



République Algérienne Démocratique Et populaire
Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La
Recherche Scientifique



Université Abbès Laghrou-Khenchela
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master Académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION: Biochimie appliquée

THÈME

**Etude de l'effet préventif de la gelée royale contre
l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par deux
médicaments (Isoniazide / Rifampicine)**

Présenté par:

HOGGAS Ahlam

ARROUF Dalel

Soutenu le : 20/06/2018

Membres du jury :

Présidente :	Mme BOUAKKAZ Amel	M.C.B	Univ. Khenchela
Examineur :	Mr MAAMAR Hichem	M.C.B	Univ. Khenchela
Promotrice :	Mme DJEMIL Randa	M.C.B	Univ. Khenchela

Promotion : 2017/2018

Laboratoire où le travail a été réalisé : laboratoires pédagogiques de l'Université de Khenchela

Laboratoire de l'hôpital Ahmed Ben Balla KHenchela

Laboratoire d'anatomie pathologique EPH Ahmed Ben Bella El hamma

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant pour nous avoir accordé la santé, l'énergie et l'opiniâtreté nécessaire à la réalisation de ce modeste travail.

*Nous remercions très singulièrement notre encadreur Mme **Djemil Randa**. Pour avoir accepté diriger ce travail, pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de cette étude.*

Nous adressons également nos remerciements à :

*-Mme **BOUAKKAZ Amel** Maître de conférences à l'UAL-KHENCHELA pour l'honneur qu'elle nous fait de présider ce jury.*

*- Mr **MAAMAR Hichem**. Maître de conférences à l'UAL-KHENCHELA d'avoir accepté d'apporter son jugement à ce travail.*

Nous saisissons cette occasion pour exprimer nos profonds respects à l'ensemble du corps enseignant de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie plus particulièrement celui de la spécialité Biochimie.

*Merci à l'équipe du laboratoire de la biochimie et de l'anapath de Khenchela ; **Zouaoui Asma**, **Laouer habiba**, **Merdaci ALLaoua**, **Redjil belgacem**, **Nikja ELarbi**, **Deghmous Lotfi** qui nous ont beaucoup aidés lors de notre travail, et pour leur gentillesse.*

*Nos remerciements s'adressent également à M elle **Arrouf Soumia** pour son aide, son encouragement tout au long de cette étude.*

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, nos amis, nos camarades. Ainsi que tous ceux qui nous ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A la mémoire de mon très cher père dont je regrette son absence en ce jour si important pour moi. Il a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A ma très chère mère. En témoignage de l'amour, du respect et de la gratitude que je lui porte, je la remercierai assez pour son soutien, son dévouement, sa compréhension et pour l'attention dont elle fait toujours preuve.

*A mes très chers frères « **Bedr eddine, Saber, Tayeb et Aimad** ». Ainsi qu'à toute ma famille, chers oncles et tantes, cousins et cousines*

*A ma promotrice, Mme **Djemil Randa**, que je respecte beaucoup.*

*A mon binôme **Ahlem** et mes amis et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

Dalel



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A ma très chère mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

A mon frère « Abd rahim » et ma sœur « Soumia » ainsi qu'à tout ma famille, chers oncles et tantes, cousins et cousines.

A ma promotrice, Mme Djemil Randa, que je respecte beaucoup.

A mon binôme Dalel et mes amis et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Ahlem



Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet protecteur de la gelée royale vis-à-vis l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par des médicaments antituberculeux isoniazide/rifampicine (INH/RMP) chez des lapins mâles de la souche *Oryctolagus Cuniculus*.

Pour cela, 15 lapins mâles ont été répartis en 3 lots, le premier servant de témoin, a reçu de l'eau physiologique par voie orale (gavage), le deuxième a reçu une dose unique de isoniazide/rifampicine (75/150 mg) par voie orale pendant 15 jours et le troisième lot a reçu un traitement combiné de l'isoniazide/rifampicine (75/150 mg) et de la gelée royale (10mg/2ml) par voie orale pendant 15 jours successifs. Les résultats obtenus ont montré que l'isoniazide/rifampicine a un effet hépatotoxique et néphrotoxique, ceci est révélé par un déséquilibre métabolique des paramètres biochimiques étudiés au niveau du foie et du rein avec une augmentation hautement significative du taux de l'activité enzymatique de TGP, de TGO et les taux d'albumine, du cholestérol et de l'urée, une réduction très hautement significative de l'activité de la PAL, une augmentation significative pour la glycémie et de la protéine totale et une augmentation très hautement significative de taux de l'acide urique et triglycéride, sachant que les résultats de traitement avec la gelée royale ont révélé une amélioration dans tous des paramètres biochimiques précédents.

L'étude histologique du foie et du rein a démontré l'implication du INH/RMP dans l'hépatotoxicité, se traduisant par une dilatation de la veine porte et de la veine centrale, et une accumulation des cellules inflammatoires avec une nécrose hépatique. D'autre part, la néphrotoxicité induite par ces médicaments peut causer des altérations glomérulaires et tubulaires importantes, l'espace de Bowman est rétréci à cause de la dégénérescence cellulaire et les lésions des capillaires glomérulaires, hémorragie dans la lumière tubulaire et nécrose dans l'épithélium tubulaire. Cependant, la supplémentation en gelée royale aux lapins traités par INH/RMP, a atténué certains effets nocifs du INH/RMP. Ceci met en évidence les rôles protecteurs, antioxydants et anti-inflammatoires de la gelée royale vis-à-vis l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par INH/RMP.

Mots clés : médicament antituberculeux, isoniazide/rifampicine, gelée royale, lapins, hépatotoxicité, néphrotoxicité.

Abstract

The objective of this work is the study of the protective effect of royal jelly, on the hepatotoxicity and the nephrotoxicity induced by antituberculosis drugs isoniazid / rifampicin (INH / RMP) in male rabbits of the strain *Oryctolagus cuniculus*.

For it, 15 male rabbits were repaired into 3 lots, the first serving as a control, was given distilled water orally (gavage), the second received a single dose of isoniazid / rifampicin (75/150 mg) orally for 15 days and the third one received a combined treatment of isoniazid / rifampicin (75/150 mg) and royal jelly (10mg / 2ml) for 15 days in a row. The obtained results showed that isoniazid / rifampicin has an hepatotoxic and nephrotoxic effects, this is revealed by a metabolic imbalance of biochemical parameters studied in liver and kidney with highly significant increase in enzymatic activity of TGP, TGO and levels of albumin, cholesterol and urea, a very highly significant reduction in PAL activity, a significant increase in glycemia and total protein, and a very highly significant increase in acid uric and triglyceride levels, knowing that the outcome of treatment revealed an improvement in all previous biochemical parameters preceding.

The histological study of liver and kidney demonstrated that the involvement of INH / RMP in the hepatotoxicity by dilation of the portal vein and the central vein, and an accumulation of inflammatory cells and hepatic necrosis. On the other hand, by the nephrotoxicity induced by these drug can cause by important glomerular and tubular alterations, the Bowman space is narrowod due to cellular degeneration and lesions of the glomerular capillaries, hemorrhage into the tubular lumen and necrosis in the tubular epithelium. However, royal jelly supplementation to INH / RMP treated rabbits attenuated some of the adverse effects of INH / RMP. This highlights the protective, antioxidant and anti-inflammatory roles of royal jelly against hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by INH / RMP.

Key words: antituberculous drug, isoniazid / rifampicin, royal jelly, rabbits, hepatotoxicity, nephrotoxicity.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير التأثير الوقائي للغذاء الملكي ضد سمية دوائين مضادين للسمل على الكبد والكلى (الايزونيد/ريفامبيسين) عند ذكور الأرانب من نوع *Oryctolagus cuniculus* من اجل ذلك قسمنا 15 أرنباً على 03 أفواج ، حيث اعتبر الأول كشاهد قدم له الماء الفسيولوجي عن طريق الجرع، الفوج الثاني عومل بـ2 ملل من الايزونيد/ريفامبيسين (150 /75 ملغ) عن طريق الجرع ولمدة 15 يوم، والفوج الثالث عومل بالمزيج الايزونيد/ريفامبيسين بتركيز (150 /75 ملغ) و الغذاء الملكي (10ملغ/ 2ملل) لمدة 15 يوم متتالية.

النتائج المتحصل عليها بينت أن الايزونيد/ ريفامبيسين يؤثران على الكبد والكلى. ولقد تبين ذلك من خلال عدم توازن المؤشرات الأيضية البيوكيميائية للفوج الأول، حيث لوحظ زيادة معنوية في النشاط الإنزيمي TGO، TGP وكذلك ارتفاع تركيز الألبومين، الكولسترول، اليوريا الغلوكوز والبروتين في الدم. أما تركيز حمض اليوريا وثلاثي الغليسريدات فلقد ارتفع في الدم بصفة معنوية عالية جدا مقارنة بالفوج الشاهد، و بالمقابل فلقد انخفض وبصفة معنوية عالية جدا تركيز إنزيم الفسفاتاز ألكلين.

كما أوضحت النتائج تحسن في تركيز أغلب المؤشرات المدروسة عند الفوج الثاني والمعامل بالغذاء الملكي للنحل و الايزونيد/ ريفامبيسين

أوضحت الدراسة النسيجية التأثير السام للايزونيد/ ريفامبيسين على نسيج الكلى والكبد للحيوانات المعاملة حيث ظهر اتساع في الوريد البابي و المركزي ، نخر للنسيج مع ظهور الدم في الجيوب مما دل على التهاب نسيج الكبد أما الكلى فلقد تخرب نسيج الأنابيب مع تلف نسيج كبسولة بومان و حدوث نزيف في بعض مناطق النسيج ، غير أن إضافة الغذاء الملكي للفوج الثاني أظهر بنية مماثلة للفوج الشاهد في نسيج العضويين مع تأثيرات سامة بكمية أقل من الفوج المعامل ب الايزونيد/ريفامبيسين مما بين الدور الوقائي للغذاء الملكي وذلك بسبب احتوائه على مواد مضادة للأكسدة وللالتهابات والتي تكسبه خاصية القدرة على حماية نسيج الكبد والكلى من التلف.

الكلمات المفتاحية: دواء مضاد للسمل، الايزونيد/ريفامبيسين ، الغذاء الملكي، أرانب، السمية الكبدية، السمية الكلوية.

Liste des abréviations

10HAD : Acide 10-hydroxy-2-décanoïque.

2D : dihydroxyvitamine D

AAR : acido-alcool-résistance.

ADN : Acide désoxyribonucléique .

ALAT : Alanine Amino Transférase .

ARN : acide ribonucléique.

ASAT : Aspartate Amino Transférase.

BAAR : bacilles acido-alcool-résistants.

BCG : bacille de Calmette-Guérin.

BK : bacille de Koch

CMI : concentration minimale inhibitrice

Cp : comprimé.

DfrA : dihydrofolate réductase

dL: Dciliter.

DRESSsyndrome : Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms

EDTA: Éthylène Diamine Tétra-Acétique.

EMA: l'Agence Européenne des Médicaments

EMB : éthambutol

FAS : fatty acid synthase

FB : fumonisine .

FDA : Food & Drug Administration

g: Gramme.

gènes NRAMP1 : Natural Resistance-Associated Macrophage Protein

GR : Gelée royale.

HDL : High Density Lipoprotein.

I.M : Injection intramusculaire.

ICT : test immuno-chromatographique

IFN β : interferon.

IgG : immunoglobuline G

IgM : immunoglobuline M

INH : Isoniazide

InhA : enoyl-ACP réductase de M.tuberculosis

IRA : néphrite interstitielle aiguë
IV : injection intraveineuse.
katG :catalase-peroxydase
kDa: kilo Dalton.
Kg: Kilogramme.
L: Liter.
LCR : liquide céphalorachidien
LDL : Low density lipoprotein.
LPS : lipopolisaccharides .
m: Mètre.
MDA : malondialdéhyde.
MDR : multi drug-resistance
mg: Milligramme.
min: Minute.
ml: Milliliter.
mm: Millimètre.
mmol: Millimole.
MRJP : Major Royal Jelly Protéines
Mtb : Mycobacterium tuberculosis
NaCl: Chlorure de sodium.
NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide H
NAT : N-acétyltransférases
NDP : ribonucléotide diphosphate
NS: Non Significant.
OMS :Organisation Mondiale de la Santé
PAL : Phosphatase alcaline.
pH : Potentiel d'Hydrique.
POA : acide pyrazinoïque
PZA : pyrazinamide
RMP :Rifampicine
SOD,GPX : statut anti oxydatif.
TB : Tuberculose.
TG: Triglyceride.
TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique.

TGP : Transaminase glutamique pyruvique.

TLR8 :TollLike Receptor 8.

Tm: Témoins.

TNF α :Tumor Necrosis Factor.

VDR : Vitamin D Receptor.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

XDR : extensively drug-resistance.

μ l: Microliter.

μ m: Micromètre.

μ mol: Micromole.

Liste des figures

Figure 1 : Classification des mycobactéries.....	5
Figure 2 : A.Colonies de <i>Mycobacterius tuberculosis</i> , B. Visualisation de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> au microscope électronique.....	6
Figure 3 : Schéma de l'enveloppe mycobactérienne.....	7
Figure 4 : le cycle d'infection de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	8
Figure 5 : Aspect de tuberculose pulmonaire avec nodules.....	9
Figure 6 : Physiopathologie de l'infection de la tuberculose humaine.....	10
Figure 7 : structure de L'éthambutol.....	15
Figure 8 : structure de Pyrazinamide	15
Figure 9 : structure de l'isoniazide.....	16
Figure 10 : structure de Rifampicine.....	17
Figure 11 : antituberculeux de seconde ligne.....	18
Figure 12 : structure de Bédaquiline.....	19
Figure 13 : structure de délamanid.....	19
Figure 14 : Mécanisme d'action de l'INH.....	23
Figure 15 : Réaction de N-acétylation des xénobiotiques par les NAT.....	25
Figure 16 : Les différentes voies de métabolisation de l'isoniazide chez l'homme.....	26
Figure 17 : Effet de la rifampicine sur l'ARN Polymérase bactérienne.....	30
Figure 18 : Une cellule royale contenant une larve de future reine et la gelée royal ...	36
Figure 19 : constitution et production de la gelée.....	37
Figure 20 :composition moyenne de la gelée royale.....	39
Figure 21 : teneurs moyennes(mg/g) en acides aminée de la gelée royale	42
Figure 22 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	50
Figure 23 : la concentration de TGO chez le groupe (T) et les lots traités (L1), (L2).	71
Figure 24 : la concentration de TGP chez le groupe (T) et les lots traités (L1), (L2)	72
Figure 25 : le taux de PAL chez le groupe (T) et les lots traités (L1), (L2)	73
Figure 26 : le taux de l'ALb chez le groupe (T) et les lots traités (L1), (L2)	74
Figure 27 : le taux de Protéine T chez le groupe (T) et les lots traités (L1), (L2)	75
Figure 28 : Concentration d'urée sanguine des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP (L1) et les lapins traités avec INH+RMP+GR (L2).....	76
Figure 29 : Concentration de l'acide urique des lapins témoins (T) et traités avec	77

INH\RMP (L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2).....	
Figure 30 : Concentration de créatinine sanguine des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP (L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2).....	78
Figure 31 : Glycémie des lapins traités (L1),(L2) et des témoins (T).....	79
Figure 32 : le taux de cholestérol chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2).....	80
Figure 33: le taux de triglycéride chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2).....	81
Figur 34 : les observations microscopiues des coupes histologiques du foie des groupes traités et groupe témoin.....	82
Figure 35 : les observations microscopiues des coupes histologiques du rein des groupes traités et groupe témoin.....	84

Liste des photos

Photos N°01 : Appareille de l'automate du laboratoire de l'hôpital Ahmad Ben Balla Khenchela (photo personnel).....	51
Photos N°02 : coupe l'échantillons et placé dans les cassettes (photo personnel).....	65
Photos N°03 : Déshydratation des échantillons par un appareille automate déshydratation (photo personnel).....	66
Photos N°04 : Inclusion et réalisation des blocs par appareille compact d'enrobage (photo personnel).....	67
Photos N°05 : couper les blocs de paraffine par microtome à rotation (photo personnel).....	67
Photos N°06 : microscope optique équipé d'un appareil photographique (photo personnel).....	68

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé des différents antituberculeux de 1 ^{ère} et de 2 ^{ème} et 3 ^{ème} ligne.....	20
Tableau 2 : Isoniazid.....	27
Tableau 3 : rifampicine.....	33
Tableau 4: Composition moyenne de la gelée royale.....	40
Tableau 5 : Teneurs moyennes en vitamines de la gelée royale	41
Tableau 6: variation du concentration de TGO chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP (L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2).....	71
Tableau 7: variation du concentration de TGP chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP (L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2).....	72
Tableaux 8 : variation de la concentration sérique de PAL chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.....	73
Tableau 9: variation de la concentration de l'ALb chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.....	74
Tableau 10: variation de la concentration de protéine T chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.....	75
Tableau 11: variation du concentration d'urée sanguine chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP (L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)...	76
Tableau 12: variation du concentration de l'acide urique chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP (L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2).....	77
Tableau 13: variation du concentration de la créatinine chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP (L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2).....	78
Tableau 14: variation du concentration de glucose chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP (L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2).....	79
Tableau 15: variation de la concentration de cholestérol chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.....	79
Tableau 16 : variation de la concentration sérique de triglycéride chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale...	80

TABLE DES MATIERS

Résumé.....	I
Abstract.....	II
المخلص.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	VII
Liste des photos.....	IX
Liste des tableaux.....	X
Introduction.....	1
CHAPITRE I: LES ANTITUBERCULEUX (ISONIAZIDE / RIFAMPICINE)	
I.1. Historique	3
I.2. Définition	3
I.3. Facteurs favorisant l'incidence de la tuberculose.....	4
I.3.1. Facteurs de l'incidence de la tuberculose	4
I.3.2. Facteurs physiologiques et génétiques.....	4
I.3.3. Facteurs liés à une immunosuppression	5
I.4. Agent causal (Mycobacterium tuberculosis).....	5
I.4.1. Classification.....	5
I.4.2. Caractères bactériologiques.....	5
I.5. Physiopathologie de la tuberculose.....	7
I.5.1. Physiopathologie de l'infection de la tuberculose	7
I.5.1.1. La primo-infection.....	7
I.5.1.2. La tuberculose pulmonaire	8
I.5.1.3. tuberculoses extra-pulmonaires	9
I.5.2. Transmission de la maladie.....	10
I.6. Symptomologie de la tuberculose.....	11
I.7. Diagnostic de la tuberculose.....	11
I.7.1. Radiographie pulmonaire	11
I.7.2. Examens bactériologiques.....	12
I.7.3. Autres examens.....	12
I.8. Traitement	13
I.8.1. Traitement préventif	13
I.8.1.1 Prévention primaire (vaccination).....	13

I.8.1.2 Prévention secondaire.....	14
I.8.2. Traitement curatif.....	14
I.8.2.1. Les antituberculeux de première ligne.....	14
I.8.2.1.1.Ethambutol (EMB).....	15
I.8.2.1.2.Pyrazinamide (PZA).....	15
I.8.2.1.3.Isoniazide.....	16
I.8.2.1.4.Rifampicine(RIF).....	17
I.8.2.2. Les antituberculeux de seconde ligne.....	17
I.8.2.3. Les antituberculeux de 3 ^{ème} ligne	18
I.8.2.3.1.Bédaquiline.....	19
I.8.2.3.2. Le délamanid	19
I.8.2.4. Mode d'action des médicaments antituberculeux essentiels.....	21
I.9. Pharmacologie de l'isoniazide.....	21
I.9.1.Posologie et administration.....	21
I.9.2.Spectre d'activité	21
I.9.3. Mécanisme d'action.....	21
I.9.4. Pharmacocinétique.....	24
I.9.5. Effets toxiques.....	27
I.10. Pharmacologie Rifampicine (RMP).....	29
I.10.1. Posologie et administration	29
I.10.2.Spectre d'activité	29
I.10.3. Mécanisme d'action	29
I.10.4. Pharmacocinétique	31
I.10.5.Effets toxiques.....	33

CHAPITRE II : LA GELEE ROYALE

II.1.Historique.....	36
II.2.Définition	36
II.3.Origine de Gellé Royale.....	37
II.4.Composition de la gelée royale.....	38
II.4.1.L'eau	40
II.4.2. Les glucides	40
II.4.3. Les lipides.....	41
II.4.4. Les minéraux.....	41

II.4.5. Les vitamines.....	41
II.4.6. Les Enzymes	42
II.4.7. Les protéines, peptides, acides-aminés.....	42
II.4.8. Pigments	42
II.4.9. Autres	42
II.5. Technique de récolte.....	43
II.6. Méthode de fabrication par l'abeille	43
II.7. Propriétés.....	44
II.7.1. Action immunostimulante.....	44
II.7.2. Action revitalisante sur le métabolisme.....	45
II.7.3. Action antibactérienne et antivirale.....	45
II.7.4. Action régénératrice.....	46
II.7.5. Propriétés anti-oxydantes.....	46
II.7.6. Propriétés anti-inflammatoires.....	47
II.7.7. Action anticancéreuse.....	48
II.8. Effets indésirables	48

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

III.1 Matériel biologique et conditions d'élevage.....	49
III.2. Le traitement des lapins.....	49
III.3. Sacrifice.....	49
III.3.1. Prélèvement du sang	49
III.3.2. Dissection des lapins et prélèvement des organes.....	49
III.4. Les paramètres biochimique	51
III.4.1. dosage de Transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO).....	51
III.4.2. dosage de Transaminase glutamo-pyruvique (TGP).....	53
III.4.3. dosage de phosphatase alcaline (PAL).....	54
III.4.4. Dosage de l'Albumine(ALB).....	55
III.4.5. Dosage de Protéines totales.....	56
III.4.6. Dosage de l'urée	57
III.4.7. Dosage de l'acide urique	58
III.4.8. Dosage de la créatinine	59
III.4.9. Dosage de glucose	60
III.4.10. Dosage de cholestérol	62
III.4.11. Dosage des triglycérides	63

III.5. Technique histologiques	65
III.5.1. Fixation et préparation des cassettes.....	65
III.5.2. Déshydratation des échantillons.....	65
III.5.3. Inclusion et réalisation des blocs.....	66
III.5.4. Confection des coupes.....	67
III.5.5. Coloration.....	67
III.5.6. Montage.....	68
III.5.7. Observation.....	68
III.6. Evaluation statistique	68

CHAPITRE IV: RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Les paramètres biochimiques.....	71
IV.1.1. variation de taux du Transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO).....	71
IV.1.2. variation de taux du Transaminase glutamo-pyruvique (TGP).....	72
IV.1.3. variation de taux du phosphatase alcaline (PAL).....	73
IV.1.4. variation de taux de l'Albumine (ALb).....	73
IV.1.5. variation de taux du Protéine Totale.....	74
IV.1.6. Variation de taux d'urée sanguine.....	75
IV.1.7. variation de taux d'acide urique.....	76
IV.1.8. Variation de taux du Créatinine.....	77
IV.1.9. variation de taux du Glucose.....	78
IV.1.10. variation de taux du cholestérol.....	79
IV.1.11. variation de taux du triglycéride.....	80
IV.2. Etude histologique.....	81
IV.2.1. Coupes histologiques du foie.....	81
IV.2.2. Coupe histologique du rein	83
Discussion.....	85
Conclusion et perspectives.....	89

Introduction

La tuberculose représente un problème de santé publique à travers le monde. Elle continue sous toutes ses formes à sévir dans les pays en voie de développement et connaît une fréquence croissante dans les pays occidentaux depuis l'émergence du sida. C'est une maladie infectieuse devenue actuellement curable sous réserve d'un traitement bien conduit et prolongé [1]. Ce traitement doit être actif en même temps sur les bacilles extra et intracellulaires afin de prévenir la sélection de mutants résistants. Une association de plusieurs antituberculeux est donc nécessaire pour un traitement efficace que recommandé à ce jour par l'OMS est une association de quatre antibiotiques : Rifampicine (RIF), Isoniazide (INH), Pyrazinamide (PZA) et Ethambutol (EMB) [2]. représentent les médicaments les plus importants dans la pharmacopée des malades tuberculeux. Néanmoins, ce traitement expose à la survenue d'effets secondaires à type d'hépatite, l'insuffisance rénale, Les neuropathies périphériques, des réactions cutanée et hématologique, l'intolérance gastrointestinale, ce qui peut conduire à l'arrêt de la thérapie ou à une morbidité et une mortalité plus graves [3]. A partir de ce antituberculeux il ya deux médicament (INH et RMP) les plus intolérances et leur association accroïde la toxicité [4].

l'INH métabolisé au niveau hépatique en espèce réactive détoxiquée par le glutathion, Lorsque la quantité ou la puissance du toxique produit dépasse les capacités métaboliques du foie, il attaque et détruit les cellules hépatiques que induit l'hépatotoxicité [5].

Au niveau rénale, accumulation de RMP provoque l'interaction entre les anticorps rifampicine-dépendant et l'antigène de l'épithélium tubulaire rénal va se traduire par des dommages cellulaires liées au complément que induit la néphrotoxicité [6].

Afin de se protéger contre cette production accrue des métabolites toxiques, le foie est doté d'un système de protection endogène (enzymes antioxydantes et le glutathion réduit). Le renforcement de ce système nécessite l'utilisation de molécules anti oxydantes Natural

Comme les produits de la ruche est une vraie richesse à revaloriser sur le plan nutritionnel, et surtout thérapeutique. Ses produits sont prescrits aux affections digestives, respiratoires, cardiovasculaires, rhumatismales, dermatologiques, neurologiques parmi tant d'autres. Elle est considérée comme une pharmacie complète de par les vertus thérapeutiques la gelée royale, et le miel riche en glucides, en acides organiques et lactones, en substances minérales et oligo-éléments, vitamines, enzymes, facteurs antibiotiques.

De plus en plus pratiquée dans le monde, l'apithérapie ou l'usage médical de ces produits de la ruche fait l'objet de plusieurs études scientifiques mais qui restent toutefois encore trop peu nombreuses ou incomplètes [7].

Récemment, les utilisations de la gelée royale se sont développées grâce à de nombreuses études scientifiques qui leur ont redonnés, tout comme aux autres produits de la ruche, la juste place que les anciens leur avaient attribuée. De plus, les thérapeutiques dites naturelles suscitent un regain d'intérêt pour ces produits ; c'est ainsi que l'apithérapie, définie comme étant « la médecine par les abeilles », a connu un essor considérable ces dernières années grâce à la variabilité des compositions qui porte des divers propriétés antioxydants et anti-inflammatoires jouent un rôle protecteur contre les toxicités.

Cette étude a pour objectif principal : Evaluation de l'effet protecteur de la gelée royale sur l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induit par l'isoniazide et Rifampicine chez les lapins male,

Et afin d'évaluer cette toxicité on a analysé un bilan biochimique et étude histologique liée au foie et du rein.

Ce manuscrit est composé de 2 parties dont la première est une étude bibliographique qui est divisée en deux chapitres :

-Le premier chapitre est consacré à une revue de la tuberculose, son traitement par les antituberculeux, l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par l'isoniazide et Rifampicine.

- Le second chapitre est consacré aux données bibliographiques sur la gelée royale et ses propriétés thérapeutiques, antioxydantes et anti-inflammatoires.

-La deuxième partie décrit les matériels et les méthodes utilisées lors de l'expérimentation, expose les résultats obtenus et la discussion. Et finalement, une conclusion et perspectives.

*CHAPITRE I : Les antituberculeux
(Isoniazide / Rifampicine)*

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.1. Historique

La tuberculose (TB) humaine est une maladie qui a été reconnue depuis la haute antiquité [8]. Selon une étude de l'institut Pasteur, basée sur des techniques récentes de génétique moléculaire et le séquençage du génome, ont permis d'estimer que la bactérie était déjà présente en Afrique de l'est il y a environ 3 millions d'années [9]. La souche initiale serait apparue en Afrique de l'est, considérée comme le berceau de l'humanité. La maladie serait donc aussi vieille que l'humanité et son expansion à travers le monde serait intimement liée à celle de l'homme [10]. Elle a été décrite par Hippocrate sous le nom de phthisis et ses lésions ont été diagnostiquées sur des momies égyptiennes [11,12]. En 1865, le médecin Jean-Antoine Villemin prouve par la méthode expérimentale la transmission de la tuberculose et affirme en conséquence que cette maladie, de nature jusqu'alors inconnue, est due à un microbe invisible avec les moyens techniques de l'époque. On peut donc s'en protéger par des mesures visant à éviter la contagion, à la suite des travaux de Pasteur, c'est un médecin allemand, Robert Koch, qui découvre le bacille, en 1882. [10].

Calmette et Guérin préparent le (bacille de Calmette-Guérin) BCG, la première vaccination ayant lieu en 1921. Cette vaccination a pour but principal de protéger les jeunes enfants des formes graves de la tuberculose précoce. Waksman découvre en 1944 la streptomycine, premier antibiotique actif sur *M.tuberculosis*. En 1952 arrive l'isoniazide et, en 1967, la rifampicine. La tuberculose polypharmaco-résistante survient quand les bactéries tuberculeuses sont résistantes au moins à l'isoniazide et la rifampicine, les deux médicaments antituberculeux de première ligne les plus puissants [13].

I.2. Définition

La tuberculose est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à l'Homme et à de nombreuses espèces animales. Elle est causée par diverses espèces bactériennes appartenant au genre *Mycobacterium* : toutes les espèces appartenant au groupe *tuberculosis* (les *Mycobacterium avium* ssp, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti* et *Mycobacterium canettii*) [14]. Elle atteint principalement les poumons et peut atteindre tous les organes, mais seule la forme pulmonaire peut être contagieuse. La source d'infection est constituée essentiellement par les patients atteints de tuberculose pulmonaire. Se propage par des gouttelettes exhalées qui diffusent dans l'air d'une personne malade à une personne saine. Un seul bacille inhalé suffit à établir

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.3. Facteurs favorisant l'incidence de la tuberculeuse

Les facteurs favorisant l'infection par Mtb (*Mycobacterium tuberculosis*) sont multiples. Plusieurs ont été identifiés et peuvent être classés en trois catégories : les facteurs sociaux et comportementaux, les facteurs physiologiques et génétiques et les facteurs liés à une immunosuppression [18].

I.3.1. Facteurs de l'incidence de la tuberculose

La pauvreté et la surpopulation font partie des principaux facteurs de risque. En effet, la malnutrition et des conditions de vie insalubres qui leur sont liées sont propices au développement de la maladie [19]. La qualité et la quantité du régime alimentaire et le niveau d'hygiène : il ya des études réalisées chez le lapin montrent que les animaux vivant dans les cages les plus sales développent plus fréquemment la tuberculose. Chez l'homme, de nombreuses études montrent le lien entre nutrition et développement de la maladie comme ces études sur la vitamine D qui montrent que l'administration orale de vitamine D favorise la réaction immunitaire antituberculeuse [20], car Les monocytes et les macrophages exposés à *Mycobacterium tuberculosis* augmentent leur transcription des gènes codant pour le VDR (Vitamin D Receptor) et la 1,α,hydroxylase. Ainsi, la production de 1,25(OH)₂D (1,25 dihydroxyvitamine D) augmente et cela engendre la production de cathélicidine, peptide capable de stimuler l'immunité et de détruire *Mycobacterium tuberculosis* et d'autres agents infectieux [21,22].

