017 ; Medaille et Lagrange, 2018).**

Les phosphatases alcalines (PAL) sont des enzymes hépatiques membranaires qui hydrolysent les phosphates et alcalinisent le pH **(Kerr, 1989).** Les PAL sont principalement produits par les cellules pariétales des canaux biliaires lors d'une augmentation de pression sur celles-ci **(Mazelier et Vergneau, 2014).** Elles font partie des enzymes les plus largement distribuées dans le corps. On les retrouve en particulier dans les os, le foie, l'épithélium intestinal, les tubules rénaux et le placenta sous forme d'isoenzymes **(Harkness et *al*., 2010 ; Varga, 2014).**

Les carnivores domestiques possèdent 2 iso-enzymes de PAL, une intestinale et une présente dans des tissus divers comme le foie, le rein, les os. Le lapin possède également des iso enzymes que l'on retrouve principalement dans les reins et le foie et dont les caractéristiques se rapprochent plus de la forme intestinale **(Nogushi et Yamashita, 1987).**

L'alanine aminotransferase (ALAT) est une enzyme cytoplasmique libre présente dans les hépatocytes. Elle est aussi présente dans d'autres tissus comme le cœur, les muscles squelettiques et les érythrocytes. Elle intervient dans le métabolisme des acides aminés. Son activité plasmatique dépend du renouvellement cellulaire et de sa demi-vie **(Medaille et Lagrange, 2018).** La demi-vie de l'ALAT est courte chez le lapin ; environ 5 heures **(Jenkins, 2000).**

L'aspartate aminotransferase (ASAT) est une enzyme cytoplasmique et mitochondriale. On la retrouve dans de nombreux organes chez le lapin, au sein des cellules hépatiques, cardiaques, musculaires squelettiques, rénales et pancréatiques. Son activité est plus importante dans le foie et les muscles squelettiques **(Benson et Paul-Murphy, 1999 ; Varga, 2014)**. Elle est principalement utilisée comme marqueur des dommages tissulaires ou comme indicateur d'affection hépatique. Sa spécificité demeure cependant limitée, elle semble être moins spécifique d'une atteinte hépatique que l'ALAT et sa demi-vie est courte, de l'ordre de quelques heures **(Harkness et *al*., 2010).**

Le lapin secrète une grande quantité de bile, environ sept fois plus qu'un chien lorsque rapportée au poids **(Weisbroth et *al.*, 2013).** De plus, il diffère aussi des autres espèces dans son mécanisme de catabolisme et d'excrétion des produits de l'hémoglobine. Il a une moindre activité de la biliverdine réductase **(Fekete, 1989),** et seulement 30% de la biliverdine est convertie en bilirubine. Ainsi la bile de lapin est principalement composée de biliverdine : environ 70%, et seulement 30% de bilirubine (dont 90% sous forme conjuguée). Il n'y a pas de test disponible pour doser la biliverdine. Seule la part de biliverdine convertie en bilirubine

est mesurée **(Washington et Van Hoosier, 2012).** Chez le lapin, la bilirubine est secrétée par le foie sous forme mono-conjuguée, contrairement à la forme di-conjuguée secrétée dans la plupart des espèces **(Weisbroth *et al.*, 2013).**

Les résultats de notre étude démontrent qu'un traitement de 10 jours par les antituberculeux a induit une altération du bilan biochimique chez les animaux intoxiqués (groupe 2), altération marquée par une augmentation très significative de PAL ($P < 0,01$), une augmentation non significative des activités enzymatiques de l'ALAT et l'ASAT, et une augmentation significative de la bilirubine ($P < 0,05$) **(Tableau 16, Figures 14, 15, 16 et 17).** Ce résultat est en accord avec les travaux de **(Tasduq et *al.*, 2005 ; Raviinder et *al.*, 2006** ; **Bhupinder et *al.*, 2007 ; Santhosh et *al.*, 2007 ; Vandana et *al.*, 2007 ; Bougentouf et *al.*, 2011 ; Shih et *al.*, 2013 ; Zhi-Hua Zhang et *al.*, 2012 ; Lian et *al.*, 2013 ; Jahan et *al.*, 2015 ; Tufail et *al.*, 2017)** qui ont utilisé l'Isoniazide et la Rifampicine pour provoquer une toxicité hépatique. Ces perturbations peuvent être le résultat d'un stress oxydatif produit suite à l'administration de ces 2 molécules. Les radicaux libres pourraient également être responsables de la dégradation des phospholipides présents dans les cellules hépatiques.

Des résultats similaires ont été rapportés suite à l'utilisation d'autres molécules hépato-toxiques chez d'autres espèces animales.

Tunez et *al.* (2005) ont étudié les effets protecteurs de la mélatonine et du diméthylsulfoxyde sur l'hépatotoxicité et la neurotoxicité induites par le Thioacétamide.

Mohamed et *al.* (2016) ont étudié l'effet du lait et/ou de l'urine de chamelle du désert sur la cirrhose induite expérimentalement chez le rat par le Thioacétamide, **Khan et Al Zohairy (2011) ; Khan et *al.* (2019)** en utilisant du Tétrachlorure de carbone (CCL4) chez le rat, **Mahrous et *al.* (2016)** en utilisant de l'Acétaminophène, et **Elhag et *al.* (2017)** en utilisant de l'Ethanol chez le rat.

Le traitement par le lait, l'urine, et le mélange lait et urine de chamelle a produit une amélioration très marquée des valeurs des enzymes hépatiques principalement de la phosphatase alcaline, et aussi une diminution de la concentration de la bilirubine.

Nos résultats sont en accord avec des études antérieures **(Al-Hashem, 2009 ; Mohamed et *al.*, 2016 ; Korish et Arafah, 2013)** qui ont enquêté sur les effets du lait de chamelle sur l'amélioration de la fonction hépatique suite à une altération biochimique et cellulaire induites par un régime riche en graisses et en cholestérol. Les mêmes constats ont été obtenus à partir

d'études avec de l'urine de chameau contre des dommages hépatiques induits par l'alcool ou le CCL4 **(Elhag et *al*., 2016 ; Hany et *al*., 2019).**

Mahrous et *al.* (2016) ont montré que l'administration du lait de chamelle a entraîné un effet antioxydant chez les souris, et cela a été établi par une diminution marquée dans les niveaux de malondialdéhyde, aussi, les niveaux de l'ALAT et l'ASAT ont été restaurés dans le groupe traité au lait de chamelle.

Les niveaux élevés de vitamines anti-oxydantes C, A et E et minéraux antioxydants (zinc, cuivre et magnésium) dans le lait de chamelle, aident à réduire le stresse oxydatif. La vitamine E et le magnésium ont été suggérés pour améliorer la biosynthèse du glutathion.

Le magnésium a été associé à la prévention contre les espèces réactives de l'oxygène **(Larrey, 2013; Wang et *al.*, 2017 ; Mohamed, 2017 ; Mahrous et *al.*, 2017).**

Le zinc est nécessaire pour l'activation de plus de 300 réactions enzymatiques et peut prévenir les dommages cellulaires par l'activation du système antioxydant. Il influence la division cellulaire, la différenciation par réplication de l'ADN et la synthèse des protéines.

Elhag et *al.* (2017) ont rapporté une restauration des activités des enzymes hépatiques ASAT, ALAT et PAL chez des rats intoxiqués à l'alcool, et traités avec du lait et de l'urine de chamelle. L'étude a suggéré que l'apport du lait de chamelle peut jouer un rôle important dans l'amélioration de lésions hépatiques alcooliques.

Khorshid et *al.* (2016) ont évalué le pouvoir hépato-protecteur d'un extrait d'urine de chameau lyophilisé chez des rats intoxiqués.

L'évaluation de l'activité anti oxydante de l'urine de chameau par les tests ABTS, DPPH, FRAP a montré une activité anti oxydante très importante **(Hasni et Habita, 2015 ; Alebie et *al*, 2017).**

L'urine de chameau est riche en potassium, phosphore et magnésium, connus pour leurs effets thérapeutiques par la présence des polyphénols et des flavonoïdes. Nos résultats étaient en parfaite cohérence avec les conclusions de nombreux auteurs **(Al-Attas, 2008 ; Khorshid et *al*., 2016)**.

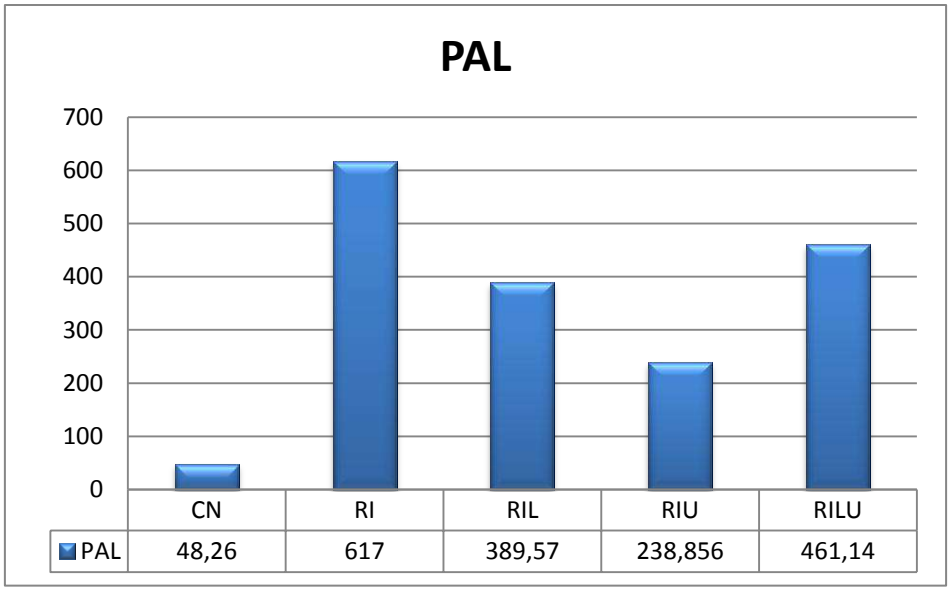


Figure 18. Variation plasmatique de la phosphatase alcaline

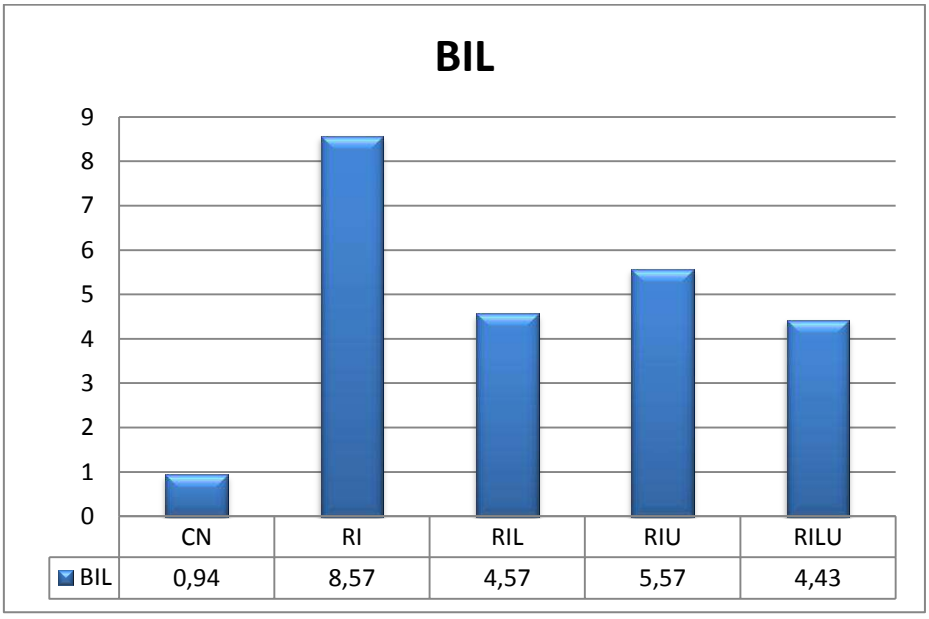


Figure 19. Variation plasmatique de la bilirubine

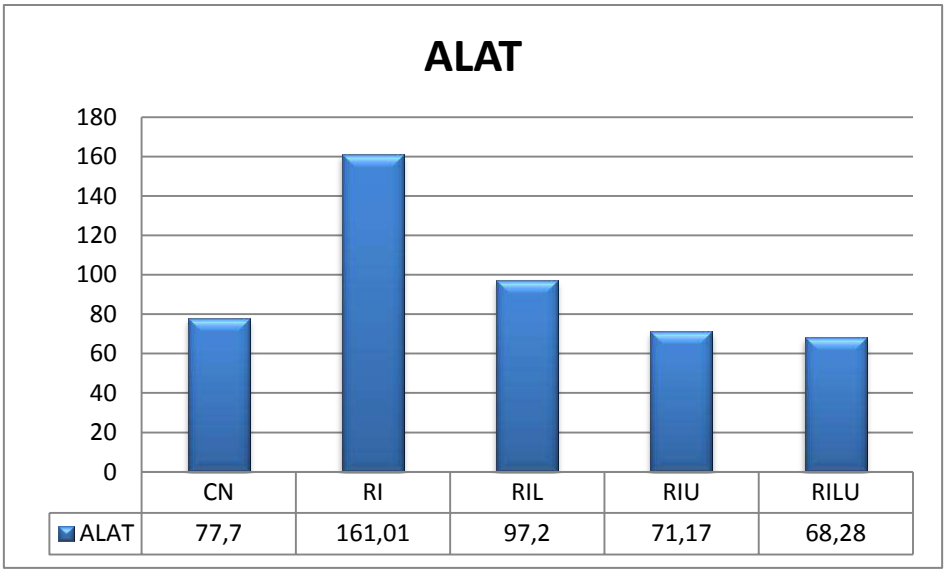


Figure 20. Variation plasmatique de l'ALAT

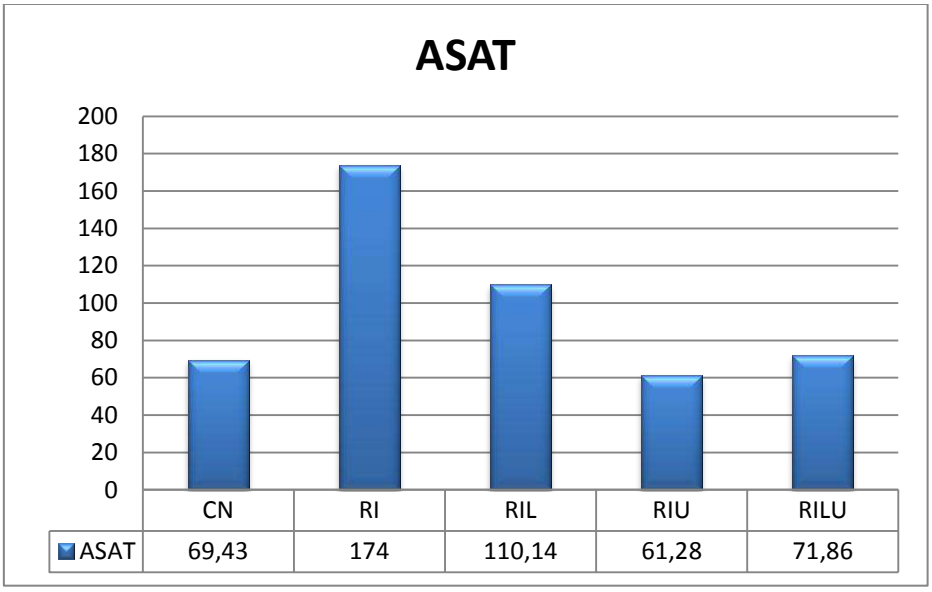


Figure 21. Variation plasmatique de l'ASAT

2.2.2. Variation des marqueurs de la fonction rénale (urée, créatinine)

Nos résultats sont représentés dans les figures 22 et 23 ci-dessous, qui montrent les variations de l'urémie et de la créatinémie dans les différents groupes étudiés. On remarque qu'il ya une augmentation très significative ($p<0,01$) (tableau 22) des valeurs moyennes de l'urée et la créatinine dans le groupe 2 (sujets intoxiqués) par rapport au groupe contrôle, pour les groupes 3, 4 et 5 on remarque qu'il ya une légère augmentation non significative.

L'association de la Rifampicine et l'Isoniazide provoque un degré considérable d'altération des taux plasmatiques de l'urée et la créatinine, ces constats sont en accord avec les résultats

de plusieurs auteurs **(Alexandria et *al*., 2015 ; Khalid et *al*., 2018 ; Naseer et *al*., 2020)** qui ont montré la présence d'une néphro-toxicité provoquée par le traitement anti bacillaire.
L'augmentation des taux plasmatiques de créatinine et d'urée peut être due à la diminution du taux de filtration glomérulaire **(Wang et *al*., 2012 ; Lopez-Giacoman et Magdalena, 2015).**
Selon plusieurs études, la Rifampicine pourrait provoquer des niveaux accrus d'espèces réactives de l'oxygène qui déclenchent la peroxydation lipidique de la membrane cellulaire entraînant des dommages au tissu rénal. En cas de maladie rénale, l'urée sanguine s'accumule, car son taux de production est supérieur à son taux de clairance **(Mayne, 1994).**

D'un autre côté, la présente étude a révélé que le traitement par le lait et l'urine de chamelle arrivait à restaurer les valeurs plasmatiques d'urée et de créatinine dans des limites de référence dans les groupes traités par rapport au groupe contrôle. Cela peut être attribué à l'effet d'amélioration du lait et des urines sur le taux de filtration glomérulaire en raison de leur fort potentiel antioxydant **(Fahaid, 2009 ; Afifi, 2010)**.

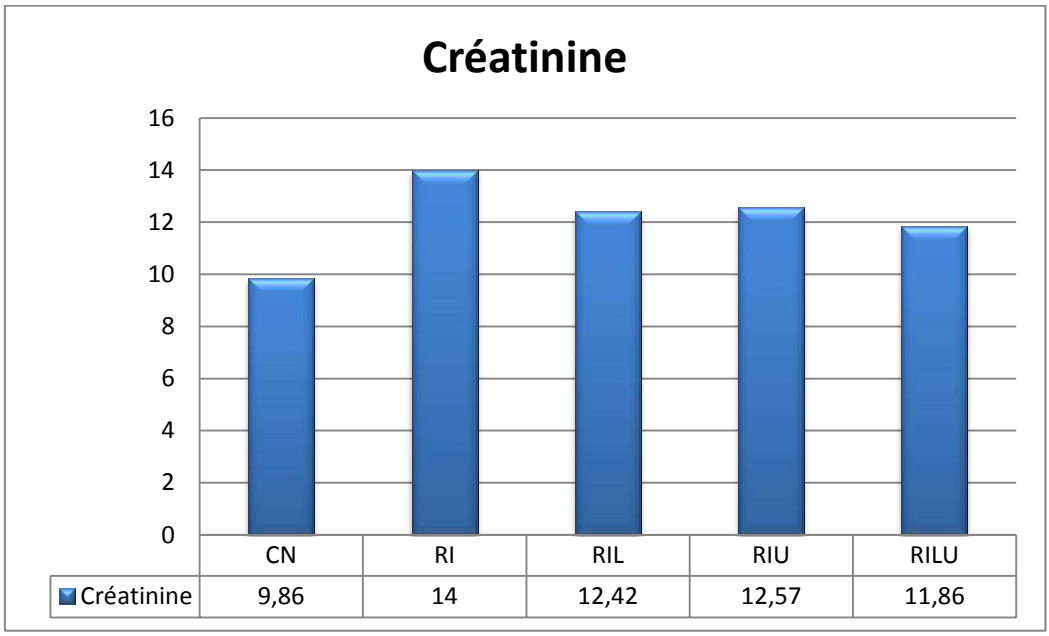


Figure 22. Variation plasmatique de la créatinine

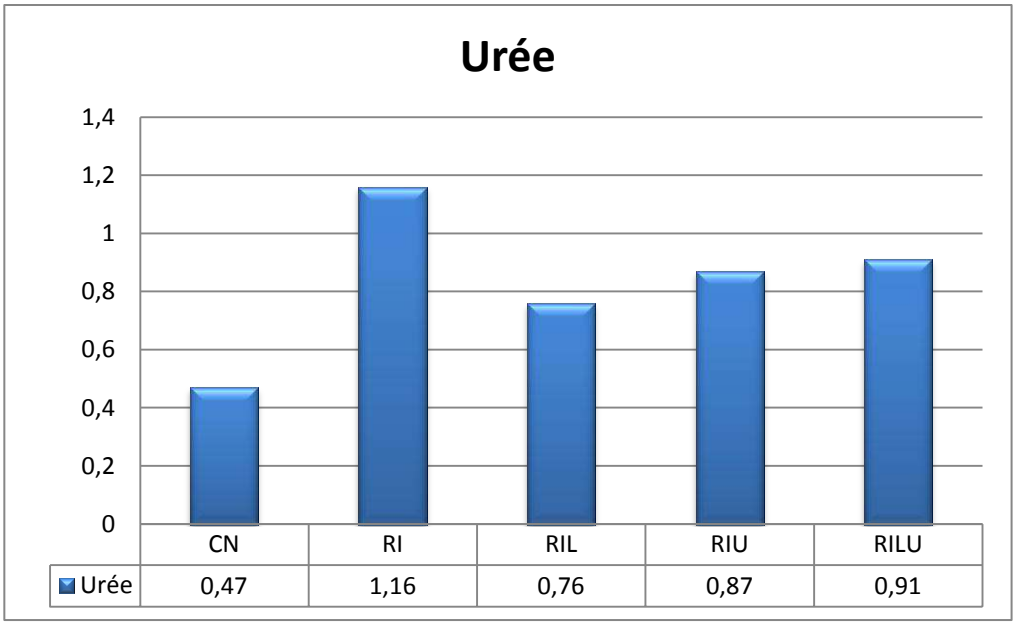


Figure 23. Variation plasmatique de l'urée

2.2.3. Variation des taux plasmatique du cholestérol et triglycérides

Les résultats de la présente étude ont également établi que le traitement aux antituberculeux pourrait affecter le métabolisme lipidique du foie (taux de triglycérides et du cholestérol). Ceci est mis en évidence par une augmentation non significative des niveaux des paramètres lipidiques **(Figures 24 et 25)**.

Cette situation pourrait être attribuée à la réduction de l'activité de la lipase, ce qui pourrait conduire à une diminution de l'hydrolyse des triglycérides **(Jahn et *al*., 1985).** D'un autre côté, on peut supposer que l'hypercholestérolémie chez les lapines intoxiquées aux antituberculeux a été causée par des dommages aux cellules du parenchyme hépatique qui ont entraîné une perturbation du métabolisme des lipides dans le foie **(Havel et *al*., 1986).** Ce même constat a été déclaré par **Thnaian et *al*. (2013),** qui ont réalisé une étude biochimique et histo pathologique chez des rats intoxiqués au tétrachlorure de carbone et traités au lait de chamelle.