I.3.2. Facteurs physiologiques et génétiques

- Le sexe: Le mode d'élevage appliqué aux femelles (stabilisation et confinement prolongés) ainsi que le stress de lactation et de gestation les rendent plus vulnérables à l'infection par *Mycobacterium bovis* que les mâles [23]
- L'âge : Tous les groupes d'âge sont sensibles à *Mycobacterium b.* Cependant, les jeunes sont moins résistants que les adultes [23,24].
- Les facteurs génétiques : Des facteurs génétiques humains semblent également être impliqués dans la sensibilité ou la résistance à la tuberculose. Par exemple, le polymorphisme des gènes NRAMP1 (Natural Resistance-Associated Macrophage Protein) ou TLR8 (TollLikeReceptor 8) a été associé à une variation de la sensibilité face à la tuberculose [25].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.3.3. Facteurs liés à une immunosuppression

La co-infection avec le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) est le facteur le plus influent de l'épidémie de tuberculose. La suppression du système immunitaire causée par le VIH augmente le risque de réactivation d'une infection tuberculeuse latente et favorise la progression rapide vers une tuberculose active [26]. D'après l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), le risque de développer une tuberculose est 27 fois plus élevé chez les personnes infectées par le VIH que chez les individus séronégatifs [27].

I.4. Agent causal (*Mycobacterium tuberculosis*)

I.4.1. Classification

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par *Mycobacterium tuberculosis* qui appartient au genre *Mycobacterium*, famille des *Mycobacteriaceae*, ordre des *Actinomycetales* [28]. Ce genre regroupe plus de 120 espèces différentes, classées en mycobactéries atypiques (ou mycobactéries non tuberculeuses) ou en mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* [29] **Figure01**.

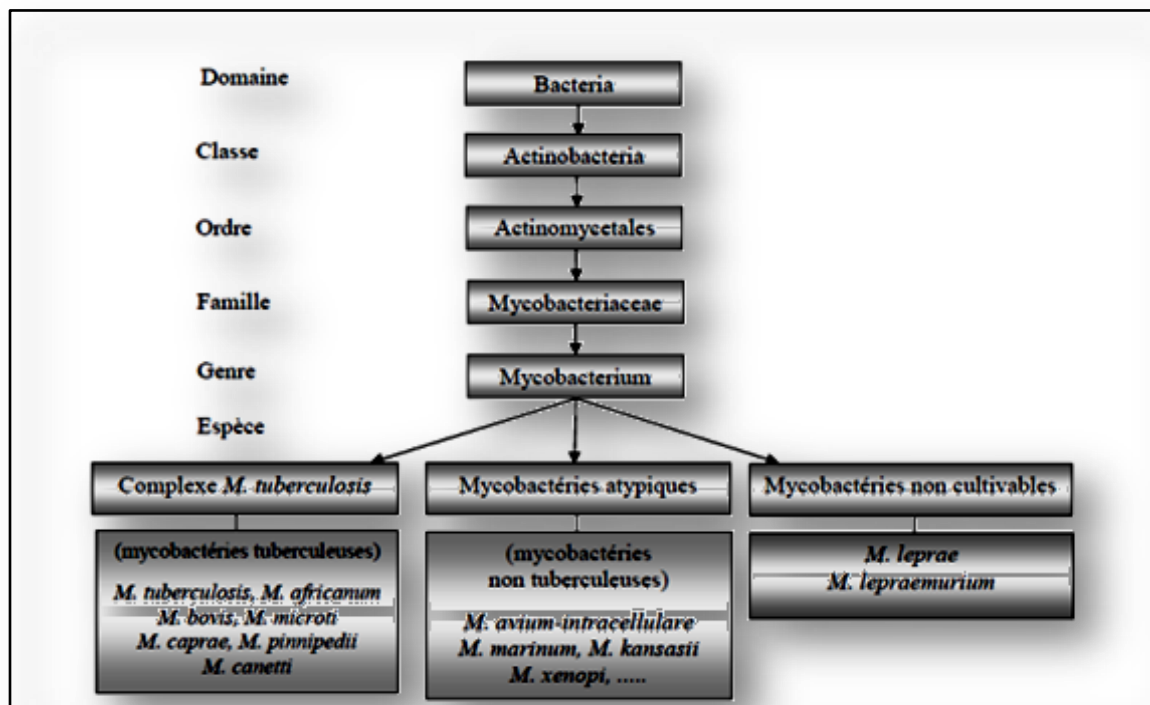


Figure 1 : Classification des mycobactéries [30]

I.4.2. Caractères bactériologiques

Mycobacterium tuberculosis est un fin bacille de 2 à 5 μm de long, légèrement incurvé, aux extrémités arrondies, non capsulé, non sporulé, immobile [31]. C'est une bactérie gram positif et AAR (acido-alcool-résistance et une résistance à de nombreux antibiotiques) [32]. Les mycobactéries se différencient de la plupart des autres germes par leurs exigences métaboliques qui nécessite de nombreux facteurs de croissance pour son développement. Elles se caractérisent par une croissance lente, avec un temps de génération de 2 à 20 heures selon les espèces [33]. Et donne en 21 à 28 jours, des grosses colonies en « chou-fleur » de 3 à 4 mm avec des bacilles de 2 à 5 μm de long et de 0,3 à 0,5 μm de large (Figure 2). La température optimale de croissance est de 35 à 37°C, mais certaines espèces comme *M. marinum* et *M. ulcerans* poussent mieux à 32°C [34].

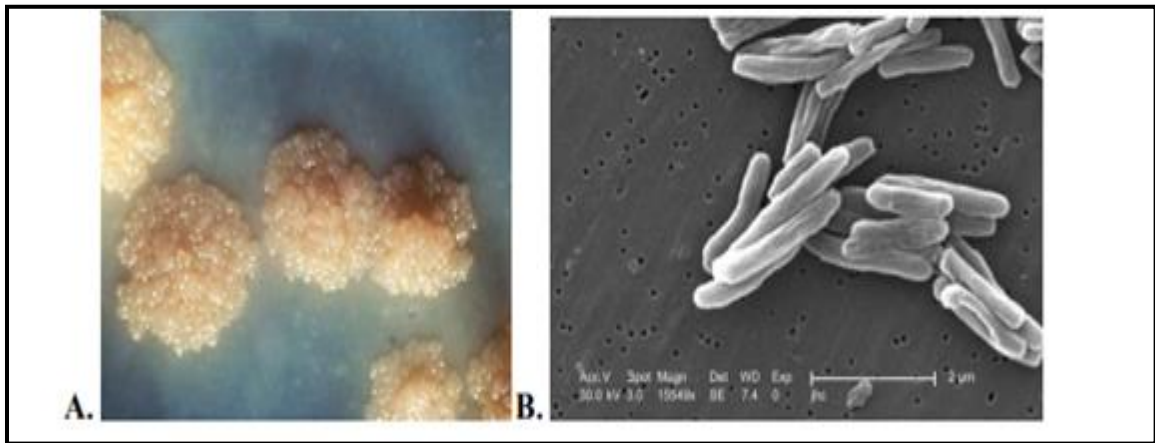


Figure 2 : A.Colonies de *Mycobacterius tuberculosis* , B. Visualisation de *Mycobacterium tuberculosis* au microscope électronique [35]

Mycobacterium tuberculosis est une bactérie aérobie qui se localisera préférentiellement dans les tissus bien oxygénés ce qui explique la prépondérance des tuberculoses pulmonaires. La définition actuelle du genre *Mycobacterium* repose sur la présence d'acides mycoliques à structures particulière et la valeur du contenu en guanine-cytosine de l'ADN. La propriété AAR est liée à la présence des acides mycoliques dans leur paroi (figure 03). Cependant, les acides mycoliques ne sont pas spécifiques des mycobactéries. D'autres genres proches de *Mycobacterium* tel que *Corynebacterium*, synthétisent également ces acides gras α -ramifiés β -hydroxylés [36]. Le phénomène d'AAR repose sur le fait que, liés au peptidoglycane par l'intermédiaire de l'arabinogalactane, ces acides gras à longues chaînes carbonées constituent une barrière hydrophobe tout autour de la cellule. Ils gênent ainsi la libération par traitements

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

acide et alcool puissant, des colorants une fois absorbé. Les mycobactéries sont donc qualifiées de BAAR (bacilles acido-alcool-résistants) [37].

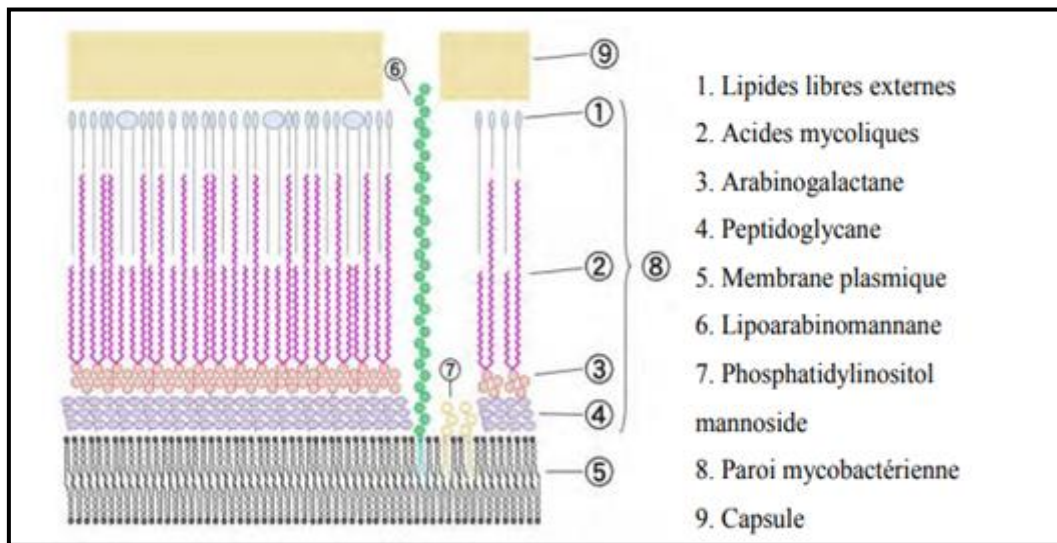


Figure 3 : Schéma de l'enveloppe mycobactérienne [37].

I.5. Physiopathologie de la tuberculose

Bien que la tuberculose pulmonaire soit l'infection la plus connue et la plus courante, les pathologies humaines causées par *M. tuberculosis* peuvent prendre d'autres formes tel que les inflammations ganglionnaires, les formes cutanées et disséminées.

I.5.1. Physiopathologie de l'infection de la tuberculose

I.5.1.1. La primo-infection

La primo-infection tuberculose correspond au premier contact de l'organisme avec la bactérie. La contamination se fait par voie aérienne, Le risque d'infection est d'autant plus élevé que la concentration en BAAR est importante dans l'air inhalé [38]. Les mycobactéries inhalées vont être transportées à travers la cavité pulmonaire jusqu'aux alvéoles où elles sont phagocytées par un certain nombre de cellules phagocytaires dont les macrophages. Il est aussi possible que les bacilles soient initialement ingérés par les pneumocytes de type II (cellules épithéliales alvéolaires) [39,40]. Ils possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent de survivre dans les cellules phagocytaires [41]. Dans 90% des cas, le bacille tuberculeux reste au repos, c'est l'infection tuberculeuse latente, asymptomatique. L'hôte infecté ne présente aucun symptôme de la maladie, n'est pas contagieux et n'est alors pas malade. Seulement un faible pourcentage (10%) des personnes infectées développeront la maladie au cours de leur vie [42]. La probabilité

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

de développer la maladie sera plus importante pour les personnes VIH-positif ou souffrant de malnutrition ou de diabète, ou encore les fumeurs. Les bacilles tuberculeux ingérés par les macrophages se multiplient à l'intérieur de ceux-ci et déclenchent une réaction chimiotactique attirant des macrophages et autres cellules défensives dans la zone infectée. Cet amas de cellules forme un granulome (ou tubercule) à l'intérieur duquel les bacilles tuberculeux se développent mal du fait de l'absence d'oxygène et peuvent donc rester à l'état de dormance. La maladie reste en phase latente et les lésions se calcifient (**Figure 04**) [41].

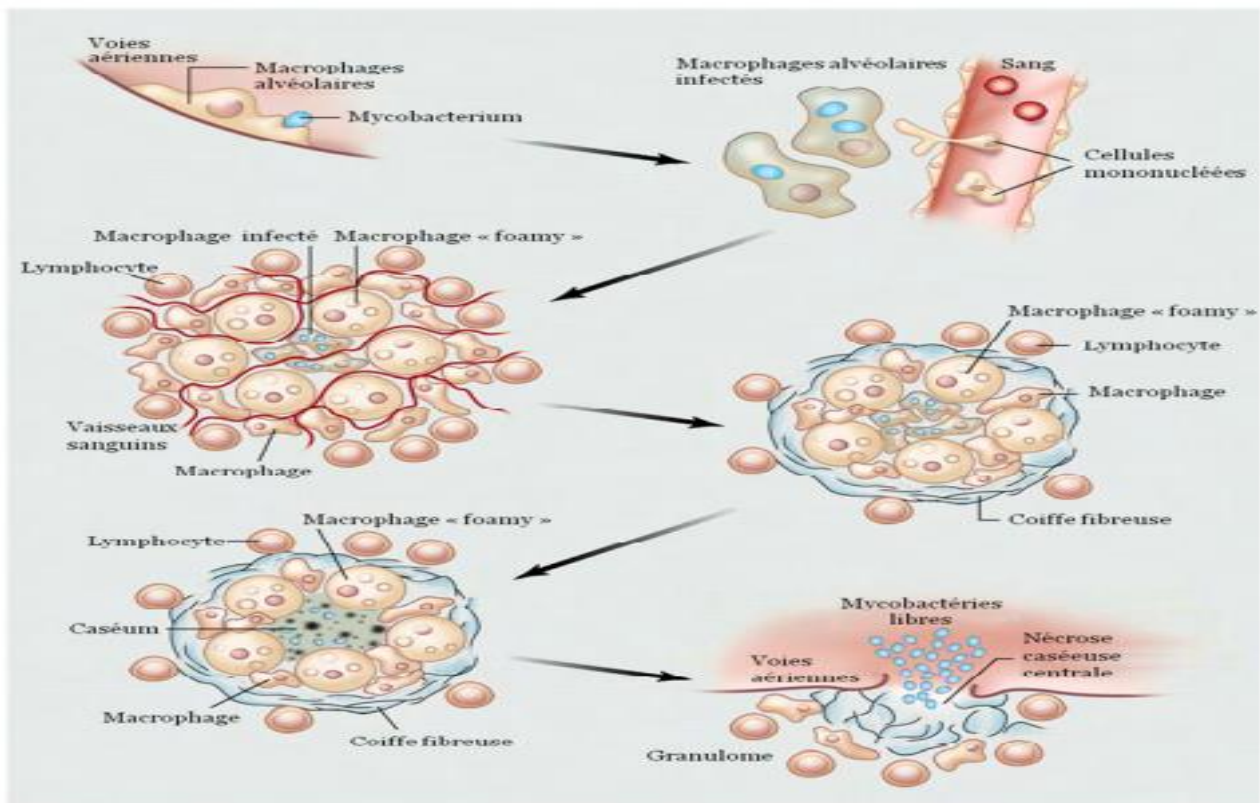


Figure 4 : le cycle d'infection de *Mycobacterium tuberculosis* [43].

I.5.1.2. La tuberculose pulmonaire

C'est la forme la plus fréquente de la maladie qui concerne plus de 70% des cas de tuberculose active [44]. Lors d'une baisse des défenses immunitaires, les granulomes peuvent être réactivés et, en présence d'enzymes et de cytokines libérées par les cellules immunitaires présentes, provoquer une inflammation locale dommageable pour les poumons [41]. La dissémination se fait par voie bronchogène à partir du nodule de primo-infection. Lors de la toux, le patient élimine de nombreux bacilles (sujet bacillifère) et peut contaminer d'autres sujets contacts. Les régions pulmonaires atteintes en priorité lors de la dissémination par voie bronchique de bacilles à partir du nodule de primo-infection (**Figure 05**) sont les lobes les mieux

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

ventilés c'est-à-dire les sommets et segments postérieurs. La liquéfaction et l'élimination par une bronche sont responsables de la formation d'une caverne où le bacille va proliférer aisément [44]. Le patient est alors atteint de tuberculose pulmonaire avec des symptômes comme de la fièvre ou de la toux. En absence de traitement, la formation et prolifération des granulomes dans les poumons rendent la tuberculose mortelle [41].

I.5.1.3. tuberculoses extra-pulmonaires

Selon l'OMS, 2015 [42]. 14% des nouveaux cas de tuberculose. Les bacilles disséminés



Figure 5 : Aspect de tuberculose pulmonaire avec nodules [45].

dans l'organisme lors de la primo-infection peuvent entraîner des tuberculoses extra-pulmonaires lorsque les conditions favorables sont réunies [46]. Les malades ne sont pas contagieux s'il n'y a pas de localisation pulmonaire associée. L'infection par voie hématogène, lymphatique ou aérienne peut se traduire par une localisation prédominante alors que le foyer initial a depuis longtemps disparu [47]. La plupart des atteintes extra-pulmonaires sont souvent suspectées mais difficiles à confirmer. Certaines localisations extra-pulmonaires sont graves et mettent en jeu le pronostic vital :

- Miliaire tuberculeuse disséminée.
- Méningite tuberculeuse.

D'autres mettent en jeu le pronostic fonctionnel :

- Péricardite.

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

- Atteintes vertébrale, rénale, intestinale, etc.

D'autres sont plus fréquentes et peuvent entraîner des complications si le diagnostic est tardif : Tuberculose ostéo-articulaire.

- Atteintes pleurales et péritonéales.

L'atteinte multifocale peut résider dans le fait que les patients sont soumis à une infestation massive (intensité de la transmission) ou à un retard au diagnostic qui permettait à la maladie de disséminer aux différents organes [46].

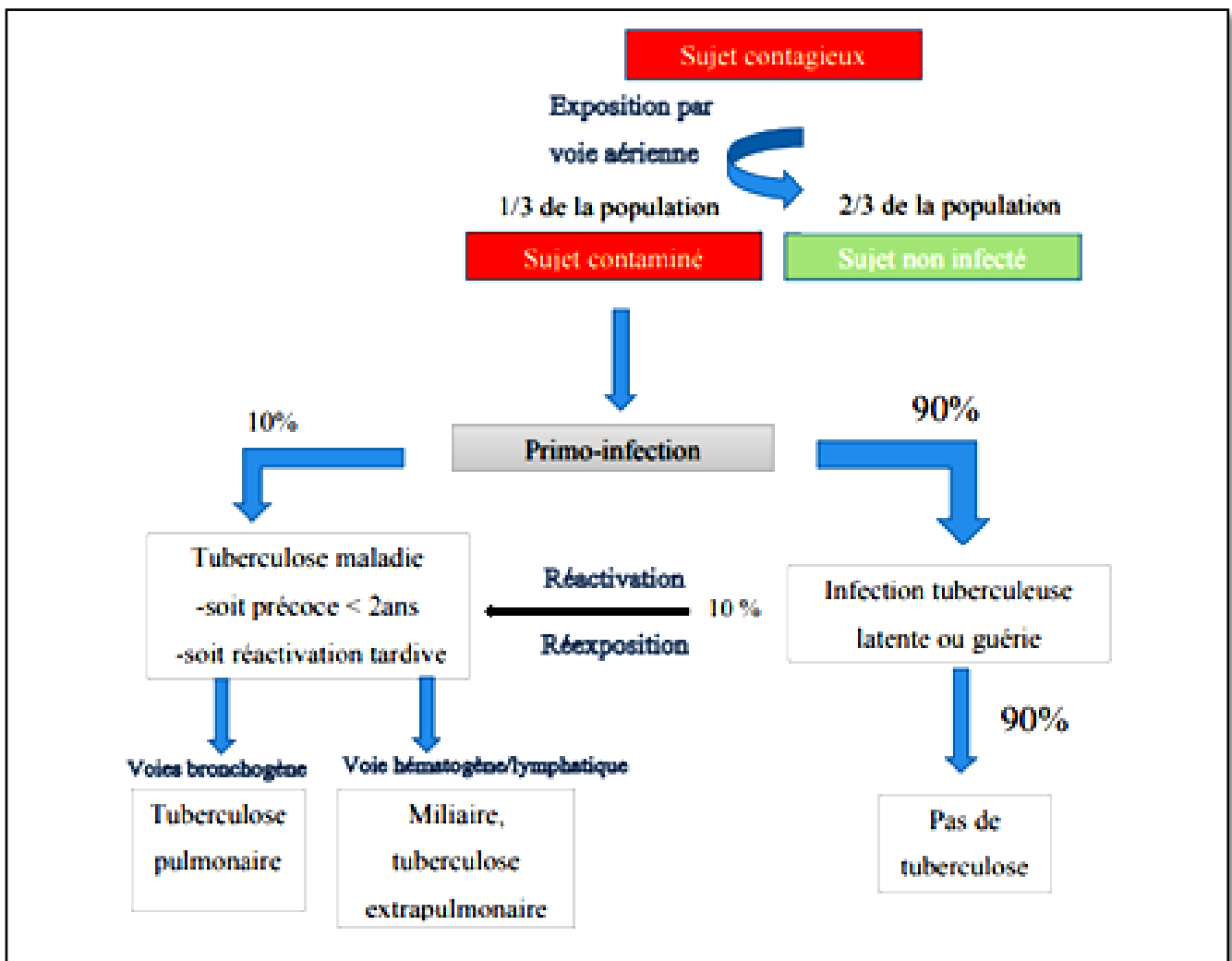


Figure 6 : Physiopathologie de l'infection de la tuberculose humaine [48].

I.5.2. Transmission de la maladie

La transmission des BK (bacille de Koch) est essentiellement le fait de patients porteurs de tuberculose pulmonaire à microscopie positive : ils infectent 10 à 20 fois plus de personnes de

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

leur entourage que ceux porteurs d'autres formes de TB [49]. L'infection tuberculeuse se transmet essentiellement par voie aérienne à partir d'un malade atteint de tuberculose pulmonaire, bronchique ou de la sphère oro-pharyngée. Lorsque le patient tousse ou éternue, il émet des particules infectantes. Il s'agit de « gouttelettes de Pflügge » (petites gouttelettes de sécrétions bronchiques) qui peuvent rester en suspension dans l'air et qui sont susceptibles d'être inhalées par les sujets contacts. Ces gouttelettes contiennent des bacilles infectants qui persistent jusqu'à 9 heures après leur émission. Chez l'homme le pouvoir pathogène s'observe avec un faible nombre de bacilles infectants, il est de l'ordre de 10 bacilles [45]. Une personne exposée à un patient contagieux n'est pas nécessairement infectée, la probabilité de la contamination par *M.tuberculosis* dépend de 3 facteurs Contagiosité du patient source :

- Statut bactériologique positif.
- Virulence des bactéries (certaines souches sont hautement transmissibles)
- . Environnement de l'exposition :
 - Les petites pièces non ventilées sont les conditions favorables de la transmission.
 - La proximité du patient source.
- Durée d'exposition : Les personnes en contact étroit avec les patients atteints de TB sont les plus à risque d'être infectées [50].

I.6. Symptomologie de la tuberculose

La tuberculose pulmonaire est de loin la plus fréquente et la plus répandue, mais il existe des atteintes osseuses, rénales, intestinales, génitales, méningées, surrenaliennes et cutanées [51]. Les symptômes courants de la tuberculose pulmonaire évolutive sont une toux accompagnée d'expectorations parfois teintées de sang, des douleurs thoraciques, un état de faiblesse, une perte de poids, de la fièvre et des sueurs nocturnes [42].

I.7. Diagnostic de la tuberculose

Il y a un seul moyen de diagnostiquer une infection tuberculeuse latente est de pratiquer un test tuberculinique. Le diagnostic de la tuberculose-maladie nécessite le recours à plusieurs types d'examen mais sa confirmation n'est obtenue qu'après la mise en évidence de BK dans les expectorations ou dans tout autre prélèvement humain [52].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.7.1. Radiographie pulmonaire

La radiographie thoracique (radiophotographie) a été introduite comme moyen de dépistage dans les années 40. Les anomalies visibles sur le cliché thoracique sont le meilleur signe prédictif d'une TB et leur extension est corrélée aux résultats des examens bactériologiques des expectorations [53]. La localisation pulmonaire de la tuberculose étant plus fréquente, une radiographie pulmonaire constitue un examen de base. Toute image suspecte peut faire l'objet d'investigations radiologiques complémentaires. Les examens radiologiques répétés permettent ainsi de dépister une TB pulmonaire à ses débuts, avant que la personne concernée ne transmette la maladie [54].

I.7.2. Examens bactériologiques

Quelle que soit la localisation de la tuberculose, il faut effectuer des examens bactériologiques pour obtenir la confirmation de la tuberculose. La recherche des BK se fait sur des expectorations matinales ou sur tout autre prélèvement spécifique de la localisation extra pulmonaire. Les échantillons envoyés au laboratoire sont examinés au microscope, puis mis en culture [54]. Le diagnostic bactériologique de la tuberculose repose sur la mise en évidence des bacilles de la tuberculose, à savoir *M. Tuberculosis* (le plus fréquent), ou *M. Bovis* ou *Africanum* (beaucoup moins fréquent). Ces trois espèces très proches sont réunies sous le nom de « complexe tuberculosis » [55, 56, 57, 53].

I.7.3. Autres examens

En dernière instance, des techniques d'identification permettent de différencier les mycobactéries tuberculeuses des autres bactéries du même genre. Ces examens demandent un certain temps et la confirmation de la tuberculose ne peut être obtenue qu'après quinze et trente jours [58].

➤ La respirométrie, radiométrie

C'est une méthode de détection rapide de la croissance des mycobactéries en milieu liquide. Elle est basée sur la mesure du CO₂ marqué par le carbone 14 libéré par les mycobactéries au cours de leur croissance [59].

➤ Les méthodes immunologiques

De nombreux essais ont été effectués pour mettre au point une sérologie spécifique de la tuberculose. Jusqu'ici, aucun d'entre eux n'a donné de résultats satisfaisants probablement parce

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

que les antigènes utilisés, aussi purifiés soient-ils, contiennent des déterminants antigéniques présents chez l'ensemble des mycobactéries, et entraînent des réactions croisées entre *Mycobacterium tuberculosis* et les autres mycobactéries [59].

➤ **Le test immuno-chromatographique (ICT)**

Le test ICT ou kit ICT tuberculosis Amrad est un test rapide basé sur la détection d'anticorps contre *Mycobacterium tuberculosis* dans le sang total, le plasma, le sérum ou les fluides des sites extra pulmonaires tels que les fluides pleuraux, péritonéaux ou lymphatiques chez les patients atteints de tuberculose [59].

➤ **Les techniques d'amplification génique**

Les techniques d'amplification génique consistent à amplifier et détecter une séquence nucléique spécifique. Ces méthodes ont la potentialité d'identifier spécifiquement les bacilles tuberculeux en quelques heures, directement dans les échantillons cliniques, sans qu'au préalable une culture bactérienne soit nécessaire. Elles regroupent différentes techniques [60].

I.8. Traitement

La tuberculose est une maladie que l'on peut soigner et guérir. Pour la tuberculose évolutive sensible aux médicaments, on administre un traitement standard de 6 mois associant 4 médicaments antituberculeux en l'accompagnant des informations, de la surveillance et d'une aide au patient assurées par un agent de santé ou un bénévole entraîné. Sans ce soutien, l'observance peut être difficile et la maladie peut se propager. On peut guérir l'immense majorité des cas si les médicaments sont fournis et pris correctement [61].

I.8.1. Traitement préventif

I.8.1.1 Prévention primaire (vaccination)

Le BCG (bacille de Calmette-Guérin) est un vaccin bactérien vivant qui dérive d'une souche atténuée de *Mycobacterium bovis* isolée par Edmond Nocard à partir d'une lésion de mammite tuberculeuse présente chez une vache, puis cultivée à partir de 1908 par Calmette et Guérin [62]. L'efficacité de la vaccination avec le BCG se limite à la protection contre l'évolution mortelle de la tuberculose, particulièrement la méningite tuberculeuse et la maladie disséminée (miliaire) [63, 64]. Seul moyen préventif actuellement disponible pour lutter contre la tuberculose [62].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.8.1.2 Prévention secondaire

a - Chimio prophylaxie

La seule chimiothérapie préventive recommandée aujourd'hui consiste à administrer de l'isoniazide seul, tous les jours, à la dose de 5 mg/kg/jr pendant une période de 6 à 9 mois.

b - Autres mesures préventives

- ✓ Amélioration du niveau de vie et éducation sanitaire :

Maladie de la pauvreté et des mauvaises conditions d'hygiène, la tuberculose peut être en partie éradiquée grâce à l'amélioration du niveau de vie, des conditions économiques, de l'habitat et par l'éducation sanitaire des populations.

- ✓ Dépistage et traitement des cas :

La détection et le traitement des sources de contamination que sont les malades tuberculeux à frottis positifs constituent les moyens essentiels pour réduire la transmission du bacille tuberculeux [15].

I.8.2. Traitement curatif

La tuberculose est une maladie guérissable. Le seul traitement efficace est la poly-chimiothérapie. La durée du traitement est de 6 à 8 mois, répartie en deux phases [65].

-Durant la première phase de 2 mois, l'association de 4 antibiotiques : isoniazide (INH), rifampicine (RMP), pyrazinamide (PZA) et éthambutol (EMB).

-Puis durant la deuxième phase de 4 mois, l'association isoniazide et rifampicine [66].

I.8.2.1. Les antituberculeux de première ligne

Le traitement standard fait appel aux antibiotiques dits de « première ligne ». Ces antibiotiques sont : l'isoniazide (H), la rifampicine (R), la pyrazinamide (Z) et l'éthambutol (E)

I.8.2.1.1.Ethambutol (EMB)

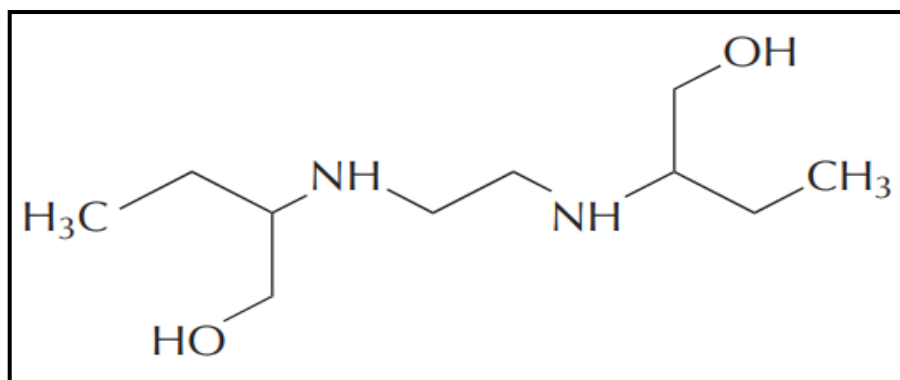


Figure 7 : structure de L'éthambutol [67].

(EMB), est un aminoalcool synthétique agissant comme bactériostatique actif sur les bacilles au stade de multiplication et inefficace sur les bacilles « dormants » [68]. La cible de l'EMB est une arabinosyl transférase impliquée dans la polymérisation des arabinans de la paroi [69]. L'inhibition de cette enzyme par l'EMB provoque un blocage de la synthèse de l'arabinogalactane et du lipoarabinomannane, les polysaccharides majeurs de la paroi mycobactérienne [68]. L'éthambutol agit sélectivement sur les mycobactéries typiques humaines et bovines et atypiques. Son action vise les bacilles des cavernes et les bacilles intramacrophagiques. Il n'existe pas de résistance croisée avec les autres antituberculeux. Les résistances primaires à l'éthambutol sont inférieures à 1% [70]. L'éthambutol est un antituberculeux globalement bien toléré par les patients. Toutefois, il présente un risque de toxicité au niveau du nerf optique qui justifie un suivi attentif du traitement. Ces effets indésirables se manifestent soit par une névrite optique rétrobulbaire, soit par une toxicité rétinienne [5].