Dans notre investigation, les lapines traitées avec le lait et les urines de chamelle (groupes 3, 4 et 5) ont montré une augmentation significative ($p < 0,05$) des valeurs des triglycérides et du cholestérol par rapport aux groupes 1 et 2 ; contrôle et intoxiqués respectivement. Cette augmentation est en désaccord avec les résultats de plusieurs études **(Thnaian et *al*., 2013 ; Mohamed et *al*., 2016)** qui ont démontré un effet hypo lipémiant du lait et des urines de chamelle**.** Le mécanisme de l'effet hypo lipémiant du lait de chamelle pourrait être attribué à l'activité inhibitrice sur la cholestérol acyl transférase. Cette enzyme est responsable de

l'acylation du cholestérol en esters de cholestérol dans le foie **(Matsuda, 1994).** Ces résultats sont soutenus par ceux de **Harini et Pugalendi (2010), Khan et *al.* (2012), Kebir (2018),** qui ont rapporté que le traitement du diabète par l'insuline servait à réduire les taux de triglycérides plasmatiques en renvoyant l'activité lipoprotéique de la lipase à la normale. Ainsi, la diminution du taux de triglycérides après traitement au lait de chamelle pourrait être due à l'augmentation de la sécrétion d'insuline, qui à son tour augmente l'activité de la lipoprotéine lipase.

El-Sayed et *al.* (2011) ont étudié l'effet de l'insuline fournie par le lait de chamelle sur le profil lipidique des diabétiques de type 1 par rapport à l'injection d'insuline seule. Après 3 mois de traitement, le profil lipidique chez les patients diabétiques de type 1 traités avec de l'insuline (c'est-à-dire le groupe témoin) a diminué de 9%, le taux de triglycérides et de cholestérol et de LDL-C de 7%. Le profil lipidique a diminué de manière significative ($p < 0,001$), par trois pour les triglycérides, et par deux pour le cholestérol et les LDL-C chez les patients diabétiques traités au lait de chamelle.

Sboui et *al.* (2010) ont également démontré l'effet hypolipémiant du lait de chamelle en étudiant l'efficacité de ce lait sur des chiens diabétiques induits par l'alloxane. Deux groupes de chiens diabétiques ont reçu du lait cru de chamelle (groupe 1) ou du lait cru de vache (groupe 2) pendant cinq semaines. A la fin du premier test, le groupe 1 a montré une baisse statistiquement significative de la glycémie (de 10,88 ± 0,55 mmol/L à 5,77 ± 0,44 mmol/L), du cholestérol (de 5,99±0,15 mmol/L à 4,4±0,62 mmol/L) et des concentrations de protéines totales (de 80,06 ± 2,11 g/L à 63,56 ± 3,16 g/L). Au cours de cette période, le groupe 2 présentait des concentrations élevées de glucose sanguin (8 mmol/L), de cholestérol (de 5,99 ± 0,58 à 7,13 ± 1,25 mmol/L) et de protéines totales (de 79,18 ± 6,07 à 84,33 ± 0,56 g/L).

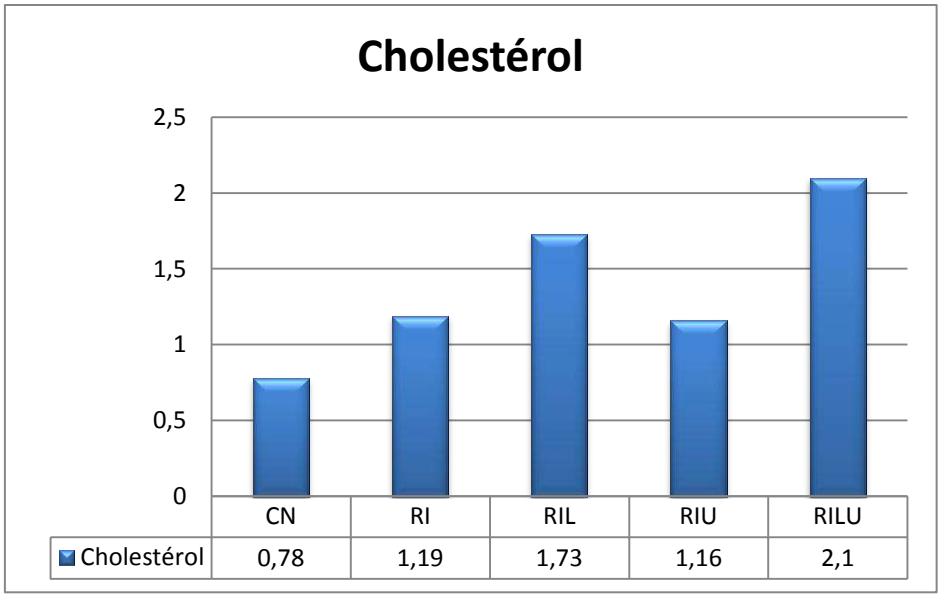


Figure 24. Variation plasmatique du cholestérol

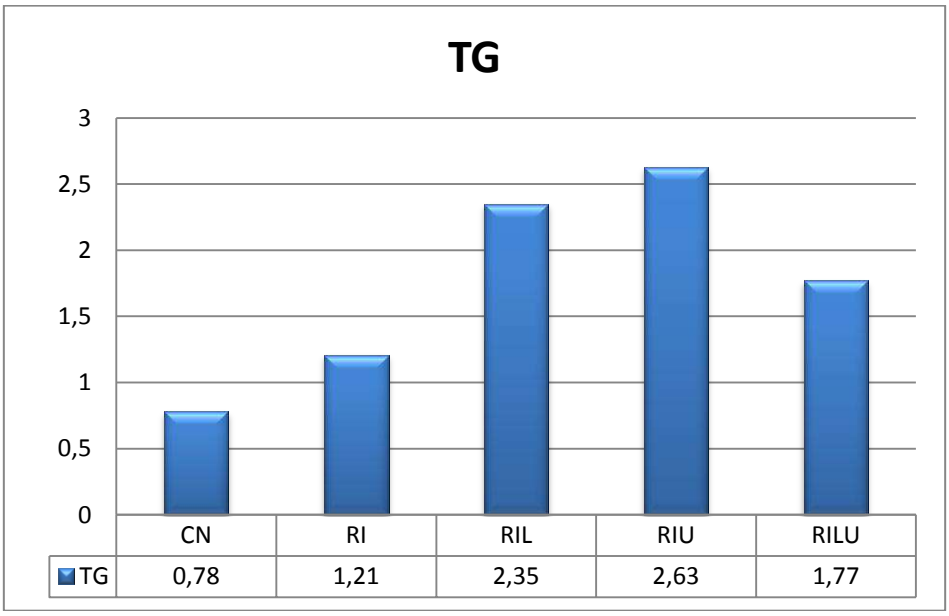


Figure 25. Variation plasmatique des triglycérides

2.2.4. Variation des taux plasmatique du glucose et des protéines totales

Dans la présente étude, la valeur du glucose plasmatique était augmentée chez les lapines traitées aux antituberculeux. Cette augmentation a été restaurée vers les valeurs de référence lorsque les lapines intoxiquées ont été traitées avec le lait et les urines de chamelle **(figure 26).** L'effet hypoglycémiant du lait et des urines de chamelle observé dans nos travaux était attendu vu les teneurs en insuline les plus élevées pour ces produits et rapportées par plusieurs études. Ces résultats sont cohérents avec les observations de plusieurs auteurs **(Singh, 2001 ;**

Agrawal et *al.*, 2002 ; Agrawal et *al.*, 2007 ; Hamad et *al.*, 2011) pour l'effet hypoglycémiant du lait de chamelle. Il convient de noter que le lait de chamelle ne forme pas de coagulum dans l'environnement acide de l'estomac, ce qui peut à son tour permettre un passage rapide du lait de chamelle avec sa protéine/insuline spécifique dans l'estomac et reste disponible pour l'absorption dans l'intestin **(Hamad et *al.*, 2011).**

La faible concentration du glucose plasmatique chez les lapines traitées avec le lait et les urines de chamelle peut également être liée au fait que certaines matières végétales consommées par le chameau aient des effets antidiabétiques et que les ingrédients actifs soient présents dans les fluides corporels tels que l'urine et le lait **(Yadav et *al.* 2015 ; Mustapha et *al.*, 2021).**

L'interprétation des variations des protéines totales chez le lapin se fait de la même manière que chez les autres mammifères. L'intervalle de référence pour les protéines totales chez le lapin est 54-75 g/L **(Carpenter et Marion, 2018).**

L'estimation des taux de protéines totales est utilisée pour évaluer la fonction hépatique. Au cours de l'hépatoxicité, les cellules hépatiques sont incapables de synthétiser correctement les protéines en raison de lésions hépatocellulaires **(Thapa et Walia, 2007 ; Sankar et al., 2015).** Une baisse dans le taux plasmatique des protéines totales, due à un mauvais fonctionnement des hépatocytes a été observée dans le groupe 2 **(figure 27).** Le lait et les urines de chamelle ont protégé les hépatocytes des lésions expérimentales et leur ont permis de recouvrir une de leur fonction essentielle, celle de synthétiser les protéines plasmatiques chez les groupes 3, 4 et 5 respectivement.

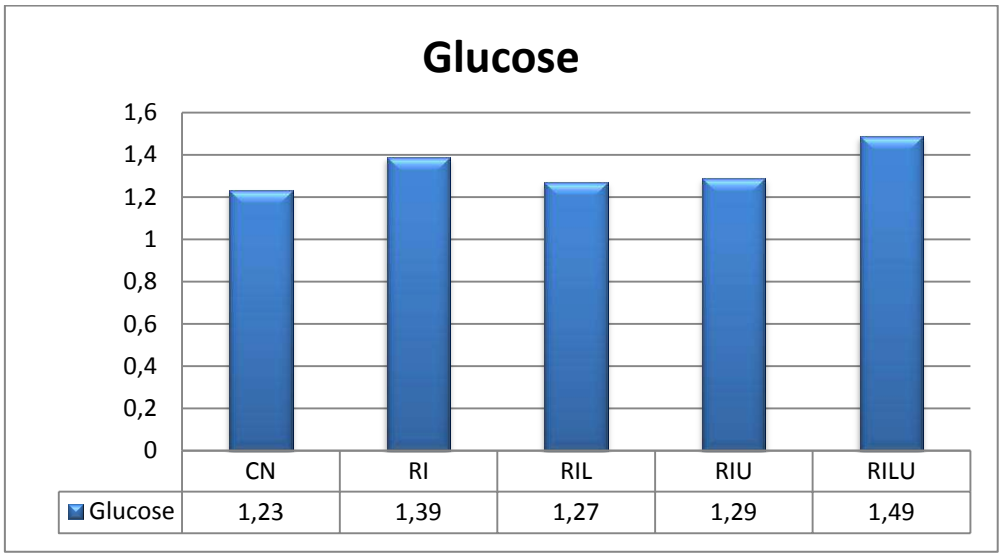


Figure 26. Variation plasmatique du glucose

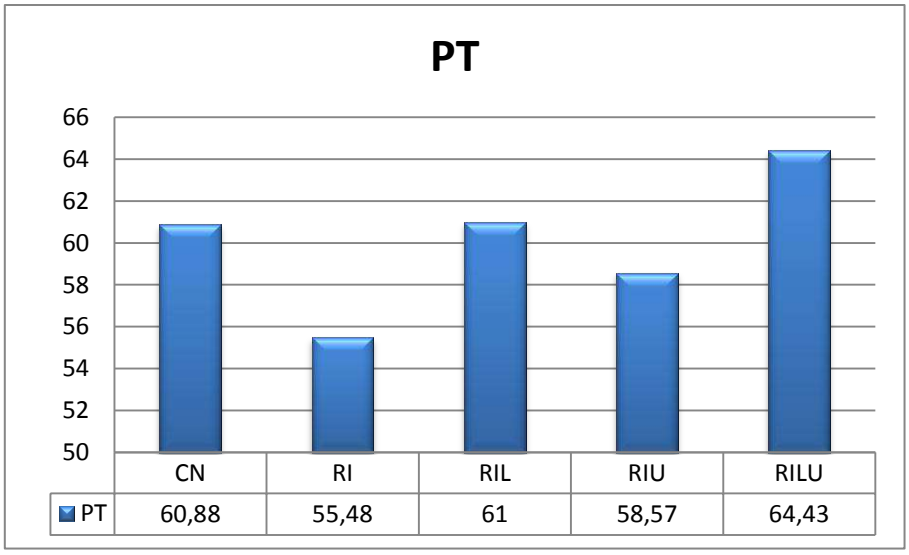


Figure 27. Variation plasmatique de protéines totales

2.3. Résultats et discussion d'analyse anatomo-pathologiques

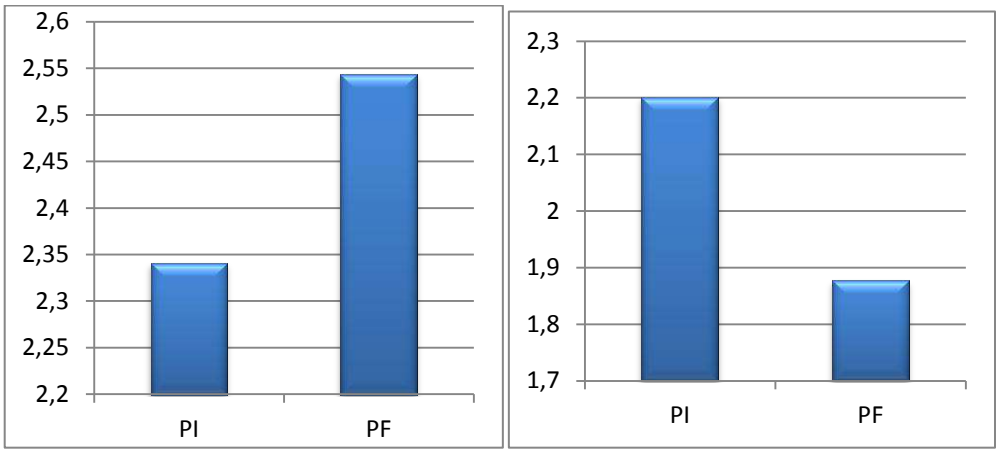
2.3.1. Variations du poids corporel et hépatique

Le tableau ci-dessous, et les figures 28, 29, 30, 31, 32 et 33 indiquent les valeurs moyennes, les écarts types ainsi que la variation du poids corporel et hépatique dans les différents groupes de l'étude.

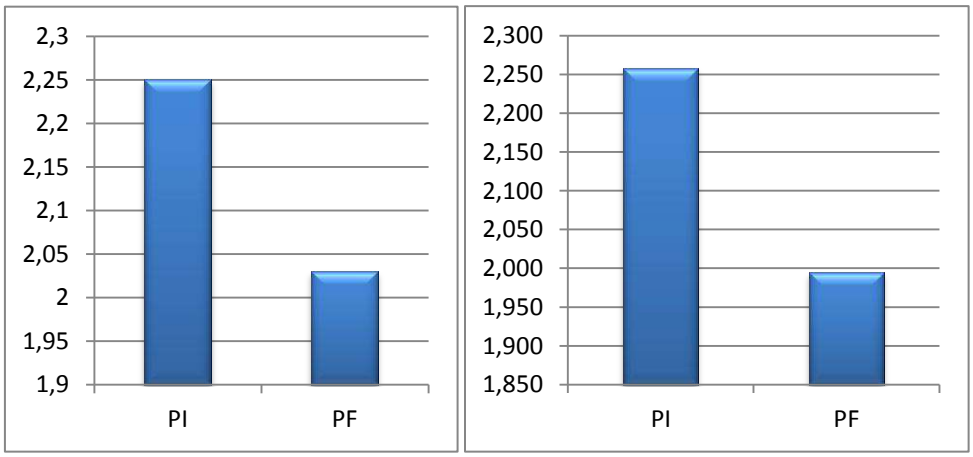
Tableau 24. Modifications du poids corporel et du poids du foie dans les groupes témoins et expérimentaux

Groupes expérimentaux	Poids corporel initial (Kg)	Poids corporel final (Kg)	Valeur du P	Poids hépatique (g)
1(CN)	2,34± 0,23	2,54±0, 24	0,151	93,71±6,82
2 (RI)	2,20±0,08	1,88±0,14	0,000	60,57±3,69***
3 (RIL)	2,25±0,13	2,04±0,16	0,020	69,43±6,34***
4 (RIU)	2,24± 0,13	2,03±0,30	0,137	71,00±8,60***
5 (RILU)	2,26±0,15	1,99±0,26	0,061	67,43±7,54***

Les valeurs ont été exprimées en moyenne ± écart types. (*, # = p <0,05; **, ##= p <0,01; ***, ###= p <0,001) * = par rapport au groupe contrôle, # = par rapport au groupe intoxiqué.
Les données ont été analysées en utilisant une ANOVA unidirectionnelle suivie du test de Tukey HSD



Figures 28 et 29. Poids corporels initial et final du groupe contrôle (CN) et groupe intoxiqué (RI)



Figures 30 et 31. Poids corporels initial et final du groupe RIL et RIU respectivement

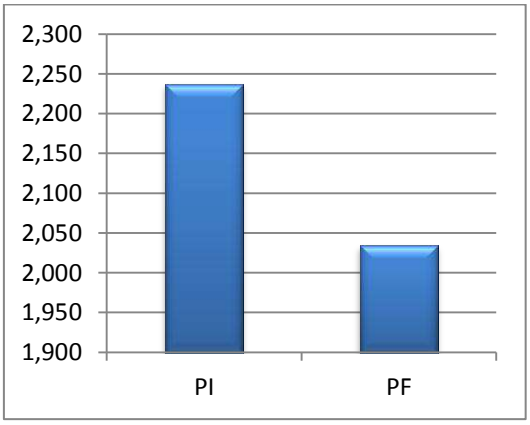


Figure 32. Poids corporels initial et final du groupe RILU

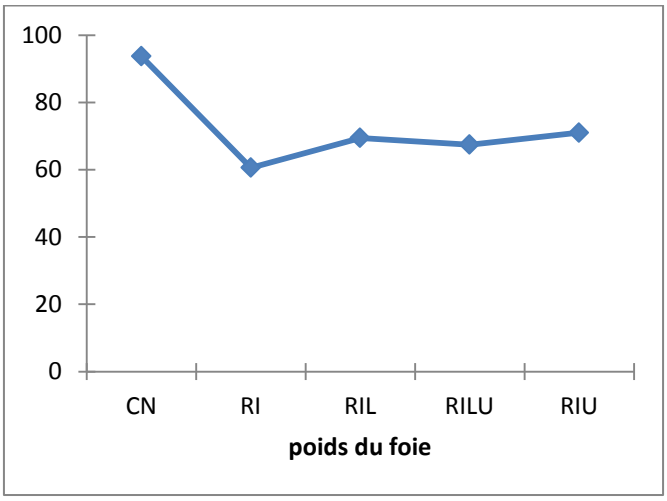


Figure 33. Variation du poids du foie dans les différents groupes

Au regard du tableau 24 et des figures 28, 29, 30, 31, 32 et 33, on remarque qu'Il y avait une réduction significative du poids corporel et du poids des foies chez les lapines traitées par la suspension d'isoniazide et de rifampicine par rapport aux lapines du groupe contrôle.

La diminution du poids corporel des lapines du groupe 2 (RI) dans notre étude pourrait être due à la diminution de la prise alimentaire, et cela pourrait être expliqué par la douleur provoquée par le traitement anti-bacillaire (les lapines étaient plus calmes, avait moins d'activité motrice et ont présenté un dos voussé, signe d'une douleur abdominale).

Le même résultat a été rapporté par **Bhupinder et *al*. (2007)** qui ont étudié l'effet de la cimétidine sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide-rifampicine chez le lapin et qui ont noté une diminution significative du poids corporel et hépatique des lapins après 7 jours de traitement antituberculeux.

Miglani (2015) a étudié l'effet hépato protecteur du lait de chèvre contre l'hépato toxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat. Après 30 jours de traitement, il a noté une diminution significative du poids corporel mais par contre une augmentation du poids hépatique. Cette augmentation pourrait être expliquée par la plus longue durée du traitement (transformation du tissu hépatique en tissu fibreux).

Nos résultats sont en désaccord avec les résultats de **Ravinder et *al.* (2006)** qui ont étudié l'effet de l'ail sur les lésions hépatiques induites par l'isoniazide et la rifampicine chez le rat. Ils ont noté après 28 jours de traitement, que le poids corporel et le poids relatif du foie des rats ne présentent aucune différence statistiquement significative par rapport aux animaux témoins.

Dans la présente étude, le traitement avec le lait, l'urine et le mélange lait/urine de chamelle a entraîné une amélioration marquée des poids corporel et hépatique. Cette augmentation n'a pas été significative parmi les différents groupes investigués.

2.3.2. Variation macroscopique et histologique du foie

2.3.2.1. Variation macroscopique du foie

La sévérité des lésions hépatiques microscopiques a été évaluée qualitativement après inspection de la morphologie macroscopique du foie.

Les scores morphologiques de la présente étude sont représentés dans le tableau 25.

Les photos 13, 14, 15, 16, 17, et 18 montrent l'aspect macroscopique du foie des lapines des différents groupes d'étude. Au regard du tableau 25 et des photos ci-dessous, on remarque que les lapines du groupe 2 qui ont eu un traitement antibacillaire seul pendant 10 jours présentent une variation significative de l'aspect macroscopique ($p < 0,05$) comparativement au groupe contrôle avec une décoloration complète et une induration sur l'ensemble du foie. Le même résultat a été déclaré par **Miglani (2015)** qui a étudié l'effet hépato-protecteur du lait de chèvre contre l'hépato-toxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat, et il a noté un rétrécissement du foie avec l'apparition de quelques taches décolorées chez les rats suite a un traitement antituberculeux de 30 jours. L'utilisation du lait, des urines et du mélange lait / urine de chamelle dans les groupes 3, 4 et 5 a montré une restauration de l'aspect macroscopique du foie.