I.8.2.1.2.Pyrazinamide (PZA)

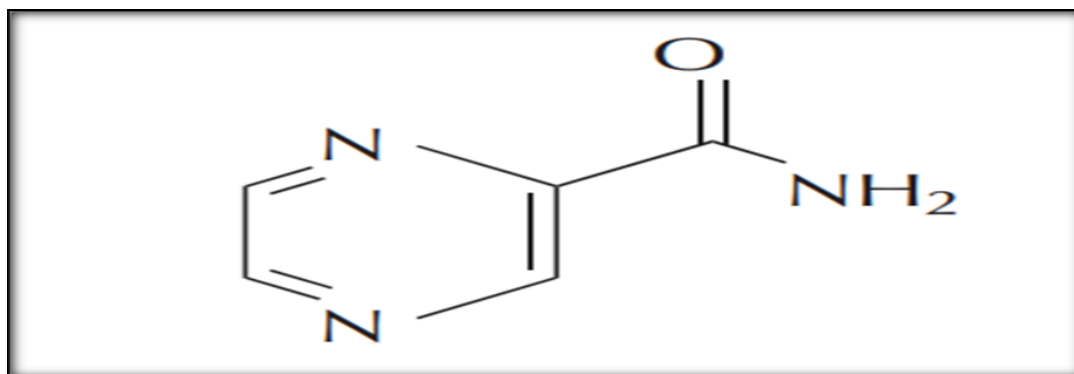


Figure 8 : structure de Pyrazinamide [67].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Découverte dans les années 1950, est métabolisée en acide pyrazinoïque (POA) par l'action de l'enzyme pyrazinamidase (Pzase), encodée par le gène *pncA* chez *M. tuberculosis* [71]. Son mécanisme d'action n'est à ce jour toujours pas élucidé mais plusieurs propositions sont faites dans la littérature dont une action sur la perturbation de la production d'énergie de la membrane et affecter la synthèse de protéine et de l'ARN inhibant le transport membranaire ou encore pourrait éventuellement provoquer une acidification cytoplasmique [72]. La mutation du gène *pncA* est la cause principale de résistance au pyrazinamide [73]. Le PZA est un médicament de première ligne important, utilisé en même temps que l'INH et la RMP. Le PZA joue un rôle unique dans le raccourcissement du traitement de la TB depuis la durée antérieure de 9 à 12 mois vers 6 mois, car il détruit une population de bacilles « persistants » dans l'environnement à pH acide des lésions, population qui n'est pas détruite par les autres médicaments [74]. Sa CMI (concentration minimale inhibitrice) se situent dans la fourchette de 6,25 à 50 µg/ml [72].

I.8.2.1.3. Isoniazide

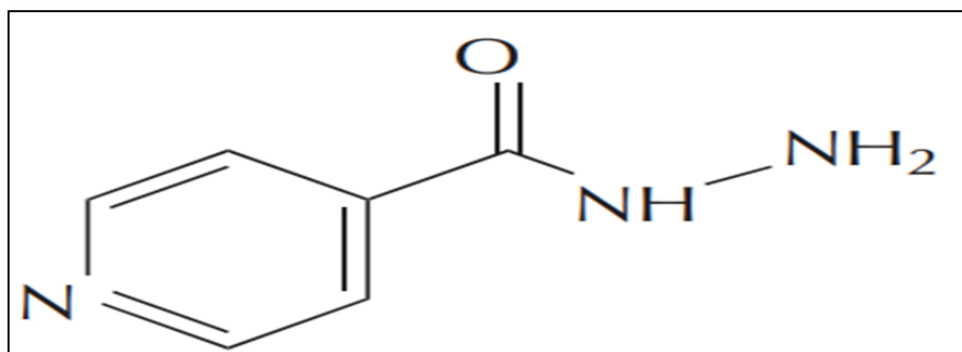


Figure 9 : structure de l'isoniazide [67].

INH, acide isonicotinique hydrazide est un antibiotique synthétique dont l'activité antituberculeuse a été mise en évidence en 1952 [75]. INH impliqué dans l'inhibition de la biosynthèse des acides mycolitiques qui sont les constituants importants de la paroi cellulaires mycobactérienne. Comme les acides mycolitiques ne se retrouvent que dans les mycobactéries, cette action pourrait expliquer le degré élevé de sélectivité de l'activité antimicrobienne de l'isoniazide [76, 77]. L'INH a été la pierre angulaire de tous les régimes efficaces du traitement de la tuberculose et de l'infection latente. *M.tuberculosis* est très sensible à l'INH concentration minimale inhibitrice [CMI] 0,02 –0,2 µg/ml). L'INH n'est actif que sur les bacilles tuberculeux en phase de multiplication et il n'est pas actif sur les bacilles qui ne se multiplient pas, ni non

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

plus dans les conditions anaérobies [76].INH est commercialisé sous forme de comprimés à 50 et 150 mg, ampoules IV ou IM à 500 mg sous le nom de Rimifon® [78, 79].

I.8.2.1.4. Rifampicine

La Rifampicine est un médicament de première ligne important pour le traitement de la TB. La RIF est un dérivé de la rifamycine. Elle fut introduite dans le traitement anti tuberculeux en 1972 et son activité bactéricide est puissante. La Rifampicine est bactéricide pour *M. tuberculosis*. La figure 9 montre la structure chimique de la rifampicine [80]. Ce médicament fait partie des antibiotiques du groupe des rifomycines 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 [81]. La RIF est commercialisée sous les noms de Rifadine® (gélule 300 mg et suspension buvable) et Rimactan® (gélule 300 mg) [78, 79].

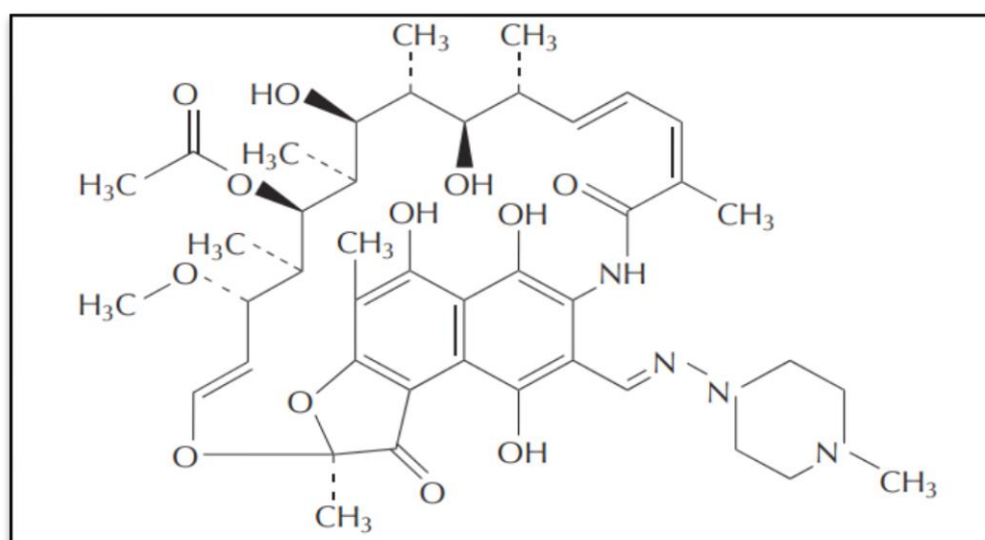


Figure 10 : structure de Rifampicine [67].

I.8.2.2. Les antituberculeux de seconde ligne

Cependant l'apparition de souches de *M. tuberculosis* résistantes aux antibiotiques a rendu nécessaire l'utilisation d'antituberculeux de 2^{ème} ligne. On distingue deux niveaux de résistance :

- les souches multi-résistantes, ou MDR (multi drug-resistance) caractérisées par la résistance à l'INH et la RIF.

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

- les souches ultra-résistantes ou XDR (extensively drug-resistance) dérivant des MDR et résistant également aux fluoroquinolones et à au moins un des médicaments injectables de 2nde ligne [82, 83].

Les principaux médicaments de seconde ligne sont : l'acide para-aminosalicylique, des fluoroquinolones (moxifloxacine, levofloxacine, ciprofloxacine), des aminoglycosides (kanamycine, amikacine, capréomycine), des thioamides (éthionamide, prothionamide), ou encore la cyclosérine (**Figure 11**).

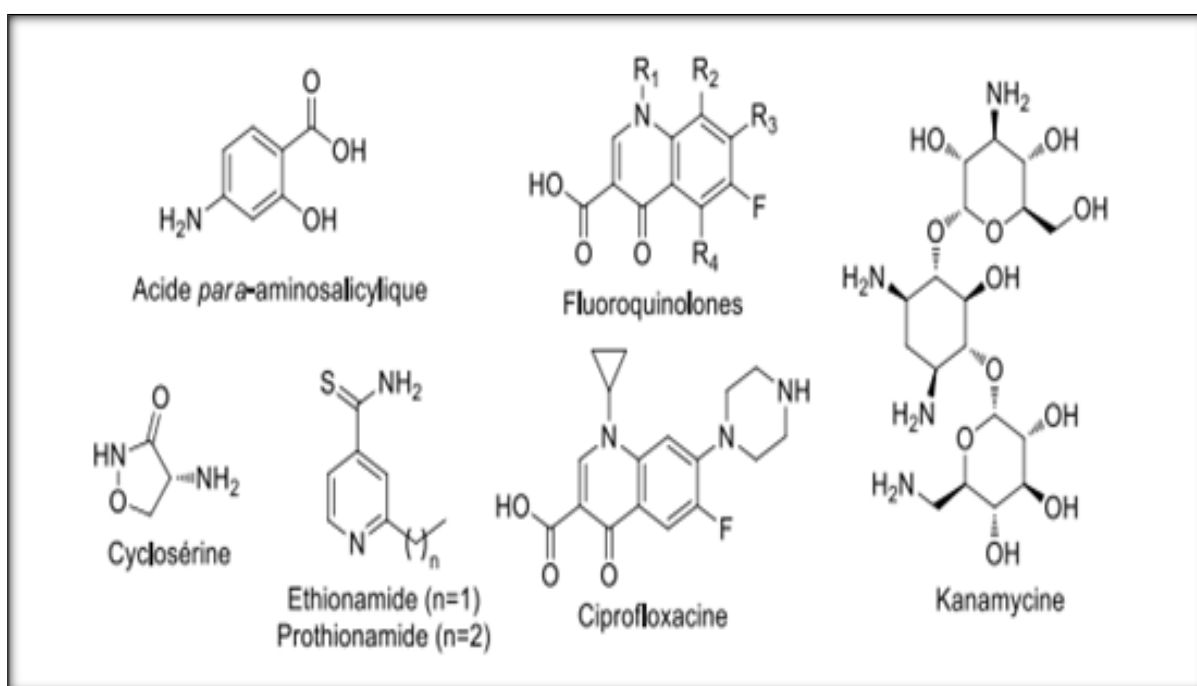


Figure 11 : antituberculeux de seconde ligne [84].

I.8.2.3. Les antituberculeux de 3^{ème} ligne

Durant les cinquante dernières années, seulement deux molécules ont été approuvées et commercialisées comme des antibiotiques spécifiques de la tuberculose : la bédaquiline et le délamanid (Figure 12 et 13) [85]. Ces deux molécules, administrables par voie orale, sont recommandées pour traiter les cas de tuberculose pulmonaire multi-résistante chez l'adulte en association avec d'autres antituberculeux [86].

I.8.2.3.1. Bédaquiline

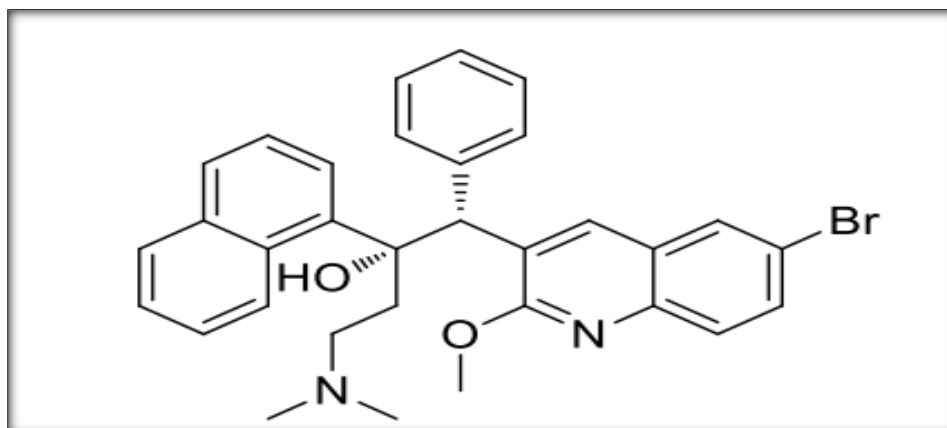


Figure 12 : structure de Bédaquiline [84].

Développée par Janssen, compagnie pharmaceutique du groupe Johnson and Johnson, sous le nom de Sirturo®, a été approuvée par la FDA (Food & Drug Administration) en 2012 et par EMA (l'Agence Européenne des Médicaments) en 2014. Ce médicament est actif sur souche MTB sensible (CMI = 0,05 μM) et sur souches MTB-MDR (CMI = 0,2 μM). Il possède un mécanisme d'action original et agit en bloquant l'ATP synthase de MTB, enzyme vitale à la bactérie pour sa production d'énergie [87].

I.8.2.3. 2 Le délamanid

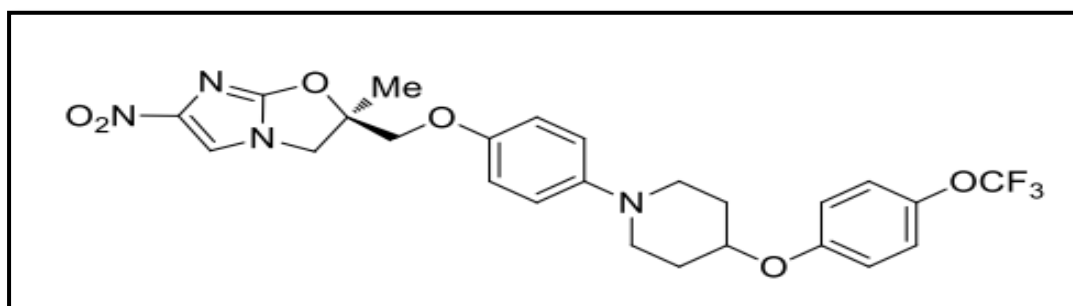


Figure 13 : structure de délamanid [84].

A été approuvé par l'EMA en 2014 et est développé par Otsuka Pharmaceutical sous le nom de Deltyba®. Bien que son mode d'action précis ne soit pas certain, le delamanid est reconnu pour être une pro-drogue bloquant la synthèse des acides mycoliques de la paroi mycobactérienne avec une bonne activité sur souches sauvage et multirésistante (CMI = 0,011 – 0,045 μM) [87].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Tableau 1 : Résumé des différents antituberculeux de 1^{ère} et de 2^{ème} et 3^{ème} ligne [88].

	Principe actif (année de découverte)	Origine	CMI (μ M)	Mécanisme d'action	Cible
Anti-TB de 1 ^{ère} ligne	Streptomycine (1944)	Naturelle	1,7	Inhibition de la synthèse de protéines	ARN ribosomal
	Isoniazide (1952)	Synthétique	0,2	Inhibition synthèse acides mycoliques, effets sur ADN, lipides et carbohydrates ^a	Enoyl réductase (InhA)
	Pyrazinamide (1952)	Synthétique	130 - 400 pH 5,5	Rupture transport membranaire ^a	Métabolisme
	Ethambutol (1961)	Synthétique	2,5	Inhibition biosynthèse d'arabinogalactane	Arabinosyl transférase
	Rifampicine (1966)	Semi-synthétique	0,5	Inhibition synthèse ARN	Sous-unité β ARN polymérase
Anti-TB de 2 ^{ème} ligne	Acide <i>p</i> -aminosalicylique (1943)	Synthétique	1,9 - 6,5	Inhibition synthèse des acides foliques, thymidilate synthase et transport de fer ^a	Dihydrofolate réductase
	Cyclosérine (1952)	Naturelle	245	Inhibition synthèse peptidoglycane	D-alanine racémase
	Ethionamide (1956)	Synthétique	1,5	Inhibition synthèse acides mycoliques	Enoyl réductase (InhA)
	Prothionamide (1956)	Synthétique	3	Inhibition synthèse acides mycoliques	Enoyl réductase (InhA)
	Kanamycine (1957)	Naturelle	3,4	Inhibition synthèse protéines	ARN ribosomal
	Amikacine (1972)	Semi-synthétique	0,8 - 1,7	Inhibition synthèse protéines	ARN ribosomal
	Fluoroquinolones (1980s)	Synthétique	0,6 - 1,4	Inhibition répliation ADN et transcription	ADN gyrase
Anti -TB 3 ^{ème} ligne	Bédaquiline (2004)	Synthétique	0,05	Inhibition de la production d'énergie	ATP synthase
	Délamanid (2004)	Synthétique	0,01-0,5	Inhibition synthèse acides mycoliques, Production de radicaux (NO \bullet) toxiques ^a	Inconnue

Il existe d'autres traitements pharmacologiques contre la tuberculose tels que :

- Corticothérapie : discutée en cas de péricardite, méningite, miliaire, tuberculome cérébral et obstruction bronchique chez l'enfant.
- Vitamine B6 : prévention systématique de la neuropathie périphérique causée par l'isoniazide chez les patients à risque grossesse, alcoolisme, dénutrition, neuropathie préexistante, insuffisance rénale, infection par le VIH [81].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.8.2.4 Mode d'action des médicaments antituberculeux essentiels

Les médicaments antituberculeux agissent sur les différentes populations bacillaires d'un malade. En effet chez un tuberculeux, il existe différentes populations bacillaires :

Les bacilles métaboliquement actifs et en multiplication continue et rapide. Cette population se trouve principalement dans les cavernes pulmonaires.

Les bacilles dont la multiplication est lente situés à l'intérieur des macrophages. Leur multiplication est ralentie par le manque d'oxygène et le pH acide du cytoplasme macrophagique.

- Les bacilles quiescents ou persistants dans les tissus à multiplication très lente par poussée [50].

I.9. Pharmacologie de l'isoniazide

I.9.1. Posologie et administration

Normalement l'isoniazide se prend par voie orale, mais il peut être administré par voie intramusculaire aux malades qui sont dans un état critique [89].

Traitement curatif de la tuberculose toujours associé à d'autres antituberculeux, la posologie chez l'adulte est de 4 à 5 mg/kg/j en 1 seule prise le matin à jeun, et chez l'enfant de 5 à 10 mg/kg/j ; la dose maximale est de 300 mg [67].

I.9.2. Spectre d'activité

Cet antibiotique possède un spectre étroit puisque son action est restreinte au complexe tuberculosis, limité aux espèces *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*[90].

L'INH est rapidement bactéricide sur les bacilles à division rapide (cavernes). Il est bactéricide sur les bacilles intracellulaires et peu ou pas actif sur les bacilles de foyers caséux ; c'est l'antituberculeux pour lequel la résistance primaire est la plus importante [67].

I.9.3. Mécanisme d'action

L'isoniazide est une prodrogue qui doit être activée par la katG (catalase-peroxydase). La katG active l'isoniazide en radical isonicotinoyl[91]. Les produits réactifs produits par

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

l'activation de l'INH sous l'effet du KatG comportent à la fois des produits oxygénés réactifs comme le superoxyde, le peroxyde, le radical hydroxyl[92] et l'oxyde nitrique [93]. et des produits organiques réactifs comme le radical ou l'anion isonicotinic-acyl [94, 95]. Ce radical isonicotinyol réagit avec les coenzymes nucléodiques pyridine cellulaires NADH/NAD⁺ /NAD, pour former des complexes isonicotinoyl-NAD. Ce complexe agit comme un puissant inhibiteur de InhA (l'enoyl-ACP réductase de *M.tuberculosis*) [91]. Dans ce mécanisme d'action, les auteurs ont établi que l'INH pénètre à travers la membrane du bacille tuberculeux par diffusion passive et est ensuite activé par KatG en espèces réactives. Ces espèces réactives ou radicalaires, parmi lesquelles des espèces oxygénées ainsi que des radicaux organiques, agissent sur plusieurs cibles moléculaires du bacille comme par exemple sur la protéine InhA, une des enzymes du système FAS-II [96]. Impliquées dans l'élongation des acides gras lors de la synthèse de l'acide mycolique [97]. L'inhibition de l'InhA conduit à celle de la biosynthèse des acides mycoliques et finalement à la lyse cellulaire (**Figure 14**) [96]. Une étude récente a démontré que les dérivés INH-NAD réagissent avec d'autres cibles protéiques en plus de l'InhA, tel que le DfrA (une dihydrofolate réductase dépendant de NADPH impliquée dans la synthèse de l'ADN) [98]. Les souches de *M. tuberculosis* résistantes à l'INH présentent généralement une mutation du gène *katG*, du gène *inhA* ou du promoteur du gène *inhA* provoquant ainsi la sur-expression du gène [97]

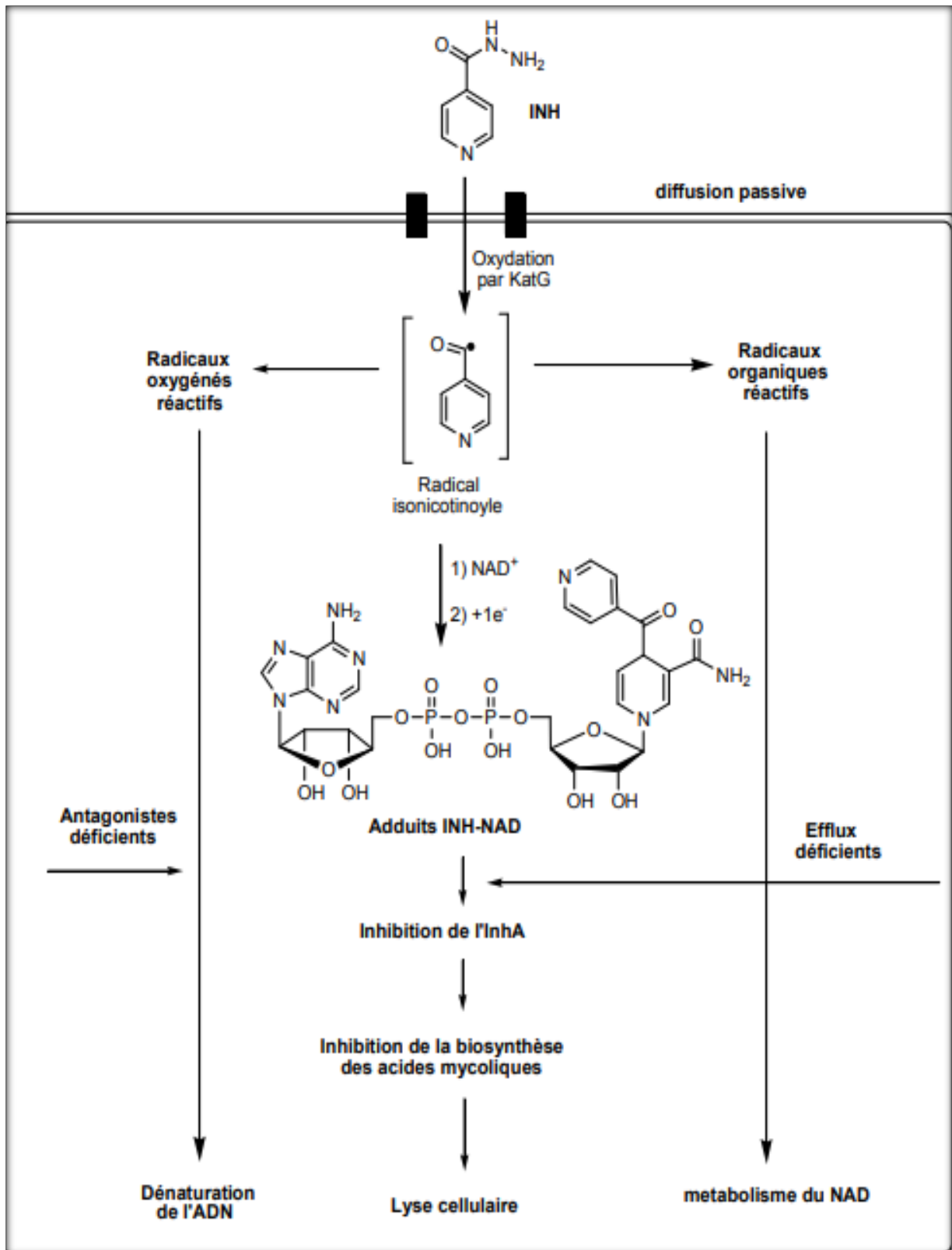


Figure 14 : Mécanisme d'action de l'INH [96].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

I.9.4. Pharmacocinétique

a) Absorption

L'INH est administré par voie orale et rapidement absorbé par le tractus gastro-intestinal[99]. Le pic de concentration plasmiq ue est de 3 à 5 µg/ml et apparaît 1 à 2 heures après administration orale de doses classiques [2].

B) Distribution

La petite taille de la molécule facilite leurs diffusion dans les liquides biologiques (pleural, céphalo-rachidien...), dans tous les organes (foie, rein, cerveau, poumon..) et dans toutes les cellules [5]. L'isoniazide n'est que faiblement lié aux protéines plasmatiques.

L'INH franchit la barrière placentaire et diffuse dans le lait maternel (Il faut noter qu'une meilleure concentration de l'isoniazide se retrouve au niveau des zones inflammatoires de l'organisme) [90].

C) Métabolisme

Le métabolisme hépatique des médicaments est classiquement divisé en deux phases successives. La phase I, dite de fonctionnalisation. La phase II, dite de détoxication et des réactions de conjugaison.

Réactions de phase I : il y a premièrement transport du xénobiotique du sang vers l'intérieur de la cellule, puis la substance est tout d'abord oxydée, mais aussi parfois réduite ou hydrolysée, principalement par le système enzymatique monooxygénase du cytochrome P450 [100]. Ces réactions conduisent à des dérivés dont les groupements fonctionnels sont le plus souvent des hydroxyles (-OH), des amines (-NH₂) ou des carboxyles (-COOH) [101].

Réactions de phase II : Les médicaments ou métabolites de phase I qui ne sont pas suffisamment polaires pour pouvoir être excrétés par le rein sont rendus plus hydrophiles par conjugaison avec des substituants endogènes dans le foie Les mécanismes de conjugaison chez l'homme font généralement appel à l'acide glucuronique, au glyco colle, au sulfate ou à l'acétyl[102]. Le mécanisme de l'INH Est réalisée dans différents organes mais essentiellement au niveau du foie par acétylation, le dérivé acétyle est inactif [2]. L'acétylation est variable selon chaque individu et dépend du polymorphisme des N-acétyltransférases (NAT) [103].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Les NATs constituent une famille d'enzymes, qui comme leur nom l'indique, catalysent le transfert d'un groupement acétylé issu de l'acétylcoenzyme A, sur l'azote du groupement amine primaire (-NH₂) ou hydrazine (-NH-NH₂) d'une molécule aromatique ou arylamine receveuse (Les arylamines pouvant être des médicaments tels que la caféine, La dapsonne, l'isoniazide ou la sulfaméthoxazole ou des polluants tels que le 4-aminobiphényl, la β-naphthylamine, amines hétérocycliques ou la benzidine, la 3,4-dichloroniline) Le produit formé est une arylamide (Figures 15) [104].

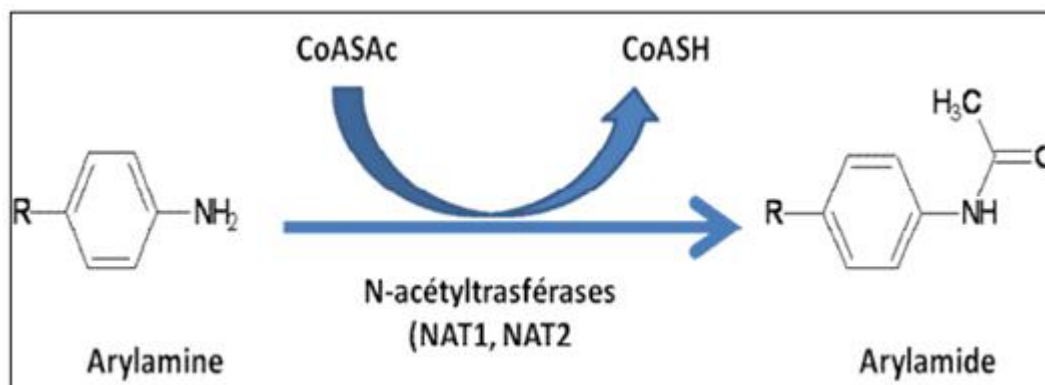


Figure 15 : Réaction de N-acétylation des xénobiotiques par les NAT [105].

La NAT2 catalyse la biodégradation de l'isoniazide pour donner naissance à la Nacétylisoniazide qui, à son tour va se métaboliser en acide nicotinique et acétylhydrazine. Ce dernier produit va à son tour subir une série d'acétylations pour entraîner la formation de métabolites réactifs toxiques pour les cellules (**Figure 16**) [104]. Une faible partie de l'INH est transformée directement en hydrazine, L'hydrazine serait également responsable de l'hépatotoxicité de l'INH) [106]

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Le polymorphisme des N-acétyltransférases représente l'un des exemples de variation

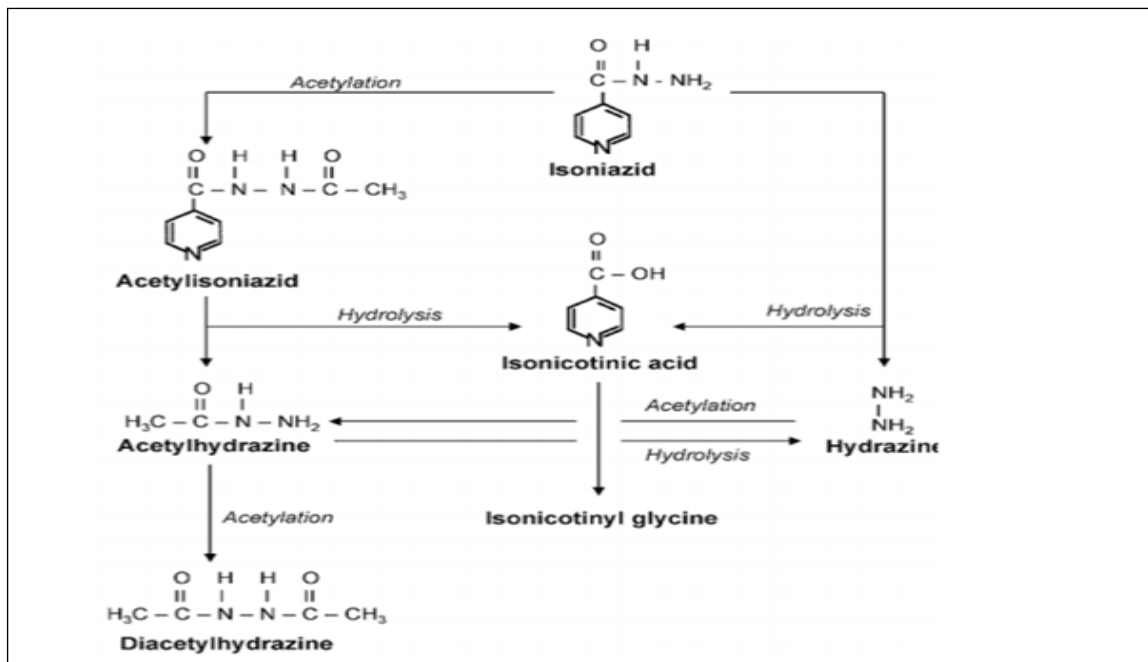


Figure 16: Les différentes voies de métabolisme de l'isoniazide chez l'homme [107].

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 [2]. Il a été démontré, suite à l'administration d'INH, que si de nombreux patients excrétaient rapidement des dérivés d'INH sous forme de métabolites conjugués inactifs, d'autres conservaient plus longtemps une concentration plasmatique plus élevée non transformée, en relation avec l'élimination moins efficace du médicament [108].

D). Elimination

Elle se fait par deux voies :

Par voie urinaire dans les 24 premières heures, principalement sous les formes métaboliques acétyl-isoniazide et acide isonicotinique [90]. Et Par voie biliaire sous forme métabolisée [2].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Tableau 2 : Isoniazide [109].

DCI	Isoniazide
Nom de spécialité	Rimifon
Famille	Pyridine
Présentation orale	Cp : 50mg, 100mg
Présentation parentérale	IM, IV : 50mg
Posologie	5 mg/kg/jour
Mode d'action	Bactéricide, actif sur le BK intracellulaire
Bio transformation	Acétylation hépatique non inductible
Pic de transformation	2h
Demi-vie plasmatique	80mn (acétyleurs rapides) 180mn (acétyleurs lents)
Liaison aux protéines	0
Excrétion	Urinaire en partie sous forme active, biliaire inactivée
Diffusion	Plasma et tissus (LCR, plasma, lait)
Spectre d'activité	M.tuberculosis, M. bovis, M.kansassii, M. avium
Contre indication	Insuffisance hépatique sévère, début de grossesse, allergie

LCR : liquide céphalorachidien, M : mycobactérium, BK : bacille de koch, Cp : comprimé, I.M : Injection intramusculaire, IV : injection intraveineuse,

I.9.5 Effets toxiques :

Les effets secondaires principaux de l'isoniazide sont principalement hépatique et neurologiques. Cette fréquence est évaluée à 5% [110]. La neurotoxicité se manifeste par des neuropathies périphériques, localisent essentiellement sur les membres inférieurs dans un tableau de polynévrite. Elles sont partiellement liées à la carence en pyridoxine résulte de l'effet antagoniste de l'isoniazide vis-à-vis de la vitamine B6 (blocage de la phosphorylation et augmentation de l'élimination urinaire de la vitamine B6) [111], Elle serait plus fréquente chez les acétyleurs lents [112]. Et aussi l'isoniazide impliqué dans la survenue de troubles psychiatriques à type d'excitation neuropsychique (hyperactivité, euphorie, insomnie) au cours de l'antibiothérapie antituberculeuse [113]. Le mécanisme physiopathologique, bien que mal élucidé, peut s'expliquer par le fait que ce produit se combine au pyridoxal et au phosphate de pyridoxal pour former des hydrazones. L'hydrazone inhibant la pyridoxal kinase, accélère l'excrétion urinaire de pyridoxine, ce qui entraîne une carence en vitamine B6 [114]. Les médicaments à fonction amine libre, comme la pénicillamine et l'isoniazide, sont également

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

connus pour favoriser l'excrétion du complexe médicament-pyridoxal [115], Parmi les autres effets indésirables de l'isoniazide, on rencontre également une toxicité de l'appareil reproducteur et des seins : Gynécomastie [116]. Chez les rates et les lapines qui administré de l'isoniazide par voie orale au cours de la période de gestation signalé des cas d'effet embryocide, mais aucune anomalie congénitale reliée à l'isoniazide sur la reproduction menées chez des mammifères (souris, rats et lapins). [116], il ya aussi des Troubles vasculaires de type Vascularite (liée à des réactions d'hypersensibilité), et des Troubles gastro-intestinaux Nausées, vomissements, douleurs épigastriques, sensation de bouche sèche sont possibles [116]. L'isoniazide peut être à l'origine de lésions cutanées à type d'acné, de rash érythémateux et de réactions de photosensibilité [117, 118]. Ces lésions surviennent dans moins de 2 % des patients sous isoniazide [119]. La Syndrome lupique Le lupus induit par l'INH [120]. La pellagre a été rarement signalée avec l'isoniazide, est due à une carence en vitamine PP induite par l'isoniazide et apparaît préférentiellement chez les sujets acétyleurs lents [117, 121]. la néphrotoxicité et l'un des principaux effets toxique de l'isoniazide, un cas de glomérulonéphrite extracapillaire a été rapporté dans la littérature [122]. Les manifestations rénales sont apparues 1 mois après le début du traitement chez une jeune fille de 13 ans. L'arrêt de l'isoniazide et le traitement par corticoïdes et cyclophosphamide ont permis une récupération complète de la fonction rénale. Par ailleurs, il existe deux cas d'IRA (néphrite interstitielle aiguë sur la biopsie rénale chez un patient) associée à une hyperéosinophilie chez les patients recevant l'isoniazide et l'éthambutol[123]. Et Les hépatites induit par l'INH sont l'ensemble des anomalies anatomiques ou fonctionnelles que peut entraîner un médicament et n'ont pas de spécificité clinique, biologique ou histologique. Leur mécanisme est soit :

le surdosage Dans ce cas, l'hépatite est prévisible, très précoce, sans signe d'hypersensibilité et son évolution est souvent fatale sans transplantation hépatique [124, 125]. la formation d'un métabolite toxique associé à NAT2 étant la principale enzyme impliquée dans le métabolisme de l'isoniazide, La diminution ou la perturbation de l'activité de la NAT2 pourrait entraîner l'accumulation des précurseurs, tels que l'hydrazine et l'acétylhydrazine dans le foie, conduisant à l'hépatotoxicité de ce médicament [126, 127, 128], Rodrigo démontré, en Espagne, que les trois allèles NAT2 acétyleurs lents sont principalement associés à l'hépatotoxicité de l'INH induite par l'enzyme NAT2 : NAT2*5B, NAT2*6A et NAT2*7[129]. ou un phénomène immuno-allergique dirigée contre un néoantigène résultant de la fixation covalente des métabolites réactifs sur les constituants de l'hépatocyte présent sur la membrane plasmique [130]. Elles se présentent selon 3 aspects : cholestatiques, cytolytiques et mixte [117,124]. Il s'agit le plus

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

fréquemment d'une augmentation modérée des taux des transaminases sériques, observe chez 10 à 20 % des malades prenant de l'isoniazide [131], les autres effets toxiques sont moins fréquentes comme une leucopénie modérée peut être retrouvée en début de traitement. En cas de neutropénie importante le traitement devra être interrompu. Des cas d'anémie hémolytique ont été exceptionnellement décrits, On peut retrouver encore une algo-neurodystrophie (« syndrome épaule-main »), un syndrome de Cushing, une fièvre isolée [5]. L'isoniazide a été décrit comme étant responsable de pancréatite aiguë qui apparaît dans les premières semaines de traitement. Le mécanisme n'est pas encore clair (dose dépendant ou allergique). La constatation d'un tel effet indésirable nécessite l'arrêt définitif du médicament vu le risque potentiel de récurrence à la réadministration [132].

I.10. Pharmacologie Rifampicine (RMP)

I.10.1. Posologie et administration

La rifampicine doit être administrée de préférence au moins 30 minutes avant les repas [89]. La posologie chez l'adulte et l'enfant est 10mg/kg/j, traitement curatif ou prophylactique. Le matin à jeun en l'absence d'autres antituberculeux [67].

I.10.2. Spectre d'activité

Le spectre de la rifampicine n'est pas excessivement large. Il comporte notamment l'agent responsable de la tuberculose (bacilles de Koch) et les staphylocoques retrouvés dans les infections osseuses [133]. La rifampicine est active sur des bactéries à multiplication intracellulaire comme *Legionella* sp., *Brucella* sp. et *Chlamydia* sp [134]. mais surtout très active sur les mycobactéries du complexe tuberculosis : *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* [135].

I.10.3. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action de la rifampicine et de toute la famille des rifamycines en général, s'explique par l'inhibition de l'ARN polymérase au niveau de la sous-unité bêta, responsable du blocage de l'initiation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN [136]. en formant un complexe avec cet enzyme qui comporte 4 sous-unités: 2 sous-unités α établissant le contact avec les facteurs de transcriptions de l'ADN, une sous-unité β' liant l'ADN, une sous-unité β constituant le site actif (lie au ribonucléotidediphosphate NDP) et un facteur σ n'intervenant que dans l'initiation de la transcription. La rifampicine se lie par des interactions hydrophobes au

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

niveau de son "anse" à la sous-unité β , empêchant la transcription de l'ADN en ARNm et entraînant ainsi une réduction de la synthèse protéique (Figure 17) [132].

La rifampicine exerce une action bactéricide sur les bacilles intracellulaires et sur les bacilles extracellulaires. Elle a donc une action sur les bacilles quiescents et sur les bacilles en multiplication contrairement à l'isoniazide. Elle est la molécule antituberculeuse ayant la meilleure activité stérilisante et son ajout dans le schéma standard a permis de raccourcir le traitement à neuf mois [136].

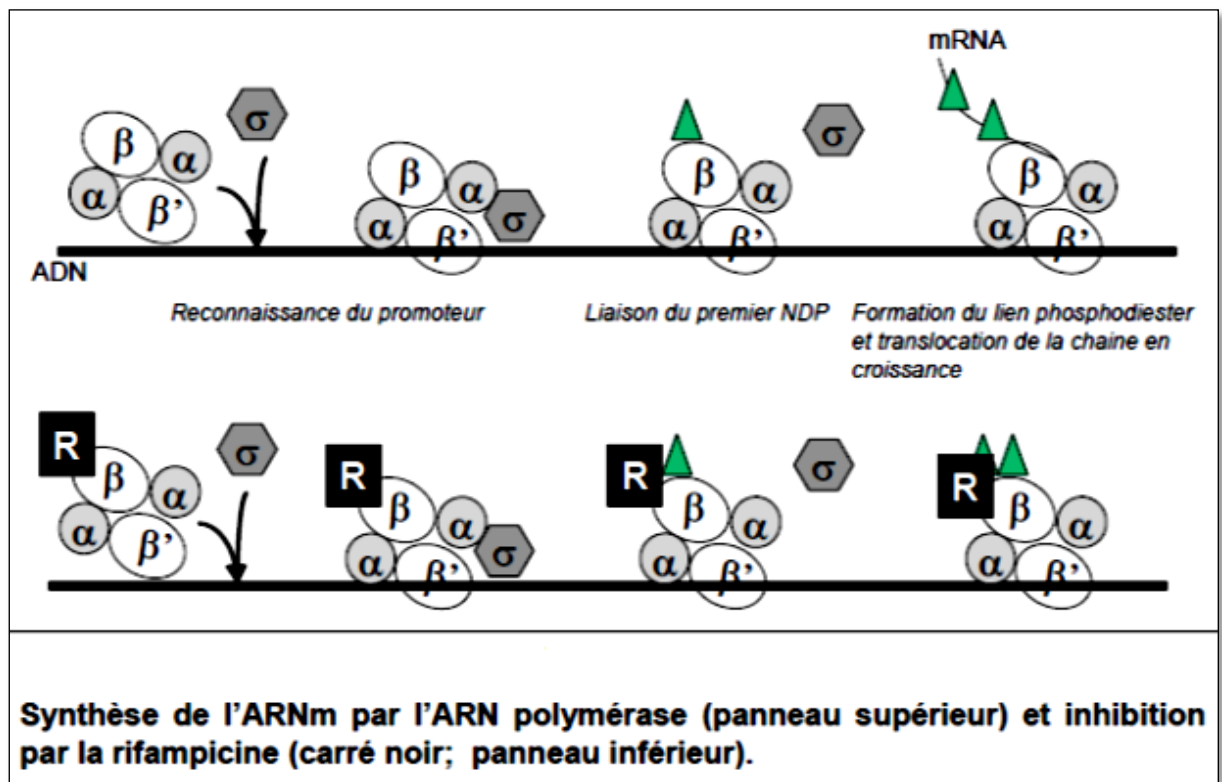


Figure 17 : Effet de la rifampicine sur l'ARN Polymérase bactérienne [137].

Il ya deux types de mécanismes de résistance des bactéries à la rifampicine :

Dans un premier lieu, la résistance naturelle ; du fait de son caractère hydrophobe, la rifampicine présente un mauvais passage à travers la membrane externe des bacilles Gram négatif, d'où une résistance naturelle des entérobactéries et une action plus modérée voire faible pour d'autres bacilles à Gram négatif.

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Dans un second lieu, la résistance acquise ; qui passe par une mutation dans le gène (rpoB) codant pour la cible de l'antibiotique (sous-unité B de l'ARN polymérase). Une seule mutation est suffisante pour conférer une résistance [138].

I.10.4. Pharmacocinétique

a- Absorption

L'absorption digestive de la rifampicine est quasi complète. C'est une molécule lipophile, elle présente une bonne diffusion tissulaire (os, LCR, poumon, foie, rein, tissus mous) et une bonne pénétration intracellulaire [139]. Selon ce qu'on a observé chez des adultes et des enfants dont l'état de santé était normal, sa concentration sanguine maximale varie grandement d'un individu à l'autre. Elle s'établit en moyenne à 7 µg/mL, mais peut se situer entre 4 µg/mL et 32 µg/mL. La prise d'aliments en même temps que la rifampine réduit son absorption, car son absorption est réduite en présence de nourriture [140].

b- Distribution

La rifampicine se distribue largement dans tout l'organisme [140]. Elle présente une bonne diffusion tissulaire (os, LCR, poumon, foie, rein, tissus mous) et une bonne pénétration intracellulaire [139]. Elle se retrouve à une concentration efficace dans un bon nombre d'organes et de liquides organiques, dont le liquide céphalorachidien. La rifampine se lie aux protéines plasmatiques dans une proportion d'environ 80 %. Dans sa majeure partie, la fraction de rifampine non liée ne subit pas d'ionisation et diffuse donc librement dans les tissus [140]. La rifampicine est présente à forte concentration dans la bile car elle subit un recyclage entérohépatique. Elle diffuse bien dans le liquide pleural et le tissu pulmonaire. Sa bonne diffusion intracellulaire explique des concentrations intramacrophagiques deux fois supérieures aux concentrations sériques [140].

C- Métabolisme

Les rifamycines subissent un métabolisme hépatique important, avec principalement une formation de dérivés 25-o-désacétyl, est transformée presque entièrement en un métabolite désacétylé dans un délai d'environ 6 heures. Le métabolite ainsi produit possède un pouvoir antibactérien. La désacétylation réduit l'ampleur de la réabsorption intestinale, ce qui facilite le processus d'élimination [135,144]. La rifampicine est un puissant inducteur enzymatique du

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

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 [4]. Au niveau hépatique : la voie principale est une acétylation grâce à une acétyltransférase sous la dépendance du gène NAT2. La vitesse d'acétylation hépatique est génétiquement déterminée. On parle d'acétylateurs rapides ou lents, et aussi fortement métabolisée sous l'influence du cytochrome P450 (CYP3A4). désacétylée en métabolites actifs : la désacétylrifampicine, la 3-formyl-rifampicine et la rifampicine quinone. Il existe également un métabolite secondaire : la N-déméthylrifampicine [139].

La courte demi-vie de la rifampicine entraîne une induction enzymatique (CYP3A4, CYP2C), apparente dans les 24 h, alors que le phénobarbital, dont la demi-vie est de 3-5 jours, nécessite \cong 1 semaine pour l'induction (CYP3A4, CYP1A2, CYP2C) devenir apparent. Ces réactions d'induction enzymatique se produisent également avec le tabagisme et la consommation d'alcool ou de drogues à long terme et peuvent réduire la durée d'action d'un médicament en augmentant son élimination métabolique. De tous ces médicaments, le médicament le plus problématique sur le plan clinique concerne la série de la rifampicine [146, 147].

D – Elimination

La RMP subit une élimination biliaire (80% de la dose), sous forme intacte ou désacétylée, biologiquement active, mais moins que la rifampicine, et plus hydrosoluble dans un rapport de 20-80%. Elle est contre-indiquée en cas d'obstruction complète des voies biliaires. Donc éliminée par les fèces, l'urine (20%), la salive, les larmes, tous colorés en rouge orangé [4]. La forme inchangée ainsi que la forme désacétylée suivent un cycle entéro-hépatique permettant leur réabsorption, celui-ci étant plus important pour la molécule mère [139]. L'élimination rénale (20% de la dose) est sous forme de rifampicine et de désacétylrifampicine dans un rapport de concentration de 65-35%. Seules des traces de 3-formyl-rifampicine sont retrouvées [148]. L'excrétion biliaire s'effectue en compétition avec celle de la bilirubine ce qui explique une compétition avec les opacifiants iodés à tropisme biliaire et les substances cholagogues [139].

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

Tableau 3 : Rifampicine [109].

DCI	Rifampicine
Spécialité	Rifadine, Rimactan
Famille	Rifamycine
Présentation orale	Gel 300mg, sirop 100mg
Posologie	10-20 mg/kg/jour
Mode d'action	Bactéricide
Bio transformation	Desacetylation hépatique (reste active)
Pic de concentration	2-3h
Demi-vie plasmatique	2h
Liaison aux protéines	75-80%
Excrétion	Biliaire
Diffusion	Bonne pénétration
Spectre d'activité	M.tuberculosis, M.leprae, M.marinum, M.kansassii.
Contre indication	Insuffisance hépatique, ictère franc, porphyries

I.10.5 Effets toxiques

La RMP est un antituberculeux majeur généralement bien toléré. Les effets indésirables sont estimés à environ 6 % des sujets traités [110]. La poursuite ou la reprise du traitement par la rifampicine après l'apparition d'un purpura a entraîné des hémorragies cérébrales et même des décès. Des céphalées, de la somnolence, de la fatigue, de l'ataxie, des étourdissements, des troubles de la concentration, de la confusion mentale, des psychoses, des modifications du comportement, de la faiblesse musculaire, de la fièvre, des douleurs dans les extrémités et des engourdissements généralisés ont été rapportés [148]. Elle touche aussi l'appareil reproducteur et seins des troubles menstruels suivants ont également été signalés, métrorragies, microrragies, aménorrhée, prolongation du cycle menstruel et de la menstruation [148].

Les réactions cutanées attribuables à la rifampicine sont bénignes et spontanément résolutive, et ne semblent pas être des réactions d'hypersensibilité. Habituellement, elles

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

consistent en des bouffées vasomotrices et en une démangeaison s'accompagnant ou non d'éruptions cutanées (prurit/éruption cutanée prurigineuse). Des réactions cutanées plus graves pouvant être attribuées à un phénomène d'hypersensibilité/dermatite allergique sont possibles, mais elles sont peu fréquentes. également il y a des rares cas d'érythème polymorphe, y compris le syndrome de Stevens–Johnson, d'érythrodermie bulleuse avec épidermolyse et de vascularite, des cas de prurit, d'urticaire, d'éruptions cutanées et de réactions pemphigoïdes liés à des réactions d'hypersensibilité au médicament [148]. Le DRESS syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms) induit par les antituberculeux est une entité rare [149]. Il s'agit d'une toxidermie grave dotée d'une mortalité estimée à 10 % [150,151]. Il associe le plus souvent une fièvre élevée, une éruption cutanée (avec œdème du visage et lésions infiltrées), une polyadénopathie, une hyperéosinophilie avec parfois à la présence de lymphocytes activés et des atteintes multiviscérales pouvant mettre en jeu le pronostic vital [152]. Les manifestations digestives sont également courantes douleurs abdominales, nausées, vomissements, anorexie, diarrhée [153], sont fréquemment rencontrés à des doses de rifampicine supérieures à 10mg/kg/j ou lors d'un traitement pris de manière discontinuée [154], Cette intolérance gastro-intestinale se manifeste chez 7 à 28% des patients [155]. Parmi les autres effets indésirables de la rifampicine, Il rencontre également Fréquemment une toxicité hépatique. En monothérapie (prophylaxie de la méningite à méningocoque uniquement), l'hépatotoxicité de la rifampicine est modérée, moins de 5 % d'élévation des transaminases, réversible à l'arrêt du traitement [67]. RMP potentialise l'hépatotoxicité de INH mais n'est que peu hépatotoxique par elle-même (occasionnellement inductrice de cholestase) [156]. Une élévation transitoire du taux de bilirubine est mise en évidence quelques heures après l'administration orale de rifampicine .Ceci est le résultat de l'inhibition de l'excrétion de la bilirubine plutôt que le signe d'une véritable toxicité hépatique à prendre cliniquement en compte [157]. De rares cas de pancréatites ont été rapportés. Quatre facteurs favorisent ces manifestations : un âge avancé, l'éthylisme chronique, une hépatopathie évolutive, l'association de médicaments hépatotoxiques dont l'INH [158, 159, 160]. Le rein est une des principales voies de métabolisme des médicaments mais aussi une cible privilégiée de leurs effets toxiques. En effet, de très nombreux médicaments ainsi que leurs métabolites sont éliminés par le rein par filtration glomérulaire ou par sécrétion tubulaire ou par une combinaison des deux mécanismes [161].

Certains médicaments utilisés dans le traitement de la tuberculose peuvent perturber la fonction rénale. La plupart des cas décrits concernent la rifampicine et se traduisent par une IRA

Chapitre I : Les antituberculeux (Isoniazide / Rifampicine)

sur néphrite interstitielle immunoallergique [162]. Se définit comme une chute brutale de la fonction rénale, accompagnée d'une accumulation de déchets comme l'urée ou la créatinine plasmatique [163]. Le mécanisme de ces accidents rénaux dus à les anticorps responsables de type IgG et/ou IgM qui fixent le complément avec la présence de rifampicine.

En effet l'interaction entre les anticorps rifampicine-dépendant et l'antigène qui s'exprime au niveau de l'épithélium tubulaire rénal va se traduire par des dommages cellulaires liées au complément Une atteinte rénale peut être la cause d'une accumulation de rifampicine lors d'un traitement de longue durée, lors d'un surdosage ou encore un trouble rénal préexistant sans pour autant retrouver d'anticorps rifampicine-dépendant dans le sang [6] Aspects clinique, biologiques et évolution de la néphrotoxicité de la rifampicine et les principales caractéristiques cliniques de ces insuffisances rénales sont un syndrome grippal, une oligo-anurie quasi-constante, des troubles gastro-intestinaux (douleur abdominale, nausées, vomissements et diarrhées), douleur lombaire, rash, oedèmes. Des troubles hématologiques à type d'hyperéosinophilie [164, 165]. Sur le plan biologique d'une thrombopénie et d'une hémolyse, Elle est souvent sévère, nécessitant plusieurs séances d'épuration extra-rénale mais le pronostic est bon et l'évolution se fait habituellement sans séquelles rénales [166, 161, 167], Certains expériences ont montré que : Une augmentation significative des hépatomes a été observée chez les souris femelles après administration de quantités équivalentes à 2 à 10 fois la dose maximale thérapeutique de rifampicine pendant un an. Les études de cancérogenèse sont négatives chez des souris d'une autre souche et chez le rat. La rifampicine est considérée comme n'ayant pas d'effet mutagène chez les bactéries, *Drosophila melanogaster*, et chez la souris. Une augmentation des cassures chromosomiques a été observée sur des cultures cellulaires de sang total traitées par de la rifampicine. Un effet immunosuppresseur de la rifampicine a été rapporté chez le lapin, la souris, le rat, le cobaye, sur lymphocytes humains in vitro et chez l'Homme. Un effet embryotoxique a été observé chez le rat, la souris et le lapin gravides, après administration de dose journalière supérieures à 150 mg/ kg. Chez le rat et la souris, il a été observé une augmentation de l'incidence de spina bifida et de fentes palatines pour des doses similaires [A].

CHAPITRE II : La Gelée Royale

II.1. Historique

Décrite comme conférant l'immortalité aux dieux de l'Olympe chez les Grecs de l'Antiquité, elle est consommée depuis des siècles par les hommes mais n'a été vraiment observée que vers la fin du XVII^e siècle par Swammerdam et par Aristote par la suite. Plus tard, les travaux de divers scientifiques ont montré le rôle de la gelée royale dans la vie de la reine et les possibles applications en médecine humaine [168]. Depuis le début du XX^e siècle, elle s'est imposée dans le marché chinois avec des rôles divers : traitement du diabète, des douleurs articulaires, de la fatigue physique et intellectuelle, de l'hypertension artérielle, de l'hépatite chronique, des troubles menstruels et de l'infertilité. En médecine traditionnelle chinoise, la gelée royale est assimilée à un tonique en cas de carence du Yin. [169]. La gelée royale est cet aliment miraculeux qui permet à une larve d'ouvrière sans destin particulier de se « transformer » en une reine, à partir de la même génétique [170]. Elle est la nourriture unique et exclusive de toutes les larves pendant leurs trois premiers jours de vie puis de la reine pendant toute son existence. La reine vit 50 fois plus longtemps qu'une ouvrière et seule l'alimentation due à la gelée royale fait la différence, puisqu'au départ la reine et l'ouvrière sont génétiquement et anatomiquement identiques. Il s'agit là de la notion d'épigénétisme [171]. En 2011, une publication avait établi que la possibilité pour une larve standard de devenir une reine était due en grande partie à une protéine de 57 kDa appelée royalactine [172].

II.2. Définition

La gelée royale est une sécrétion blanc nacré produite dans les glandes sécrétée par les glandes hypopharyngiennes et les glandes mandibulaires des nourrices, entre le 5^e et le 11^e ou 14^e jour d'âge, stade où ces glandes sont les plus développées [173, 174]. Elle se distingue par des caractéristiques spécifiques : une couleur blanchâtre qui devient jaune au contact avec l'air (**Figure 18**), une odeur caractéristique du phénol, un goût gélatineux, visqueux

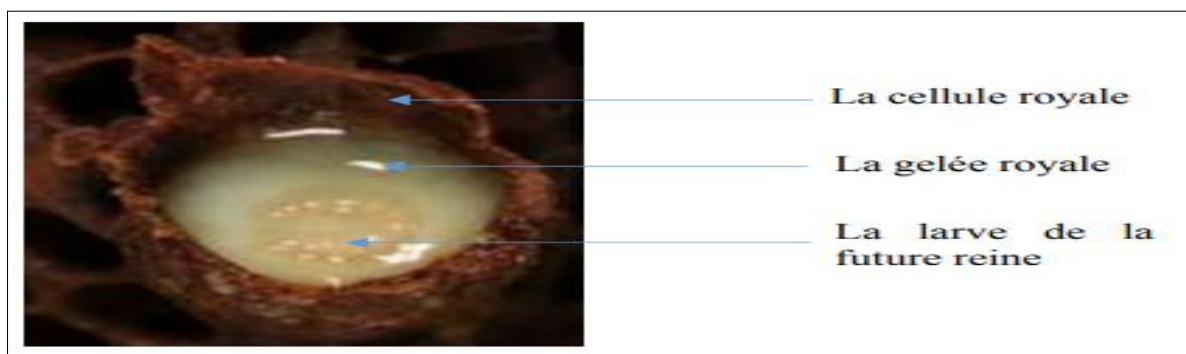


Figure 18 : Une cellule royale contenant une larve de future reine et la gelée royale [177].

[175], fortement acide et légèrement amer avec une odeur âcre [176].

Ces dernières ingurgitent du pollen qu'elles pré-digèrent. La gelée royale est donc composée en grande partie d'acides aminés et d'eau. Toutes les vitamines du pollen y sont également présentes dont certaines en concentration importante [178]. La gelée royale est constituée de 2 phases : la blanche et la claire (**figure 19**). La gelée royale destinée aux larves de futures reines est différente de celle destinée aux larves d'ouvrières ou de mâles. Les larves de futures reines sont celles recevant le plus de phase blanche. Le premier jour, elles reçoivent 50% de phase blanche contre 20% pour les larves d'ouvrières. Ensuite, la proportion de phase blanche diminue légèrement pour les larves royales et fortement pour les autres. Des fluctuations existent aussi en fonction des saisons. En résumé, la composition de la gelée est différente en fonction des castes. Donc de gelée royale pour les larves de futures reines et de gelée nourricière pour les larves d'ouvrières et de mâles [179]

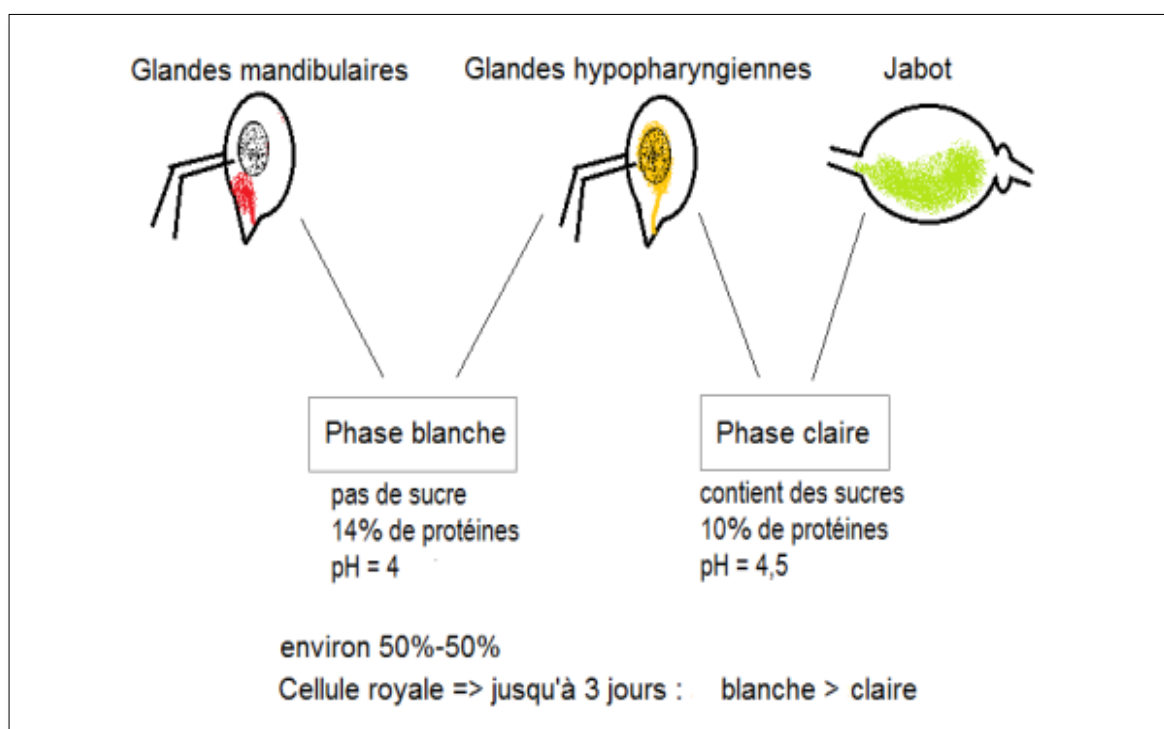


Figure 19 : constitution et production de la gelée [179].

II.3. Origine de Gellé Royale :

La Gelée Royale est produite par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des nourrices, de jeunes abeilles nourricières. Ces abeilles peuvent en fabriquer 300 à 800 grammes par ruche et par année. Cette fabrication est liée à la présence de pollens. Pendant sa vie, une

ouvrière peut avoir besoin d'environ 160 à 180 mg de pollen avec une moyenne de 20% d'azote pour fabriquer le gelée royale [180].

II.4.Composition de la gelée royale :

La composition de la gelée royale peut varier selon :

- L'âge de la larve
 - L'âge de la nourrice
 - L'environnement.
 - Les conditions de conservation
 - Les méthodes d'analyse

En effet, la composition de la gelée royale varie à fonction de l'âge des larves. Selon **Elser, 1919** la quantité de protides diminue après le deuxième jour de vie de la larve à l'inverse des sucres qui croissent par ailleurs, la gelée royale s'enrichit en eau au fil des jours. Au contraire, [182] montre que la matière sèche et les cendres minérales diminuent avec le temps alors que les protéines augmentent [183], Ces deux études, bien qu'en désaccord sur le sens des variations des différents composants de la gelée royale en fonction de l'âge, confirment que la composition varie avec le temps.(**La figure 20**) présentes les pourcentages des principales familles de nutriments présents dans la gelée royale et La composition moyenne générale est décrite dans le tableau ci-dessous (**Tableau4**) [184].