Tableau 25. Scores morphologiques globaux du foie des différents groupes expérimentaux

Groupe	**Score 0**	**Score 1**	**Score 2**
1 (CN)	7	0	0
2 (RI)	0	1	6
3 (RIL)	4	3	0
4 (RIU)	4	3	0
5 (RILU)	5	2	0

Chaque lot contient 7 lapines (nombre total)

Score 0 : lapines qui ont une couleur normale et consistance normale du foie

Score 1 : lapines qui ont une décoloration hétérogène et une induration partielle du foie

Score 2 : lapines qui ont une décoloration complète et une induration sur l'ensemble du foie

Photo 13. Foie des lapines du groupe 1

Photos 14. Foie des lapines du groupe 2

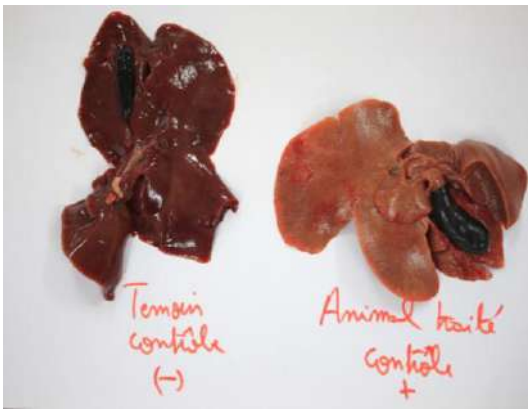


Photo 15. Foies des lapines des groupes 1 et 2

Photos 16 et 17. Foies des lapines des groupes 3 et 4

Photo 18. Foie des lapines du groupe 5

2.3.2.2. Variation histologique du foie

Les résultats de l'analyse histologique sont représentés par les photos 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 et 26. On remarque que le foie des lapines non traitées (groupe contrôle) montre une architecture histologique normale. Les hépatocytes sont disposés en travées radiaires qui convergent vers une veine centro-lobulaire et séparées par des sinusoïdes vasculaires (photo 19).

Le foie des lapines traitées par les antituberculeux (INH /RMP) pour une période de 10 jours, présente les signes d'une souffrance hépatocytaire à savoir : une clarification du cytoplasme, une augmentation de la taille des noyaux et des hépatocytes, une binucléation, ainsi qu'une stéatose mixte à prédominance microvésiculaire, une légère cholestase et un infiltrat

inflammatoire important de nature lympho-plasmocytaire avec des polynucléaires éosinophiles au niveau des espaces portes (photos 20, 21, 22, 23).

Des changements similaires de l'aspect microscopique du foie ont été rapportés par certains auteurs. **Ravinder et *al*. (2006)** signalent qu'après un traitement de 28 jours par l'association isoniazide – rifampicine, il ya eu l'apparition d'une inflammation portale et d'une nécrose du foie.

De même, **Bhupinder et *al*. (2007)** ont montré l'apparition d'une inflammation portale, d'une surcharge adipeuse et d'une nécrose des cellules hépatiques chez des animaux recevant l'association isoniazide-rifampicine pendant 7 jours.

Les coupes histologiques hépatiques des lapines traitées par les antituberculeux (INH /RMP) associées au lait, à l'urine et au mélange lait /urine de chamelles montrent une morphologie hépatique normale, restaurée. Nous avons par ailleurs noté la présence d'une stéatose hépatique microvésiculaire discrète chez le groupe traité avec l'urine de chamelle seule (Photo 25).

Ces résultats sont en accord avec les conclusions de plusieurs auteurs. **Althnaian et *al*. (2013)** ont rapporté l'effet hépato-protecteur du lait de chamelle contre la toxicité hépatique induite par le CCL4 chez le rat.

Le foie des rats témoins a révélé que les hépatocytes, les triades portales et le système vasculaire apparaissaient dans des proportions normales. Le foie de rats traités uniquement au lait de chamelle n'a révélé aucune altération pathologique (nécrose, inflammation ou fibrose).

Le foie des rats intoxiqués au CCl4 présentait une altération adipeuse massive et une nécrose centrolobulaire dans la plupart des cas. De plus, une nécrose des cellules hépatiques uniques a été clairement observée dans certains cas. Une hépatite caractérisée par une infiltration de cellules mononuclées principalement des macrophages et des lymphocytes autour des veines centro-lobulaires et dans les espaces portes a également été observée dans la plupart des cas de rats intoxiqués au CCl4, ainsi que d'autres manifestations histologiques qui étaient également cohérentes avec les conclusions d'autres auteurs **(Sun et *al*., 2001; Khan et Al-Zohairy, 2011).** L'association du lait de chamelle au CCL4 a assuré une conservation du parenchyme hépatique. Le même résultat a été démontré par **Al-Hashem, 2009 ; Mohamed et *al*., 2016 ; Korish et Arafah, 2013.**

Elhag et *al*. (2016) ont étudié l'effet hépatoprotecteur de l'urine de chameau (Camelus dromedarius) contre les lésions hépatiques induites par l'éthanol chez le rat, ils ont noté des changements adipeux généralisés et une légère nécrose dans le groupe intoxiqué à l'éthanol.

L'administration d'urine de chameau (1mL/100g) contre les dommages du foie induits par 10% d'éthanol (5g/kg) a entrainé une amélioration du tableau histo pathologique.

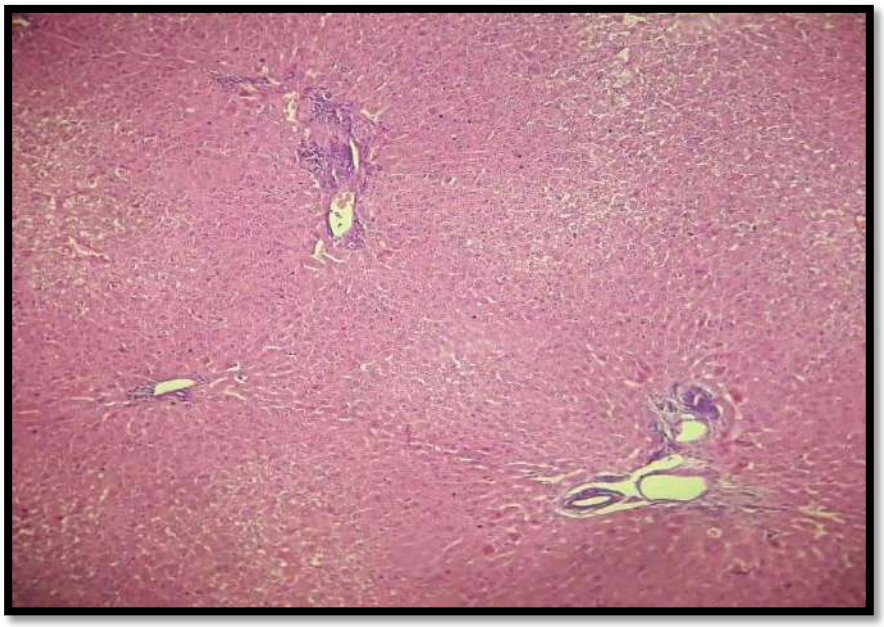


Photo 19. Architecture normale du foie : Lapines du groupe 1 **(H&E, X40)**

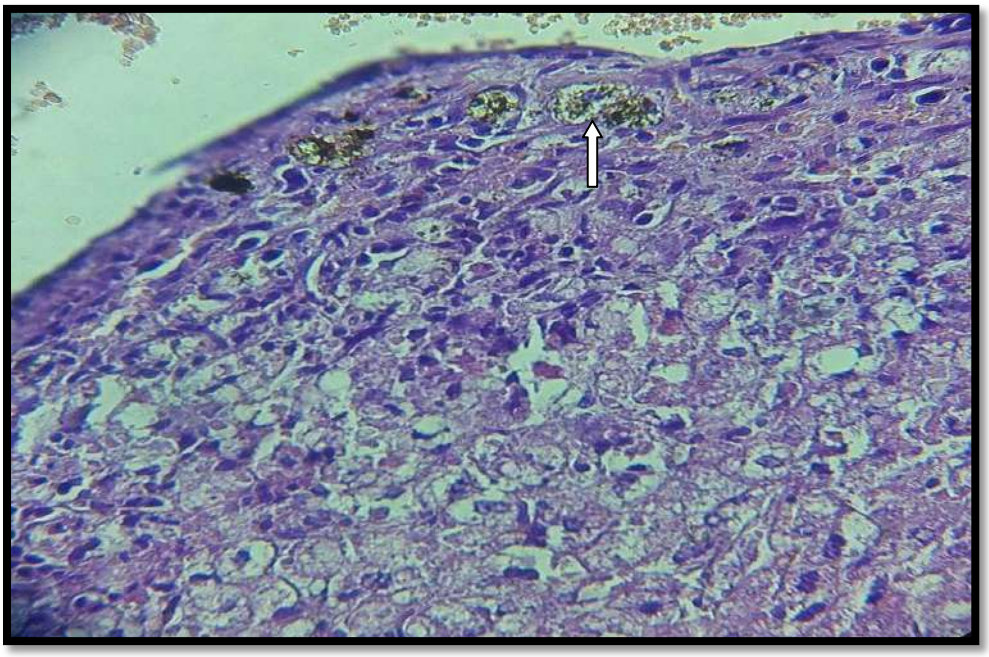


Photo 20. Choléstase : Lapines du groupe 02 **(H&E, X100)**.

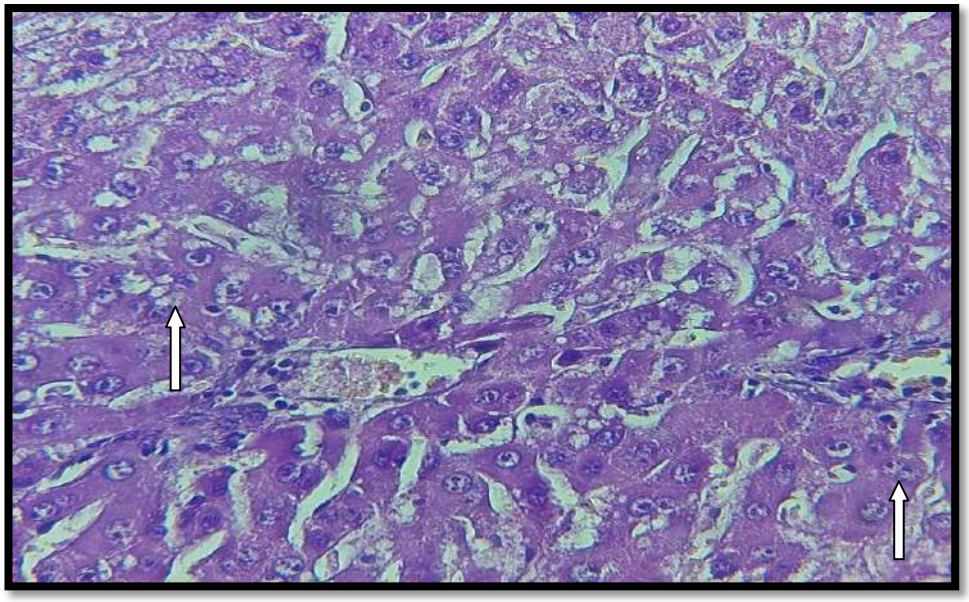


Photo 21. Clarification du cytoplasme, binucléation et stéatose microvésiculaire: Lapines du groupe 02 **(H&E, X400)**.

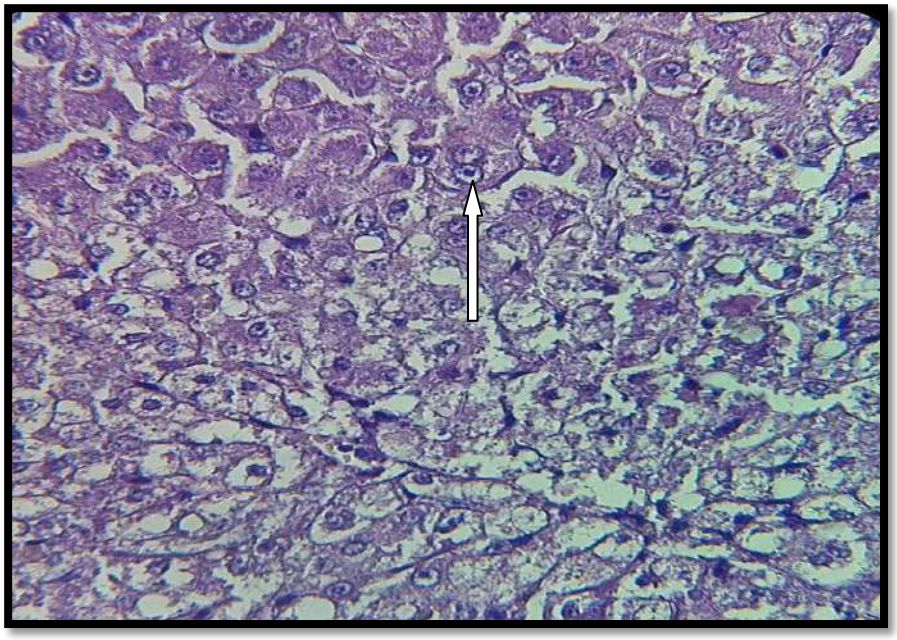


Photo 22. Présence de binucléation : Lapines du groupe 02 **(H&E, X400)**.

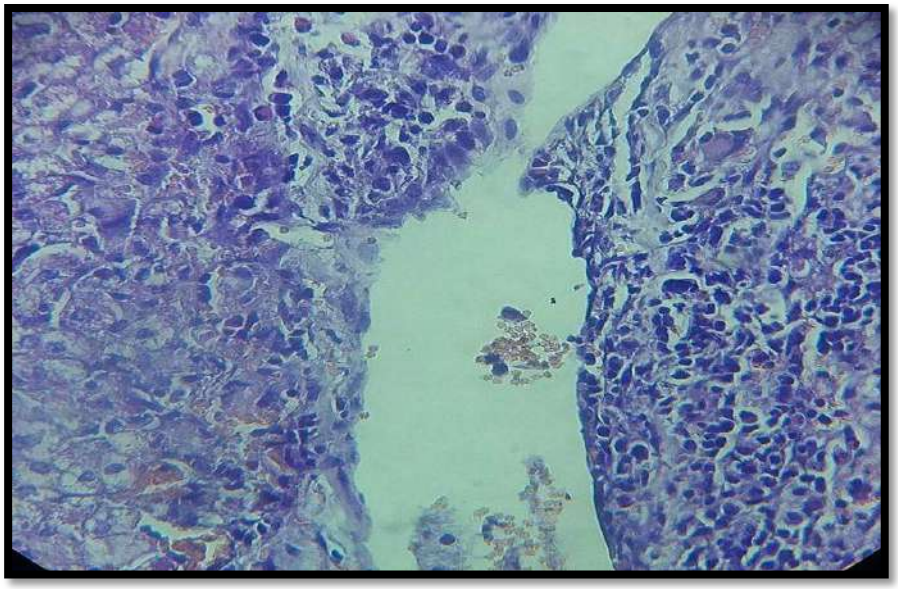


Photo 23. Infiltrat lympho-plasmocytaire :
Lapines du groupe 02 **(H&E, X100).**

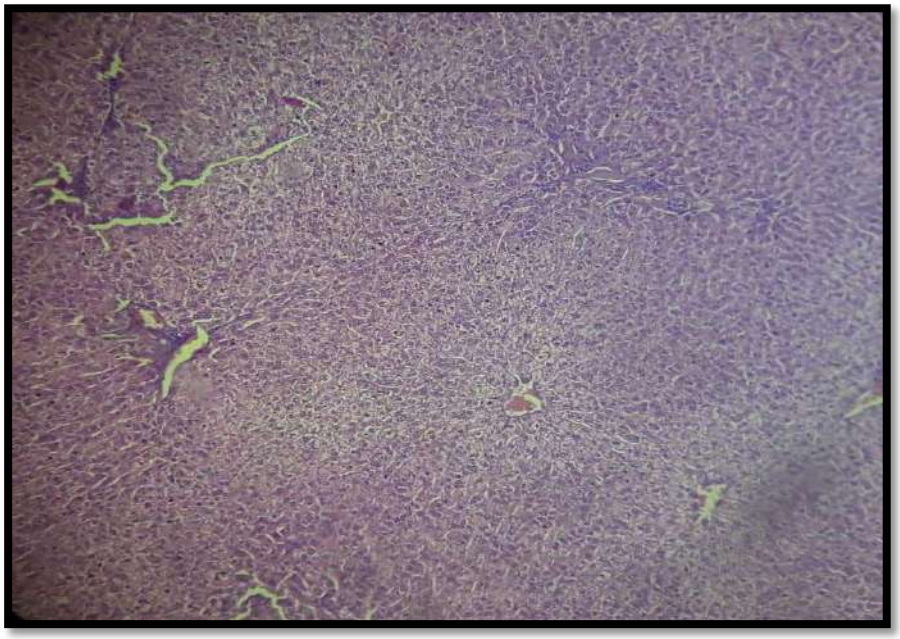


Photo 24. Architecture normale du foie : Lapines du groupe 03 **(H&E, X40)**.

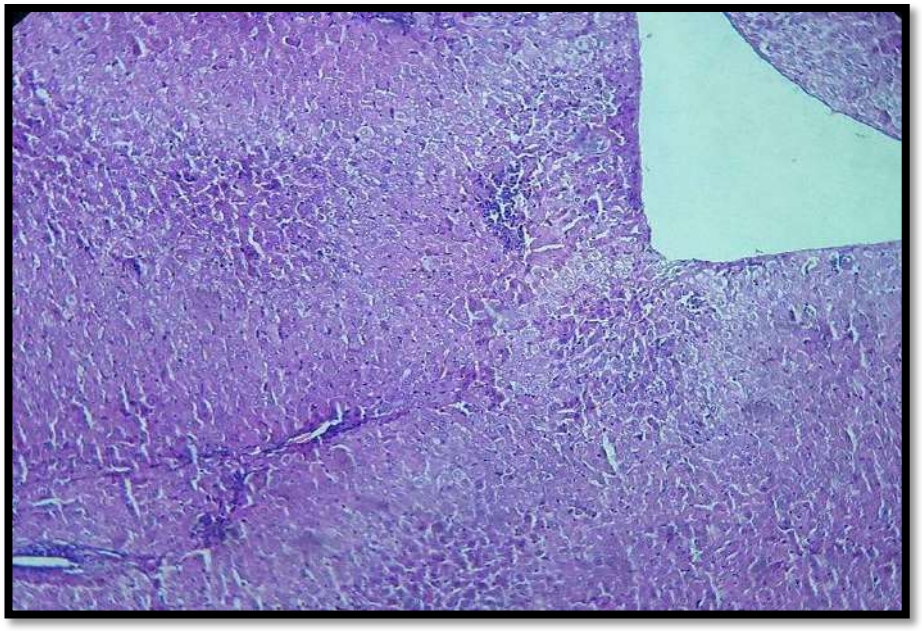


Photo 25. Stéatose microvésiculaire discrète : Lapines du groupe 04 **(H&E, X100).**

Photo 26. Architecture normale du foie: Lapines du groupe 05 **(H&E, X100).**

Conclusion 2

Dans le présent chapitre, l'hépato toxicité induite par l'association de médicaments antituberculeux (Rifampicine et Isoniazide) a été reproduite avec succès au regard des résultats des bilans biochimiques et histo pathologiques.

Le lait et l'urine de chamelle administrés par gavage naso-œsophagien ont été efficaces pour réduire la gravité de l'hépato toxicité grâce à une restauration des lésions histo-pathologiques et une normalisation des valeurs plasmatiques d'ALAT, ASAT, PAL et de la bilirubine (marqueurs de la fonction hépatique).

Sur la base du présent travail, il a été conclu que le lait et l'urine de chamelle possèdent une activité protectrice qui s'est révélée efficace dans l'hépato toxicité induite par les médicaments antituberculeux. Cependant, la différence entre les trois groupes traités n'était pas statistiquement significative. L'étude suggère de mener davantage d'investigations sur ce rôle indéniable que possèdent le lait et l'urine de chamelle dans la protection contre certaines pathologies.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Sur le plan expérimental, rares sont les travaux de recherche qui ont été engagés en Algérie sur les hépatites d'origine médicamenteuse et sur les effets thérapeutiques du lait et des urines de chamelle. Notre étude expérimentale est scindée en deux chapitres.

Nous avons abordé dans le premier chapitre de la partie expérimentale, l'étude des caractéristiques physicochimiques, de quelques paramètres biochimiques, et de la qualité microbiologique du lait et des urines de chamelles dans le but de vérifier leur qualité, de permettre leur valorisation en médecine traditionnelle, et d'établir des règles scientifiques pour leurs usages.

Les résultats que nous avons pu obtenir pour les analyses physicochimiques et biochimiques étaient similaires à ceux rapportés dans la bibliographie et montrent que les échantillons prélevés et utilisés dans cette recherche sont stables et frais.

L'étude de la qualité microbiologique, a montré la présence d'une charge bactérienne minime dans les échantillons de lait utilisés, qui se situe dans les normes citées dans la bibliographie, et l'absence totale de germes dans les échantillons d'urines. Cela exprime l'état de santé des chamelles ciblées et la salubrité des méthodes de prélèvement, de transport et de conservation.

L'étude de l'activité antioxydante des urines de chamelle a montré une activité anti-radicalaire importante contre le radical ABTS comparativement au radical DPPH.

Le but principal du deuxième chapitre est d'explorer le potentiel hépato protecteur du lait et des urines de chamelle dans l'hépato toxicité induite expérimentalement chez le lapin. La première étape consiste à établir une hépato toxicité mimant la maladie hépatique humaine à travers des animaux de laboratoire. L'hépato toxicité a été induite par l'utilisation de médicaments antituberculeux, à savoir l'Isoniazide et la Rifampicine

La période d'étude est de 10 jours au cours desquels les animaux ont été partagés en 5 groupes. Le $10^{ème}$ jour, les animaux ont été sacrifiés en suivant les règles d'éthiques pour diverses estimations macroscopiques, histopathologiques et biochimiques.

Des études antérieures ont prouvé l'activité anti oxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire du lait et des urines de chamelle. Cependant, rares sont celles qui ont porté sur l'activité hépato protectrice. Le présent travail a donc été entrepris pour étudier l'effet du lait et des

urines de chamelle contre l'hépato toxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le lapin.