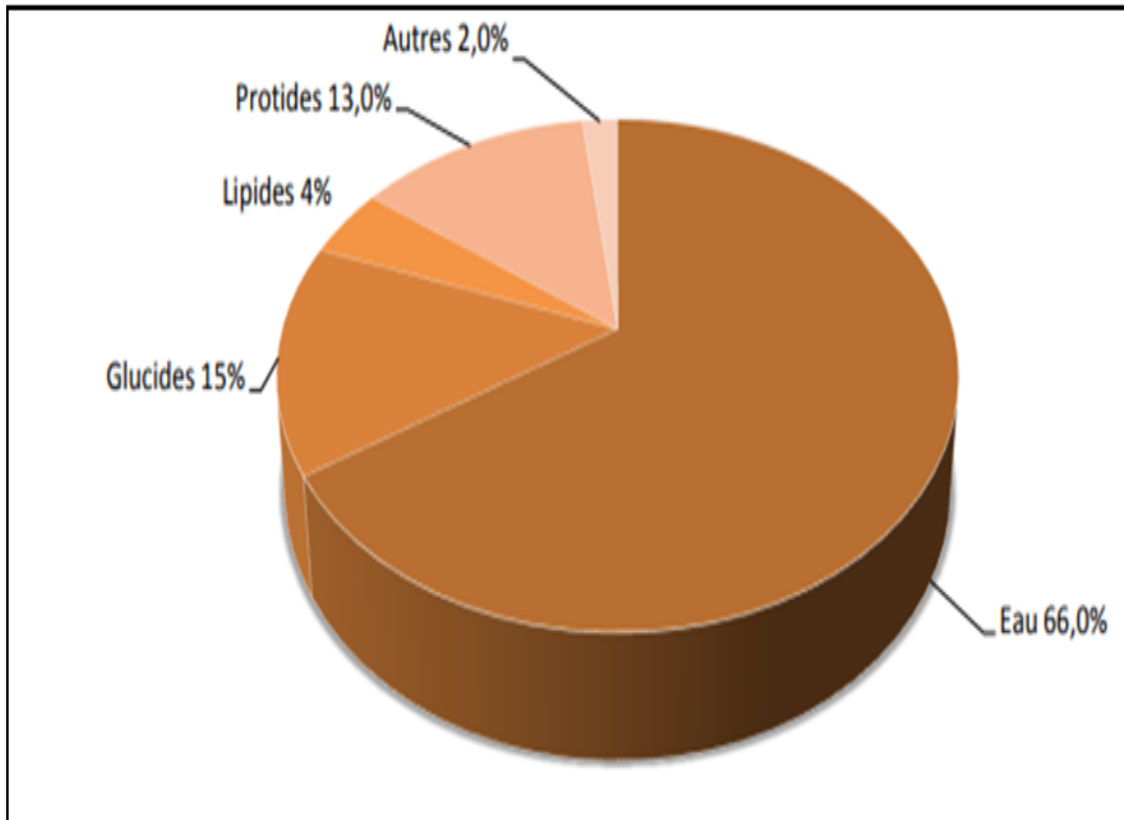


Figure 20 : composition moyenne de la gelée royale [184].

Tableau 4 : composition moyenne de la gelée royal [185].

Composition	Pourcentage total	Type de composés	Principaux composants
Eau	57 à 70 % (moyenne 70 %)		
Hydrates de carbone	14 %	Monosaccharides	Glucose et fructose
		Disaccharides	Saccharose, maltose...
		Polysaccharides	Mélibiose, erlose, ribose...
Protides	13 %	Acides aminés (dont les 8 essentiels)	Proline, lysine, leucine, arginine, valine, phénylalanine...
		Peptides	Défensine (la royalisine), apisimine, jelleines I, II, III, IV...
		Protéines	MRJP1, MRJP2, MRJP 3, MRJP4
Lipides	4,5 %	Acides gras	<i>Trans</i> -10-hydroxy-2-décénoïque...
		Stérols	Cholestérol et stigmastérol
		Cires	
		Phospholipides	
Substances diverses	2 à 8 %	Minéraux	K, Na, Mg, Ca, Fe, Zn, Cu, S, P, N, C...
		Vitamines	B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8 ou H, inositol, B9, (B12, C A, D, E, K)
		Enzymes	Glucose-oxydase, ...
		Acétylcholine 1mg/g	
		Hormones (gelée fraîche)	(Estradiol, testostérone, progestérone)
		Acides nucléiques (gelée fraîche)	(ADN et ARN)

II.4.1.L'eau

L'eau est l'un des composants majeurs de la gelée royale. La relative constante humidité est assurée par la rapidité entre la synthèse et la distribution aux larves de la gelée royale, l'hygroscopie propre à celle-ci ainsi que l'effort collectif des habitants de la ruche pour maintenir une humidité ambiante optimale [186].

II.4.2. Les glucides

Le glucose et le fructose sont présents en proportions similaires, à savoir 9,76% pour le premier et 11,32% pour le second ; le saccharose quant à lui est beaucoup moins présent avec 0,94% [177].

II.4.3. Les lipides

Les acides gras libres représentent à eux seuls la partie lipidique de la gelée royale avec 80 à 90 % de la matière sèche. L'absence des triglycérides et des diglycérides est à noter. L'acide gras le plus important est l'acide 10-hydroxy-trans-2-décénoïque (10H2DA) car il tient un rôle central dans l'activité de la gelée royale, des dérivés de cet acide sont également retrouvés sans que leurs activités ne soient identifiées [177,184]. L'acide 10-hydroxy-trans-2-décénoïque (10H2DA) joue un rôle important dans les propriétés biologiques de la gelée royale (rôle antibactérien, antifongique et immunostimulant) [187]. Ainsi que la détermination de la qualité de la gelée royale [188]. Il participerait à la résistance unique de la reine dans la ruche et sa longévité. Certains acides volatiles sont également présents. On retrouve aussi les acides adipiques, pimélique, subérique et le 24-méthylène-cholestérol. Lercker et al. (1982) ont identifié 31 acides organiques et 7 stérols, dont le cholestérol. Quelques lipides neutres et des hydrocarbures similaires à ceux de la cire complètent la fraction lipidique [179].

II.4.4. Les minéraux

La gelée royale présente une faible quantité des minéraux (0,3à 8%) il s'agit du potassium, calcium, sodium, magnésium, zinc, fer, cuivre, et du manganèse [187].

II.4.5. Les vitamines

La gelée royale est très riche en vitamines du groupe B (**tableau 5**). C'est la source naturelle la plus riche en vitamine B5. Les vitamines liposolubles A, D, E et K sont présentes en quantités négligeables [189, 179]. Elle comporte de nombreuses vitamines, notamment la B1 (la thiamine qui produit de l'énergie à partir de sucre, permettant ainsi le bon fonctionnement cérébral), la B5 (l'acide pantothénique stimule l'immunité, diminue la fatigue physique et intellectuelle et antistress), qui participe au métabolisme cellulaire. Les vitamines C et B12 sont présentes en quantité moindre [190].

Tableau 5 : Teneurs moyennes en vitamines de la gelée royale [191].

<i>vitamine</i>	<i>teneur (µg/g)</i>	<i>vitamine</i>	<i>teneur (µg/g)</i>
<i>B₁</i>	1,5-7,4	<i>B₇</i>	80-150
<i>B₂</i>	5,3-10	<i>B₈</i>	0,9-3,7
<i>B₃</i>	60-150	<i>B₉</i>	0,2
<i>B₅</i>	65-200	<i>B₁₂</i>	0,15
<i>B₆</i>	2,2-10,2	<i>C</i>	12

II.4.6. Les Enzymes

Productions des glandes salivaires de la nourrice, la gelée royale comprend quelques enzymes dont la glucose-oxydase, un précurseur de l' α -glucosidase et le glucose déshydrogénase [192].

II.4.7. Les protéines, peptides, acides-aminés

La gelée royale est fortement riche en protéines qui sont représentées dans un groupe de 5 protéines dont l'apalbumine ou MRJP 1 (MRJP : Major Royal Jelly Protéines) avec une proportion de 80% [177].

Il y aurait au total plus de 200 protéines différentes dans la gelée royale alors que moins de la moitié a été identifiée à l'heure actuelle. Les peptides et les protéines de faible poids moléculaire sont majoritairement issus de fragmentation des protéines MRJP. Le représentant le plus important étant la royalisine, un peptide qui possède des propriétés antibactériennes (figure 21) [193].

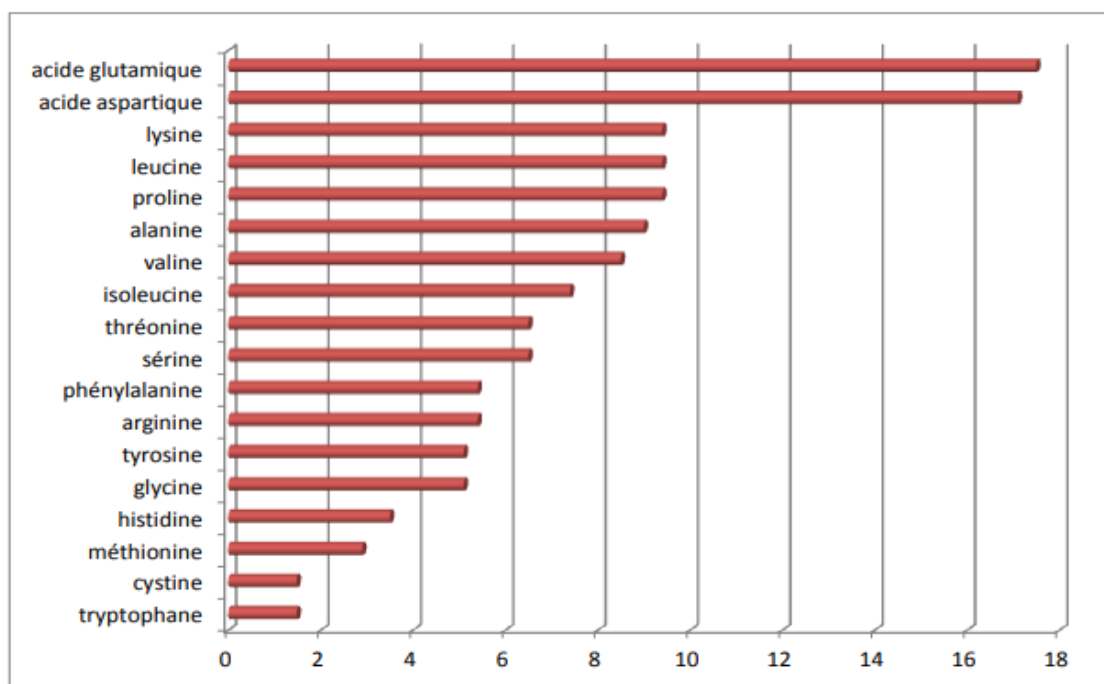


Figure 21 : teneurs moyennes (mg/g) en acides aminée de la gelée royale [189].

II.4.8. Pigments

La gelée royale possède quelques flavonoïdes comme la catéchine et l'épicatéchine [189].

II.4.9. Autres

- Acétylcholine (jusqu'à 1 mg/g) [194].

- Facteurs antibactériens [194].
- Hormones sexuelles : œstradiol, testostérone, progestérone [194].
- Facteurs hypoglycémiant et hyperglycémiant [189].
- Substances similaires aux citoquinines et gibberelines [189].
- Gélatine : précurseur du collagène [191].
- Acides nucléiques : ADN et ARN [191].
- Néoptérine, c'est un dérivé de la guanine triphosphate qui est synthétisé par le système immunitaire humain au cours d'affections faisant intervenir l'immunité cellulaire. C'est un antioxydant, mais elle induit également l'apoptose [191].

II.5. Technique de récolte

La gelée royale étant produite en quantité minime au sein de la ruche, les apiculteurs ont dû ruser pour augmenter la production de cette substance aux propriétés revitalisantes.

En effet, la gelée royale est produite grâce aux sécrétions hypopharyngées et des glandes mandibulaires des abeilles nourricières dans le but de nourrir les larves et la reine de la ruche. La production couvre à peine les besoins alimentaires. Les apiculteurs ont instauré une technique pour amplifier la quantité de gelée royale. Ils retirent la reine de la ruche et placent des cadres dans la ruche avec des ébauches de cellules royales dans lesquelles ils placent des larves d'abeille âgées de 12 à 36 heures. Les ouvrières vont alors nourrir en abondance ces cellules royales en fabriquant de plus en plus de gelée royale pour donner naissance à une nouvelle reine.

Après 3 jours, les cellules sont remplies de gelée royale dans lesquelles baignent les larves. Ensuite les cadres sont retirés pour prélever la substance gélatineuse par aspiration cellule par cellule. Une ruche peut donner de 300 grammes à un 1 kilogramme de gelée royale. Ensuite, cette dernière est placée en flacon de verre hermétique puis stockée au froid (température inférieur à 5°C), à l'abri de l'humidité et de la lumière. La conservation peut être de plusieurs mois. On trouve également de la gelée royale sous forme lyophilisée en capsule ou en gélule, en ampoule sous vide, en flacon, en comprimé ou mélangée avec du miel [190].

II.6. Méthode de fabrication par l'abeille :

Les abeilles produisent exclusivement la quantité nécessaire à leurs besoins et ne font pas de réserve comme avec le miel. Il s'agit donc d'un produit noble de production très limitée et de très haute valeur ajoutée [195]. La gelée royale est un des seuls constituants de la ruche qui n'est pas fabriqué à l'aide de matière extérieure comme le pollen ou le nectar des fleurs, mais entièrement composé de sécrétions des abeilles (sécrétion hypo-pharyngienne et des glandes

mandibulaires). La gelée royale est fabriquée pour nourrir la reine et toutes les larves de la ruche durant leurs trois premiers jours de vie, ce qui permet de multiplier leur poids par 1000. Par la suite elles seront nourries de pollen et de nectar, seule la reine et les larves destinées à le devenir continueront à se nourrir exclusivement de cette substance gélatineuse blanchâtre. La tâche de fabrication de la gelée royale est confiée aux jeunes abeilles, âgées de 4 à 10 jours, nommées nourricières. Pour pouvoir fabriquer cette substance, les nourricières doivent consommer du miel, du pollen et du nectar récoltés dans les fleurs afin de permettre la maturation de leurs glandes qui secrèteront la base de la gelée royale. Les glandes hypo-pharyngiennes et mandibulaires, une fois bien développées, situées dans la tête de l'abeille ouvrière, secrètent les différents composants de la gelée royale.

Après leur dixième jour de vie, les glandes hypo-pharyngiennes vont s'atrophier et l'abeille ne pourra plus produire de gelée royale [190].

II.7. Propriétés

La gelée royale possède de nombreuses propriétés notamment au niveau métabolique, nutritif et énergétique. Elle est, de plus, d'une innocuité totale même à doses élevées. Elle peut par exemple favoriser l'oxygénation des tissus, augmenter la résistance au froid, stimuler l'appétit et accroître la vitalité. Ses propriétés eupeptiques, analgésiques, hypocholestérolémiantes, érythropoïétiques sont connues et elle possède des applications intéressantes dans certaines douleurs rhumatismales, dans la croissance des prématurés et dans certains symptômes rénaux rencontrés au cours de la grossesse [168]. La gelée royale également l'utiliser comme antiviral contre l'herpès ou la grippe ou comme antibactérien contre *Escherichia coli* et *Proteus*. De plus, la gelée royale trouve une indication dans les états de convalescence, de fatigue physique et morale [196, 197, 198, 199].

II.7.1. Action immunostimulante

La gelée royale stimule les organes hématopoïétiques et donc la production de globules rouges et blancs, particulièrement utile dans les anémies fonctionnelles du sujet âgé. Elle stimule l'appétit et la prise de poids grâce à son activité eupeptique et régulatrice des troubles digestifs fonctionnels. Également source de bien-être en stimulant, euphorisant, tonifiant l'organisme, ceci améliorant le rendement physique, intellectuel et sexuel notamment chez les sportifs ou encore les étudiants en période d'examens [200]. Le 10H2DA et la γ -globuline qui la composent seraient responsables de la stimulation des Organes hématopoïétiques, donc de la prolifération cellulaire et de la production d'anticorps. D'autre part l'amélioration du rendement physique et

intellectuel confère un État de bien-être général, une tonicité et de l'euphorie bénéfiques à l'immunité [201].

La gelée royale, grâce à son action immunostimulante, va aider à lutter contre les agressions, va retarder les effets du vieillissement sur les phanères et la peau (grâce à la richesse en vitamine B5) et possède des propriétés anti-tumorales [202].

II.7.2. Action revitalisante sur le métabolisme

La gelée royale stimule l'appétit et la digestion. Par la richesse de sa composition et donc l'action synergique de ses constituants, elle prépare l'organisme à augmenter son métabolisme [203,204]. Parmi ceux-ci, particulièrement significative est la présence d'acide pantothénique ou vitamine B5, considéré comme le principal responsable des effets de la gelée royale sur la longévité de la reine des abeilles. Les propriétés toniques et revitalisantes sont soutenues par la présence de substances à action stimulante sur le fonctionnement des glandes internes, en particulier les glandes surrénales, les ovaires et les testicules. Au niveau pédiatrique, des recherches documentées tendent à prouver comment la prise de gelée royale influe assurément avec le gain de poids, la normalisation des processus de digestion, une meilleure récupération en présence de malnutrition. Des améliorations érythropoïétiques sont démontrées chez les personnes âgées et chez les patients atteints de formes légères de dépression. D'autres recherches confirment le niveau anti-anémique et euphorisant au niveau sénile.

Les propriétés biologiques de la gelée royale se basent sur les actions catalisatrices et enzymatiques non spécifiques favorisant l'activation métabolique cellulaire. La prise de gelée royale soutiendra donc les fonctions physiologiques et l'endurance physique, et ceci s'avère particulièrement utile chez les enfants et les personnes âgées [205].

Une étude menée sur des rats montre que des injections de gelée royale quotidienne pendant 7 semaines augmentent la prise de poids et la résistance à la fatigue. La gelée royale stimule les surrénales et le métabolisme. Riche en acides nucléiques, elle aide l'organisme lors d'infections ou de maladies [191].

II.7.3. Action antibactérienne et antivirale

Des études ont démontré les propriétés bactériostatiques et bactéricides de la gelée royale et notamment contre les colibacilles que sont *Proteus* et *Escherichia coli* et contre le bacille de Koch à l'origine de la tuberculose [196, 197, 198]. Ainsi, deux substances ont été identifiées: l'acide hydroxytransdecénoïque et une protéine appartenant à la famille des gammaglobulines

seraient à l'origine de cet effet antibactérien. Toutefois, d'autres substances sont impliquées comme la royalisine, d'origine protéique [206]. En 2010 il en est de même avec la découverte de la royalisine. Des chercheurs japonais ont montré que cette protéine était impliquée dans la stimulation du système de défense de l'organisme. Son action antibactérienne vise les bactéries gram positif, *Bacillus larvae*, *Sarcina lutea*, de nombreux virus et champignons

En parallèle, le 10-hydroxy-2-décénoïque stimule nos défenses immunitaires en augmentant la production d'anticorps, en présence de virus et est aussi capable de réguler l'inflammation qui l'accompagne [207].

II.7.4. Action régénératrice

La gelée royale participe à l'équilibre neuropsychique grâce à sa forte teneur en acétylcholine et en vitamines du groupe B. Ainsi, elle a un effet antidépressif, anxiolytique et favorise l'attention en améliorant l'oxygénation du cerveau. Elle aiderait, grâce à sa richesse en produits antioxydants, à retarder les effets du vieillissement et diminuerait le risque de maladies dégénératives chez la personne âgée, mais là encore, aucune étude réellement concluante sur l'homme n'est venue confirmer cette hypothèse [200]. Dans les traitements curatifs, elle peut être conseillée chez le sujet d'un certain âge en stimulant le système immunitaire, en luttant contre les effets secondaires de certains médicaments et grâce à son action revitalisante [208]. Elle tient en l'action du 10H2DA qui stimule la production de facteurs de croissance. Certains acides aminés tels que la proline, en intervenant dans la synthèse de collagène et d'élastine, et l'arginine, en stimulant la multiplication cellulaire, appuie son activité cicatrisante [209].

II.7.5. Propriétés anti-oxydantes

La gelée royale a montré son activité antioxydant dans plusieurs domaines sur les animaux [210]. Grâce à sa richesse en produits antioxydants, Elle contient des oligoéléments et des vitamines comme le miel, jouent un rôle protecteur vis-à-vis des radicaux libres. En plus de la vitamine C, la gelée royale contient de la vitamine E à l'état de trace qui possède des propriétés anti-radicalaires et anti-inflammatoires, expliquant son action protectrice contre les effets nocifs du soleil [185]. Les composants polyphénoliques de la gelée royale qui seraient responsables de son activité antioxydante [211]. Lors de cancers, elle diminue le stress oxydatif provoqué par les irradiations [210]. Elle diminue le stress oxydatif induit par le méthotrexate [212]. De plus, dans l'atteinte hépatique médicamenteuse avec le paracétamol, la gelée royale permet de limiter l'insuffisance hépatique. La gelée royale est un hépatoprotecteur. Ces thérapies sont instaurées chez l'animal sur de longues durées. Pour la plupart, elles interviennent dans un

cadre de prévention, et peu en curatif, ce qui revient au problème de l'évaluation des conséquences du stress oxydatif. Il semble donc intéressant de le prévenir par une complémentation à base de gelée royale [213, 214] ont teste le pouvoir antioxydant de la gelée royale sur des Rats contaminés par fumonisine (FB), mycotoxine produite par *Fusarium verticilloides*. Elle serait potentiellement responsable de cancer de l'œsophage chez l'homme. L'étude montre que les rats traités par fumonisine seule voient leurs taux d'Alanine Amino Transférase (ALAT), l'Aspartate Amino Transférase (ASAT), cholestérol, triglycérides, High Density Lipoprotein (HDL), LDL, créatinine et acide urique augmenter par rapport au contrôle. Les rats, traités par Fumonisine qui reçoivent 100 mg/kg de gelée royale ont leurs paramètres biologiques cités ci-dessus légèrement augmentés contrairement à ceux qui reçoivent 150 mg/kg de gelée royale qui ont des valeurs similaires à celles du groupe contrôle pour les ALAT, ASAT, cholestérol, LDL et HDL. Les taux de triglycérides, de créatinine et d'acide urique restent élevés pour ce groupe. Les variations des marqueurs biologiques engendrées par la fumonisine indiquent une atteinte hépatocellulaire. Le niveau de stress oxydatif a été évalué par mesure du malondialdéhyde (MDA), marqueur d'oxydation.

Le traitement par gelée royale seule augmente le statut anti oxydatif (SOD, GPX) et diminue le taux de MDA. Les groupes traités par fumonisine et gelée royale ont les taux de MDA, SOD et GPX plus élevés que le contrôle, cependant plus la quantité de gelée royale est élevée plus les SOD et GPX sont élevées et moins le MDA est élevé. Cette étude montre que la gelée royale a un pouvoir antioxydant marqué et l'analyse histologique menée met en avant ses propriétés hépatoprotectrices et néphroprotectrices chez le rat [214].

II.7.6. Propriétés anti-inflammatoires

Les effets antioxydants, antibactériens, anti-inflammatoires et cicatrisants font de la GR un excellent composé des produits cosmétiques et les produits de soin de la peau.

Une étude *in vitro* a démontré que, la gelée royale semblerait inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF α), par les macrophages activés avec le lipopolysaccharides (LPS) et l'IFN β , de façon dépendante de la dose, et sans effets cytotoxiques sur les macrophages.

Ce qui suggère que la GR contient des facteurs, parmi lesquels la protéine majeure 3 (MRJP3) qui inhibe la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires [215].

Une étude réalisée en 1990 a démontré que l'administration de gelée royale par voie orale favorise la cicatrisation chez des souris diabétiques en présentant un effet antiinflammatoire et en favorisant la formation du tissu de granulation [216].

II.7.7. Action anticancéreuse

La gelée royale aurait une action sur l'ADN des cellules cancéreuses, hypothèse vérifiée chez la souris dans des études réalisées au Japon et au Canada. L'acide hydroxytransdecenoïque, acide gras de la gelée royale, serait la source de cette activité. Également, des travaux ont montré qu'elle était efficace dans les cas de leucémie chez l'enfant en stimulant l'appétit et donc la résistance physique.

Cependant, le rôle de la gelée royale dans la prévention du cancer chez l'homme n'a pas encore été démontré [217]. La gelée royale est reconnue pour ses effets de facteur de croissance en stimulant la multiplication des cellules normales mais peut tout aussi bien exercer ceux-ci au niveau des cellules malignes, idée non encore démontrée et en opposition avec l'action sur le système immunitaire du produit de la ruche [218].

II.8. Effets indésirables

La gelée royale n'est soumise à aucune contre-indication précise (en dehors du cas particulier des patients cancéreux) et est reconnue d'une totale innocuité [196, 197, 198]. À partir de l'âge de 6 ans, pratiquement tout le monde peut consommer de la gelée royale, sauf en cas d'allergie, car la réaction allergique n'est pas à exclure due à sa concentration en protéine. Chaque individu réagit différemment par rapport aux allergènes de notre environnement. Si la personne est allergique à d'autres produits de la ruche ou aux piqûres d'abeilles, se traduisant souvent par de l'eczéma ou de l'asthme, on lui interdira la consommation de gelée royale. Pour ceux qui ne savent pas s'ils sont allergiques, il faut commencer par de faibles doses afin de déceler toute allergie. Une inflammation de la peau peut apparaître après application locale de gelée royale [190].

MATERIELS ET METHODES

III.1 Matériel biologique et conditions d'élevage

Notre étude a été réalisée sur un groupe de 15 lapins males de la race *Oryctolagus Cuniculus*. Provenant de la région de Khenchela, d'un poids pesant entre (1800±200) g.

Les lapins sont placés en 3 groupe, les lapins étaient entretenus dans des cages métalliques à raison de 5 animaux par cage, Ces lapins ont été soumises à une période d'adaptation d'un 15 jours environ, à une photopériode naturelle.

Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Elles ont accès à l'eau et à l'aliment sous forme de granulés en plus des carottes et le pain dur concassé

III.2. Le traitement des lapins

Après la période d'adaptation, les lapins ont été répartis en 3 lots de 5 lapins, chacun ont été traités comme suit :

- **groupe (T)** : groupe de témoin a reçu uniquement l'eau physiologique par gavage
- **Lot (L1)** : chaque lapins ont reçu un volume de 2ml en isoniazide/rifampicine de concentration (75/150 mg) par vois oral (gavage) pendant 2 semaines successive
- **Lot (L2)** : les lapins traités par 2ml isoniazide/rifampicine (75/150 mg) et 2ml la gelée royale (10mg/ml)/ 2 semaines successive.

III.3. Sacrifice

Le sacrifice et prélèvement du sang et les organes a été fait au niveau du laboratoire de la faculté science biologique de Khenchela.

III.3.1. Prélèvement du sang

Les prélèvements du sang sont réalisés immédiatement avec des tubes à d'EDTA au moment de l'abattage (03 tube d'EDTA pour chaque lapin). Le sang récupéré est immédiatement centrifugé à 4000 t/min pendant 10 minutes à 10°C centrifugeuse, et le plasma est stocké au congélateur à -20°C et servira à la détermination des différent paramètres biochimiques.

III.3.2. Dissection et prélèvement des organes

Ensuite une dissection des lapins a été faite pour obtenir les organes (foies, riens) ces dernières sont mesuré leur poids. Les organes sont conservés dans le formole (dilution 10 fois) pour faire des coupes histologique au niveau du laboratoire d'anapath au El hamma de

Khenchela, Les étapes de notre expérience sont résumées dans le protocole suivant que présent dans la figure(22)

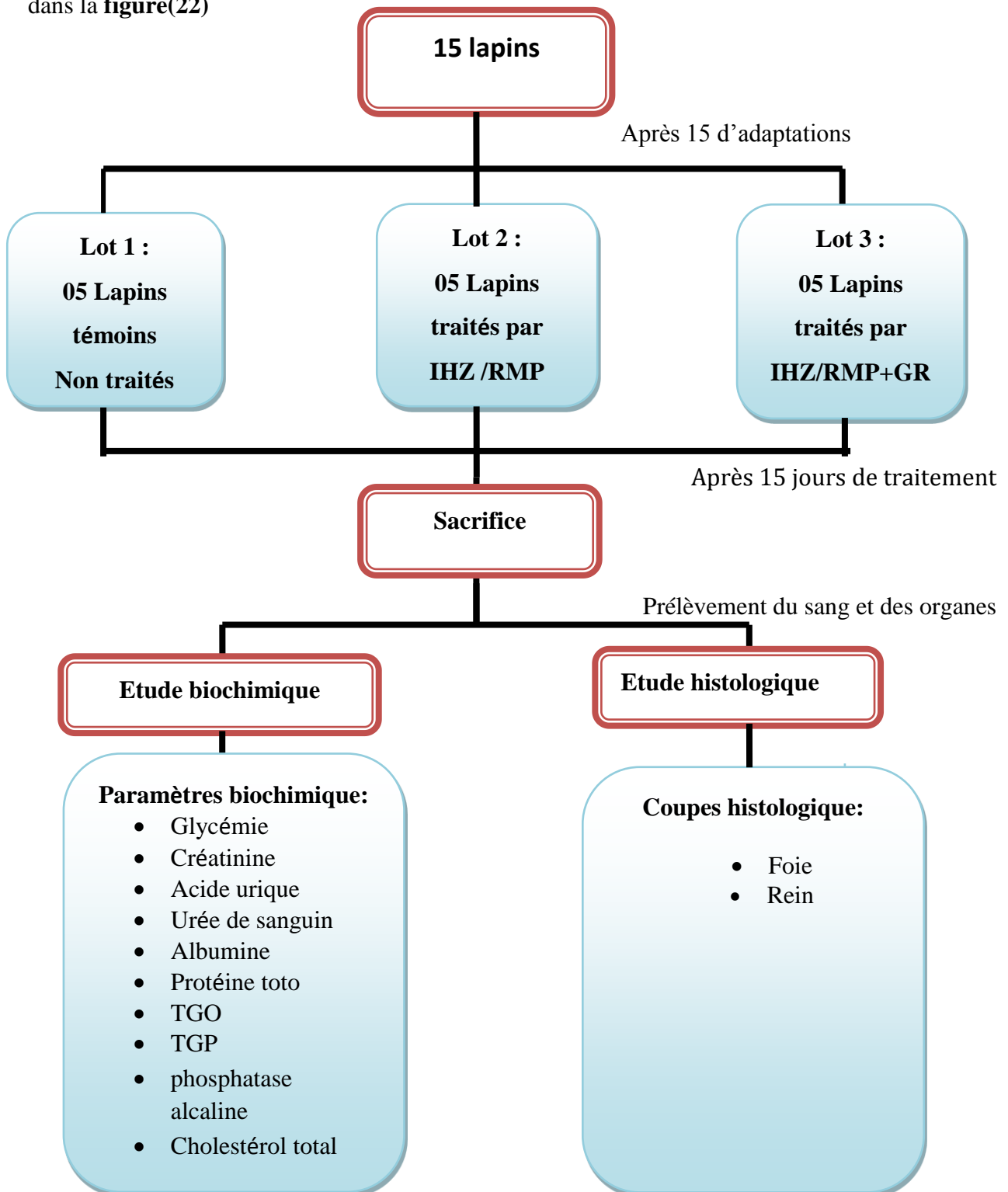


Figure 22 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

III.4.les paramètres biochimique

Les paramètres analysés sont : Glucose, Cholestérol, Triglycéride, Glutamopyruvate Transférase (TGO), Glutamooxaloacétate Transférase (TGP), Phosphatase Alcaline (PAL), Albumine total, Urée, Acide Urique, Créatinine.

Ces analyses effectuées à une longueur d'onde caractéristique pour chaque dosage. Le dosage des paramètres analysés est accompli par des kits "spinreact".

L'appareille utilisé est un L'analyseur semi-automatique de biochimie encore appelé spectrophotomètre Modèle BA-88 est équipé d'un logiciel simple et facile a utilisé .avec un L'écran tactile. Cet anlyseur semi-automatique de biochimie est doté de deux port USB permettant ainsi la connexion d'un clavier et d'une imprimante



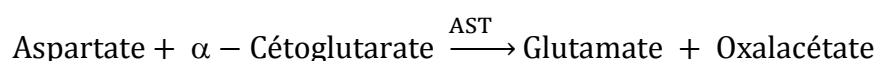
Photos 1 : Appareille de l'automate du laboratoire de l'hôpital Ahmad Ben Balla Khenchela (photo personnel)

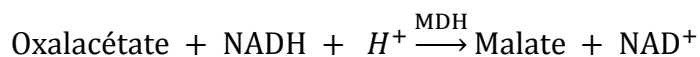
III.4.1. dosage de Transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO)

Le dosage de Transaminase glutamique-oxaloacétiquea été réalisé par la méthode enzymatique cinétique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ Principe

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





La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon [219]

➤ **Réactifs**

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

➤ **Préparation**

Réactif de travail : Dissoudre une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1, refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissout.

➤ **Procédure**

Réactif de travail (mL)	1,0
Echantillon (μ L)	100

Mélanger et incuber pendant 1 minute, Lire à 340 nm l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes et Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

➤ **Calcul de la concentration**

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

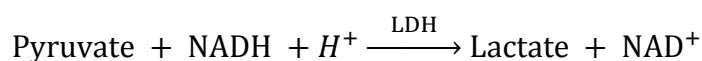
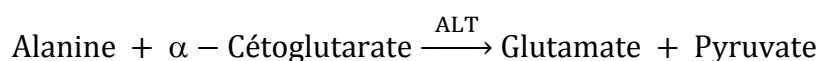
$\Delta A/\text{min}$: la valeur moyenne des trois lectures par minute.

III.4.2. dosage de Transaminase glutamo-pyruvique (TGP)

Le dosage de Transaminase glutamo-pyruvique a été réalisé par la méthode enzymatique cinétique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ Principe

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



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon [219] .

➤ Réactif

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

➤ Préparation

Réactif de travail : Mélanger: 1 vol de (R2) Substrats + 4 vol. (R1) Tampon.

➤ Procédure

Réactif de travail (mL)	1,0
Echantillon (μL)	100

Mélanger et incuber pendant 1 minute, Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbance à chaque minute pendant 3 minutes. Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).

➤ Calcul de la concentration

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

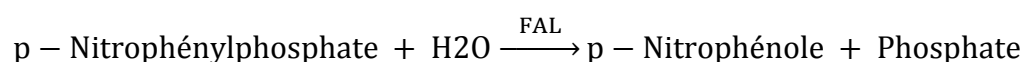
$\Delta A/\text{min}$: la valeur moyenne des trois lectures par minute.

III.4.3. dosage de phosphatase alcaline (PAL)

Le dosage de phosphatase alcaline a été réalisé par la méthode enzymatique cinétique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ Principe

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé [220,221]

➤ Réactifs

Réactif 1 : Tampon	Diéthanolamine (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
	Chlorure de magnésium	0,5 mmol/L
Réactif 2 Substrats	p-Nitrophénylphosphate (pNPP)	10 mmol/L

➤ Préparation

Réactif de travail : dissoudre un comprimé du R2 dans une fiole du R1, Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

➤ Procédure

Réactif de travail (mL)	1,2
Echantillon (μL)	20

Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon à 405 nm, mettre en marche le chronomètre et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.

Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute (A/min)

➤ **Calcul de la concentration**

$$A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$$

A/ min : la valeur moyenne des trois lectures par minute.

III.4.4. Dosage de l'Albumine

Le dosage de l'Albumine a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ **Principe**

L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vertbleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé [222,223,224]

➤ **Réactifs**

Réactif	Vert de bromocrésol pH 4,2	0,12 mmol/L
Albumine cal	Étalon primaire de détection de l'albumine	5 g/dL

➤ **Préparation**

Réactif de travail : Le réactif et le étalon sont prêts à l'emploi.

➤ **Procédure**

	Blanc	standard	Echantillon
Réactif (mL)	1.0	1.0	1.0
Reference (µL)	-	5	-
Echantillon (µL)	-	-	5

Mélanger et incubé pendant 1 min. Lire l'absorbation (A) du standard et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif à 630 nm. La couleur reste stable pendant 1 heure à température ambiante.

➤ **Calcul de la concentration**

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

III.4.5. Dosage de Protéines totales

Le dosage du Protides .T à été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ Principe

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent du iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé [225,226]

Réactifs

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

➤ Préparation

Réactif de travail : tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

➤ Procédure

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (µL)	-	25	-
Echantillon (µL)	-	-	25

Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C. Lire l'absorbation (A) du L'étalon et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif à 540 nm. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

➤ Calcul de la concentration

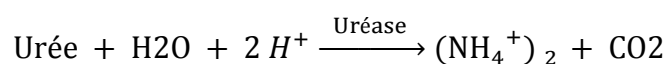
$$\text{Protéines totales(g/dL)} = \frac{(A)\text{Échantillon}}{(A)\text{Étalon}} \times 7 \text{ (Étalon conc.)}$$

III.4.6. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinreac.

➤ Principe

l'uréase hydrolyse l'urée en ammonium (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2). Les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite en présence du nitroprussiate, pour former un indophénol vert selon les réactions suivant :



L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon [227]

➤ Réactifs

Réactif 1 : Tampon	Phosphate pH 6,7	50 mM/L
	EDTA	2 mM/L
	Salicylate de sodium	400 mM/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mM/L
Réactif 2 : NaClO	Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mM/L
	Hydroxyde de sodium	150 mM/L
Réactif 3 : Enzymes	Uréase	3000 U/L
Urée calibrateur	Urée aqueuse (standard)	50 mg/dL

➤ Préparation

Réactif de travail : Dissoudre un comprimé de R3 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement.

➤ Procédure

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0

Etalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)			10

Mélanger et incuber 5 min à 37°C.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

Mélanger et incuber 5 min à 37°C. Lire l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon, contre le blanc à 580 nm. La couleur est stable pendant 30 minutes.

➤ **Calcul de la concentration**

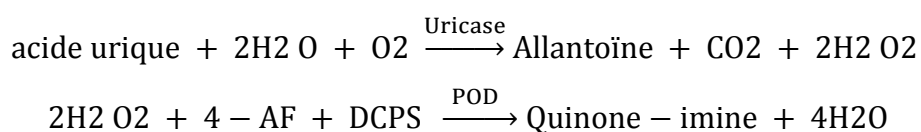
$$\text{Urée (mg/dL)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 50 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

III.4.7. Dosage de l'acide urique

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinreac.

➤ **Principe**

L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne et peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) lequel, en présence de peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et 2-4 DichlorophénolSulfonate (DCPS), forme un composé rosacé selon les réactions suivant :



L'intensité de quinone-imine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présent dans l'échantillon testé [228]

➤ **Réactifs**

Réactif 1 : Tampon	Phosphates pH 7,4	50 mmol/L
	2-4 DichlorophénolSulfonate	4 mmol/L

	(DCPS)	
Réactif 2 : Enzymes	Uricase Peroxydase (POD) Ascorbate oxydase 4 - Aminophénazone (4-AF)	60 U/L 660 U/L 200 U/L 1 mmol/L
Acide urique calibrateur	Étalon primaire aqueux d'Acide urique	6 mg/dL

➤ Préparation

Réactif de travail : Mélanger des volumes égaux de Réactif 1 Tampon et de Réactif 2 Enzymes.

➤ Procédure

	Blanc	Étalon	Échantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon(µL)	-	25	-
Échantillon (µL)	-	-	25

Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 15-25°C. Lire l'absorbance (A) de l'Étalon et l'échantillon contre le Blanc du réactif à 520 nm. La couleur est stable au moins 30 minutes.

➤ **Calcul de la concentration** Acide urique (mg/dL) = $\frac{(A)_{\text{Échantillon}}}{(A)_{\text{Étalon}}} \times 6 \text{ (Conc. Étalon)}$

III.4.8. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine a été réalisé par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact.

➤ Principe

Le test de la créatinine repose sur la réaction de la créatinine en contact avec le picrate de sodium, tel que décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe rougeâtre. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer la plupart des interférences connues de la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé [219].

➤ Réactifs

Réactif 1 : Réactif Picrique	Acide picrique	17,5 mmol/L
Réactif 2 : Réactif alcalinisant	Hydroxyde de sodium	0,29 mol/L
Creatinincalibrateur	Patron première de détection de créatinine	2mg / dl

➤ Préparation

Réactif de travail : mélanger deux volumes égaux de reactif Picrique et Réactif alcalinisant.

➤ Procédure

	Blanc	Étalon	Échantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon(μL)	-	100	-
Échantillon (μL)	-	-	100

Régler le spectrophotomètre à zéro en fonction de l'eau distillée.

Mélanger, déclencher le chronomètre. Lire à 492 nm la densité optique (A1) après 30 secondes et la densité optique (A2) après 90 secondes.

➤ Calcul de la concentration

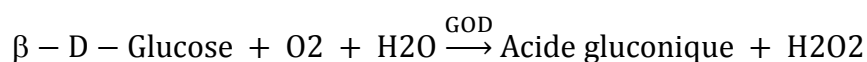
$$\text{Créatinine } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) = \frac{(\Delta A) \text{ Echantillon} - (\Delta A) \text{ Blanc}}{(\Delta A) \text{ Etalon} - (\Delta A) \text{ Blanc}} \times 2 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

III.4.9. Dosage de glucose

La glycémie est la présence physiologique de glucose dans le sang, ou plus exactement dans le plasma sanguin. Presque toutes les techniques actuelles reposent sur l'utilisation de la glucose-oxydase, couplée à une réaction colorimétrique.

➤ Principe

La glucose-oxydase (GOD) catalyse l'oxydation de glucose en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Le H₂O₂ produit oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) en présence de peroxydase (POD) selon les réactions suivantes :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans l'échantillon testé.

➤ **Réactifs**

Réactif 1 : Tampon	Tris pH 7,4	92 mM/L
	Phénol	0,3 mM/L
Réactif 2 : Enzymes	Glucose oxydase (GOD)	15000 U/L
	Peroxydase(POD)	1000 U/L
	4-Aminophenazone (4-AP)	2,6 mM/L
Glucose calibrant	Glucose aqueux (standard)	100 mg/dL

➤ **Préparation**

Réactif de travail : dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un flacon de tampon R 1. Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

➤ **Procédure**

Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.

	Blanc	Étalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10

Mélanger, incuber pendant 10 min à 37 °C ou 15-20 min à une température ambiante. Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

➤ **Calcul de la concentration**

$$\frac{(A)\text{Échantillon} - (A)\text{Blanc}}{(A)\text{Étalon} - (A)\text{Blanc}} \times 100 (\text{Étalon conc})$$

$$= \text{mg/dL de glucose dans l'échantillon}$$

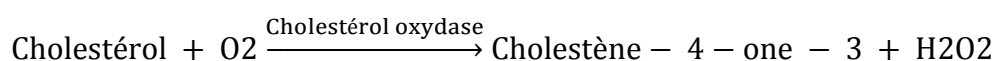
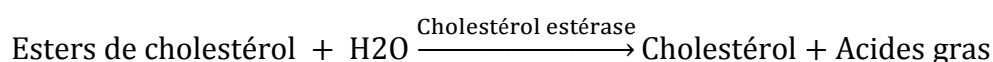
III.4.10. Dosage de cholestérol

Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ Principe

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phenol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

➤ Réactifs

Réactif 1 : Solution tampon	Pipes pH 6.9	90 mmol/l
	Phenol	26 mmol/l
Réactif 2	Cholesterol oxydase	300 U/l
	Cholesterolesterase	300 U/l
	Peroxydase	1250 U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
Réactif 3 : Standard		200 mg/dl

➤ Préparation

Dissoudre le contenu d'une bouteille de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement.

➤ Procédure

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10

Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 37 °C ou 10 min. à température ambiante. Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif à 505 nm. La couleur reste stable pendant au moins 60 minutes.

➤ Calcul de la concentration

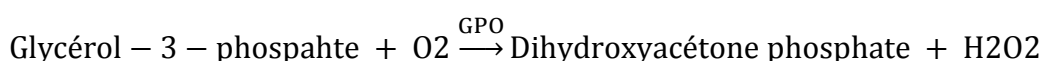
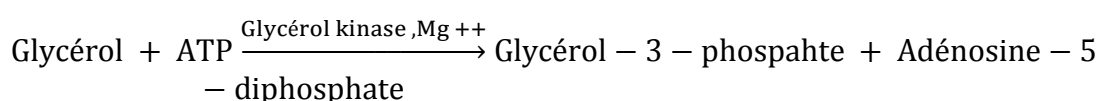
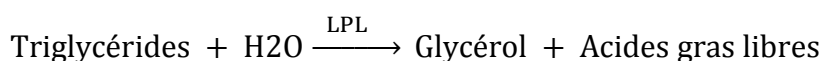
$$\text{Cholesterol(mg/dL)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

III.4.11. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinreact.

➤ Principe

les triglycérides incubés avec la lipoprotéïnlipase (LPL), libèrent le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-diphosphate (ADP) par la glycérol kinase et l'adénosine triphosphate (ATP). Le glycérol-3-phosphate (G3P) est alors converti par la glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec 4-aminophénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de la peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge. Le protocole comprend donc les réactions suivantes :





➤ Réactifs

Réactif 1 : Solution tampon	Tampon pipes pH 7,2 Chloro-4-phénol	50 mmol/l 2 mmol/l
Réactif 2 : Enzymes	Lipoproteine lipase Glycérokinase Glycérol-3-Oxydase Péroxydase Amino-4-antipyrine ATP	150000 U/l 800 U/l 4000 U/l 440 U/l 0,7 mmol/l 0,3 mmol/l
Réactif 3 : Standard	Standard glycérol (en trioléine)	200 mg/dl 2 g/l 2,28 mmol/l

Préparation

Réactif de travail : dissoudre le lyophilisat R2 avec un flacon de tampon R1.

Stabilité du réactif de travail : 1 semaine à 20-25°C 4 semaines à 2-8°C.

➤ Procédure

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10

Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C ou 10 min à température ambiante. Lire l'absorption (A) du l'étalon et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif à 505 nm. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

➤ Calcul de la concentration

$$\text{Triglycérides (mg/dL)} = \frac{(A)\text{Echantillon}}{(A)\text{Etalon}} \times 200 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

III.5. Technique histologiques

Les coupes histologiques ont été réalisées à services d'anatomie pathologique EPH (établissement publique hospitalisé) Ahmed Ben Bella kenchela, suivant la technique décrite par **Martoja et al (1967) [229]**. La technique comporte les étapes suivantes :

III.5.1. Fixation et préparation des cassettes

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique. Elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des lapins et prélèvement des organes. Des fragments de foie (surface 1 à 2 cm² et épaisseur 2 mm) et le rein ont été alors mis dans le formol qui constitue le fixateur classique le plus utilisé. Il permet de durcir l'échantillon sans l'abîmer. Après 48 heures de fixation les pièces d'organes sont retirées du formol puis rincées à l'eau distillée. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent.



Photos 2 : Coupe l'échantillons et placé dans les cassettes (photo personnelle).

III.5.2. Déshydratation des échantillons

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, on assiste donc à une substitution par le xylène. La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des

bains d'éthanol à concentration croissante (70 %, 95 % et 100 %), puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, dans l'étuve, le xylène s'évapore des pièces anatomiques. Cette étape est réalisée par un appareil appelé « automate déshydratation ».



Photos 3 : Déshydratation des échantillons par un appareil automate déshydratation (photo personnelle).

III.5.3. Inclusion et réalisation des blocs

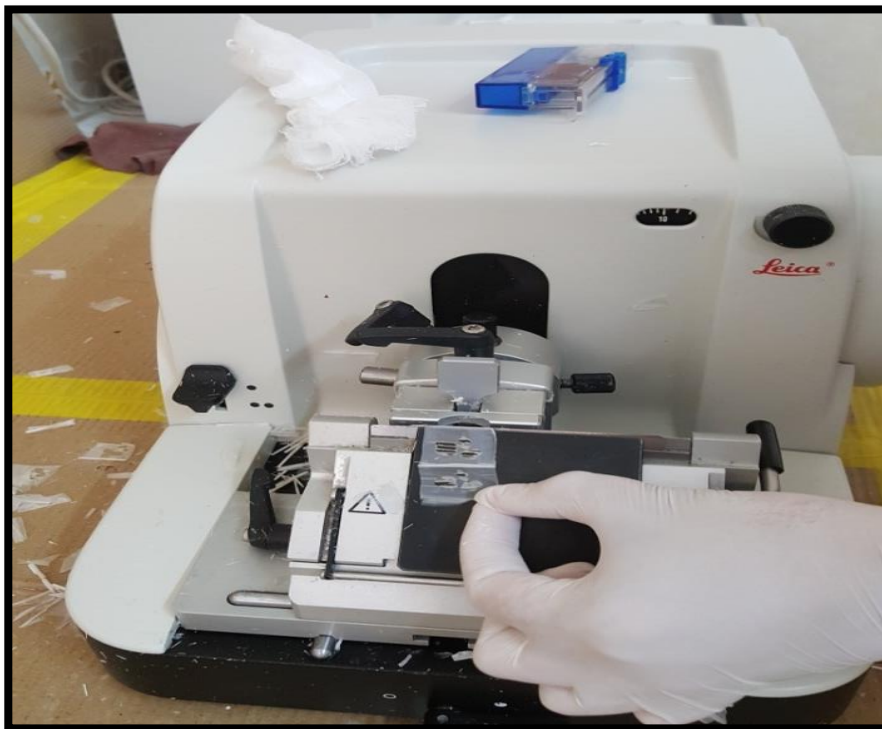
Elle ne peut être satisfaisante que si l'échantillon est complètement déshydraté et ne contient plus de solvant intermédiaire (alcool). Les pièces sont plongées (2 heures) dans des bains de paraffine liquide fondue à 60°C. Les échantillons étant imbibés de paraffine sont placés dans des moules appelés les barres de Leuckart, puis sont remplis de paraffine. Cette opération fait appel à des appareils « compact d'enrobage » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour aboutir à la solidification rapide (10 à 15 min) du bloc de paraffine contenant le tissu.



Photos 4 : Inclusion et réalisation des blocs par appareil compact d'enrobage (photo personnelle).

III.5.4. Confection des coupes

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome de 4 à 5 μm . Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porteobjet, puis dépliés et fixés par une eau gélatineuse chauffée à 40 °C. Les lames sont marquées au nom des différents lots à l'aide d'un crayon d'argent, ensuite séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.



Photos 5 : couper les blocs de paraffine par microtome à rotation (photo personnelle).

III.5.5. Coloration

Il existe plusieurs méthodes de coloration qui varient en fonction des tissus. La méthode de l'Hématéine-Eosine (HE) est la plus utilisée. La coloration suit les étapes suivantes

- Déposer les coupes dans un bain de xylène pendant 15 minutes afin de déparaffiner les échantillons et faire pénétrer les colorants.
- La réhydratation des coupes se fait par passage dans un bain d'éthanol pendant 10 minutes puis hydrater les lames par l'eau du robinet.
- Immerger les coupes dans un bain d'Hématéine (10 minutes) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux cellulaires). Rincer à l'eau courante.
- Le deuxième colorant utilisé est l'éosine qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasmes cellulaires). Rincer à l'eau courante.

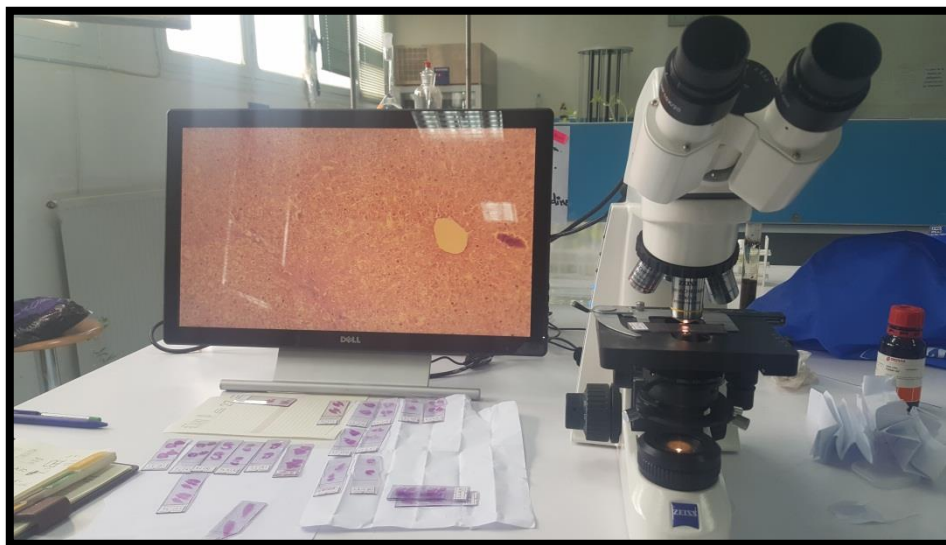
III.5.6. Montage

Après la coloration, on fait la fixation de lamelle sur la lame par eukitt, et en fin on obtient une lame préparée et conservée durant long temps (environ 10 ans) Cette étape permet la :

- Protection mécanique des coupes.
- Protection chimique des colorants.

III.5.7. Observation

On utilise le microscope optique équipé d'un appareil photographique pour observer les résultats par l'agrandissement x10, x40, x100.



Photos 6 : microscope optique équipé d'un appareil photographique (photo personnelle).

III.6. Evaluation statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes \pm écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test de Student t. qui est basé sur la comparaison des moyennes deux à deux : entre le groupe témoin et chaque des groupes traités, en utilisant le logiciel MINITAB 13. La valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

$p < 0,05$ = la différence est significative*;

$p < 0,01$ = la différence est hautement significative** ;

$p < 0,001$ = la différence est très hautement significative*** ;

NS = la différence est non significatif par apport au groupe témoin.

Avec P: Seuil de signific

RESULTATS ET DISCUSSION

IV. Résultats et Discussion

IV.1 Les paramètres biochimiques

IV.1.1. Variation de taux du Transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO)

L'analyse des résultats présentée une augmentation de concentration de **TGO** chez lapins traités avec **INH/RMP** par comparaison à celle du lapin témoins. Cette augmentation est statistiquement significative.

Par contre, nous avons enregistré une légère diminution non significative de créatinine chez le lot traité par **INH/RMP +GR** par rapport au lot témoin, (**Le tableau 6**) et (**La figure23**) montrent ces résultats.

Tableau 6 : variation du concentration de TGO chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP(L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)

Paramètre	Les lots expérimentaux		
TGO	T	L1	L2
	38,25±4,11	64,75±9,54**	37,50±4,51

** $P \leq 0,01$: Différence statistiquement hautement significative

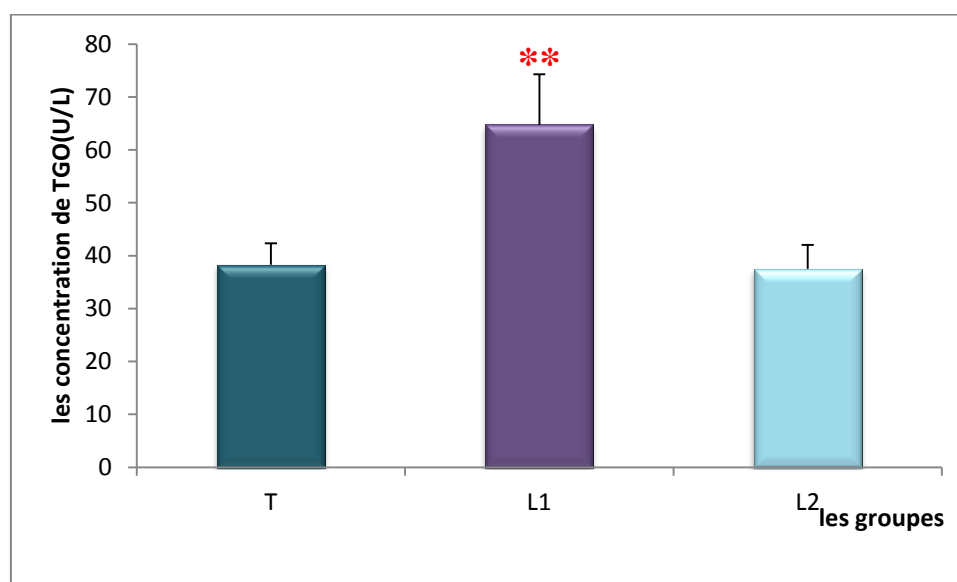


Figure23 : Concentration de TGO des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP(L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2)

IV.1.2. Variation de taux du Transaminase glutamo-pyruvique (TGP)

Les résultats présentés une augmentation de concentration de **TGP** chez lapins traités avec **INH/RMP** par comparaison à celle des lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement hautement significative

Cependant, nous avons enregistré une augmentation significative de d'urée sanguine chez le lot traité par **INH/RMP +GR** par rapport au lot témoin, (**Le tableau7**) et (**la figure24**) montrent ces résultats.

Tableau7 : variation de la concentration de TGP chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP(L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)

Paramètre	Les lots expérimentaux		
TGP	T	L1	L2
	35,50±2,52	47,00±3,56**	41,25±3,67*

* $p \leq 0,05$: différence statistiquement significative

** $P \leq 0,01$: Différence statistiquement hautement significative

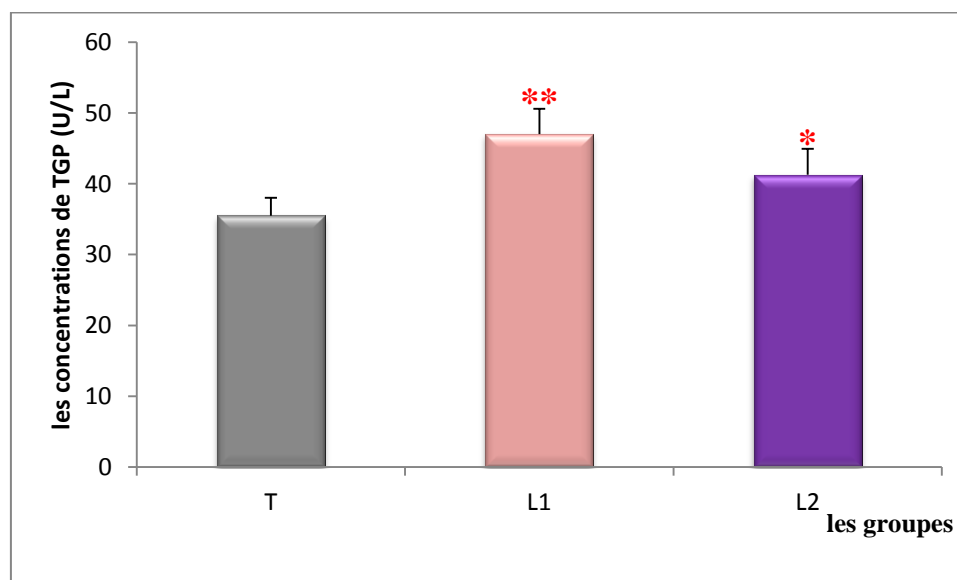


Figure24 : Concentration de TGP des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP (L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2)

IV.1.3. Variation de taux du phosphatase alcaline (PAL)

Les résultats qui présentés dans, le **tableau 8** et la **figure 25** révèlent que il y a une diminution très hautement significative de concentration de PAL chez le lot traité par L'INH +RMP par comparaison à celle du lot témoin. Par contre, nous avons enregistré une augmentation non significative de PAL chez le lot traité par INH + RMP+GR par rapport au lot témoin.

Tableau 8 : variation de la concentration sérique de PAL chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.

Paramètre	Les lots expérimentaux		
phosphatase alcaline	T	L1	L2
	770±46,3	372,8 ±53,6***	755±75,4

*** $P \leq 0,001$: Différence très hautement significative.

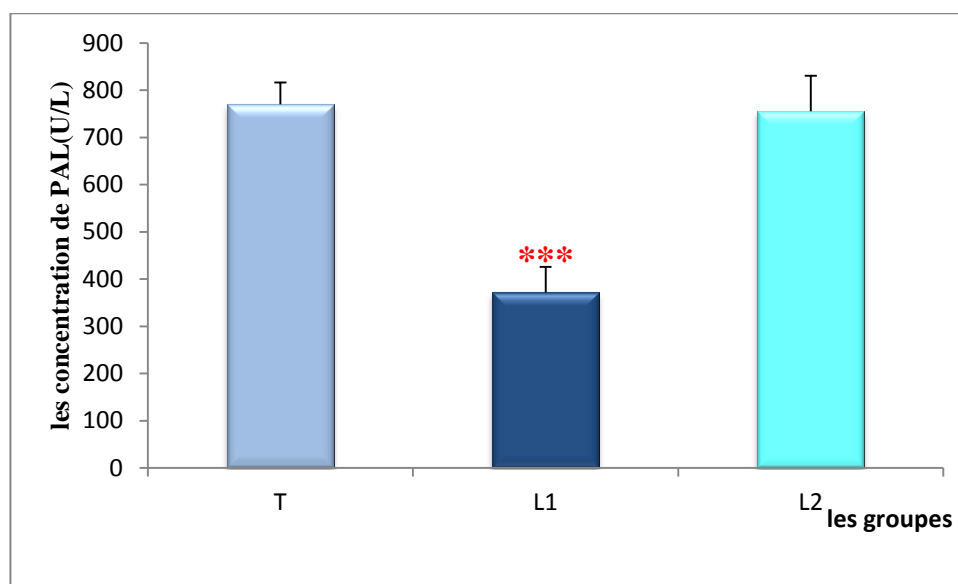


Figure 25 : le taux de PAL chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2)

IV.1.4. Variation de taux de l'Albumine (ALb)

L'analyse des résultats présentée une augmentation hautement significative de concentration de l'Albumine chez le lot traité par L'INH +RMP par comparaison à celle du lot témoin.

Par contre, nous avons enregistré une augmentation non significative de l'Albumine chez le lot traité par INH + RMP+GR par rapport au lot témoin, (**Le tableau9**) et (**la figure26**) montrent ces résultats.

Tableau9 : variation de la concentration sérique de l'Albumine chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	T	L1	L2
ALb	25 ,33±2,64	32,1±0,66**	27,38±1,77

** $P \leq 0,01$: Différence hautement significative

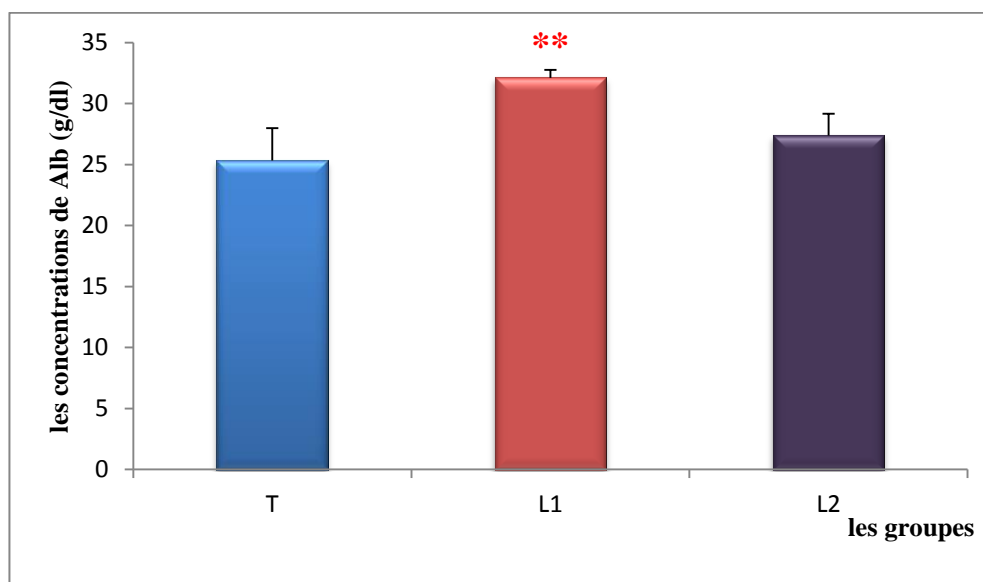


Figure26 : le taux de l'Albumine chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2)

IV.1.5. Variation de taux du Protéine Totale

En registre une augmentation significative de concentration de protéine T chez le lot traité par L'INH +RMP par comparaison à celle du lot témoin

Par contre, nous avons observé une augmentation non significative de l'Albumine chez le lot traité par INH + RMP+GR par rapport au lot témoin qui présente dans, (**Le tableau10**) et (**la figure27**).