Les résultats du deuxième chapitre sont résumés ci-dessous :

- L'hépato toxicité induite par les médicaments antituberculeux a été reproduite avec succès au regard des résultats obtenus concernant l'aspect morphologique macroscopique et histo pathologique ainsi que les modifications biochimiques.
- Le lait et les urines de chamelle ont permis de restaurer l'aspect macroscopique et microscopique du tissu hépatique comparativement au groupe intoxiqué.
- Le lait et les urines de chamelle ont permis de normaliser de manière significative les changements biochimiques, c'est-à-dire les changements associés aux biomarqueurs de la fonction hépatique (ALAT, ASAT, PAL, Bilirubine).
- Sur la base des résultats obtenus dans le deuxième chapitre, il a été conclu que le lait et les urines de chamelle possèdent une activité hépato protectrice qui s'est avérée efficace dans l'hépato toxicité induite par les médicaments antituberculeux. Cependant, la différence entre les groupes (lait, urine, mélange lait /urine) n'était pas statistiquement significative.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus permettent de déduire que le lait et les urines de chamelle présentent des propriétés thérapeutiques remarquables dues à leur richesse en molécules organiques et inorganiques ayant montré leur efficacité dans la toxicité hépatique d'origine médicamenteuse.

Par ailleurs, cette étude ouvre de nouvelles voies d'investigation pour :

- Utiliser d'autres modèles expérimentaux pour confirmer l'activité hépato protectrice du lait et des urines de chamelle.
- Etudier d'autres effets thérapeutiques de ces produits à savoir l'effet antidiabétique, anticancéreux et néphroprotecteur, et cela en comparant les deux types d'exploitations utilisées en Algérie (semi-intensif et extensif).
- Réaliser des travaux sur les activités biologiques du lait et des urines à savoir l'activité antimicrobienne, anti oxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire.
- Effectuer des études approfondies visant à mieux caractériser les différents constituants du lait et des urines de chamelles.

Résumé

Les hépatites médicamenteuses sont incriminées dans la majorité des mortalités liées à la prise de médicaments. Après une synthèse bibliographique à travers laquelle ont été rapportées des données générales concernant le foie et les hépatotoxicités médicamenteuses, ainsi que les connaissances générales sur la composition du lait et des urines de chamelle et leurs différentes utilisations thérapeutiques, l'étude pratique a englobé deux chapitres ; l'objectif du premier chapitre a été d'étudier quelques paramètres physicochimiques, biochimiques et microbiologiques du lait et des urines de chamelles. Les résultats que nous avons pu obtenir sont similaires à ceux rapportés dans la bibliographie. Ceci rend compte des qualités exceptionnelles du lait et des urines de chamelle, et d'une activité anti-oxydante indéniable de l'urine de chamelle.

L'objectif du deuxième chapitre a été d'étudier les effets hépato-protecteurs du lait et de l'urine de chamelle dans 5 groupes constitués de 8 lapines chacun. Le premier groupe a reçu une solution saline (témoin), les animaux du groupe 2 ont reçu quotidiennement de l'isoniazide (50 mg/Kg/j) avec de la rifampicine (100 mg/Kg/j) pendant 10 jours. Les lapines des groupes 3, 4 et 5 ont reçu de l'isoniazide (50 mg/kg/jour) et de la rifampicine (100 mg/kg/j) avec du lait (33 ml /kg de poids/jour), de l'urine (20 ml/kg de poids/jour), et un mélange contenant du lait et de l'urine de chamelle respectivement.

Les taux plasmatiques de bilirubine, protéines totales, glucose, urée, créatinine, cholestérol, triglycérides, ainsi que les activités des enzymes ALAT, ASAT et PAL ont été mesurés. Des variations histologiques sur les tissus hépatiques ont également été décrites. Les lapines du groupe 2 ont montré une augmentation non significative des taux plasmatiques d'ALAT et d'ASAT et une augmentation très significative de la bilirubine et de la PAL. Les coupes histologiques de foie des lapines du groupe 2 ont montré des signes de souffrance hépatocytaire. Les valeurs des paramètres biochimiques dosés ont été restaurées chez les animaux des groupes 3, 4 et 5 par rapport au groupe 2. Les variations histologiques ont également été réduites chez les animaux recevant du lait et des urines de chamelle, démontrant ainsi une amélioration du tableau histopathologique. Le lait et l'urine de chamelle ont ainsi des effets protecteurs sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide-rifampicine.

Mots clés : Lait, Urine, Chamelle, Toxicité hépatique, Antituberculeux.

Abstract

Drug-induced hepatitis are implicated in the majority of drug-related deaths. Following a bibliographical synthesis through which general data on liver and hepatotoxicities were reported, and general knowledge of the composition of milk and camel urine and their different therapeutic uses. Our practical study included two chapters; the objective of the first chapter was to study some physicochemical, biochemical and microbiological parameters of milk and camel urine. The results we were able to obtain are similar to those reported in the bibliography. This reflects the exceptional qualities of milk and camel urine, and the undeniable antioxidant activity of camel urine.

The objective of the second chapter was to study the hepatoprotective effects of milk and camel urine in 5 groups consisting of 8 rabbits each. The first group received a saline solution (control), while the animals in group 2 received isoniazid (50 mg/Kg/d) daily with rifampin (100 mg/Kg/d) for 10 days. Rabbits in groups 3, 4 and 5 received isoniazid (50 mg/kg/day) and rifampin (100 mg/kg/day) with milk (33 ml/kg weight/day), urine (20 ml/kg weight/day), and a mixture containing milk and camel urine, respectively. Plasma levels of bilirubin, total protein, glucose, urea, creatinine, cholesterol, triglycerides, as well as the activities of the ALAT, ASAT and PAL enzymes were measured. Histological changes in liver tissue have also been described. Group 2 rabbits showed a non-significant increase in plasma levels of ALAT and ASAT and a very significant increase in bilirubin and PAL. Histological sections of the liver of Group 2 rabbits showed signs of hepatocytic pain. Values of assayed biochemical parameters were restored in animals in groups 3, 4 and 5 compared to group 2. Histological variations were also reduced in animals receiving milk and camel urine, thus demonstrating an improvement in the histopathological picture. Camel milk and urine thus have protective effects on hepatotoxicity induced by the combination isoniazid-rifampin.

Key words: Milk, Urine, Camel, Hepatic Toxicity, Anti-tuberculosis drugs.

الملخص

التهاب الكبد الناجم عن الأدوية هو متسبب في غالبية الوفيات المرتبطة بتناول الأدوية. بعد دراسة بيبليوغرافية التي تم من خلالها الإبلاغ عن البيانات العامة المتعلقة بالكبد والالتهاب الناتج عن الأدوية ، بالإضافة إلى معرفة عامة حول حليب وبول الناقة ومختلف استخداماتها العلاجية.

فان دراستنا التطبيقية تتمحور حول فصلين ، الهدف من الفصل الأول هو دراسة بعض المتغيرات الفيزيائية والكيميائية الحيوية والميكروبيولوجية لحليب وبول النافة. وقد أظهرت النتائج التي تمكنا من الحصول عليها أنها مماثلة لتلك المذكورة في المراجع البيبليوغرافية. وهذا يفسر الصفات الاستثنائية لحليب وبول الناقة ، والنشاط المضاد للأكسدة الذي لا يمكن إنكاره لبول الناقة.

إن الهدف من الفصل الثاني هو دراسة التأثيرات الوقائية للكبد لحليب وبول الناقة في 5 مجموعات تتكون كل منها من 8 أرانب. تلقت المجموعة الأولى محلول ملحي (شاهد) ،اما حيوانات المجموعة 2 فقد تلقت يوميًا أيزونيازيد (50/ كغ/ يوم) وريفامبيسين (100 ملغ / كغ / يوم) لمدة 10 أيام.في حين تلقت أرانب المجموعات 3 و 4 و 5 أيزونيازيد (50 ملغم / كغ / يوم) وريفامبيسين (100 ملغ / كغم / يوم) مع الحليب والبول ومزيج يحتوي على الحليب وبول الناقة على التوالي.

وقد تم إعطاء حليب الناقة بمعدل 33 مل / كغ من وزن الجسم / يوم بالتزقيم الفموي باستخدام قسطرة بين الانف و المريء.أما البول فقد أعطي بمعدل 20 مل / كغ من وزن الجسم / يوم.

تم قياس مستويات البلازما من البيليروبين والبروتين الكلي والجلوكوز واليوريا والكرياتينين والكوليسترول والدهون الثلاثية وكذلك أنشطة إنزيمات ALAT و ASAT و PAL. كما تم كذلك وصف الاختلافات النسيجية في أنسجة الكبد.

وقد أظهرت أرانب المجموعة 2 زيادة غير معنوية في مستويات البلازما من ALT و ASAT وزيادة جد معنوية في البيليروبين و PAL.

أظهرت المقاطع النسيجية لكبد أرانب المجموعة 2 علامات المعاناة الكبدية. و قد تمت استعادة قيم المعالم الكيميائية الحيوية التي تم فحصها لحيوانات المجموعات 3 و 4 و 5 مقارنة بالمجموعة 2. كما تم تقليل الاختلافات النسيجية في الحيوانات التي تلقت حليب وبول الناقة، مما يدل على تحسن في جدول النسيج الكبدي. وبالتالي فإن حليب الناقة وبولها لهما تأثيرات وقائية على التسمم الكبدي الذي يسببه مزيج إيزونيازيد وريفامبيسين.

الكلمات المفتاحية : لبن ، بول ، ناقة ، تسمم الكبد ، مضاد للسل.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdalla, E.A. (2012). Composition and anti-hypoglycemic effect of camel milk in proceedings of the 3rd conference of the international society of camelid research and development. Muscat. Sultanate of Oman. 300-301.
- Abdel Gader, A., and Alhaider. (2016). The unique medicinal properties of camel products: a review of the scientific evidence J. Taibah Univ. Med. Sci. 10.1016/j.jtumed.2015.12.007
- Abdel Galil, M., Abdel Gader, P.h.D., Abdulqader, A., and Alhaider, P.h.D. (2016). The unique medicinal properties of camel products : a review of the scientific evidence. journal of taibah university medical sciences *11*(2), 98-103.
- Abdel-Salam, A.M., El-Mergawi, R.A., Al-Humaid, A.I., and Mousa, H.M. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of dates and dates-camel-milk mixtures as a protective meal against lipid peroxidation in rats Am. J. Food Technol. Retrieved from http://docsdrive.com/pdfs/academicjournals/ajft/2010/22-30.pdf Google Scholar
- AbdulRahman, K.F., Ghazy, S., Elsourojy, Y., Omer, N.S., Tawfik, N., and Mohessen, A.R. (2016). Evaluation of anticancer, antiviral and hepatic protective activities of pmf derived from camel urine, international journal of drug discovery and development *1*(1), 10-22.
- Abidi, K. (2001). Contribution à la connaissance du lait camelin : étude de l'évolution de la microflore du lait entreposé à la température ambiante et à 4°C. Université Kasdi Merbah Ouargla. 26-29.
- Abu-lehia, I.H. (1994). Recombined camel's powder. In « actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers », 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie**.**
- Abu-Taraboush, H.M., Al-Dagal, M.M., and Al-Royli, M.A. (1998). Growth, viability and proteolytic activity of Bifidobacteria in whole camel milk. J. Dairy Sci *81*, 354-361.
- Afnor. (1986). lait et produits laitiers : méthode d'analyse, AFNOR, Paris.
- Agarwal, R.P., Swami, S.C., and Beniwal, R., et al. (2002). Effects of camel milk on glycemic control, risk factors and diabetes quality of life in type-I diabetes : arandomized prospective controlled study. Int J Diabetes Dev Countries *22*, 70-74.

- Agrawal, A., Beniwal, R., Sharma, S., Kochar, D.K., Tuteja, F.C., Ghorui, S.K., and Sahani, M.S. (2005). Effect of raw camel milk in type 1 diabetic patients : 1 year randomised study. Journal of Camel Practice and Research *12*(1), 27-35.
- Agrawal, P.P., Swami,S.C., Beniwal, R., Kochar, D.K., Sahani, M.S., Tuteja, F.C., and Ghouri, S.K. (2003). Effect of raw camel milk on glycemic control, risk factors and diabetes quality of life in type-1 diabetes : A randomised prospective controlled study. Journal of Camel Practice and Research *10*(1), 45-50.
- Agrawal, R., Jain, S., Shah, S., Chopra, A., and Agrawal, V. (2011). Effect of camel milk on glycemic control and insulin requirement in patients with type 1 diabetes : 2-years randomized controlled trial. European Journal of Clinical Nutrition *65*, 1048–1052.
- Agrawal, R.P., Dogra, R., Mohta, N., Tiwari, R., Singhal, S., And Sultania, S. (2009). Beneficialeffect of camel milk in diabetic nephropathy. Acta Bio-medica : Atenei Parmensis.
- Agrawal, R.P., Saran, S., and Sharma, P.R.P., et al. (2007). Effect of camel milk on residual beta-cell function in recent onset of type 1 diabetes. Diabetes Res Clin Pract *77*, 494-495. Doi : 10.1016/j.diabres.2007.01.012. [PubMed] [Cross Ref]
- Ahamad, S. R., Alhaider, A.Q., Mohammad, R., and Al-Abdullah, A. (2010). The Inhibitor Effect of Camel's Urine on Mycotoxins and Fungal Growth. African J. Agric. Res *5*(11), 1331 -1337.
- Ahamad, S.R., Alhaider, A.Q., Raish, M., and Shakeel, F. (2017). Metabolomic and elemental analysis of camel and bovine urine by GC–MS and ICP–MS Saudi J. Biol. Sci *24* (1), 23-29. 10.1016/j.sjbs.2015.09.001.
- Ahmed, E., Elhag1, 2, F. Bernard3, Samia M. A. El Badwi2 . (2017). Protective Activity of Camel's Milk and UrineMixture (Camelus dromedarius) against Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Rats. Advances in Bioscience and Biotechnology *8,* 378-387.
- Ait-Khaled, N., and Enarson, D. A. (1999). Tuberculose : manuel pour les étudiants en médecine. Genève : Organisation mondiale de la Santé.
- Al-Abdalall, A. H. A. (2010). The inhibitory effect of camels urine on mycotoxins and fungal growth. AJAR *5*, 1331-1337.
- Alais, C., Linden, G. (1997). Abrégé De Biochimie Alimentaire. Masson, 3ème Ed. Paris.

- Al-Attas, A.S. (2008). Determination of Essential Elements in Milk and Urine of Camel and inNigella sativa Seeds. Arabian Journal of Chemistry *1*(2), 123-129.
- Al-Awadi, A., Al-Judaibi, A. (1999). Effect of camel's urine inhibitory growth of some pathogenic fungi and yeast. J Union Arab Biol *8*, 335-363.
- Al-Awadi, A., And Awatif, A. (2014). Effect of Heating and Storage on Antifungal Activity of Camel urine Department Biological Science, Microbiology Section, King Abdalaziz Univercity, Jedda, KSA, Saudi Arabia.
- Al-Awadi, F.M., and Srikumar, T.S. (2001). Trace elements and their distribution in protein fractions of camel milk in comparison to other commonly consumed milks. Journal of Dairy Research *68*(3), 463-469.
- Alebie, G., Seile, Y., and Amha Worku. (2017). Therapeutic Applications of Camel‟s Milk and Urine against Cancer : Current Development Efforts and Future Perspectives, Journal of Cancer Science & Therapy *9*, 5.
- Alebie, G., Yohannes, S., and Worku, A. (2017). Therapeutic applications of camel's milk and urine against cancer : current development efforts and future perspectives. Journal of Cancer Science and Therapy *9*(5), 468-478.
- Alexandria, B., Barbara, S., and Naveen, P. (2015). Rifampicin-induced nephrotoxicity in a tuberculosis patient. Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases *1*, 13-15.
- Al-Fartosi, K.G., Khuon, O.S., and Al-Tae, H.I. (2011). Protective role of camel's milk against paracetamol induced hepatotoxicity in male rats. Int J Res Pharmaceut Biomed Sci *2*, 1795-1799.
- Al-Fartosi, K.G., Majid, A., and Auda, M.A. (2012). The role of Camel's milk against some oxidant-antioxidant markers of male rats treated with CCl4. Int J Res Pharmaceut Biomed Sci *3*(1), 385-389.
- Alhaidar, A., Abdel Galil, M., Abdel Gader., And Shaker A. M. (2011**)**. The Antiplatelet Activity of Camel Urine, The Journal of Alternative and Complementary Medicine *17* (9), 803-808.
- Alhaider, A.A., Abdel Gader, A.M., and Saraswati, S. (2014). Camel milk inhibits inflammatory angiogenesis in mice, downregulating proangiogenic and proinflammatory cytokines. APMIS *122*, 599-607.

- Alhaider, A.A., Abel Gader, A.G.M., Almeshal, N., and Saraswati, S. (2014). Camel urine inhibits inflammatory angiogenesis in murine sponge implant angiogenesis model. Biomed Aging Pathology *4*(1), 9-16.
- Alhaider, A.A., El-Gendy, M.A., Korashy, H.M., and El-Kadi, A.O. (2011). Camel urine inhibits the cytochrome P450 1a1 gene expression through an AhR-dependent mechanism in Hepa 1c1c7 cell line. J Ethnopharmacol *133*(1), 184-190.
- Alhaj, O.A., and Alkanhal, H.A. (2010). Compositional technological and nutritional aspects of dromedary camel milk – review. International Dairy Journal xxx. P. 1-11.
- Al-Hashem, F. (2009). Camel's milk protects against aluminum chloride-induced toxicity in the liver and kidney of white albino rats. American Journal of Biochemistry and Biotechnology *5*(3), 98-108.
- Alihalassa, S. (2018). Comprendre l'épidémiologie de la tuberculose en Algérie. Revue des Maladies Respiratoires *35*, 234-235.
- Alkhamees., And Alsanad. (2017). Review of the therapeutic characteristics of camel urine afr j tradit complement altern Med *14* (6), 120-126.
- Alloui-Lombarkia, O., Ghennam, E.H., Bacha, A., And Abed-Eddaim, M. (2007). Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par electrophorèse sur gel de polyacrylamide. Renc. Rech. Ruminants *14*, 108.
- Althnaian, T., Albokhadaim, I., and El-Bahr, S. (2013). Biochemical and histopathological study in rats intoxicated with carbontetrachloride and treated with camel milk. Springerplus *2*(1), 57.
- Al-Yousef, N., Gaafar, A., Al-Otaibi, B., Al-Jammaz, I., Al-Hussein, K., and ABoussekhra, A. (2012). Camel urine components display anti-cancer properties in vitro. J Ethnopharmacol *143*, 819-825.
- Amany, S., Mahmoud, A., and Ahmed, M. (2005). Anti-schistosomal activity of colostral and mature camel milk on Schistosoma mansoni infected mice. AsiaPac J Clin Nutr *14*(4), 432–438.
- Amer, H., and Al-Hendi, A. (1996). Physical, biochemical and microscopically analysis of camel urine. J. Camel Practice Res *3***,** 17-21.

- Ancel, C. 2016. Détermination des intervalles de référence de la densité urinaire et du rapport protéines / créatinine urinaire chez les vaches adultes**.** Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.

- Anwar, S., Ansari, S.A., Alamri, A., Alqarni, A., Alghamdi, S., Rengasamy, K.R.R. (2021). Clastogenic, anti-clastogenic profile and safety assessment of Camel urine towards the development of new drug target Food Chem. Toxicol *151*, Article 112131, 10.1016/j.fct.2021.112131
- Aouam, K., Chaabane, A., Loussaïef, C., Romdhane, F.B., Boughattas, N.A., and Chakroun, M. (2007). Les effets indésirables des antituberculeux : épidémiologie, mécanismes et conduite à tenir. Médecine et maladies infectieuses *37*(5), 253-61.
- Attia, H., Kherouatou, N., and Nasri M. (2003). A study of the dromedary milk casein micollo and its changes during acidification. Brazilian Journal of Food Technology *6*, 237-244.
- Auddy, B. Ferreira, M. Blasina F. Lafon, L. Arredondo, F. Tripathi, P.C. Seal, T. Mukherjee, B. (2003). Screening of antioxydant activity of three indian medicinal plants, tradionally used for the management of neurodegenerative diseases. Journal of ethnopharmacology 84. 131-138
- Badaoui, D. (2000). Contribution à la connaissance de lait de chamelle : Essai de caractérisation de protéines par l'électrophorèse sur GEL de polyacrylomide, mémoire d'ingéniorat, IAS, université d'Ouargla. 65.
- Badidja, D. (2014). Etude comparative de la composition physicochimique de lait camelin et humain. Mémoire de master en science biologique. . Université Kasdi Merbah Ouargla. 67.
- Baghriche, I. (2011). Etude anatomopathologique des cirrhoses. Mémoire de magistere. Université mentouri Constantine faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie animale. 17-33.
- Bari, B., Pointean, Y., and Rio, E., et al. (2010). Dose tolérance à l'irradiation des tissus sains : le foie. EMC –Radiothérapie- cancer. 344-349.
- Behnas, H., and Salem, A., (2018). La tuberculose pulmonaire et extra-pulmonaire à l'unité de BK laboratoire de microbiologie (H.M.R.U.Constantine). Étude rétrospective de trois ans. Mémoire pour l'obtention du diplôe de master. Université des Frères Mentouri Constantine. 2-5.