Tableau10 : variation de la concentration sérique de protéine T chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale

Paramètre	Les lots expérimentaux		
protéine T	T	L1	L2
	65,4±6,77	72,43±5,86*	65,33±5,91

* $P \leq 0,05$: Différence significative

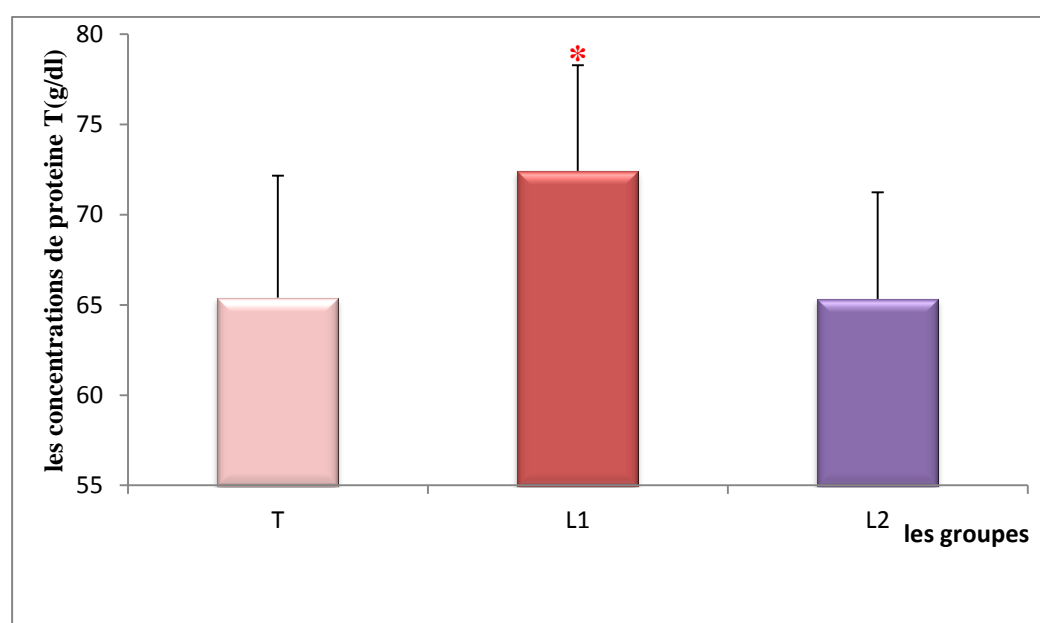


Figure 27 : le taux de Protéine T chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2)

IV.1.6. Variation de taux d'urée sanguine

Les résultats montrent qu'il y a une augmentation de concentration d'urée sanguine chez lapins traités avec **INH+RMP** par comparaison à celle des lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement hautement significative. Cependant, nous avons enregistré une augmentation significative de d'urée sanguine chez le lot traité par **INH+RMP +GR** par rapport au lot témoin, (**Le tableau 11**) et (**La figure28**). Montrent ces résultats.

Tableau11 : variation de la concentration d'urée sanguine chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP(L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	T	L1	L2
urée sanguine	0,190±0,01	0,290±0,025**	0,230±0,07*

* $p \leq 0,05$: différence statistiquement significative

** $P \leq 0,01$: Différence statistiquement hautement significative

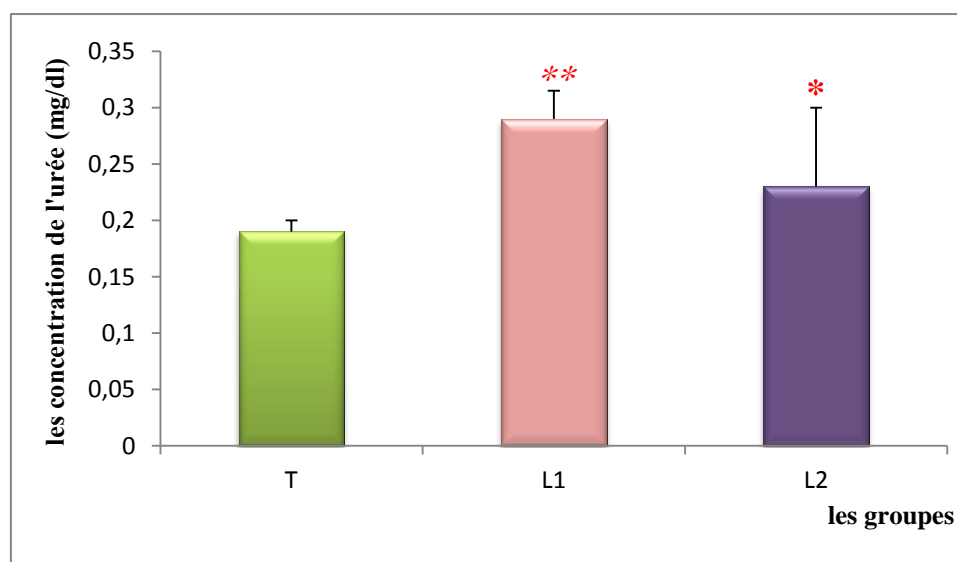


Figure28 : Concentration d'urée sanguine des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP(L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2)

IV.1.7. Variation de taux d'acide urique

D'après les résultats, on remarque une augmentation de concentration de l'acide urique chez lapins traités avec **INH+RMP** par comparaison à celle des lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement très hautement significative. Par contre, nous avons enregistré une légère diminution non significative de créatinine chez le lot traité par **INH+RMP +GR** par rapport au lot témoin, (**Le tableau12**) et (**La figure29**) montrent ces résultats.

Tableau12 : Variation du concentration de l'acide urique chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP(L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)

Paramètre	Les lots expérimentaux		
Acide urique	T	L1	L2
	0,525±0,32	2,350±0,819***	0,300±0,216

*** $P \leq 0,001$ = la différence est très hautement significative

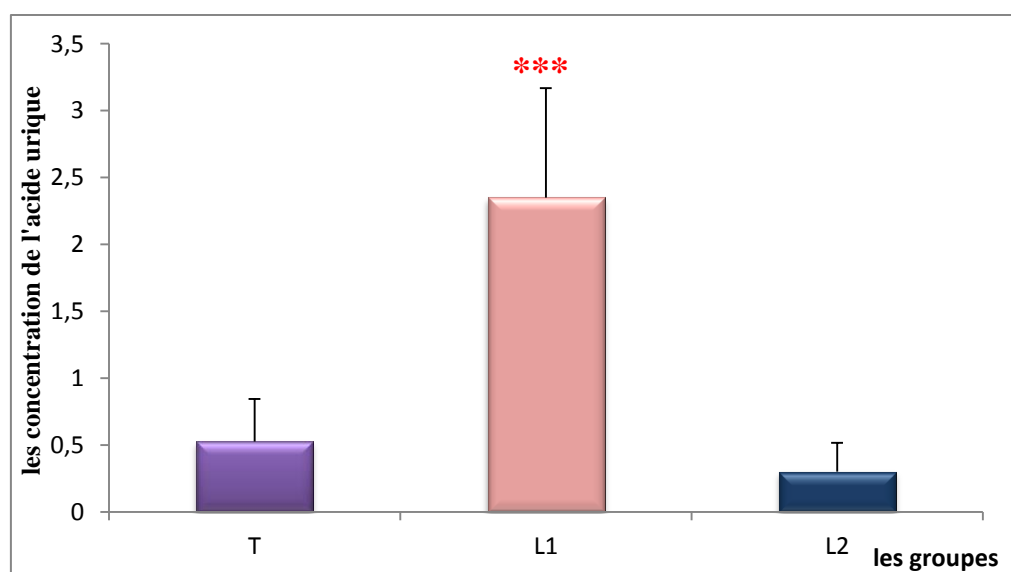


Figure29 : Concentration de l'acide urique des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP(L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2).

IV.1.8. Variation de taux du Créatinine

L'analyse des résultats présenté une augmentation de concentration de créatinine chez lapins traités avec **INH+RMP** par comparaison à celle des lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement significative Par contre, nous avons enregistré une légère diminution non significative de créatinine chez le lot traité par **INH+RMP +GR** par rapport au lot témoin, (**Le tableau13**) et (**La figure30**) montrent ces résultats.

Tableau 13 : variation de la concentration de la créatinine chez le lot témoins (T) et les différents lots traités au INH\RMP(L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)

Paramètre	Les lots expérimentaux		
Créatinine	T	L1	L2
	8,50±2,04	10,97±1,94*	7,65±1,86

* $p \leq 0,05$: différence statistiquement significative

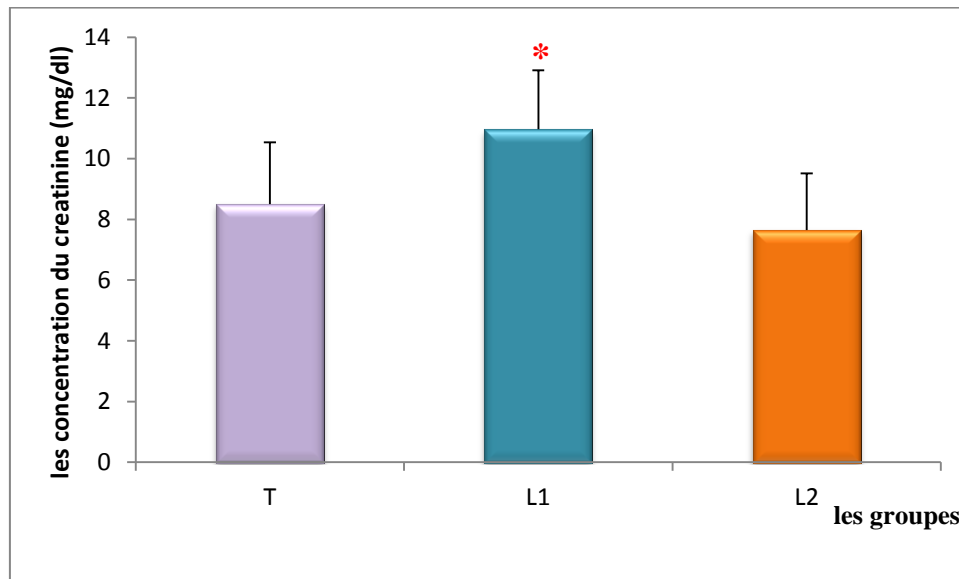


Figure30 : Concentration du créatinine des lapins témoins (T) et traités avec INH\RMP(L1) et les lapins traités avec INH+RMP +GR (L2)

IV.1.9.variation de taux du Glucose

L'analyse des résultats présentée une augmentation de concentration du glucose chez les lapins traités avec **INH+RMP** par comparaison à celle des lapins témoins. Cette augmentation est statistiquement significative.

Par contre, nous avons enregistré une augmentation non significative de glucose chez le lot traité par **INH+RMP +GR** par rapport au lot témoin, (**Le tableau14**) et (**La figure31**) montrent ces résultats.

Tableau14 : Variation du concentration de glucose chez le lot témoins (T) et les différents lots traité au INH\RMP(L1) et la combinaison INH+RMP et GR (L2)

Paramètre	Les lots expérimentaux		
Glucose	T	L1	L2
		1,145 ±0,271	1,460±0,06*

* $p \leq 0,05$: différence statistiquement significative

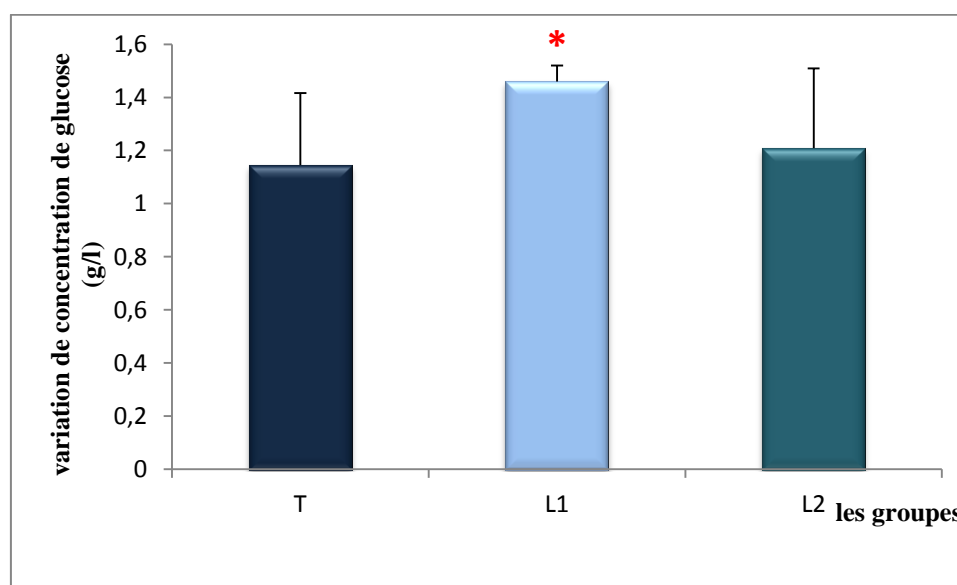


Figure 31 : Glycémie des lapins traités (L1), (L2) et des témoins (T).

IV.1.10. Variation de taux du cholestérol

L'analyse des résultats présente une augmentation hautement significative de concentration de cholestérol chez le lot traité par l'INH +RMP par comparaison à celle du lot témoin

Par contre, nous avons enregistré une variation non significative de cholestérol chez le lot traité par INH + RMP+GR par rapport au lot témoin, (Le tableau 15) et (la figure 32) montrent ces résultats

Tableau 15 : variation de la concentration sérique de cholestérol chez le lot témoin et les différents lots traité au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.

Paramètre	Les lots expérimentaux		
cholestérol	T	L1	L2
		0,825±0,15	7,29±0,193**

** $P \leq 0,01$: Différence hautement significative

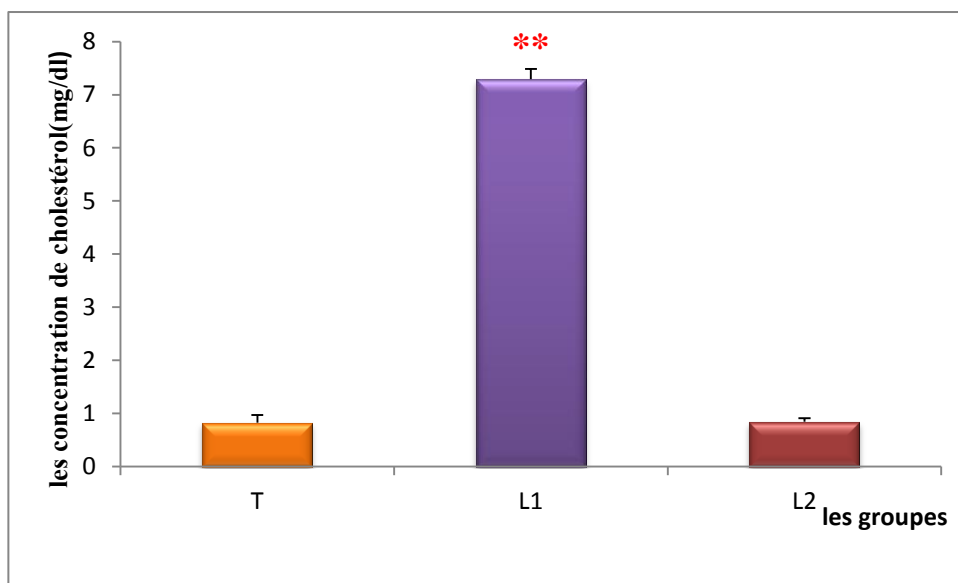


Figure32 : le taux de cholestérol chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2)

IV.1.11. Variation de taux du triglycéride

L'analyse des résultats présente une augmentation très hautement significative de la concentration de triglycéride chez le lot traité par L'INH +RMP par comparaison à celle du lot témoin. Par contre, nous avons enregistré une augmentation non significative de triglycéride chez le lot traité par INH + RMP+GR par rapport au lot témoin, (**Le tableau16**) et (**la figure33**) montrent ces résultats.

Tableau16 : variation de la concentration sérique de triglycéride chez le lot témoin et les différents lots traités au l'INH/RMP et la combinaison INH/RMP et gelée royale.

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	T	L1	L2
triglycéride	0,45 ±0,058	2,025±0,083***	0,600 ±0,182

*** $P \leq 0,001$: Différence très hautement significative.

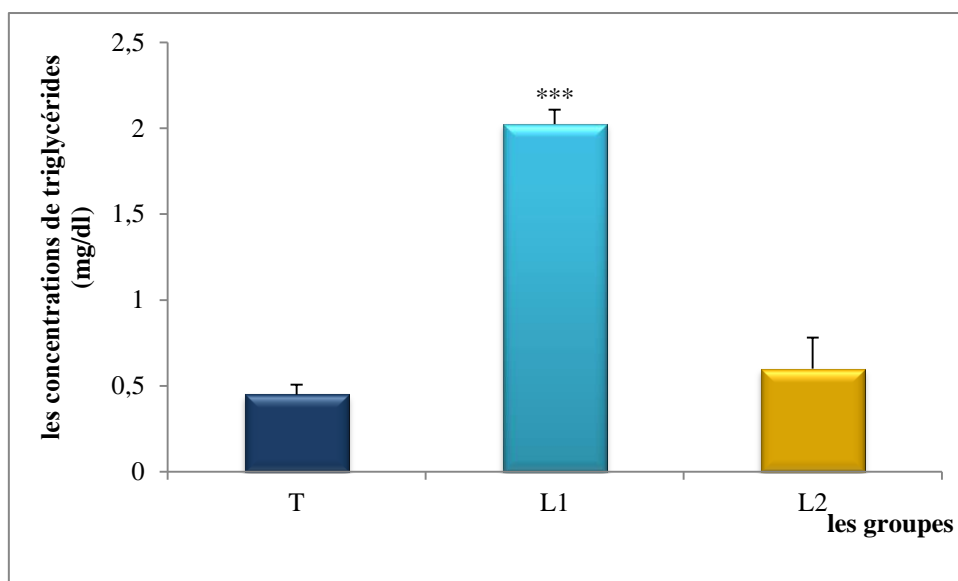


Figure 33 : le taux de triglycéride chez le lot (T) et les lots traités (L1), (L2)

IV.2. Etude histologique

IV.2.1 .Les coupes histologique du foie

L'observation microscopique de foie du groupe T révèle une architecture tissulaire normale la veine centro-lobulaire située centralement est entourée d'hépatocytes normales, ces dernières s'organisent en travées hépatocytaires traversés par des capillaires sinusoides (Fig 34-TX 100). A fort grossissement, on note la présence des hépatocytes polyédriques claires (Fig.34.TX 400) L'observation microscopique de tissu hépatique de groupe L1 traité par INH/RMP montre des altérations tissulaires très importantes en comparaison avec le groupe T , dégénérescence cellulaire des hépatocytes et nécrose à faible grossissement (Fig34 L1X 100.). A fort grossissement, on note un dilatation de la veine centro-lobulaire, une nécrose tissulaire, Une hémorragie à la lumière de la veine centro-lobulaire et veine centrale est également au niveau de Sinusoïde (Fig34 L1 X 400) La coupe histologique réalisée sur le foie du groupe traité INH/RMP et GR révèle des atteintes tissulaires moins importantes par rapport au groupe INH/RMP. A faible grossissement, l'architecture tissulaire semble normale et ne révèle qu'une dilation au niveau de veine centrale (Fig34L1 X 100.). Toutefois, à fort grossissement, on enregistre de quelque dégénérescence cellulaire des hépatocytes dans quelques endroits (Fig34L1 X 400).

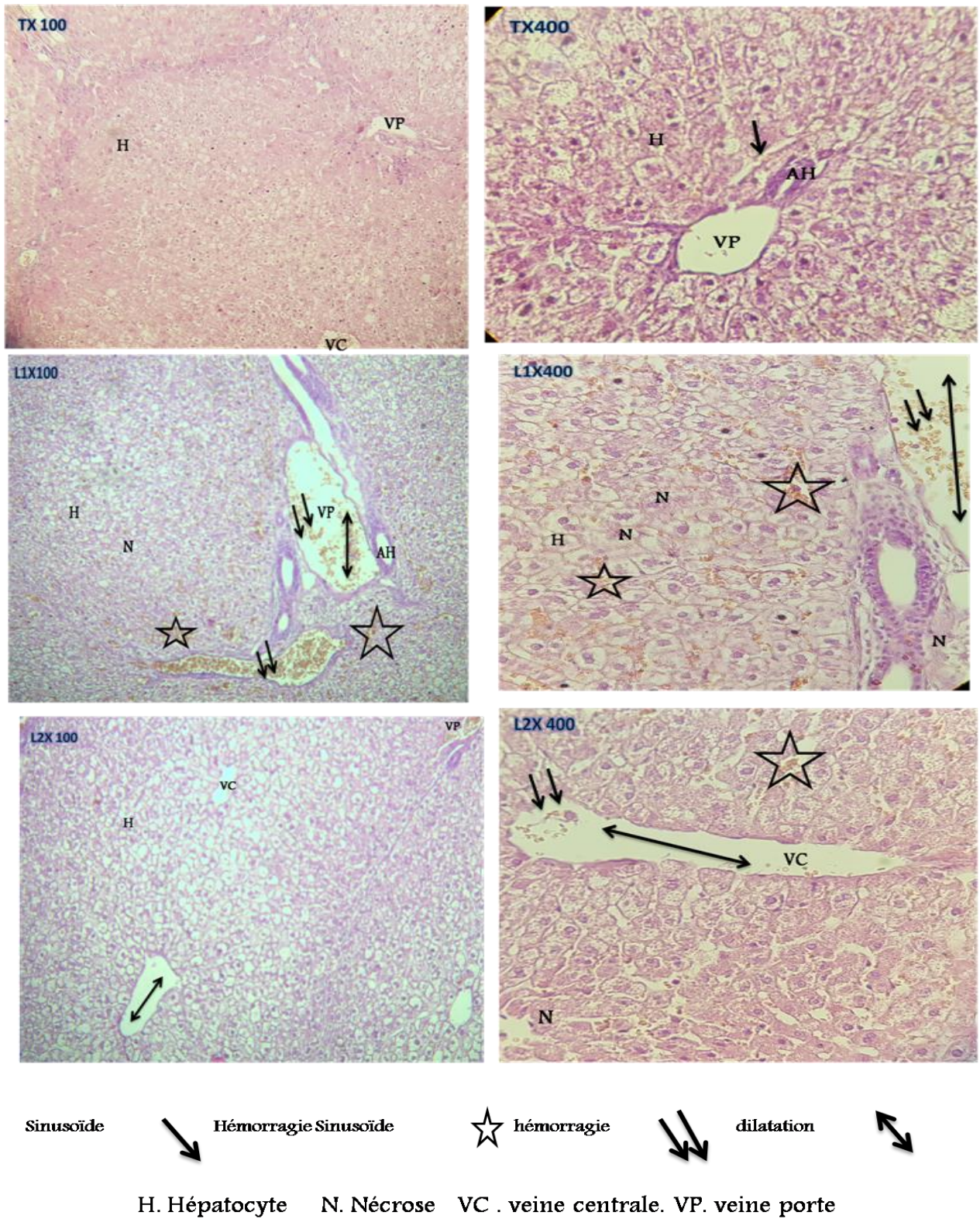


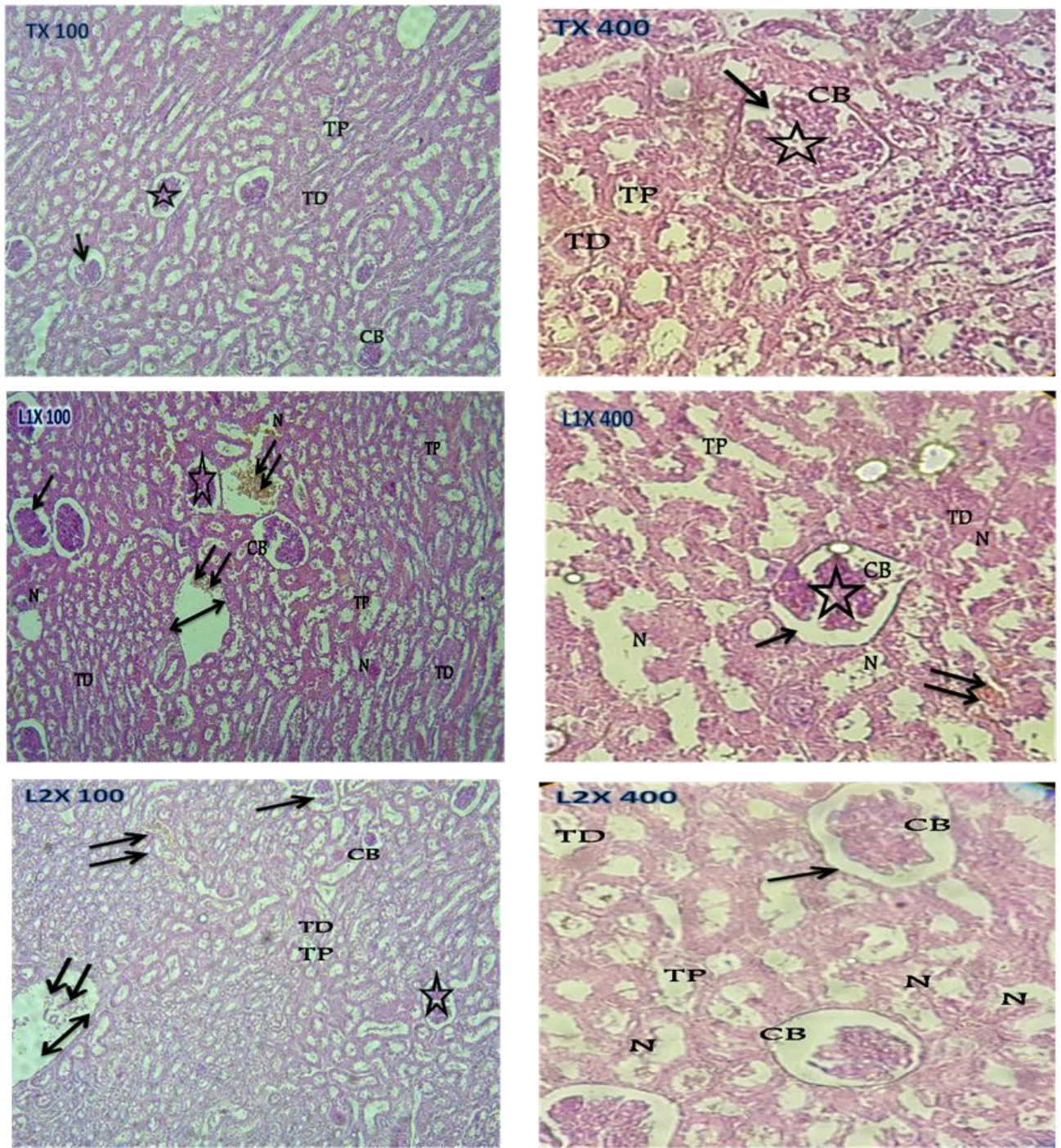
Figure 34 : les observations microscopiques des coupes histologiques du foie des groupes traités et le groupe témoin

IV.2.2 Les coupes histologiques du rein :

La coupe histologique réalisée sur le rein du témoin T montre une architecture tissulaire normale ; le cortex du rein présente les néphrons qui sont les unités fonctionnelles de base du rein. Un néphron est un tubule mince consiste en un amas de capillaires appelés glomérules, qui apparaissent comme des structures denses arrondies, entourés d'un bulbe creux, la capsule de Bowman ou capsule glomérulaire. Ensemble, la capsule de Bowman et son glomérule constituent un corpuscule rénal La capsule de Bowman amène à un long tubule entortillé ; le tubule contourné proximal formé par un épithélium simple et cubique (Fig35 T).

L'observation microscopique de rein de groupe traité par les médicaments (INH/RMP) montre des altérations glomérulaire et tubulaire importantes, les glomérules semblent altérées chez ce groupe par rapport celles du témoin, l'espace de Bowman est rétréci à cause de la dégénérescence cellulaire et les lésions des capillaires glomérulaires (Fig35.L1). On enregistre également une nécrose des cellules rénales, se traduit par exfoliation de bordure en brosse de l'épithélium tubulaire, hémorragie dans la lumière tubulaire, ainsi, des caryomégalies et nécrose se manifestent également dans l'épithélium tubulaire

L'observation microscopique du rein de groupe L2 (INH/RMP+ GR) montre une architecture tissulaire normale par rapport au groupe témoin, la structure des glomérules et des tubules proximaux semble également normale (Fig35.L2), à l'exception de l'exfoliation de bordure en brosse de certaines cellules tubulaires et hémorragie dans quelque endroits.



☆ : glomérule. ↘ Espace de Bowman. N nécrose. // Hémorragie
 TP: Tube contourné proximale ;TD: Tube contourné distal; N: nécrose. dilatation ↘
 CB: capsule de Bowman.

Figure 35 : les observations microscopiques des coupes histologiques du rein des groupes traités et le groupe témoin

Discussion

Dans le cadre de ce travail, nous sommes intéressés par l'étude l'impact du INH/RMP sur la variation de certains paramètres biochimique ainsi que l'effet protecteur de la supplémentation en gelée royale chez les lapins traités par ce médicament, les résultats de notre étude montrent que le traitement de deux semaines par les antituberculeux induits à une altération du bilan biochimique chez les lapins traité

Les transaminases (ASAT, ALAT) et la phosphatase alcaline(PAL) sont des biomarqueurs de la fonction hépatique [230, 231], et l'augmentation des concentrations plasmatiques en ASAT et ALP ne reflète seulement l'atteinte hépatique, mais aussi les altérations au niveau de divers tissus, il semble que les niveaux élevés de l'ALAT sont spécifiques des altérations hépatiques [232, 233, 234].

Dans la présente étude, nous avons constaté une augmentation de l'ALAT chez les lapins traités par INH/RMP en comparaison avec les lapins témoins, ceci est lié à l'effet hépatotoxique de l'INH/RMP. Cette augmentation provoque la lésion des cellules hépatiques qui déversent leurs contenus tels que les transaminases dans le sang [235]. Ces antituberculeux sont métabolisés aux des métabolites réactifs conduisant aussi une nécrose. D'autre étude réaliser chez les rats traité par (INH : 400 mg / kg/ LPS : 2 mg / kg) confirmé que il ya des dommages graves au niveau du parenchyme hépatique, Les caractéristiques de ces dégâts représenté dans nécrose hépatocellulaire sévère, cytolysse des cellules hépatiques, et infiltration inflammatoire [235].