- Belamri, M.I., Benyahia, Ch., and Benmakhlouf, H.A. (2019). Etude Comparative de la Composition Physico-chimique du Lait Camelin et Caprin de la Wilaya de Biskra et de Oued Souf. Mémoire de fin d'étude. Institut des sciences vétérinaires El-Khroub Constantine. 34-37.
- Bendjamaa, I. Krabsi M.A. (2019). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante, antimicrobienne et anti-enzymatique des extraits foliaires de l'espèce : *Eucalyptus globulus* Labill. Memoir de master en Biologie et physiologie de la reproduction. Université des Frères Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Pp : 41-45

- Benhamou, J.P. (1986). Métabolisme hépatique des médicaments et lésions hépatiques médicamenteuses. Médecine sciences *2*(7), 356.
- Benhamou, J.P., Erlinger, S. (2008). Maladie du foie et des voies biliaires 5ème édition. Paris : Flammarion médecine science. 220.
- Benmadi, S., and Aied, W. (2018). Etude de l'effet du lait et des urines camelins sur la voie alterne du complément dans le cancer du sein. mémoire de master académique en sciences de la nature et de la vie. universite kasdi merbah – ouargla.
- Bensadek, I. (2019). Etude physico-chimique et microbiologique du lait de la chamelle « camelus dromedarius »collecté localement a la commune adrar. Mémoire de master académique en agronomie. Universite Ahmed Draya –Adrar. 20-40
- Benson, K.G., and Paul-Murphy, J. (1999). Clinical pathology of the domestic rabbit. Acquisition and interpretation of samples. Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract *2*(3), 539-551.
- Bergmeyer, H.U., Scheibe, P., and Wahlefeld, A.W. (1978). Optimisation of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. Clinical Chemistry *24*, 58-73.
- Bezzalla, F., and Gouttaya, A. (2013). Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi-lactation. Master Academique Universite Kasdi Merbah Ouargla Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie et Des Sciences De La Terre Et De L'univers Département Des Sciences De La Nature et De La Vie. 32-38.
- Bezzalla, F., And Gouttaya, A. (2013). Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi-lactation. mémoire de master académique. universite

kasdi merbah ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers département des sciences de la nature et de la vie

- Bhupinder, S.K., Sarita, A., Nita, K., and Usha, G. (2007). Effect of cimetidine on hepatotoxicity induced by isoniazid-rifampicin combination in rabbits, New Delhi 110 002, Indigan Society of Gastroenterology. 19-21.
- Biour, M. (2011). Hépatotoxicité médicamenteuse, Hépatogastro et oncologie digestive *18*, 480-5.
- Bonnas, T. (2002). Cours d'anatomie. Bruxelles boeck.
- Bouchentouf, R., El-jastimi, S., Benjelloun, A., and Aitbenasser, M.A. (2011). Hépatotoxicité des antituberculeux : épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir. Journal Africain d'Hépato-Gastroentérologie *5*,168-173.
- Bouchet, A., Cillert, J. (1983). Anatomie topographique, descriptive et fonctionnelle. Lyon: SIMEP.
- Boudjenah, H.S., Laleye, L.C., Senoussi, C., Moulti-Mati, F., Si Ahmed, S., And Mati, A. (2011). Coagulation of Camel Milk using Dromedary Gastric Enzymes as a Substitute of the Commercial Rennet. American Journal of Food Technology *7*, 409-419.
- Boukhechem, M. (2016). L'hépatotoxicité des traitements antituberculeux. Rapport de stage d'internat. Université Mentouri – Faculté de médecine de Constantine. Centre hospitalo-universitaire de Constantine Service de pneumologie. 20.
- Boulahbal, F., and Chaulet, P. (2004). La Tuberculose En Afrique Épidémiologie Et Mesures De Lutte.
- Bouwens, L., De Bleser, P., Vanderkerken, K., Geerts, B., and Wisse, E. (1992). Liver cellheterogeneity : functions of non-parenchymal cells. Enzyme *46*, 155- 68.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, Me., and Berset, C. (1995). use Of Freeradical Method To Evaluateantioxidantactivity. Lebensmwisstechnology *28*, 25-30.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (1994). Tietz text book of clinical chemistry, 2nd edition. Philadelphia, PA, WB Saunders: 1913.
- Buyse, S., Paugam-Burtz, C., Stocco, J., and Durand, F. (2007). Adaptation des thérapeutiques médicamenteuses en cas d'insuffisance hépatocellulaire. Réanimation *16*(7-8), 576-86.
- Carole, L., and Vignola. (2002). Cité Par Badidja, S., And Djellabi, F.Z. (2014).

- Carpenter, J.W., Marion, C.J. (2018). Exotic animal formulary, 5th ed. St. Louis, Missouri, ElsevierF
- Casing, D., Veilhan, L. (2008). Anatomie du foie et des voies biliaires. EMC: Hépatologie, 7-001-A-10.
- Castaing, D., and Veilhan, L. (2006). Anatomie du foie et des voies biliaires. Liver and biliary tract anatomy Techniques chirurgicales-Appareil digestif, 40-760.
- Chethouna, F. (2011) : Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. Thèse de Magister en Sciences Biologiques Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Chibah, A. (2012). Extraction et caractérisation électrophorétiques des protéines membranaires des globules gras du lait de chamelle. Mémoire de magistère en sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri - Tizi Ouzou, Algérie.
- Christian, Ch., and Dominique, L. (1998). les hépatites et les atteintes des voies billiaires dues à l'amoxicilline-acide clavulanique *5*(1).
- Conesa, C., Lourdes, S., Carmen, R., María, D.P., And Miguel, C. (2008). Cyp1a1, Nqo1, and Gsta1, in murine hepatoma Hepa 1c1c7 cells. J Biomed Biotechnol 782642.
- Conesa, C., Sanchez, L., Rota, C., Perez, M., Calvo, M., Farnaud, S., and Evans, R.W. (2008). Isolation of lactoferrin from milk of different species : calorimetric and antimicrobial studies. Comp Biochem Physiol *150*, 131-139.
- Dasgupta N. and De B. (2007).Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study.Food Chemistry. 101, pp: 471-474.
- De Souza, A., Baldi, J., de Souza, T., and Rizzo, P. (1996). Hepatic functional changes induced by the combined use of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in the treatment of pulmonary tuberculosis. Arquivos de gastroenterologia *33*(4), 194.
- Denninger, M.H. (2006). Exploration de l'hémostase dans les maladies du foie. Revue Francophone des Laboratoires *387*, 35-47.
- Denys, N., And Furon, K. (2014). Détermination des intervalles de référence des variables biochimiques sanguines chez le chat au laboratoire de biochimie de l'ENVA.
- Detkova, Z., and Larrey, D. (2002) : Actualité sur les hépatites médicamenteuses. Concours médical *124*, 237-242.
- Dhumeaux, D., and Mallat, A. (1993). Hépatites chroniques et cirrhoses d'origine médicamenteuse. Gastroentérologie clinique et biologique *17*(5BIS), 31-5.

- Diquet, B., and Soubrie, C. (1998). Pharmacocinétique et métabolisme des médicaments. EMC, Encyclopédie Pratique de Médecine 10120, 6.
- Ebelle, L.M. (2007). Etude des hépatites médicamenteuses dans les services de gastro-entérologie de l'hôpital central et du CHU de Yaounde (Cameroun). Thèse pour l'obtention de grade de docteur en pharmacie et d'onto-stomatologie. Université de Bamako.16-18.
- El-Agamy, E.I. (1992). Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. J.Dairy. Res. rich, Switzerland *59*, 169-175.
- El-Bahr, S.M. (2013). Camel Milk regulates gene expression and activities of hepatic antioxidant enzymes in rats intoxicated with carbon tetrachloride. Asian journal of biochemistry. 11.
- El-Ftouh, M., Mouline, S., Badsi, A., and El-Fassy, F.M. (1998). Médicaments antituberculeux : effets secondaires et conduite à tenir. Médecine du Maghreb *67*, 35-8.
- Elhag, A.E., El-Badwi, S.M.A., and Mustafa, A.B. (2016). Hepato-protective effect of urine of one-humped camel (Camelus dromedarius) against ethanol induced liver damage in rats. International Journal of Pharmaceutical Chemistry *5* ,1-8.
- Elhag, A.E., Faye, B., and El-Badwi, S.M.A. (2017). Protective activity of camel's milk and urine mixture against ethanol-induced hepatotoxicity in rats. Advances in Bioscience and Biotechnology *8*, 378-387. 10.4236/abb.2017.810027.
- El-Hatmi, H., Levieux, A., and Levieux, D. (2006). Camel (Camelusdromedarius) Immunoglobulin G, A- Lactalbumin, Serum Albumin And Lactoferrin In Colostrum And Milk During The Early Post Partum Period. J. Dairy Res *73*, 1-6.
- Ellouze, S., and Kamoun, M. (1989). Évolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de la lactation. Options méditerranéennes-série séminaires *6*, 307-311.
- El-Said., El-Sherbini, E., Gehad, R.E., and Esraa, T. (2010). Effect of Camel Milk on Oxidative Stresses in Experimentally Induced Diabetic Rabbits. Veterinary Research Forum *1*(1), 30-43.
- El-Sayed, M.K., Al-Shoeibi, Z.Y., Abd El-Ghany, A.A., and Atef, Z.A. (2011). Effects of camel's milk as a vehicle for insulin on glycaemic control and lipid profile in type 1 diabetics. American Journal of Biochemistry and Biotechnology *7*(4), 179-189.
- Farah, Z. (1993). Composition and Characteristics of Camel Milk ; review. J. Dairy Res *60*, 603-626.

- Farris, M. (2009). Connaissance des aliments : base alimentaires et nutritionnelles de la diététique, 2ème édition lavoisier Tec et Doc. 18-22.
- Faye B., Tisserand J. L. (1989). Problèmes de la détermination de la valeur alimentaire des fourrages prélevés par le dromadaire. Séminaire sur la nutrition et l'alimentation du dromadaire, Ouargla, Algérie. Options méditerranéennes. Séries séminaires, 2: 61-65.
- Faye, B. (2003). Performances et productivité laitière de la chamelle : les données de la littérature. Actes de l'Atelier International sur : "Lait de chamelle pour l'Afrique", novembre, Niamey, Niger. 5-8.
- Faye, B. (2009). L'élevage des grands camélidés : vers un changement de paradigme. Renc. Rech. Ruminants *16*, 346.
- Faye, B., Konuspayeva, G., Messad, S. And Loiseau, G. (2008). Discriminant milk components of Bactrian camel (Camelusbactrianus), dromedary (Camelusdromedarius) and hybrids.Dairy Science and Technology *88*, 607-617.
- Fekete, S. (1989). Recent findings and future perspectives of digestive physiology in rabbits : areview. Acta Vet. Hung *37*(3), 265-279.
- Fisk, C.H., Subbarow, Y. (1925).The colorimetric determination of phosphorus. J of Biol Chem, 66: 375-400
- Fox, R.R., And Laird, C.W. (1970). Biochemical parameters of clinical significance in rabbits. II. Diurnal variations. J. Hered *61*(6), 265-268.
- Ghalem, R. (2016). Etude care tristique physico-chimiques, biochimique du lait camelin, en comparaison avec le lait camelin cru .mémoire de fin de étude en vue d'obtention master .sciences de la nature et de vie et des sciences de terre. Université Abou Abed Elkader Tlemcen. 19-21, 31-35.
- Gizachew, A., Teha, J., and Birhanu, T. (2014). Review on medicinal and nutritional values of camel milk. Nat Sci *12*(12), 35-40.
- Godeau, P., Herson, S., and Piette, J.C. (2004). Hépatite aiguës médicamenteuses, hépatites aiguës toxiques et hépatite alcoolique ; hépatites Chroniques », Traité de Médecine. Tome I *4*, 1245-1253.
- Gorben., and Izzeldin. (1997). Cite Par Siboukeur, A., and Siboukeur, O. (2012).
- Guéguen, Y., and Mouzat, K. (2006). editors Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. Annales de biologie clinique.
- Guillou, H., Pelissier, J.P., Grappin, R. Méthodes de dosage des protéines du lait de vache. Le Lait, 1976,66, 143-175.

- Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod édition. 652.
- Guiraud, J., and Rosec, J. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. 50.
- Haddadin, M.S.Y., Gammoh, S.I. And Robinson, R.K. (2008). Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. Journal of Dairy Research *75* (1), 8-12.
- Haimed, M. (2011). Compositional Analysis, in vitro Antioxidant and Antiproliferative Activities of Camel (Camelus dromedarius) Milk and Urine (Doctoral dissertation).
- Hamad, E.M., Abdel-Rahim, E.A., and Romeih, E.A. (2011). Beneficial effect of camel milk on liver and kidneys function in diabetic sprague–dawley rats. Int J Dairy Sci *6*(3), 190-197. Doi : 10.3923/ijds.2011.190.197.
- Hamidi, M. (2015). Etude des propriétés fonctionnelles et des aptitudes à la congélation du lait de dromadaire par le couche de Kaolin de gésier des poules .thèse de doctorat .faculté des sciences exactes, sciences de la nature et de vie. Université Mohamed Khaider de Biskra *10*, 20-21
- Hany, S., Mahmoud., Wael, M.E., and Sami, A.G. (2019). Camel urotherapy and hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced liver toxicity. International Journal of Pharmacology *15*, 696-705.
- Harcourt-Brown, F.M., and Baker, S.J. (2001). Parathyroid hormone, haematological and biochemical parameters in relation to dental disease and husbandry in rabbits. J. Small Anim. Pract *42*(3), 130-136.
- Harini, R., and Pugalendi, K.V. (2010). Antioxidant and antihyperlipidaemic activity of protocatechuic acid on streptozotocindiabetic rats, Redox Report *15*(2), 71-80.
- Harkness, J.E. (2010). American College Of Laboratory Animal Medicine (Ed.), Harkness and Wagner's biology and medicine of rabbits and rodents, 5th ed. Ames, Wiley-Blackwell.
- Harkness., and Wagner. (1995). biology and medicine of rabbits androdents, 5th ed. Ames, Wiley-Blackwell.
- Hasni, S., and Habita, S. (2015). Activités biologiques des urines de dromadaire : Mémoire De Master Academique. Universite kasdi merbah ouargla. 20-37.
- Hassan, A.A., Hagrass, A.E., Soryal, K.A. And El-Shabrawy, S.A. (1987). Physico-chemical Properties of camel milk during lactation period in Egypt. Egyptian Journal of Food Science *15* (1), 1-14.

- Hassan, N.S., and Emam, M.A. (2012). Protective effect of camel milk and ginkgo biloba extract against alloxan-induced diabetes in rats. Journal of Diabetes and Metabolism *3*, 10.
- Havel, R.J. (1986). Functional activities of hepatic lipoproteins receptors. Ann Rev Physiol *48*, 119-134. doi: 10.1146/annurev.ph.48.030186.001003.
- Hernandez, J. (2008). Maladies hepatiques chroniques du chien et du chat. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Veterinaire, Gastro-enterologie, 2300.
- Hershkovitz, I., Donoghue, H.D., Minnikin, D.E., Besra, G.S., Lee, O.Y.C., Gernaey, A.M., Galili E., Eshed, V., Greenblatt, C.L., and Lemma, E., et al. (2008). Detection And Molecular Characterization Of 9000-Year-Old Mycobacterium Tuberculosis From A Neolithic Settlement In The Eastern Mediterranean. Plos One 3, E3426.
- Ishibashi, H., Nakamura, M., Komori, A., Migita, K., and Shimoda, S. (2009). editors Liver architecture, cell function, and disease. Seminars in immunopathology.
- Jahan, S., Khan, M., Imran, S., and Sair, M. (2015). The hepatoprotective role of Silymarin in isoniazid induced liver damage of rabbits. *65*(6).
- Jahn, C.E., Schaegfetr, E.J., and Taam, L.A. et al. (1985). Lipoprotein abnormalities in primary biliary cirrhosisassociation with hepatic lipase inhibition as well as altered cholesterol esterification. Gastroenterol *89*, 1266-1278.
- Jakson, A., Tenhaken, R.K., and Roberston, J.M., et al. (1995). Analysis of chemical complication data for radation hepatitis using a parallel architecture model. Int J Radiat Oncol biol phys *31*, 833-91.
- Jenkins, J.R. (2000). Rabbit and ferret liver and gastrointestinal testing. In Laboratory Medicine. Avian and Exotic Pets (A.M. Fudge, ed.). W.B. Saunders. 291-304.
- Jiang, Y., Renxiu, P., Jie, C., Yinghui, L., and Guicheng, D. (2009). Effect Of Rifampin On Cyp2e1-Dependent Hepatotoxicity Of Isoniazid In Rats. Pharmacol Res *59*, 112-9.
- Kabasakalian, P., Kalliney, S., Wescott, A. (1973). Determination of uric acid in serum with use of uricase and tribromophenol aminoantipyrine chromogen. Clin chem, 19 (5): 522-524.
- Kamoun, M. (1995). Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. Option méditerranéennes *13*, 81-103.
- Kamoun, M., And Ramet, J.P. (1989). Conservation et transformation du lait de dromadaire. Options Méditerranéennes - Série Séminaires (6), 229-231

- Kanwar, J.R., Roy, K., Patel, Y., Zhou, S.F., Singh, M.R., Singh, D., Nasir, M., Sehgal, R., Sehgal, A., Singh, R.S., Garg, S., and Kanwar, R.K. (2015). Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedicinal approaches to enhance its bioactive functions. Molecules *20*(6), 9703-9731.
- Kebir, N.E. (2018). Propriétés du Lait de chamelle cru sur les profils glucidique et lipidique des rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane. Thèse de doctorat en scienc. universite djillali liabes. faculte des sciences de la nature et de la vie sidi bel abbes. 61-65.
- Kedda, R. (2016). Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (Camelus dromedarius) conduites selon deux régions d'élevage (sud et nord).Master en biologie. Faculté des sciences de la nature. Université D'Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. 20.
- Keller, P. (1981). Enzyme activities in the dog: tissue analyses, plasma values, and intracellular distribution. Am J Vet Res *42*, 575–582.
- Kemp, S.D., Zimmerman, K.L., and Panciera, D.L., et al. (2015). A Comparison of Liver Sampling Techniques in Dogs. J Vet Intern Med *29*, 51-57.
- Kerr, M.G. (1989). Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology. Oxford Blackwell science.
- Khalid, A., and Nessren, H.H. (2015). Hepatoprotective Properties Of Camel's Milk Against Benzene Induced Toxicity In Male Rats. European Journal of Pharmaceutical and Medical Research *2*(6), 33-37.
- Khalid, R., Muhammad, F., and Iqbal, K. (2018). Nephroprotective effects of Raphanus sativus (Radish) in rifampicin induced nephrotoxicity in adult albino rabbits. J Toxicol Pharmaceut Sci *2*(1-2), 7-12.
- Khan, A.A., Alzohairy, M.A., and Mohieldein, A.H. (2012). Antidiabetic effects of camel milk in Streptozotocin-induced diabetic rats. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology *3*, 151-158.
- Khan, A.A., and Alzohairy, M.A. (2011). Hepatoprotective effects of camel milk against CCl4 induced hepatotoxicity in rats. Asian Journal of Biochemistry *6*, 171-180. https://doi.org/10.3923/ajb.2011.171.180.
- Khan, R., Mohamed, H., and Gumaan, A. (2019). Hepatoprotective effects of camel milk and urine on carbon tetrachloride (CCL4) induced liver damage. International

Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology. 408-412. 10.32628/IJSRSET196169.

- Khaskheli, M., Arain, M. A., Chaudhry, S., Soomro, A. H., And Qureshit. A. (2005). Physico-chemical quality of camel milk.Journal of Agriculture and Social Sciences (2), 164-166.
- Khorshid, F.A., and Moshref, S.S. (2006). In vitro anticancer agent, I e tissue Culture study of human lung cancer cells A549 II e tissue Culture study of mice leukemia cells L1210. Internat J Cancer Res *2*(4), 330-344.
- Khorshid, F.A., Ghazy, A.S., Elsourojy, Y., Omer, N.S., Tawfik, N., and Mohessen Alshehri, R. (2016). Evaluation of anticancer, antiviral and hepatic protective activities of pmf derived from camel urine. International Journal of Drug Discovery and Development *1*(1), 10-22.
- Konuspayeva, G., Faye B, E.T G., and Loiseau. (2009). The Composition of Camel Milk : A Meta-Analysis of the Literature Data. Journal of Food Composition and Analysis *22* (2), 95-101.
- Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., And Levieux, D. (2007). Lactoferrin and immunoglobulincontents in camel's milk (Camelusbactrianus, Camelusdromedarius,and hybrids) from Kazakhstan. J. Dairy. Sci *90*, 38-46.
- Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., Narmuratova, M., Ivashchenko, A., Meldebekova, A., and Davletov, S. (2010). Physiological Change In Camel Milk Composition (Camelus Dromedarius) 1. Effect Of Lactation Stage. Trop. Anim. Health Prod *42*(3), 495-499.
- Korashy, H.M., Maayah, Z.H., Abd-Allah, A.R., El-Kadi, A.O., and Alhaider, A.A. (2012). Camel milk triggers apoptotic signaling pathways in human hepatoma HepG2 and breast cancer MCF7 cell lines through transcriptional mechanism. J Biomed Biotechnol *133*(1), 184-190.
- Korish, A., and Arafah, M. (2013). Camel milk ameliorates steatohepatitis, insulin resistance and lipid peroxidation in experimental non-alcoholic fatty liver disease. BMC Complementary and Alternative Medicine *13*, 264-276. https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-264.
- Kumar, A., Misra, P.K., Mehotra, R., Govil, Y.C., and Rana, G.S. (1991). Hepatotoxicity Of Rifampicin And Isoniazid : Is It All Drug Induced Hepatitis ? Am. Rev. Respir. Dis *143*, 1350-1352.

- Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El-Yachioui, M., Berny, E., and Ouhssine, M. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de laits crus, Bull. Lactitude *12*.
- Larrey, D. (1995). Hépatites Médicamenteuses : Aspects Epidémiologiques, Cliniques, Diagnostiques Et Physiopathologiques. Rev Méd Int *16*, 752-758.
- Larrey, D. (2002). Hépato Toxicité : La Liste Des Médicaments S'allonge. Rev Prat int *16*, 773-777.
- Larrey, D. (2002). Prédisposition génétique à l'hépatotoxicité des médicaments.EMC, Hépatologie. 7-15.
- Larrey, D. (2003). Maladies Hépatiques Médicamenteuses. Aspects Epidémiologiques, Diagnostiques Et Cliniques. Encyclo Med Chir (Editions Scientifiques Et Médicales Elsevier Sas, Paris Toute Droits Réservés), Hépatologie, 7-15-M-40, 10.
- Larrey, D. (2005). Influence sur le foie des réactions médicamenteuses : une approche diagnostique. Feuillets de biologie *46*(263), 61-5.
- Larrey, D. (2013). Hépatotoxicité des médicaments anti-infectieux, La Lettre de l'Infectiologue. Tome XXVIII. (2), 68-70.
- Lauriane, F. (2015). Le lactose, indicateur de déficit énergétique chez la vache laitière ? Etude réalisée auprès de 162 élevages en Rhône-Alpes auvergne. Thèse pour diplôme docteur vétérinaire. Vetagro sup campus vétérinaire de Lyon. 140.
- Lian, Y., Zhao, J., Xu, P., Wang, Y., Zhao, J., and Jia, L., et al. (2013). Protective Effects of Metallothionein on Isoniazid and Rifampicin-Induced Hepatotoxicity in Mice. PLoS ONE 8(8), e72058. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072058.
- Lopez, G.S., and Magdalena, M. (2015). Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. World J Nephrol *4*, 57-73.
- Madhi, F. (2004). Modalités pratiques du traitement de la tuberculose chez l'enfant. Médecine thérapeutique/Pédiatrie. *7*(2), 111-20.
- Mahmoud, H., Elsaed, W., and Gabr, S. (2019). Camel urotherapy and hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced liver toxicity Int. J. Pharmacol *15*, 696-705. 10.3923/ijp.2019.696.705
- Mahrous, A.B.I., Farooq, A.W., and Shaik, R. (2017). Hepatoprotective effect of olive oil and camel milk on acetaminophen-induced liver toxicity in mice. International Journal of Medical Science and Public Health *6*(1), 186-194.

- Maisuthisakul P.; Suttajit M. and Pongsawatmanit R. (2007). Assessment of phenoliccontent and free radical-scavengingcapacity of some Thai indigenous plants.Food Chemistry, 100, pp: 1409-1418.
- Maitre, M., and Blicklé, J. (2008). Métabolismes hépatiques. EMC, Hépatologie. 7-5.
- Makinde, O.j. (2016). Growth performance, carcass yield and blood profiles of growing rabbits fed concentrate diet supplemented with white lead tree (leucaena leucocephala) or siratro (macroptilium atropurpureum) leaves in north central nigeria. Trakia journal of sciences *1*, 80-86.
- Maloy, H.T., and Evelyn, K.A. (1937). The Determination of Bilirubin with the photoelectric colorimeter. Journal of Biological Chemistry *112*(2), 481-491.
- Mamadou, K.S. (2008). Hépatites médicamenteuses dans les services de médecine du CHU Gabriel Touré et du CHU du Point G. Faculté de Médecine de Pharmacie Et D'odontostomatologie. 8-11.
- Marieb, E.N. (2005). Anatomie et Physiologie humaines, adaptation de la 6ème edition Américaine. Edition du Renouveau Pédagogique Inc *1*, 936-1003.
- Mathieu, J. (1998). Initiation à la Physico-Chimie du Lait. Tec. Doc., 1ère Ed., Lavoisier, Paris.
- Matsuda, K. (1994). ACAT inhibitors as antiatherosclerotic agents : compounds and mechanisms. Med Res Rev *14*, 271-305. Doi : 10.1002/med.2610140302.
- Mayne, P.D. (1994). The kidneys and renal calculi. In : Clinical chemistry in diagnosis and treatment. 6th Ed. London : Edward Arnold Publications. 2-24.
- Mazelier, Q., and Vergneau, N. (2014). Détermination des intervalles de référence des variables biochimiques sanguines du chien au laboratoire de biochimie de l'ENVA. These Med. Vet., Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Medaille, C. (2006). Place des examens sanguins dans l'exploration du foie. Prat Med Chir Anim Comp *41***,** 219-224.
- Medaille, C., and Lagrange, I. (2018). Vade-Mecum Des Analyses Vétérinaires 4eme Ed. Paris, Med Com Editions.
- Medaille, C.H., and Briend, M.A.(2008). Guide pratique des analyses biologiques vétérinaires. Ed MED'COM. 320.
- Medjour, A. (2014). Etude comparative physico-chimique du lait collecté àpratir de chamelle (camelus dromadrauis) conduites selon deux espaces deux d'élevage (extensif

et semi extensif). Thèse de Magister en biologie .Faculté de sciences exactes et sciences de la nature de vie .Université Mohamed khaiderBeskira. 6-32.

- Meunier, L., Ursic Bedoya, J., and Larrey, D. (2017). Hépatopathies toxiques médicamenteuses et non médicamenteuses. Elsevier Masson SAS (17), 80183-2
- Michaud, V., and Turgeon, J. (2002). Les cytochromes P450 et leur rôle clinique. Lemédecin du Québec *37*(8), 73-84.
- Michaux, J.M. (2013). Exploration hepatique. Polycopie de l'unite de Biochimie de l'Ecole Veterinaire d'Alfort. Annee 2013-2014.
- Michaux. (2017). Cours De Biochimie Clinique, Exploration Hepatique. Enva.
- Michel, R. (2000). Biopsie-Hépatique-Pathologie-Tumorale-Foie. Editeur Elsevier. Collection le pathologiste. 110-115.
- Miglani S. (2015). Hepatoprotective effect of goat milk against anti-tubercular drug induced hepatotoxicity in rats. Master of pharmacy in pharmacology. School of Pharmaceutical Sciences Lovely Professional University Punjab 144411. PP 65
-
- Moastafa, T.M., El-Sissy, A.E., El-Saeed, G.K., and Koura, M.S. (2014). Study on the therapeutic benefit on lactoferrin in patients with colorectal cancer receiving chemotherapy. Intern Sch Res. http:// dx.doi.org/10.1155/2014/184278. Article ID 184278.
- Mohamad, R., Zekry, Z., Al-Mehdar, H., Salama, O., El-Shaieb, S., El- Basmy, A., Al-Said, M. and Sharawy, S. (2009). Camel milk as an adjuvant therapy for the treatment of type 1 diabetes : verification of a traditional ethnomedical practice. J Med Food *12*(2), 461-5.
- Mohamed, D.A., El-Bagir, N.M., Khougali, S.M.E., and Elmnan, B.A. (2014). Effects of camel urine on serum testosterone level in male rats of different testosterone levels. Research Journal of Animal Sciences *8*(1), 4-8.
- Mohamed, H.E. (2017). Protective effects of camel milk on inflammatory and antioxidant biomarkers in the offspring with experimental streptozotocin-induced diabetes. Journal of Camel Practice and Research *24*(3), 247-249.
- Mohamed, M., Zeweil, A.H., El-Far., Kadry, M.S., Usama, E.M., and Ahmed, S. (2016). Effect of desert camel's milk and/or urine on experimentally induced thioacetamide liver cirrhosis in rats. Alexandria Journal of Veterinary Sciences *49*(2), 170-177.

- Mona, E., Ragia, O., Abeer, A., and Mosa, T. (2010). Biochemical effects of fermented camel milk on diarrhea in rats. N Y Sci J *3*(5), 106-111.
- Monfort, A. (2016). Les médicaments responsables d'hépato-toxicité chez les animaux de compagnie. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de Créteil. 15-36.
- Moorehead, W.R., Briggs, H.C. 1974. Cited in Biosystem kits for Determination of calcium concentration. Clinc. Chem. 20:1458.
- Moore, K.L., and Dalley, A. (2007). Anatomie médicale, Aspects fondamentaux et applications cliniques 2ème édition. Bruxelles de boeck. 1209.
- Moul El Bab, H. (2009). L'hépato -Toxicité Des Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens. Thèse De Doctorat En Pharmacie. Université Mohammed V. 67.
- Mustapha, A., Marte, A.M., Makinta, A.A., and Benisheikh, A.A. (2021). Efficacy of Camel Urine in the Management of Diabetes Mellitus in Alloxan induced Albino Rats. International Journal of Agricultural Science and Technology ISSN : 2360-9888. *9*(1), 50-57.
- Nadir, S., Hliwa, W., Alaoui, R., Jamil, D., And Cherkaoui, A. (2001). Toxicité hépatique des antibacillaires : Aspects cliniques et modalités de prise en charge. Espérance médicale *8*(69), 90-5.
- Naseer, A., Hussain, A., Aslam, B., Muhammad, F., Mohsin, M., Bari, M.U., Sultana, A. and Masood, A. (2020). Vitamin e and selenium attenuate hepatotoxicity, nephrotoxicity and oxidative stress induced by rifampicin in rabbits. Pak Vet J *40*(3), 277-282. http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2020.026.
- Natter, F.H. (2004). Atlas d'anatomie humaines 3ème édition paris. Masson, 542.
- Norizam Salamt., Ruszymah Binti HajiIdrus., Mohd Izhar Ariff MohdKashim., Mohd HelmyMokhtar. (2021). Anticancer, antiplatelet, gastroprotective and hepatoprotective effects of camel urine : A scoping review . Saudi Pharmaceutical Journal *29*(7), 740-750.
- O'haj, H.M. (1993). Camel urine as medicament in Sudan. B.Sc Dissertation) University of Gezira Sudan.
- Omer, R.H., And Eltinay, A.H. (2009). Changes in chemical composition of camel's raw milkduring storage. Pak. J. Nutr *8*, 607-610.
- Ould Moustapha., and Ould Hamadi. (2016). Contribution A L'étude Comparative Des Laits Crus Des Chamelles Provenant Des Wilayas De Mauritanie Destinés A La Transformation. Journal Of Applied Biosciences *102*, 9738 – 9744.

- Perriot, J., Chambonnet, E., and Eschalier, A. (2011). Les Effets Indésirables Des Antituberculeux ; Prise En Charge. Rev. Mal. Resp *28*(4), 542-555.
- Pessayre, O., Larrey, D., Biour, M., Bircher, J., Benhamou, J.p., Mcintyre, N., Rizzetto, M., and Rodés, J. (1999). Drug-Induced Liver Injury In : Editors. Oxford Text Book Of Clinical Hepatology, 2nd Ed, Vol. 2. Oxford : Oxford University Press. 1261-315.
- Radi, M. (2018). Toxicité hépatique des médicaments. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en pharmacie. Universite mohammed v de rabat faculte de medecine et de pharmacie. 117.
- Ravinder, P., Kim, I., Arbab, S., Kartar, S., and Satya, V.R. (2006). Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats : World Journal of Gastroenterology *12*(4), 636-639.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical Cationdecolorizationassay. Free Radical Bio. Med *26*, 1231–1237.
- Read, B. E. (1925). Chemical constituents of camel's urine. J. Biol. Chem., 64**,** 615-617.
- Redwan., Elkhrashdy, M., And Ashraf, T. (2007). Camel Lactoferrin Markedly Inhibits Hepatitis C Virus Genotype 4 Infection of Human Peripheral Blood Leukocytes. Journal of Immunoassay and Immunochemistry *28*(3), 267-277.
- Rico., et al. (2014). In Lauriane, F (2015). Le lactose, indicateur de déficit énergétique chez la vache laitière ? Etude réalisée auprès de 162 élevages en Rhône-Alpes auvergne. Thèse pour diplôme docteur vétérinaire. Vetagro sup campus vétérinaire de Lyon. 140.
- Rosalki, S.B., Foo, A.Y., Burlina, A., Prellwitz, W., Stieber, P., Neumeier, D., Klein, G., Poppe, W.A., and Bodenmüller, H. (1993). Multicentre evaluation of Iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. Clinical Chemistry *39*, 648-652.
- Rosenthal, K. (2000). Ferret and rabbit endocrine disease. In Laboratory Medicine. Avian and Exotic Pets (A.M. Fudge, ed.). W.B. Saunders. 319-324.
- Saad, M.S., Mohamed, A.M., and Khalid, H. (2017). Some haemato-biochemical values in white new zealand rabbits. Journal of agriculture and veterinary science *10*(7), 40-44.

- Sahli, CH., and Rim, M.R. (2015). Effet préventif de la quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par la rifampicine et l'isoniazide : Mémoire de Master Université des Frères Mentouri Constantine *1*, 33-45.
- Saley, M., (1993). La Production Laitière du Dromadaire. CIRAD, Ed Maison- Alfort, Paris.
- Sankar, M. Johanna, R., and Dorai, S. (2015). Hepatoprotective Activity of Heptoplus on Isoniazid and Rifampicin Induced Liver Damage in Rats. Indian J Pharm Sci *77*(5), 556-562.
- Santhosh, S., Sini, T.K., Anandan, R., and Mathee, P.T. (2007). Hepatoprotective activity of chitosan against isoniazid and rifampicin-induced toxicity in experimental rats. Eur J Pharmacol *572*, 69-73.
- Sartor, Ch. (2015). Hnf4α and choline metabolism role in β-catenin activated liver carcinogenesis. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale Cancérologie.
- Sbikour, A., Sbikour, O. (2012). cactérisation physicochimique et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec lait de bovin .annales des sciences et technologie *14* ,102-107.
- Sboui, A., Djegham, M., Khorchani, T., and Hammadi, M. (2010). Effect of camel milk on blood glucose, cholesterol and total proteins variations in alloxan-induced diabetic dogs. International Journal of Diabetes and Metabolism *18*(1), 5-11.
- Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., and Belhadj, O. (2009). Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien : variation du pH et de l'acidité à différentes températures ; Afrique Science *5*(2), 293-304.
- Schmand, I. (2020). Determination Des Intervalles De Reference Des Variables Biochimiques Sanguines, Electrolytiques, Gazometriques Et Hematologiques Chez Le Lapin Au Laboratoire De L'enva These Pour Obtenir Le Grade De Docteur Veterinaire Presentee Et Soutenue Publiquement Devant La Faculte De Medecine De Creteil (Upec). 19-37.
- Senoussi, C. (2011). Les protéines sériques du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérien : essais de séparation et caractérisation de la fraction protéose peptone. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 4, 7, 8, 17-19.
- Shamsia, S. M. (2009). Nutritional And Therapeutic Properties Of Camel And Human Milks. International Journal Of Genetics And Molecular Biology *1*(2), 52-58.

- Shazia, Q., Mohammad, Z.H., Rahman, T., and Shekhar,H. (2012). Correlation of oxidative stress with serum trace element levels and antioxidant enzyme status in beta thalassemia major patients: a review of the literature Anemia, Article 270923, 10.1155/2012/270923 View Record in ScopusGoogle Scholar.
- Shih, T.Y., Young, T.H., Lee, H.S., Hsieh, C.B., and Hu, O.Y. (2013). Protective effects of kaempferol on isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity. American Association of Pharmaceutical Scientists Journal (AAPS J.) *15*(3), 753-62. Doi : 10.1208/s12248-013-9490-6.
- Siboukeur, A. (2011). Etude de l'activité antibactérienne des bactériocines (type nisine) produites par Lactococcus lactis subsp lactis, isolée à partir du lait camelin. Mémoire de Magister, Université d'Ouargla. 6-10.
- Siboukeur, O. (2007). Etude du lait camelin collecté localement caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques : aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique El-Harrach-Alger. 27, 38, 71, 86, 87.
- Singh, R. (2001). Senior Scientist, National Research Centre on Camel, Bikaner, India. Personal Commhunication.
- Souid, W. (2011). Effet Des Bactériocines (Type Nisine) Produites Par Une Souche Lactique Isolée A Partir Du Fromage Camelin, Sur Une Souche Psychrotrophe. Université Kasdi Merbahouargla *8*, 52.
- Stevens, A., Lowe, J. (2006). Histologie humaine 3ème édition. Paris : Elsevier. 459.
- Stockham, S.L., and Scott, M.A. (2008). Fundamentals of veterinary clinical pathology, 2nd ed. Ames, Iowa, Blackwell.
- Tahani, Y.O., and Fahima, H.H. (2014). Effect of camel milk on hepatic antioxidant enzymes in rabbits intoxicated with carbon tetrachloride. International journal of biological & pharmaceutical research *5*(5), 461-468.
- Tasduq, S.A., Peerzada, K., Koul, S., Bhat, R., and Johri, R.K. (2005). Biochemical manifestations of anti-tuberculosis drugs induced hepatotoxicity and the effect of silymarin. Hepatol Res *31*, 132-135.
- Tayal, V., Kalra, B.S., Agarwal, S., Khurana, N., and Gupta, U. (2007). Hepatoprotective effect of tocopherol against isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity in albino rabbits. Indian J Exp Biol *45*, 1031-6.
- Tietz, N.W. (1986). Textbook of clinical chemistry. Philadelphia, WB Saunders Co.

- Thapa, B.R., and Walia, A. (2007). Liver function tests and their interpretation. Indian J Pediatr *74*, 663-71.
- Thnaian, A. (2012). Protective Effect of Camel Milk Against Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity in Rats. Global Veterinaria *9* (5), 564-570.
- Thnaian, A., Ibrahim, A., and Sabry, M. (2013). Biochemical and histopathological study in rats intoxicated with carbontetrachloride and treated with camel milk : published online Feb 1 10.1186/2193-180, *2*, 57.
- Trivedi, R., Rebar, L., Berta E., Stong, L. (1978): New enzymatic method for serum uric acid at 500nm. Clin chem, 24(11): 1908- 1911.
- Valette, P., and De Baere, T. (2002). Anatomie biliaire et vasculaire du foie. Journal deradiologie *83*(2), 221-32.
- Vandana, T., Bhupinder, S.K., Sarita, A., Nita, K., and Usha, G. (2007). Hépatoprotective effect of tocopherol aginst izoniazide and rifampicin induced heepatotxicityin albino rabbits. Indian Journal of Experimental Biology *45*, 1031-1036.
- Varga, M. (2014). Textbook of rabbit medicine. 2nd ed. Edinburgh, Butterworth-Heinemann.
- Viard-Drouet, F., Provot, F., And Coudert, P. (1984). Changes in plasma parameters in rabbit does as a function of their physiological state and feed rationing. Ann. Vet. Res *15*(3), 417-424.
- Wang, Z.X., Qiao, X.Y., Hao, S.N., and Ji, R. (2017). Demonstration of hepatoprotective action of camel milk through improving antioxidant activity and regulating gene expression in mice. Journal of Camel Practice and Research *24*(2), 169-174.
- Washington, I.M., and Van Hoosier, G. (2012). Clinical Biochemistry and Hematology. In The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Elsevier. 57-116.
- Weingarten, M.A., and Sande, A.A. (2015). Acute liver failure in dogs and cats. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care *0* (0), 1-19.
- Weisbroth, S.H., Flatt, R.E., and Kraus, A.L. (2013). The biology of the laboratory rabbit. Burlington, Elsevier Science.
- Xu, R.H., Xiu, L., Zhang, Y.L., Du, R.P., and Wang, X. (2019). Beneficial Microbes *10*(12), 699-710.

- Yadav, A., and Kumar, M. (2015). Composition and medicinal properties of camel milk : A Review. Asian Journal of Dairy and Food Research 34(2), 83-91.
- Yagil, R. (1982). Camels And Camel Milk. Fao Animal Production And Health Paper. Fao, Rome *26*, 1-67.
- Yao, K.F., Otchoumou, K.A., Wognin, R., Konan, A., and Niamke, S. (2016). Growth Parameters, Protein Digestibility And Health Status Of Rabbit Oryctolagus Cuniculus Fed With Palatable Leafy Vegetables. European Scientific Journal September *12*(27).
- Younan, M. (2004). Milk Hygiene And Udder Health. In : Farah, Z., & Fischer, A. (Eds) : Milk And Meat From The Camel - Handbook On Products And Processing. 67-76.
- Young, B., Low, J., and Stevens, A., et al. (2008). Atlas d'histologie fonctionnelle de welter2ème édition Bruxelles de boeck. 437.
- Zein, S.I., Mohamed, A., Mohamed, M.S., and Mohamed, M. A. (2016). Molecular Mechanism Of Hepato-Renal Protection of Camel Milk Against Oxidative Stress-Perturbations. Journal of Camel Practice and Research *23* (1), 53-63.
- Zeinab, Y.A. (2012). Biochemical evaluation of some natural products against toxicity induced by antitubercular In Rats. N Y Sci J *5*, 69-80.
- Zhi-Hua, Z., et al. (2012). Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 306-309.

Références Neto graphiques

- Anonyme 1 : http://arch-ange.skyrock.com/340.html consulté le 6/7/2017.
- Anonyme 2. AFNOR V 04-210 – décembre 1990. Lait – Détermination de la teneur en matière grasse : méthode acido-butyrométrique.

.

PUBLICATION

Vol 28 No 2, p 1-6

PROTECTIVE EFFECTS OF URINE AND MILK OF CAMEL ON ISONIAZID AND RIFAMPICIN INDUCED HEPATOTOXICITY

S. Benhizia[1], N. Arzour[1], F. Bouldjenib[2] and A.B. Lakehal[3]

[1]Animal Pathology Research Laboratory PADESCA. Institute of Veterinary Sciences, El Khroub, Constantine, Algeria
[2]Department of Pathological Anatomy, [3]Department of Epidemiology,
University Hospital Centre IBN BADIS, Constantine, Algeria

JOURNAL OF CAMEL PRACTICE AND RESEARCH

ABSTRACT

The objective of the present study was to study the hepatoprotective effects of camel milk and urine in 5 groups of 8 rabbits. The first group I received saline solution (control), animals in group 2 received daily isoniazid (50 mg/Kg/d) with rifampicin (100 mg/Kg/d) orally during 10 days. Rabbits in groups 3, 4, 5 received isoniazid (50 mg/kg/day) and rifampicin (100 mg/kg/d) with added milk, urine, and a mixture of camel milk and urine, respectively. Camel milk was administered @ 33 ml, kg bodyweight, day with oral gavage using a nasopharyngeal catheter. Urine was administered @ 20 ml, kg bodyweight, day. Plasma levels of bilirubin, and activities of ALAT, ASAT and PAL were measured. Histological variations on liver tissues were also described. Group 2 rabbits showed a non-significant increase in plasma ALAT and ASAT levels and a very significant increase in bilirubin and PAL. Histological sections of liver of rabbits in group 2 showed signs of hepatocyte suffering, these biochemical changes were reversed in groups 3, 4 and 5 animals compared to the group 2. Histological variations were also reduced in animals receiving camel milk and urine mixture. Camel milk and urine thus have protective effects on hepatotoxicity induced by isoniazid-Rifampicin combination.

Key words: Camel, hepatotoxicity, isoniazid-rifampicin, milk, urine

Camel milk and urine together is used extensively in traditional medicine in Sudan and they claimed that this combination cures a lot of diseases including liver disease and jaundice (Elhag *et al*, 2017). Researchers validated these in rats with ethanol induced hepatotoxicity and beneficial hepatoprotective effects of using camel's milk and urine mixture were evidenced which could be attributed to antioxidant activity or to its chelate effects on toxicants (Elhag *et al*, 2017). Camel urine is known to contain many active components and essential inorganic elements which play a protective role as antibacterial, antifungal, antiviral and anticancer agents. Protective role of camel urine (CU) against CCl4-induced liver damage in rats was also studied. Camel urine showed to play a promising anti-oxidative and anti-free radical scavenging mechanism against hepatic dysfunction (Hany *et al*, 2019). The possible protective role of both camel milk and urine on CCL4 induced liver damage was studied and found that camel urine has protective effect against CCL4 induced liver damage more than camel milk (Khan *et al*, 2019). The thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats was ameliorated by administration of camel milk and urine in a ratio of 2:1 (Mohamed *et al*, 2016). Histopathological and biochemical changes were also reported by rats intoxicated by carbontetrachloride and were treated by camel milk (Althnaian *et al*, 2013).

Isoniazid (INH) and Rifampicin (RMP), first-line drugs used as anti-tuberculosis chemotherapy, are associated with hepatotoxicity (Mohamed *et al*, 2016). However, hepatotoxicity has been shown to be increased in case of association with RMP. The latter playing the role of enzyme inducer (Perriot *et al*, 2011; Sahli and Rim, 2015).

In order to protect from the toxic metabolites, the liver is equipped with an endogenous protection system; antioxidant enzymes and reduced glutathione. Strengthening this system requires the use of antioxidant molecules of vegetal or animal origin.

Biochemical and histological variations related to the use of milk and urine of camels as a protective treatment against anti-tuberculosis chemotherapy has

SEND REPRINT REQUEST TO BENHIZIA SELMA email: benhiziaselma@gmail.com

not been studied previously. Therefore, we studied the protective effects of camel milk and camel urine against hepatotoxicity induced by Isoniazid and Rifampicin in rabbits.

Materials and Methods

Camel milk and camel urine samples were taken from desert camels from Biskra in south-eastern of Algeria. Milk was collected in sterile vials and kept in coolers during transport to the laboratory. Milk and urine bottles were frozen at -20°C until use.

Animals

The experiment was carried out on 40 sexually mature female rabbits obtained from the Technical Institute of Livestock "ITELV" in the city of Constantine. Their live weight varied from 2 to 2.8 kg. They were individually kept stainless steel cages with a 12/12 hours light/darkness cycle. Food and drinking water were given *ad libitum*. Animals were brought 7 days before the starting of the experiment to stabilise their mood and behaviour.

Experimental protocol

The study was carried out in February 2019. Female rabbits were randomly divided into 5 groups of 8 animals on each:

- Group 01 animals represented negative controls; they did not receive treatment.
- Group 02 animals were treated with Isoniazid and Rifampicin in accordance with a standard protocol for the induction of hepatotoxicity (Bhupinder *et al,* 2007).
- Groups 03, 04 and 05 animals received treatment with Isoniazid-Rifampicin with added milk, urine and a milk/urine mixture, respectively.

Camel milk was administered at a rate of 33ml/kg bodyweight/ day by oral gavage using a nasoesophageal tube (Hassan and Emam, 2012).

Urine was administered at a rate of 20 ml/kg bodyweight/ day (Mohamed *et al,* 2014) (Table 1).

Three rabbits died during the experiment, i.e. a group 2 rabbit (on the 6th day of treatment), a group 04 rabbit (the first day of treatment following a confirmed enterotoxemia after autopsy) and a group 05 rabbit (following a false swallowing).

Blood sampling and tissue manipulation

After 10 days of treatment, 5 ml of blood were drawn directly at the time of sacrificing the animals by puncturing the jugular vein. Blood was collected in heparinised tubes, and it was quickly sent to the laboratory under cold conditions for analysis to carry out some hepatobiochemical parameters.

Table 1. Experimental protocol.

Groups	Treatment	Dose
Control 01	• No treatment (distilled water)	/
02	• Isoniazid • Rifampicin	• Isoniazid (50 mg/kg/d) • Rifampicin (100 mg/kg/d)
03	• Isoniazid • Rifampicin • Camel milk	• Isoniazid (50 mg/kg/d) • Rifampicin (100 mg/kg/d) • 33 ml milk/kg/d for 10 days
04	• Isoniazid • Rifampicin • Camel milk	• Isoniazid (50 mg/Kg/d) • Rifampicin (100 mg/kg/d) • 20 ml milk/kg/d for 10 days
05	• Isoniazid • Rifampicin • Camel milk/ urine mixture	• Isoniazid (50 mg/Kg/d) • Rifampicin (100 mg/kg/d) • 16,5 ml milk and 10 ml urine /kg/d for 10 days

Histopathological examination

Liver tissue was cut into small pieces and immersed in 10% neutral buffered formalin for 24h. The fixed tissues were treated, incorporated into paraffin, sectioned, dewaxed and rehydrated using standard techniques (Sahli and Rim, 2015). The histopathological examination was carried out at the department of pathological anatomy- University hospital centre IBN BADIS, Constantine –Algeria.

Biochemical analyses

Separated plasmas were subjected to the determination of concentrations of bilirubin, and the measurements of the activities of ALAT, ASAT and PAL.

The assay of bilirubin is carried out by a colorimetric technique with dimethylsulfoxide (DMSO) (Bergmeyer *et al,* 1978).

The evaluation of alkaline phosphatase activity is a kinetic p-Nitrophenylphosphate photometric test in accordance with the recommendations of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicines (IFCC) (Rosalki *et al,* 1993).

ALAT and ASAT activities are measured by enzymatic and kinetic tests with lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase, respectively (Maloy and Evelyn, 1937).

Statistical analyses

The 2019 version of the XL-STAT software was used for statistical analysis. Data were analysed by a one-way analysis ANOVA test. The Tukey HSD

JOURNAL RESEARCH

(Honestly Significant Difference) test was used to compare the means. The differences were considered significant when P-value <0,05. The results were expressed as mean ± standard deviation (mean ±SD).

Results

Biochemical analysis results

The combination of anti-tuberculosis drugs (Isoniazid and Rifampicin) caused a considerable degree of hepatotoxicity and tissue damage in the liver. There has been an increase in the activity of plasma enzymes ALAT, ASAT and PAL. We found in the present study that the group that received only suspensions of anti-tuberculosis drugs, i.e. group 02 showed a non-significant increase in the activity of ALAT and ASAT compared to the control group, a significant increase in the concentration of bilirubin (p <0,05) and a very significant increase in PAL activity (p <0,001). In the groups which were treated with milk and camel urine associated with anti-tuberculosis drugs (groups 03, 04, 05), we noticed a reversal in the levels of ALAT, ASAT, PAL and bilirubine compared to group 02 animals. However, the difference between the three groups that were treated with milk, urine, and milk/urine mixture (03, 04, 05, respectively) was not statistically significant (Table 2).

Table 2. Plasma concentrations (mean ± standard deviation) of ASAT, ALAT, PAL and Bilirubin in rabbits in the control group, intoxicated rabbits, and treated rabbits.

Group	ASAT	ALAT	PAL	Bilirubin
Control 01	69.4± 25.1	77.7± 32 .0	48.25± 17.8	0.96± 0.09
02	174± 115.9	161.01± 86.6	617± 286.4***	8.57± 7.55*
03	110.1± 62.6	97.2± 45.4	389.57± 92.0$^{***.\#}$	4.57± 3.91
04	61.1± 44.1$^{\#}$	71.14± 59.1$^{\#}$	392.71± 133.7$^{***.\#}$	5.57± 5.77
05	71.85± 55.2	68.28± 12.6$^{\#}$	461.14± 160.6***	4.42± 1.99

Values were expressed as mean±SD, (* , # = p<0.05 ; ** , ## = p<0.01 ; *** , ### = p<0,001) *when compared with normal control group (NC) , #when compared with treated group (03).

Histopathological analysis

Untreated rabbits liver (control group) showed a well-preserved histological architecture. Hepatocytes were arranged in radiating spans from the central lobular vein and surrounded by vascular sinusoids (Fig 1).

Liver of rabbits treated with anti-tuberculosis drugs (INH / RMP) during 10 days, showed signs of hepatocyte suffering, namely; clarification of the cytoplasm, increase in the size of the nuclei and hepatocytes, binucleation, presence of Councilman's bodies, macrovesicular and microvesicular steatosis, predominantly microvesicular, slight cholestasis and, a significant inflammatory infiltrate of lympho-plasmocytic nature with eosinophilic polynuclear cells (Fig 2, 3, 4, 5).

Liver histopathological sections of rabbits treated with anti-tuberculosis drugs (INH/RMP) associated with milk, urine and milk/urine mixture of camels showed recovery to a normal appearance. Hepatocytes with discrete microvesicular steatosis were seen for the group treated with camel urine (Fig 6, 7, 8).

Discussion

The results of our study demonstrate that the 10-days treatment with anti-tuberculosis drugs causes an alteration in the biochemical balance of intoxicated animals. These findings are in agreement with the findings of several studies (Ravinder *et al,* 2006; Bouchentouf *et al,* 2011; Shih *et al,* 2013; Vandana *et al,* 2007).

ALAT and ASAT transaminases are hepatocyte enzymes whose function is to catalyse transfer reactions of an amino group from an alpha-amino acid to an alpha-ketonic acid. ALAT is present mainly in the liver and incidentally in muscles and kidneys. ASAT has a much wider distribution, in the liver but also in the heart, skeletal muscles, kidneys and brain. PAL is found especially in liver and bones. It is increased in case of cholestatic liver damage (Sahli and Rim, 2015).

In present study, liver damage was manifested as high liver enzymes (ASAT, ALAT, PAL) and increased concentrations of bilirubin.

In animals intoxicated with anti-tuberculosis drugs, the liver parenchyma showed a less organised appearance, presence of cholestasis and signs of hepatocyte suffering. These disturbances could be due to an oxidative stress produced following the administration of Isoniazid and Rifampicin. Similar results were reported by Khan and Al Zohairy (2011) and Khan *et al* (2019) using carbon tetrachloride (CCL4) protocol in rats, by Mahrous *et al* (2016) using acetaminophen and by Elhag *et al* (2017) using ethanol in rats. Additionally, the treatment with milk, urine, and the mixture of milk and urine produced a noticeable improvement in the values of hepatic enzymes mainly of alkaline phosphatase (PAL), and also a decrease in the concentrations of bilirubin. A return to normal liver architecture was evidenced

FOR PERSONAL USE ONLY

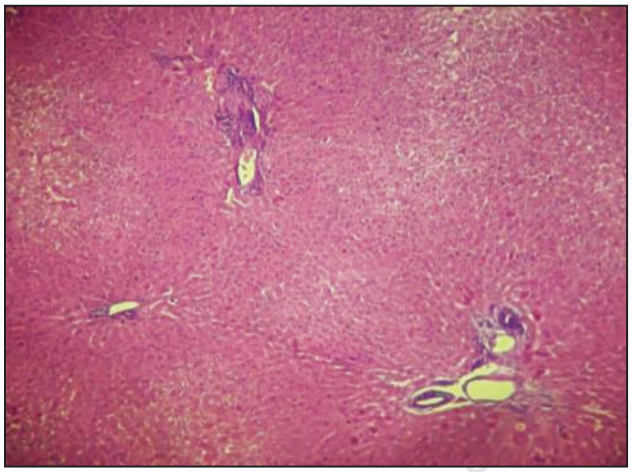


Fig 1. Normal architecture of the liver in rabbits of the control group (H&E, X40).

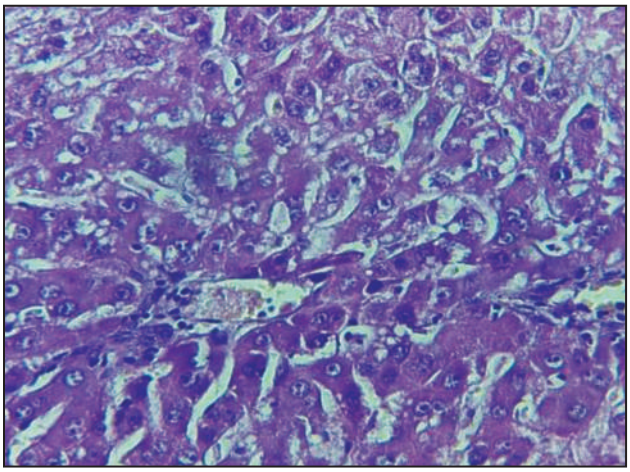


Fig 3. Clarification of the cytoplasm and microvesicular steatosis in group 01 rabbits (H&E, X400).

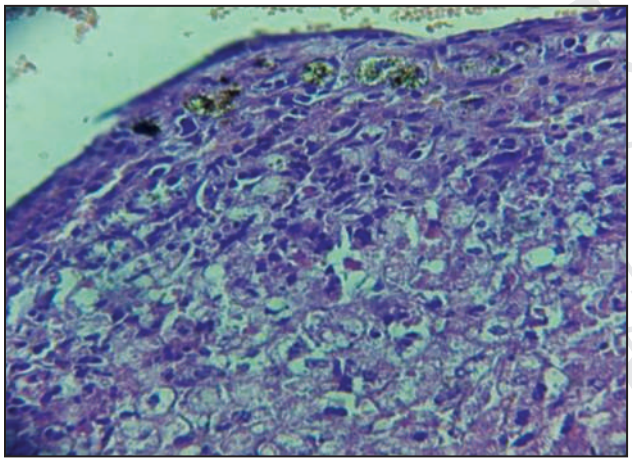


Fig 2. Cholestasis in group 01 rabbits (H&E, X100).

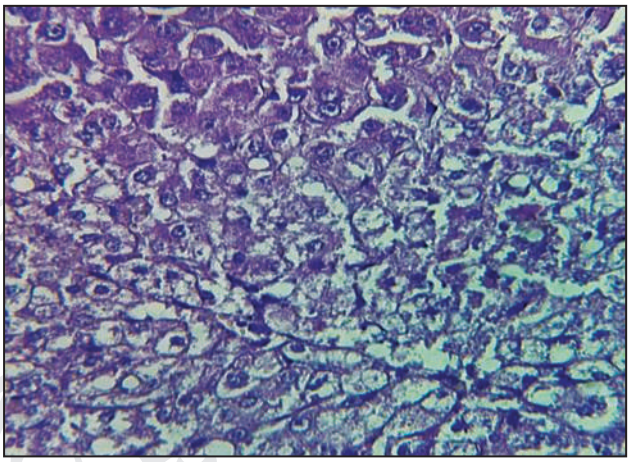


Fig 4. Presence of councilman bodies and binucleation in group 01 rabbits (H&E, X400).

that can be attributed to significant protection of the liver structure and preservation of liver function by camel milk and urine. Our results are in agreement with previous studies (Al-Hashem, 2009; Mohamed *et al,* 2016). Korish and Arafah (2013) investigated the effects of camel's milk on improving the hepatic biochemical and cellular alterations induced by a high-fat and cholesterol-rich diet. The same findings were obtained from studies with camel's urine against alcohol or CCL4 induced liver damage (Elhag *et al,* 2016; Hany *et al*, 2019).

Mahrous *et al* (2016) showed that oral administration of camel milk resulted in significant histopathological and biochemical antioxidant effect in mice, and this was indicated by a marked decrease in malondialdehyde levels. Also, ALT and AST levels were lower in the camel milk treated group.

High levels of antioxidant vitamins C, A and E and antioxidant minerals (zinc, copper and magnesium) in camel milk help reducing oxidative stress. Vitamin E and magnesium have been suggested to improve the biosynthesis of glutathione. Magnesium has been associated with the prevention of reactive oxygen species (Larrey, 2013; Wang *et al,* 2017; Mohamed, 2017; Mahrous *et al,* 2017).

Elhag *et al* (2017) showed a decrease in serum activities of liver enzymes AST, ALT and ALP especially in rats treated with camel milk and urine plus alcohol. The study suggested that camel milk intake may play an important role in ameliorating alcoholic liver injury.

Khorshid *et al* (2016) evaluated the hepato-protective effect of an extract of lyophilised camel urine in intoxicated rats.

The evaluation of the antioxidant activity of camel urine by the tests of ABTS, DPPH, FRAP and PPM showed a very important antioxidant activity (Hasni and Habita, 2015; Alebie *et al,* 2017).

JOURNAL OF CAMEL PRACTICE AND RESEARCH

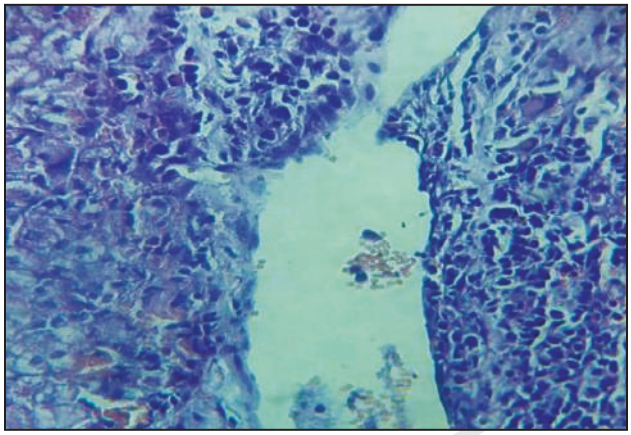


Fig 5. Portitis and lympho-plasmocyte infiltratin in group 01 rabbits (H&E, X100).

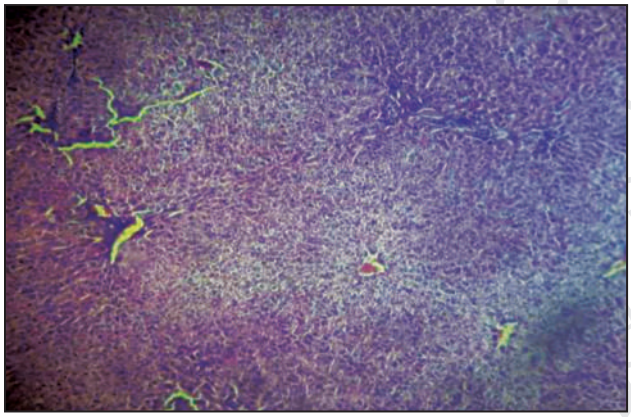


Fig 6. Portitis and lympho-plasmocyte infiltrate in group 01 rabbits (H&E, X100).

Camel urine is rich in potassium, phosphorus and magnesium, which are known for their therapeutic effects as well as by polyphenols and flavonoids. Our results were consistent with the findings of many authors (Al-Attas, 2008; Khorshid *et al*, 2016)

Conclusion

In present study, hepatotoxicity induced by the combination of anti-tuberculosis drugs was evidenced in histopathological and biochemical assessments.

Camel milk and urine administered with oral gavage were effective in reducing the severity of hepatotoxicity as reflected in histopathological lesions and biochemical changes in plasma levels of ALAT, ASAT, PAL and bilirubin.

Acknowledgements

We are deeply grateful to Dr Bouldjenib F (Department of Pathological Anatomy, University hospital centre IBN BADIS, Constantine), and to Dr Lakhal AB (Department of Epidemiology, University hospital centre IBN BADIS, Constantine), for their valuable contribution in this study.

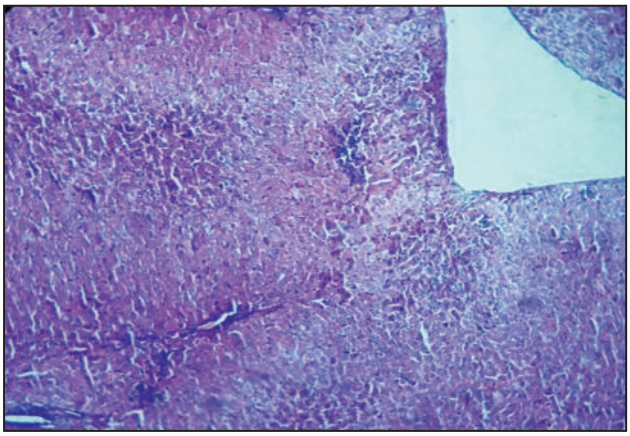


Fig 7. Discrete Microvesicular Steatosis in group 03 rabbits (H&E, X100).

References

Al-Attas AS (2008). Determination of Essential Elements in Milk and Urine of Camel and inNigella sativa Seeds. Arabian Journal of Chemistry 1(2):123-129.

Alebie G, Yohannes S and Worku A (2017). Therapeutic applications of camel's milk and urine against cancer: current development efforts and future perspectives. Journal of Cancer Science and Therapy 9(5):468-478.

Al-Hashem F (2009). Camel's milk protects against aluminum chloride-induced toxicity in the liver and kidney of white albino rats. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5(3):98-108.

Althnaian T, Albokhadaim I and El-Bahr SM (2013). Biochemical and histopathological study in rats intoxicated with carbontetrachloride and treated with camel milk. Springerplus 2(1):57. doi: 10.1186/2193-1801-2-57.

Bergmeyer HU, Scheibe P and Wahlefeld AW (1978). Optimisation of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. Clinical Chemistry 24:58-73.

Bhupinder SK, Sarita A, Nita K and Usha G (2007). Effect of cimetidine on hepatotoxicity induced by isoniazid-rifampicin combination in rabbits, New Delhi 110 002, Indian Society of Gastroenterology. pp 19-21.

Bouchentouf R, El jastimi S, Benjelloun A and Aitbenasser MA (2011). Hépatotoxicité des antituberculeux : épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir. Journal Africain d'Hépato-Gastroentérologie 5:168-173.

Elhag AE, El Badwi SMA and Mustafa AB (2016). Hepato-protective effect of urine of one-humped camel (*Camelus dromedarius*) against ethanol induced liver damage in rats. International Journal of Pharmaceutical Chemistry 5:1-8.

Elhag, Ahmed Eisa, Faye Bernard and El Badwi Samia MA (2017). Protective activity of camel's milk and urine mixture against ethanol-induced hepatotoxicity in rats. Advances in Bioscience and Biotechnology 08:378-387. 10.4236/abb.2017.810027.

CAMEL RESEARCH

Hany S Mahmoud, Wael M Elsaed and Sami A Gabr (2019). Camel urotherapy and hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced liver toxicity. International Journal of Pharmacology 15:696-705.

Hasni S and Habita S (2015). Activités biologiques des urines de dromadaire : Mémoire De Master Academique. Universite kasdi merbah ouargla. pp 20-37.

Hassan NS and Emam MA (2012). Protective effect of camel milk and ginkgo biloba extract against alloxan-induced diabetes in rats. Journal of Diabetes and Metabolism 3:10.

Khan AA and Alzohairy MA (2011). Hepatoprotective effects of camel milk against CCl4 induced hepatotoxicity in rats. Asian Journal of Biochemistry 6:171-180. https://doi.org/10.3923/ajb.2011.171.180.

Khan R, Mohamed H and Gumaan A (2019). Hepatoprotective effects of camel milk and urine on carbon tetrachloride (CCL4) induced liver damage. International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology. pp 408-412. 10.32628/IJSRSET196169.

Khorshid FA, Ghazy Al S, Elsourojy Y, Omer Noor S, Tawfik N and Mohessen Alshehri R (2016). Evaluation of anticancer, antiviral and hepatic protective activities of pmf derived from camel urine. International Journal of Drug Discovery and Development 1(01):10-22.

Korish A and Arafah M (2013). Camel milk ameliorates steatohepatitis, insulin resistance and lipid peroxidation in experimental non-alcoholic fatty liver disease. BMC Complementary and Alternative Medicine. 13:264-276. https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-264.

Larrey D (2013). Hépatotoxicité des médicaments anti-infectieux, La Lettre de l'Infectiologue. Tome XXVIII - n° 2 - mars-avril, 68-70.

Mahrous ABI, Farooq AW and Shaik R (2017). Hepatoprotective effect of olive oil and camel milk on acetaminophen-induced liver toxicity in mice. International Journal of Medical Science and Public Health 6(1):186-194.

Maloy HT and Evelyn KA (1937). The Determination of Bilirubin with the photoelectric colorimeter. Journal of Biological Chemistry 112(2):481-491.

Mohamed DA, El Bagir NM, Khougali SME and Elmnan BA (2014). Effects of camel urine on serum testosterone level in male rats of different testosterone levels. Research Journal of Animal Sciences 8(1):4-8.

Mohamed HE (2017). Protective effects of camel milk on inflammatory and antioxidant biomarkers in the offspring with experimental streptozotocin-induced diabetes. Journal of Camel Practice and Research 24(3): 247-249.

Mohamed M, Zeweil, Ali H, El-Far, Kadry M Sadek, Usama E Mahrous and Ahmed S (2016). Effect of desert camel's milk and/or urine on experimentally induced thioacetamide liver cirrhosis in rats. Alexandria Journal of Veterinary Sciences 49(2):170-177.

Perriot J, Chambonnet É and Eschalier A (2011). Les effets indésirables des antituberculeux; prise en charge. Revue des Maladies Respiratoires. pp 542-555.

Ravinder P, KimI, Arbab S, Kartar S and Satya VR (2006). Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats: World Journal of Gastroenterology 12(4): 636-639.

Rosalki SB, Foo AY, Burlina A, Prellwitz W, Stieber P, Neumeier D, Klein G, Poppe WA and Bodenmüller H (1993). Multicentre evaluation of Iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. Clinical Chemistry 39:648-652.

Sahli CH and Rim MR (2015). Effet préventif de la quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par la rifampicine et l'isoniazide : Mémoire de Master Université des Frères Mentouri Constantine 1:33-45.

Shih TY, Young TH, Lee HS, Hsieh CB and Hu OY (2013). Protective effects of kaempferol on isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity. American Association of Pharmaceutical Scientists Journal (AAPS J.). 15(3):753-62. doi: 10.1208/s12248-013-9490-6.

Vandana T, Bhupinder SK, Sarita A, Nita K and Usha G (2007). Hépatoprotective effect of tocopherol aginst izoniazide and rifampicin induced heepatotxicityin albino rabbits. Indian Journal of Experimental Biology 45:1031-1036.

Wang ZX, Qiao XY, Hao SN and R Ji (2017). Demonstration of hepatoprotective action of camel milk through improving antioxidant activity and regulating gene expression in mice. Journal of Camel Practice and Research 24(2):169-174.

JOURNAL OF CAMEL PRACTICE AND RESEARCH

ANNEXES

Annexe 1 : Matériel d'analyses bactériologiques et biochimiques.

Photo1. Bandelette de test pour analyse d'urine URS-10

Photo 2. Mindray chemistry analyzer BS- 300

Annexe 02 : Extrait du journal officiel de la république Algérienne N°39 datant du 2 Juillet 2017.

ANNEXE I

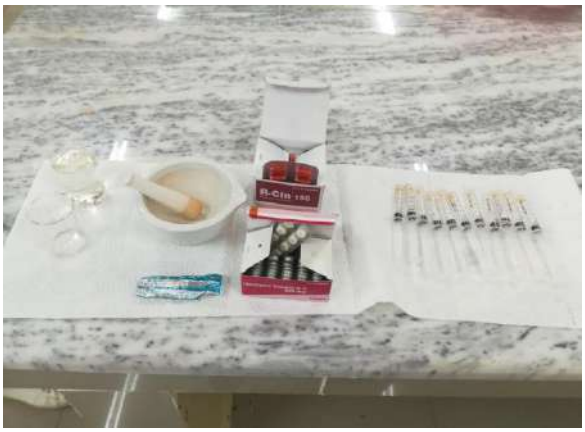
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

1- Laits et produits laitiers

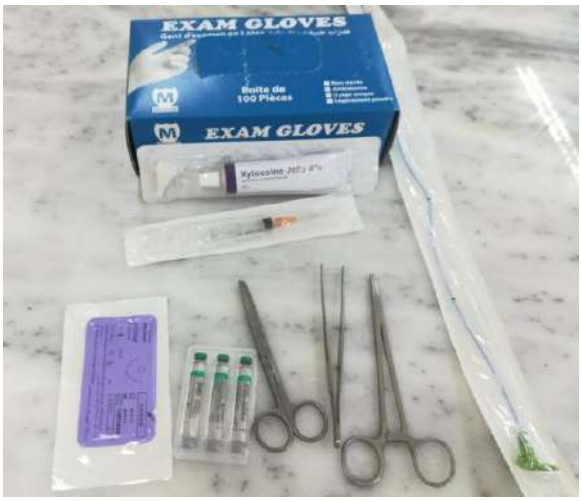
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10^5	3.10^6
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10^2	5.10^3
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10^4	10^5
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 ml	
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0.1ml	
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10^2
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages au lait cru	*Escherichia coli*	5	2	10^4	10^5
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	*Escherichia coli*	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	*Escherichia coli*	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Crème au lait cru	*Escherichia coli*	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	

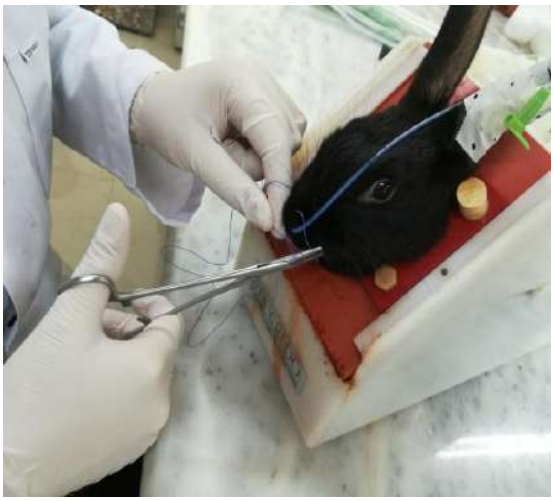
Annexe 3 : photos du matériel et méthodes

Photo 3. Batterie expérimentale (Photo personnelle)



Photos 4 et 5. Préparation des médicaments de l'induction de l'hépato toxicité (**Photos personnelles**)





Photos 6 et 7. Application de la sonde naso-œsophagienne (photos personnelles)

Photo 9. Moules

Photo 10. Bac de paraffine fondueµ

Photo 11. Plaque de refroidissement

Photo 12. Station d'inclusion

Annexe 4 : Etude des hépatites provoquées par l'utilisation thérapeutique des antituberculeux chez l'homme.

Questionnaire

Q1) Age :……...

Q2) Sexe :…….

Q3) provenance (Adresse) :…….

Q4) Profession :…… [1=fonctionnaire, 2=ménagère, 3=commerçant(e), 4=cultivateur, 5=élève/étudiant(e), 6=autre]

Q4a) Autre :……... A préciser

Q5) Motif de consultation :…….

Q6) Nom du médicament……

Q7) Posologie :……

Q8) Début de la prise :……

Q9) Fin de la prise : ……...

Q10) Délai d'apparition d'ictère:…… (1=jours/mois)

Q11) Mode d'installation :……(1=brutale, 2=progressive)

Q12) Intensité :…….(1=sub ictère, 2=ictère franc)

Q13) Signes d'accompagnement :…….(1=oui, 2=non)

Q14) Douleur abdominale :……..(1=oui, 2=non)

Q15) Arthralgie :……..(1=oui, 2=non)

Q16) Fièvre :…….(1=oui, 2=non)

Q17) Nausée :…….. …… …(1=oui, 2=non)

Q18) Vomissement :……. (1=oui, 2=non)

Q19) Diarrhée :…….. (1=oui, 2=non)

Q20) Constipation :…… (1=oui, 2=non)

Q21) Transaminase :…… …. ……

Q22) Bilirubine:…….. (Totale et/ou conjuguée)

Q23) Phosphatase alcaline :…….

Q24) Gamma GT : ……

Annexe 5 : Résultats du questionnaire au niveau du service de pneumologie du CHU de Constantine

Tableau 26. Résultats du questionnaire au niveau du service de pneumologie du CHU de Constantine

	Sexe	Age (Ans)	Non Du Médicament	Délais D'apparition Après Début Du Traitement	Type De Tuberculose	Signes Cliniques
1	F	30	RHZ	4 J	EXTRA P	Vomissement, Asthénie
2	F	33	RHZ	25 J	P	Ictère
3	F	28	RHZ	21J	P Et EXTRA P	Vomissement. Epigastralgie
4	F	55	RHZ	21J	P	Vomissement. Epigastralgie
5	F	38	RHZ	3J	P	Vomissement, Asthenie
6	F	30	RHZ	3J	EXTRA P	Vomissement, Asthenie
7	F	64	RHZ	10J	EXTRA P	Vomissement, Asthénie, Ictère
8	F	53	RHZ	5J	EXTRA P	Ictère
9	F	56	RHZ	30J	P	Vomissement, Asthénie, Ictère
10	F	50	RHZ	15J	EXTRA P	Vomissement, Asthénie, Ictère
11	F	23	RHZ	3 J	P	Vomissement, Asthénie, Ictère
12	F	49	RHZ	10J	P	Asthénie
13	F	68	RHZ	8J	EXTRA P	Vomissement, Asthénie, Ictère
14	F	55	RHZ	3J	EXTRA P	Constipation
15	F	30	RHZ	40J	P	Ictère ; Asthénie
16	H	40	RHZ	4J	EXTRA P	Ictère ; Asthénie
17	H	38	RHZ	20J	EXTRA P	Vomissement.
18	H	51	RHZ	30J	EXTRA P	Ictère ; Asthénie

Annexe 6 : Sites du prélèvement du lait et des urines: Outaya (Biskra) Droue (Biskra)

Photos 27et 28. Site du prélèvement du lait et des urines: Outaya (Biskra) Droue (Biskra)

Annexe 7 : Résultats des analyses biochimiques

Tableau 27. Résultats des analyses biochimiques du groupe 1

	Glucose	Urée	Créatinine	Cholestérol	Triglycérides	Protéines T	ASAT	ALAT	PAL	Bilirubine
1	1,49	0,45	11	0,75	1,45	71	77	28,7	43,3	0,75
2	1,25	0,43	10	0,53	1,44	65	74	75	60,5	1
3	1,31	0,53	9	0,97	0,8	61,81	57	116,8	77	1
4	0,43	0,48	10	1,06	0,54	57,74	62	109	35	1
5	1,34	0,42	9	0,57	0,47	55,41	45	86,6	31	1
6	1,23	0,47	9	1,03	0,41	61,2	120	44,2	31	1
7	1,61	0,51	11	0,54	0,38	54,04	51	83,6	60	1

Tableau 28. Résultats des analyses biochimiques du groupe 2

	Glucose	Urée	Créatinine	Cholestérol	Triglycérides	Protéines T	ASAT	ALAT	PAL	Bilirubine
1	1,45	1,11	18	1,08	1,29	62	384	221	791	10
2	1,49	0,73	15	1,76	1,59	65	77	59	645	2
3	1,23	1,38	17	1,49	1,37	58	43	55	682	2
4	1,26	2,25	14	1,45	0,94	50,17	263	284,5	399	5
5	1,39	1,16	12	0,87	0,97	42,7	164	147,6	670	23
6	1,36	0,67	12	0,83	0,64	56,5	146	96	868	5
7	1,58	0,81	10	0,89	1,71	54	141	97	24	13

Tableau 29. Résultats des analyses biochimiques du groupe 3

	Glucose	Urée	Créatinine	Cholestérol	Triglycérides	Protéines T	ASAT	ALAT	PAL	Bilirubine
1	1,31	0,54	10	1,27	0,64	58	60	59	295	1
2	1,25	1,3	18	3,33	4,63	56	58	84	456	3
3	1,35	0,46	9	0,96	1,36	72	33	52	442	3
4	1,16	0,76	13	1,04	1,72	59	166	78	353	3
5	1,21	0,75	15	1,91	2,76	67	201	127	395	5
6	1,28	0,76	14	2,23	3,21	61	112	183,4	522	4
7	1,33	0,76	8	1,4	2,15	54	141	97	264	13

Tableau 30. Résultats des analyses biochimiques du groupe 4

	Glucose	Urée	Créatinine	Cholestérol	Triglycérides	Protéines T	ASAT	ALAT	PAL	Bilirubine
1	1,31	0,8	10	0,34	0,86	58	29	39	305	4
2	1,28	0,87	15	1,4	1,39	60	62	47	339	5
3	1,16	0,75	11	1,73	1,64	56	43	52	385	1
4	1,27	1,05	11	1,42	6,05	56	54	204	251	9
5	1,32	0,99	15	1,01	3,71	51	157	63	406	2
6	1,27	0,83	13	1,42	3,73	65	34	43	394	17
7	1,42	0,84	13	0,79	1,02	64	84	50	669	1

Tableau 31. Résultats des analyses biochimiques du groupe 5

	Glucose	Urée	Créatinine	Cholestérol	Triglycérides	Protéines T	ASAT	ALAT	PAL	Bilirubine
1	2,12	1,54	14	2,91	1,73	67	51	86	335	7
2	1,44	0,92	11	2,9	2,26	62	75	61	250	3
3	1,37	0,56	9	1,07	0,69	64	35	49	554	6
4	1,31	0,63	11	2,27	2,83	69	34	60	343	1
5	1,4	1,11	16	1,99	2,59	61	192	72	553	5
6	1,46	0,57	11	1,59	0,64	65	48	80	712	5
7	1,38	1,05	11	1,99	1,64	63	68	69	481	4

Tableau 32. Résultats du poids des foies dans les différents groupes

PF	CN	RI	RIL	RIU	RILU
	105	57	63	67	67
	87	65	67	61	68
	101	57	73	72	83
	90	66	81	78	60
	94	58	72	77	61
	88	60	64	82	66
	91	61	66	60	67

Tableau 33. Résultats des poids des lapines du groupe 1

CN (Kg)	**PI**	**PF**
	2	**2,92**
	2,46	**2,51**
	2,21	**2,28**
	2,42	**2,58**
	2,36	**2,43**
	2,16	**2,29**
	2,78	**2,8**

Tableau 34. Résultats du poids des lapines du groupe 2

RI (Kg)	**PI**	**PF**
	2,14	**1,94**
	2,15	**1,85**
	2,33	**1,96**
	2,17	**1,7**
	2,19	**1,67**
	2,11	**2,006**
	2,32	**2,02**

Tableau 35. Résultats du poids des lapines du groupe 3

RIL (Kg)	PI	PF
	2,37	1,96
	2,2	2,003
	2,13	1,96
	2,23	2,29
	2,37	2,078
	2,4	2,18
	2,06	1,78

Tableau 36. Résultats du poids des lapines du groupe 4

RIU (Kg)	PI	PF
	2,16	1,657
	2,21	2,044
	2,39	2,45
	2,26	2,06
	2,26	2,25
	2	1,6
	2,38	2,18

Tableau 37. Résultats du poids des lapines du groupe 5

RILU (Kg)	PI	PF
	2,09	1,5
	2,33	1,92
	2,42	2,24
	2,29	2,16
	2,37	2,09
	2,05	2,06

Annexe 08 : Protocoles tests de cytotoxicité et activité anti oxydante des urines.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre de Recherche en Biotechnologie
Constantine
C.R. Bt
Centre de Recherche en Biotechnologie
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
مركز البحث في البيوتكنولوجيا
قسنطينة

Centre de Recherche en Biotechnologies

Division Santé

Laboratoire de pharmacologie et toxicologie

Activité biologie : DPPH radical libre

Principe de la réaction :

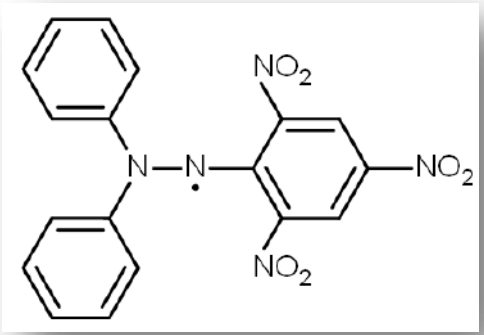
L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois 1958), le α-tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

Instrument utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits

Réactifs utilisés :

1- Ethanol
2- DPPH
3- α-tocopherol
4- BHA
5- BHT
6- Quercetine ou Catéchine
7- Extrait de plante



Mode opératoire :

Préparation de la DPPH :

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

Procédure:

160 µl (DPPH) + 40 µl (extrait) + lecture 517

Référence: Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.

Centre de Recherche en Biotechnologies

Division Santé

Laboratoire de pharmacologie et toxicologie

Activité biologie : ABTS scavengingactivity

Principe de la réaction :

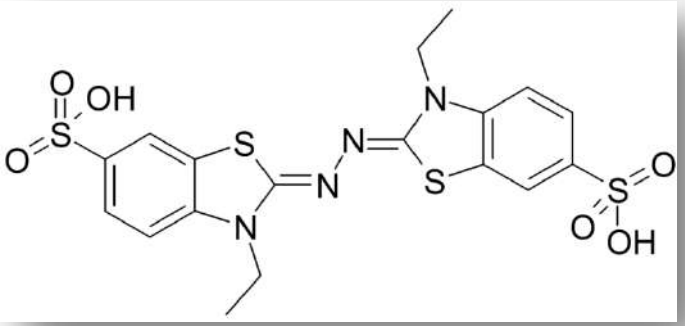
L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et al. (1999)

Instrument utilisé :

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque

Réactifs utilisés :

1- $K_2S_2O_8$
2- ABTS
3- Eau distillé
4- Ethanol
5- α-Tocophérol, BHA



Procédure :

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits ensolution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbancede la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

($ABTS^{+}$) → &19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H_2O⁇ + &3,3 mg (2.45 mM)($K_2S_2O_8$) +5 ml H_2O⁇ + attendre 16 heure àl'abri de la lumière

M(ABTS) = 548,68 g/mol

M($K_2S_2O_8$) = 270,32 g/mol

La mesure de l'absorbance de l'ABTS avec le spectrophotomètre comme suit :

1 ml (ABTS) + 50 µl H_2O ------- 1.41 nm

1 ml (ABTS) + 75 µl H_2O ------- 0.98 nm

1 ml (ABTS) + 85 µl H_2O ------- 0.87 nm

1 ml (ABTS) + 90 µl H_2O ------- 0.83 nm

1 ml (ABTS) + 100 µl H_2O ----- **0.73**nm

A = 0.70 - 0.75 nm de l'$ABTS^{+}$

Procédure:

160 µl ($ABTS^{+}$) + 40 µl (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm

L'activité $ABTS^{+}$a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$ABTS^{+}$ scavenging effect (%)= ($A_{Control}$ - A_{Sample} / $A_{Control}$)* 100

Référence:

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999.Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorizationassay. Free Radical Bio. Med. 26, 1231–1237.

Centre de Recherche en Biotechnologies

Division Santé

Laboratoire de pharmacologie et toxicologie

Activité biologie : Cytotoxic activity using Brine shrimp

Principe de la réaction :

L'activité Cytotoxic activity using Brine shrimp est déterminée par la méthode de Meyer, B.N (1982) avec une légère modification

Instrument utilisés :

Lecteur de microplaque

Réactifs utilisés :

8- larves d'artemia
9- Ethanol
10- l'eau de mer
11- DMSO

Procédure :

100 µl extrait + dix larves + ajuster jusqu'à 5 ml l'eau de mer à 70% + incubation pendant 24 heures sous éclairage

Remarque :

1- Pour chaque concentration d'extrait cinq tubes sont préparés.
2- Une série de tubes témoins est réalisée aux concentrations suivantes: (2%, 1%, 0,2%) avec
le DMSO et (1 %, 0,2%, 0,1%) avec l'éthanol.

Lecture des résultats

Après 24 heures, le nombre de larves survivantes est compté dans chaque tube et la

mortalité calculée à chaque concentration .

Mortalité: % morts = (% morts essai - % morts témoin) / (l00 - % morts témoin).

Remarque: La mortalité témoin ne doit pas excéder 15%. Les produits antifouling de

référence, nonyl- phénol et acétate de tributyIétain sont dissous dans l'éthanol, et le sulfate de cuivre dans l'eau. A partir des résultats, la Concentration Létale 5O% (CL_{50}) reflétant la toxicité des produits, est estimée :

CL_{50}	**Toxicité**
$CL_{50} \geq 100\mu g/ml$	-
$100\ \mu g/ml > CL_{50} \geq 50\mu g/ml$	+
$50\mu g/ml > CL_{50} \geq 10\mu g/ml$	++
$CL_{50} < 10\mu g/ml$	+++

Réference:

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med. 45, 31–34.

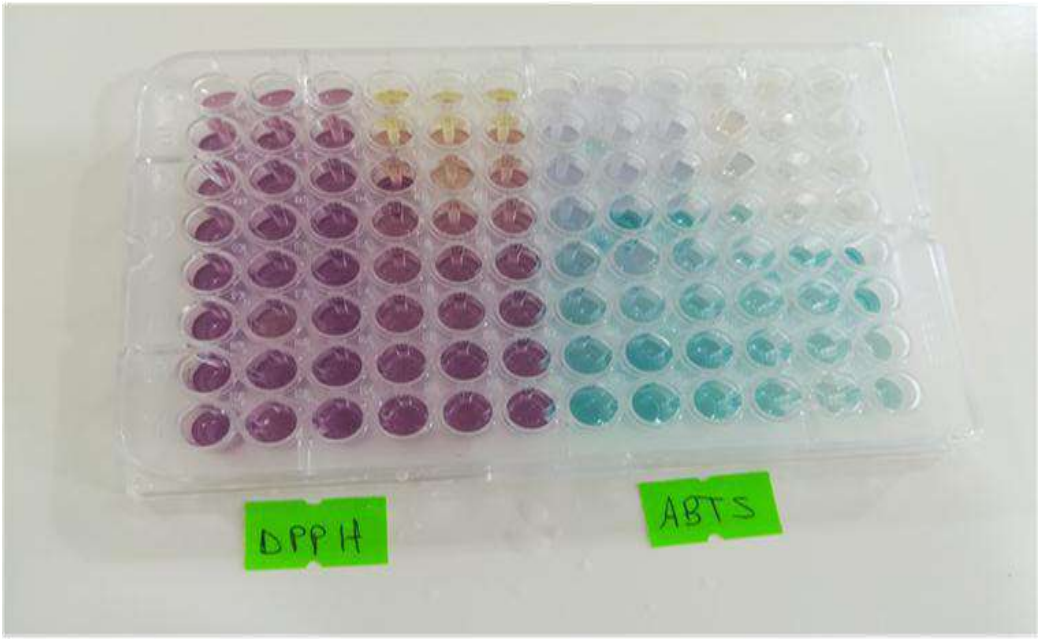


Photo 29. Microplaque résultat du test DPPH et ABTS