Nous avons également constaté un rétablissement du taux plasmatique de l'ALAT après l'administration de la gelée royale aux lapins traités par INH/RMP. Cette interprétation est renforcée par des résultats obtenus par **Hajimehdipoor et al (2006)** [236], qui ont démontrés que la gelée royale a inhibée les effets hépatotoxiques induits par la cisplatine. De même **Karadeniz et al (2011)** [237] ont a reportés les mêmes résultats chez des rats traités par le paracétamol.

Globalement, les résultats obtenus dans le présent travail indiquent que le foie est l'organe le plus touché par les effets toxiques de l'INH/RMP. Autrement, les composition flavonoïdes (catéchine et l'épicatéchine) de la gelée et les dipeptides (Phe-Asp,Trp-Leu) ont un effet scavenger, c'est-à-dire au lieu que les radicaux libres produits par les antituberculeux se neutralisent par le Glutathion ils vont plutôt être captés par la gelée royale en maintenant ainsi le taux normal de glutathion hépatique [189].

Différentes études ont démontré les effets hépatotoxiques du INH,RMP **Radhika et al (2017)** [238] et autre étude pour hépatotoxicité du INH **Frederico et al (2018)** [239].

Dans notre étude, l'observation microscopique du tissu hépatique a révélé une infiltration des cellules inflammatoires autour de la veine porte et l'artère avec cytoplasme clair et une dégénérescence des hépatocytes. Ces résultats sont similaires à ceux de **Hossein et al(2017) [241]**.

L'administration de la gelée royale a réduit les lésions hépatiques et le nombre des cellules inflammatoires. Des études similaires réalisées chez 24 rats femelles Albinos Wistar, reçu un traitement combiné par (formaldéhyde+150mg/kg de gelée royale) pendant 14 jours montre que la gelée royale atténue certains effets nocifs du Formaldéhyde (nécrose hépatique, l'inflammation) [242].

Dans cette étude, on observe une hémorragie, lésions hépatiques au niveau des sections tissulaires du foie des lapins traités par le INH/RMP donc le foie est l'organe du métabolisme de différents composants toxiques

Nos résultats révèlent une augmentation de concentration d'albumine et de protéine totale chez les lapines traitées par INH/RMP par rapport au témoin qui est considérée comme des biomarqueurs d'insuffisance hépato-cellulaire ; (défaillance du fonctionnement des cellules du foie) et les dommages hépatiques provoqués par ces médicaments [103] et **peut être le signe d'un** syndrome néphrotique (les reins filtrent moins bien le sang et laissent s'échapper des quantités anormales de protéines dans le sang), de glomérulonéphrites [243]. Par contre il y a des études similaires chez les rats traités avec isoniazide (50 mg / kg) montre que le traitement de l'isoniazide entraîne une perturbation des paramètres hépatiques qui se manifeste par une diminution de taux d'albumine et de protéine totale [241]. D'autre étude montre que le taux sérique d'albumine et de protéine totale diminue chez les rats traités par (INH : 90mg /kg et RMP : 250 mg/kg) pendant 15 jours [244].

Chez les lapins traités au INH/RMP associés à la gelée royale, la concentration d'albumine et de protéine totale est proche de témoin.

Les résultats obtenus révèlent une augmentation de la concentration du glucose chez le lot traité par rapport aux témoins. Le traitement par INH/ RMP a entraîné des perturbations du métabolisme des glucides qui se manifeste par une augmentation du taux sérique du glucose serait principalement due à une stimulation de la néogluconéogenèse [245, 246]. En effet, une alimentation exagérée entraîne une augmentation de l'insulinémie afin d'évacuer le glucose plasmatique. Ces résultats peuvent être expliqués aussi par la diminution du nombre de récepteurs insuliniques et de divers défauts post-récepteurs [247, 248]. ou par impact des Maladies hépatiques chroniques (MHC) qui augmentent la résistance à l'insuline et compliquent

la prise en charge thérapeutique du diabète [249]. les médicaments antituberculeux (Isoniazide, Rifampicine) exposent au risque de l'hyperglycémie [250, 251]

D'autre part, on n'observe aucun changement significatif au niveau de concentration du glucose plasmatique chez les lapines traité par le gelée royale et INH/RMP. Plusieurs études in vitro a révélé que l'analogie fonctionnelle de la gelée royale avec l'insuline, mais très peu d'études ont été réalisées. Une équipe allemande a étudié l'impact d'une dose de 20g de gelée royale sur des sujets sains avant une *hyperglycémie* provoquée par voie orale (HGPO), La glycémie est significativement inférieure lors de la prise de gelée royale par rapport à une HGPO avec prise de glucose [252]. D'autre étude Chez l'homme adulte ont été menés afin de déterminer le rôle potentiel de la gelée royale dans la régulation de la glycémie. Par rapport aux témoins, les individus ayant consommé 20 g de gelée royale ont eu une glycémie diminuée significativement [252].

Sachons que il ya une augmentation de la concentration sanguine du cholestérol et triglycéride chez les lapines traité par rapport aux témoins. Il y a une Perturbation du profil lipidique chez les lapins traité explique la dégradation intense des composés lipidique, la lipolyse est responsable d'une augmentation des concentrations plasmatiques des acides gras libres, qui stimulent la néoglucogénèse, la synthèse des triglycérides et la production glucosée hépatique, et peut être aussi accompagnée d'un gain de poids ou d'une élévation de la glycémie [253].

D'autre part, on observe une diminution de triglycéride et aussi le cholestérol chez les lapines traité par le gelée royale et INH/RMP. Donc La gelée royale abaisse significativement la triglycéridémie et la cholestérolémie à cause de la composition de gélée royale en vitamine B3 ou PP (nicotinamide) et vitamine B6 que jouent un rôle important dans la baisse de l'hypercholestérolémie [189, 254], et normalise le ratio HDL/LDL chez l'homme [191, 255]. Chez le modèle rat hyperlipémique, de la gelée royale a été administrée sous forme lyophilisée à raison de 700 mg/kg/j pendant 6 semaines. Il s'en est suivi une baisse de la cholestérolémie [191]. D'autre études similaire ont été observés chez les rats traités par fumonisine qui reçoivent 150mg/kg de gelée royale ont leurs paramètres lipidique est diminué [256].

L'urée et la créatinine sont des marqueurs significatifs de la fonction rénale. Il apparaît que la concentration en urée et en créatinine du lapins traités est sensiblement différente à celle du lapins témoins avec une augmentation significative pour la concentration en créatinine

(créatininémie), la créatinine est filtrée au niveau glomérulaire. Ceci est lié particulièrement au cours de l'insuffisance rénale [257], qui confirme que INH/RMP a un grand effet toxique sur ce paramètre, aussi on observe une augmentation hautement significative pour la concentration en urée (l'urémie). Cette augmentation est considérée comme des biomarqueurs pour un déficit de la fonction d'excrétion et une hépatotoxicité fréquente avec de nombreux toxiques, aussi provoque de lésion dans le foie [258], ce qui confirme qu'INH/RMP a un grand effet toxique sur les reins. L'augmentation de la concentration de ces deux paramètres est à relier au dysfonctionnement rénal (PIVA., 2008) Par ailleurs, les résultats obtenus de notre travail indiquent qu'il y a une altération glomérulaire provoquée par INH/RMP. Des études ont montré la néphrotoxicité de INH/RMP sur les reins [259] (*L. Harcouet ; 2007*)

On observe aussi une augmentation très hautement significative pour la concentration d'acide urique (L'hyperuricémie) chez les lapins traités par INH/RMP en comparaison avec les lapins témoins. L'acide urique est filtré par le glomérule. Découlent d'un défaut d'élimination rénale [261] (*Pruna et Daudon, 2008*).

D'autre part, nous avons constaté un rétablissement du taux plasmatique pour créatinine et l'urée et l'acide urique après l'administration de la gelée royale aux lapins traités par INH/RMP. Cette interprétation est renforcée par des résultats obtenus par *Cetani L (2011)* [261], qui ont démontrés que la GR est un puissant antioxydant contre la toxicité induite par LCT, et que son effet protecteur.

Dans notre étude, L'observation microscopique de rein traité par le médicament (INH/RMP) montre des altérations glomérulaire et tubulaire importantes, la dégénérescence cellulaire et les lésions des capillaires glomérulaires. On enregistre également une nécrose des cellules rénales, hémorragie dans la lumière tubulaire. ce qui confirme les résultats de *Fenniche et al (2003)* [262] qui prouve que la rifampicine parmi les principaux médicaments possède un potentiel néphrotoxique. Cette interprétation est renforcée par des résultats d'études rétrospective portant sur 30 patients hospitalisés dans le service de pneumologie de Ibn Nafiss de l'hôpital Abderrahmen Mami de l'Ariana notée insuffisance rénale aiguë au cours d'un traitement intermittent par la rifampicine [263, 264]. Sa physiopathologie implique le déterminant antigénique AgI présent sur les cellules tubulaires rénales et sont cibles des Ac anti-RIF [262]. La complexation antigène-anticorps entraîne la lyse des cellules tubulaires responsable de la nécrose tubulaire aiguë [6].

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

La tuberculose est une maladie infectieuse persistante et ré-émergente causée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*, le traitement de cette maladie fait appel à plusieurs antituberculeux les plus courants l'isoniazide et la rifampicine malheureusement ces antituberculeux sont responsables d'effets toxiques sévères principalement hépatique et rénal l'objectif de notre travail met en évidence l'effet préventif de la gelée royale contre hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par (INH/ RMP) chez les lapins mâles. Dans la présente étude, l'évidence de l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par les antituberculeux (RMP et INH) est confirmée. D'après des références l'association de ces deux antituberculeux entraîne la formation de métabolites réactifs toxiques et aussi provoque des réactions immuno-allergiques ces susceptibles sont cause d'une perturbation des paramètres biochimiques révélée par augmentation de concentration de Transaminase glutamique-oxaloacétique (ALAT), de Transaminase glutamo-pyruvique (ASAT), de l'Albumine (Alb), protéine totale, créatinine, acide urique, urée et Cholestérol, glucose, triglycéride, Néanmoins, une diminution de concentration de phosphatase alcaline (PAL). L'étude histologique a démontré l'altération des parenchymes hépatiques et rénales par le traitement. Par contre le traitement associé au gelée royale a pu améliorer l'ensemble des paramètres altérés par les antituberculeux elle diminue l'atteinte hépatique médicamenteuse et permet de limiter l'insuffisance hépatique et rénales. De même, la structure du parenchyme hépatique et rénal est préservée grâce au gelée royale ce dernier considéré comme un aliment étonnant et pourvu des propriétés bénéfiques, Le plus important c'est la propriété antioxydante qui joue un rôle chélateur contre les radicaux libres produits par les antituberculeux, donc la gelée royale est un hépatoprotecteur et néphroprotecteur.

- En perspectives, il est intéressant d'étudier la toxicité chronique des médicaments antituberculeux sur les autres organes pour mieux comprendre leur effet toxique.

- étude de l'effet de ces médicaments sur les paramètres de stress oxydatif comme : GSH, GST, SOD, MDA,.....

- étude histochimique de tissu de foie et du rein

- d'après notre résultat la gelée royale offre une multitude de propriétés s'imposent comme une thérapie alternative naturelle donc on peut utiliser la gelée royale comme un agent préventif contre les effets toxiques de plusieurs médicaments surtout les antibiotiques

Références bibliographiques

- 1- Bouchentouf R, El jastimi S, Benjelloun A & Aitbenasser M A.** Hépatotoxicité des antituberculeux : épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir. *J. Afr. Hépatol. Gastroentérol, France.* 2011.
- 2- Bourichi S.** Validation du dosage de l'Isoniazide et du Pyrazinamide dans le plasma par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour le suivi thérapeutique pharmacologique, mémoire de Master Sciences et Techniques. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Fès. 2010: 34.
- 3- Forget E J, Menzies D.** Adverse reactions to first-line antituberculosis drugs. *Expert Opin Drug Saf* 2006; 5(2):231-249.
- 4- Hmamouche S, Nia L, Amro S, Zaid K & Marc S.** Hépatotoxicité aux antituberculeux. *Rev. Mal.Resp.* 2007 ; 24(1):111-115.
- 5- Perriot J, Chambonnet E & Eschalié A.** Les effets indésirables des antituberculeux prise en charge. *Rev Mal Respir, Avr,* 2011; 28(4):542-55.
- 6- De Vierende S A, Robbrecht D L, Vanholder R C, Vogelaers D P & Lameire N H.** Rifampicin associated acute renal failure: pathophysiologic, immunologic, and clinical features. *Am J Kidneys Dis.* 1998;31(1):108– 15.
- 7- Almasiova V, Holovska K, Tarabova L.** Structural and ultrastructural study of the rabbit testes exposed to carbamate insecticide. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering.* **2012**; 47:1319-1328.
- 8-Cosivi C, Meslin X, Dabornec J & Grange J M.** Epidemiology of mycobacterium bovis in animals and humans. with particular reference to africa. *rev.sci.tech.off.int.epiz,*1995; 14:733-746.
- 9-Cristina G, Brisse S, Brosch R, Fabre M, Omais B, Marmiesse M, Supply P & Vincent V.** Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of Mycobacterium tuberculosis. *PLoS Pathog,* 2005; 1:0055–0061.
- 10- Dy eC.** Global epidemiology of tuberculosis. *Lancet,* 2006; 367:938-940.

Références bibliographiques

- 11-Merchant I A, BRD.**an outline of infectious diseases of domestic animals. 3rd edition.iowa state university press, amesiowau.s.a, 1981.
- 12-Zink A R, Sola C, Reischl U, Brabner W, Rastogie N, Wolf H & Nerlich G.** characterization of mycobacterium tuberculosis complex dans from egyption mummies by spoligotyping. *j.clin.Microbiol*, 2003; 4:356-367.
- 13- De David C, Rodrigues G, Bona S, Meurer L, González-Gallego J, Tuñón M J & Marroni N P.** Role of quercetin in preventing thioacetamide-induced liver injury in rats.*ToxicolPathol*, 2011; (6) 39:949-57.
- 14- Haddad N, Masselot M & Durand B.** Molecular differentiation of *Mycobacteriumbovis*isolates. Review of main technique and applications. *Research in veterinary science Vol*, 2004; 76:1-18.
- 15- Guide de la Lutte Anti-tuberculose.** Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies. Ministère de la Santé, ROYAUME DU MAROC, Edition Avril, 2011.
- 16- WHO.** Global Tuberculosis Control. Surveillance, Planning, Financing, In. Edited by WHO/CDS/TB, WHO Report edn Geneva, Switzerland, 2002 ; 295.
- 17- Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V & Raviglione MC.** Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *WHO Global Surveillance and Monitoring Project, Jama*, 1999; 282(7):677-686.
- 18- Leblanc C.** Rôle de la 4'-phosphopantéthéinyl transférase PptT dans la multiplication et la persistance de *Mycobacterium tuberculosis* et mise en place d'un test d'activité enzymatique pour la recherche de nouveaux antituberculeux. Thèse de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2012.
- 19- OMS.** Tuberculose. Aide-mémoire, 2015:104.
- 20-Neyrolles O.** Ce que l'on sait de la réponse immunitaire antituberculeuse chez l'homme. *Revue Des Maladies Respiratoire*, Retrievedfrom<http://www.em-consulte.com/showarticlefile/178714/index.pdf>. 2008; 25:27-30.
- 21- Holick M F.** Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, **2007**; 357: 266-81.

Références bibliographiques

- 22-Autier P, Gandini S.** Vitamin D supplementation and total mortality. A meta-analysis of randomized-controlled trials, *Arch Intern Med*, 2007; 167:1730-77.
- 23-Amaqdouf A.** Contribution à l'étude de la tuberculose bovine au Maroc: importance et évolution. Thèse de Doctorat Vétérinaire. IAV Hassan II. Rabat Maroc. 1976.
- 24-Andriantsarafara J.** Importance de la tuberculose animale à Madagascar. Thèse de Doctorat Vétérinaire, E.N.V. Toulouse. France. 1972.
- 25- Baker M A, Harries A D, Jeon C Y, Hart J E, Kapur A, Lonnroth K & Murray M B.** The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: a systematic review. *BMC Medicine*, 2011: 9-81. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-9-81>.
- 26- Aaron L, Saadoun D, Calatroni I, Launay O, Mémain N, Vincent V & Lortholary O.** Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. *Clinical Microbiology and Infection*. The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2004; 10(5):388–98. <http://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.00758.x>.
- 27- WHO.** Global tuberculosis control. 2011; 258. <http://doi.org/WHO/HTM/TB/2011.16> PDF 8.
- 28- Grosset J.** Bacteriologic basis for the treatment of tuberculosis. *Rev Prat*, 11 mars, 1990; 40(8):715718.
- 29- Tortoli E.** The new mycobacteria: An update *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2006.
- 30-Millet J.** Évaluation de marqueurs génétiques du complexe *Mycobacterium tuberculosis* combinée à l'utilisation d'outils bioinformatiques. apport en épidémiologie et Retrieved from <http://www.theses.fr/2011AGUY0427>. 2011.
- 31- Minor E, Veron M.** Bactériologie médicale. Paris Flammarion, 1990: 07.
- 32- Konno K, Kurzman R, Bird K T.** The metabolism of nicotinic acid in *Mycobacteria*: a method for differentiating tubercle bacilli of human origin from other *Mycobacteria*. *Am Rev Tuberc*, avr, 1957; 75(4):529537.
- 33-Abramson S.** The failure of chick embryo extract to accelerate the growth of tubercle bacilli. *Am Rev Tuber*, 1952:65-783.

Références bibliographiques

- 34- Youmans G P, Youmans A S.** The growth of recently isolated strains of *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis* in liquid media. *J. Bacteriol.* 1950 ; 60-569.
- 35-Julie L.** Pro-drogues antituberculeuses : Approches pour lutter contre les résistances et compréhension des mécanismes oxydatifs d'activation. Thèse Université Toulouse.2016; 23.
- 36-Emmanuelle S.** Identification et caractérisation de 3-hydroxyacyl déshydratases/2-trans-enoyl hydratases (R)-spécifiques potentiellement impliquées dans la biosynthèse de lipides chez le bacille tuberculeux. Thèse Université de toulouse3, 2007.
- 37- Vincent V.** Taxonomie des Mycobactéries. *Revue Française des Laboratoires.* Février, 1995; 273:27- 31.
- 38- Dannenberg A M.** Immune mechanism in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. *Rev. Infect. Dis.*1989; 52:369.
- 39- McMurray D N, Collins F M, Dannenberg A M, Smith DW.** Pathogenesis of experimental tuberculosis in animal models. *Current topics in microbiology and immunology.*1996; 215:157-179.
- 40- Russell D G.** *Mycobacterium tuberculosis*: here today, and here tomorrow. *Nature reviews Molecular cell biology.* 2001; 2(8):569-577.
- 41- Tortora G J, Funke B R, Case C L, Martin L.** Introduction à la microbiologie. 2ème édition, Pearson, 2012. **42- Organisation Mondiale de la Santé.** *Global Tuberculosis Report.* 2015: 20.
- 43-Russell D G, Barry C E, Flynn J L.** Tuberculosis: what we don't know can, and does, hurt us. *Science.* 2010; 328:852-856.
- 44-Valin N, Chouaïd C.** La tuberculose en France en 2010 : épidémiologie, clinique et microbiologie. *Rev Mal Respir,* févr, 2012; 29(2):267-76.
- 45-Toujani S, Ben Salah N, Cherif J, Mjid M, Ouahchy Y, Zakhama H.** La primo-infection et la tuberculose pulmonaire. *Rev Pneumol Clin,* avr, 2015; 71(2-3): 73-82.
- 46- Denis-Delpierren N, Merriend D.** Tuberculose multifocale : à propos de 49 cas. *Patho Biology,* 2015; 46:375-9.

Références bibliographiques

- 47- Billy C, Perronne C.** Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. EMC - Mal Infect, mai, 2004; 1(2) : 81-98.
- 48-Pilly E.** Maladies infectieuses et tropicales. ALINEA PLUS, 2014.
- 49- Van Genus H A, Meijer J, Styblo K.** Résultats de l'examen des sujets en contact avec des malades tuberculeux à Rotterdam 1967-1969. Bull. Union Int. Tub. Mal. Resp, 1975;50:105-119.
- 50- Francis V, Michael I.** l'usage des médecins, infirmiers ,techniciens de laboratoire. Guide pratique, 2014.
- 51- Fréchet-Jachym M, Métivier N.** Tuberculose résistante. Pneumologie. 2009.
- 52- Diallo S, Dao S & Dembele J P.** Aspect épidémiologique de la tuberculose pulmonaire a bacilloscopie positive au Mali pendant la décennie. 1995-2004. Mali Médicale, Tome XXIII, 2008: 25-40.
- 53- Benmansour N, Ouididi A & Elalami M N.** Tuberculose ganglionnaire cervicale. Place de la chirurgie, Journal of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2009; 38:23-28.
- 54- Harries A D, Maher D & Nunn P.** An approach to the problems of diagnosing and treating adult smear-negative.Pulmonary tuberculosis in high-HIV-prevalence settings in sub-saharan.Bull World HealthOrgan. Africa. **1998**; 76: 651-662.
- 55- Wyplosz B, Truffot-Lernot C, Jarlier V & Gosset Y.** Bactériologie de la tuberculose et des infections à Mycobactéries non tuberculeuses .Rev. Mal.Resp, **1997**; 14:33 – 48.
- 56- Geldmacher H, Taubec C, Koeger C, Magnussen H.** Assesment of lymph node tuberculosis in North Gernay. A clinical review, Apr, Chest, **2002**; 121(4):1177 – 1182
- 57- Diagnostic clinique et bactériologique de la tuberculose.** Rev Mal Resp. 2003; 20:734 – 740.
- 58- Brown G.** The impact of HIV/AIDS on the African American Woman and Child: epidemiology. Cultural and psychosocial issues and nursing management. ABNF J. 2001; 12 (3):60-2.
- 59- Niare M.** Essai d'évaluation du test immunochromatographique " tuberculosis ICT "dans le diagnostic biologique de l'infection par mycobacteriumtuberculosis, chez les patients

Références bibliographiques

suspects de tuberculose au dispensaire antituberculeux (DAT) à Bamako. Thèse Pharm. Bamako. 2001: 38.

60- Clarridge J E, Shawara R M, Shisnick T M & Plkytis. BB.Large- scale use of polymerase chain reaction for detection of mycobacteriology laboratory.J Clin Microbiol. 1993; 31: 2049-56.

61- Meyssonier V. Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. Sante publique et épidémiologie, Thèse de doctorat épidémiologie. De l'Université Pierre et Marie Curie. Paris VI. France. 2012 ; 30-45.

62- Ministère de la sante publique. Programme National de Lutte Contre la Tuberculose. Manuel de la lutte antituberculeuse à l'usage des personnels médicaux. Alger. 2001.

63- RomanusV.Firstexperience withBCG discontinuationin Europe. Experiencein Sweden 15years after stopping general BCG vaccination atbirth .BullInt Union Tuberc Lung Dis,1990;65:32–35.

64- HaganP. Routine vaccination fortu berculosis en dsinUK.BMJ. 2005;331: 7509-128.

65- Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine amino- peptidase de MycobacteriumTuberculosis par diverses molécules. Magister en biochimie. Université des Frères Mentouri. Constantine. 2012 ;110.

66- Arazola O, Bartsch P. Diagnostic et traitement de la tuberculose. Manuel pratique. Recommandation destinées au corps médicinal. Fares. Asbl. 2010 ;32-45.

67- Hindlet P. Antituberculeux. Pharmacie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière. AP-HP. Paris. 2013; 947.

68- Takayama K, Kilburn J. Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in Mycobacterium smegmatis.Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33: 1493–1499.

69- Mikusova K R, Slayden G S, Besra P J, Brennan. Biogenesis of the mycobacterial cell wall and the site of action of ethambutol.Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39: 2484-2489.

Références bibliographiques

- 70- Eyquem A, Alouf J, Montagnier L, Boudène C.** Traité de microbiologie clinique. PICCIN. 2005; 108.
- 71- Scorpio A, Zhang Y.** Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Med*, 1996; 2:662–667.
- 72- Zhang Y, Wade M M, Scorpio A, Zhang H & Sun Z.** Mode of action of pyrazinamide: disruption of *Mycobacterium tuberculosis* membrane transport and energetics by pyrazinoic acid. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 52: 790–795.
- 73- Zhang Y, Mitchison D, Shi W & Zhang W.** Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance. *Microbiol. Spectr.* 2014; 2, MGM2- 0023- 2013.
- 74- Mitchison D A.** The action of anti-tuberculosis drugs in short course chemotherapy. *Tubercle* 1985; 66:219–225.
- 75- Fox H H.** The chemical approach to the control of tuberculosis. *Science*. 1952; 116: 129- 134.
- 76- Zhang Y, Yew W W.** Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009; 13:1320-30.
- 77- Van Vooren J S.** Diagnostic et traitement de la tuberculose. FARES. Bruxelles. Belgique. 2010; 54:63-89.
- 78- Veziris N, Aubry A & Truffot-Pernot C.** Argumentation sur la durée des traitements antituberculeux. *Presse Médicale*. Nov 2006 ; 35(1-12):1745-51.
- 79- Arbex M A, Varella M & Siqueira H R,** Mello FAF de Antituberculosis drugs: drug interactions, adverse effects, and use in special situations-part 1: first-line drugs. *J Bras Pneumol*. 2010; 36(5):626-40.
- 80- Zhong M, Wang Y, Sun C, Yin H, Wang A, Zhong M & Lou L.** Growth of rifampin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* in conditions without rifampin. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2002; 25:588-90.
- 81- HAS.** Tuberculose active. Guide – affection de longue durée Haute Autorité de Santé. France. 2007; 18.

Références bibliographiques

- 82- Harries A D**, The HIV-associated tuberculosis epidemic-when will we act. *Lancet*. 1906; 375.
- 83- Ma Z, Lienhardt H, McIlleron A J & Nunn X**. Global tuberculosis drug development pipeline: the need and the reality. *Lancet*. Jun 2010 ; 375.
- 84- Julie L**. Pro-drogues antituberculeuses : Approches pour lutter contre les résistances et compréhension des mécanismes oxydatifs d'activation. Thèse de doctorat. Chimie-Biologie-Santé. L'université du Toulouse. France. 2016; 36.
- 85- Mahajan R, Bedaquiline M**. First FDA-approved tuberculosis drug in 40 years. *Int, J. Appl. Basic Med. Res*, 2013; 3:1-2.
- 86- Rustomjee R, Zumla A**. Delamanid expanded access novel treatment of drug resistant tuberculosis. *Infect. Drug Resist*. 2015; 8:359-366.
- 87- Matsumoto M, Hashizume H, Tomishige T, Kawasaki M, Tsubouchi H, Sasaki H, Shimokawa Y & Komatsu M**. OPC-67683 a Nitro-Dihydro-Imidazooxazole Derivative with Promising Action against Tuberculosis In Vitro and In Mice. *PLoS Med*. 2006; 3- 466.
- 88- Chollet A**. Inh A, cible pour de nouveaux antituberculeux : étude cristallographique, synthèse et évaluation d'inhibiteurs. Thèse de doctorat Sciences de la matière. L'université de Toulouse III. France. 9 Octobre 2014 ; 33.
- 89- OMS**. Information à l'usage des prescripteurs: Médicaments utilisés dans les mycobactérioses.1993:48. <http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Js5512f/2.3.html>.
- 90- Compagnon P, Bouquet S & Houin G**. Suivi thérapeutique de l'isoniazide. In: Marquet P. Suivi thérapeutique pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments. Elsevier. Paris. 2004; 97 : 104.
- 91-Brossier F**. Mécanisme d'action et de résistance de l'isoniazide, un antituberculeux de première ligne. *J Anti-Infect*. Déc 2011; 13(4):217-27.
- 92- Shoeb H A, Bowman B U J & Ottolenghi A C**. Peroxidase mediated oxidation of isoniazid. *Antimicrob Agents Chemother*.1985; 27:399-403.

Références bibliographiques

- 93-Timmins G S, Master S & Rusnak F.** Nitric oxide generated from isoniazid activation by KatG: source of nitric oxide and activity against Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 3006-3009.
- 94-Rozwarski D A, Grant G A & Barton D H.** Modification of the NADH of the isoniazid target (InhA) from Mycobacterium tuberculosis. *Science.* 1998; 279: 98-102.
- 95- Cole S T, Eisenach K D, McMurray D N, Jacobs W R.** Tuberculosis and tubercle bacillus. ASM Press, Washington. 2005; 122.
- 96- Banerjee A, Dubnau E, Quemard A.** inhA a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in Mycobacterium tuberculosis. *Science.* 1994; 263: 227-230.
- 97- Argyrou A, Jin L, Siconilfi -Baez L.** Proteome-wide profiling of isoniazid targets in Mycobacterium tuberculosis. *Biochemistry.* 2006; 45:13947-13953.
- 98-Hardman J G, Molinoff P B, Ruddon R W & Goodman A G.** Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th edn. McGraw-Hill. New York N Y. 1996.
- 100-Buysea S, Paugam-Burtzb C, Stoccoc J & Durand F.** Adaptation des thérapeutiques médicamenteuses en cas d'insuffisance hépatocellulaire. *Réanimation.* 2007; 16:576-586.
- 101- Berry M N, Edwards A M.** The Hepatoeyte Review. Pays-Bas: Kluwer Academic Publishers. 2000; 391:410.
- 102- Michael N.** Pharmacologie Médicale, 2e édition française, De Boeck Université. 2007; 05:09-14.
- 103- Benhamou J P.** Hépatologie clinique. Flammarion. Paris. 1998; 566:597.
- 104- Rustan T, Hein D, Feng Y, Doll M & Ferguson R.** Metabolic activation aromatic and deactivation of carcinogens by NAT1 and NAT2 . *Carcinogenesis.* 1993; 14:1633-1638.
- 105- Grant D M.** Molecular genetics of the N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics.* 1993; 3:45-50.
- 106- Elsevier B V.** Suivi thérapeutique pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments. Paris. 2004; 97:104.

Références bibliographiques

107- Sotsuka T, Sasaki Y, Hirai S, Yamagishi F & Ueno K. Association of Isoniazid-metabolizing Enzyme Genotypes and Isoniazid-induced Hepatotoxicity in Tuberculosis Patients. *In Vivo*. 2011; 25 (5): 803-812.

108- Sotsuka T, Sasaki Y, Hirai S, Yamagishi F & Ueno K. Association of isoniazid-metabolizing enzyme genotypes and isoniazid-induced hepatotoxicity in tuberculosis patients *In Vivo*. Sep-Oct, 2011; 25(5):803-12.

109- Togo E. Evaluation de l'effet de l'implication des acteurs communautaire dans la lutte contre la tuberculose dans le district sanitaire de Koro de janvier 2006 au 31 mars 2008. These de medecines. Bamako. 2009.

110- Blumberg H M, Burman W J & Chaisson R E. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 ; 167 : 603-662.

111- Marquet P. Suivi thérapeutique pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments. Paris. Elsevier. 2004:97-104.

112- Recommandations de la Société de pneumologie de langue française pour la prise en charge de la tuberculose en France. *Rev Mal Respir*. 2004; 21(3):34–104.

113- Pallone K A, Goldman M P, & Fuller M A. Isoniazid-associated psychosis. case report and review of the literature. *Ann Pharmacother*. 1993; 27:167-170.

114- Wilson J D. Déficit et excès en vitamines *Principes de Médecine Interne*. Médecine-Sciences Flammarion. HARRISON Eds Paris. 1992; 434:443.

115- Guillard J C, Lequeu B. Les vitamines : du nutriment au médicament. Editions Médicales internationales. Cachan. 1992 ; 350.

116- Acocella G, Nonis A, Gialdroni G & Grassi C. Comparative Bioavailability of Isoniazid, Rifampicin and Pyrazinamide Administered in Free Combination and in a Fixed Triple Formulation Designed for Daily Use in Antituberculosis Chemotherapy 1. A Single Dose Study. *Am Rev Respir Di*. 2001; 138 : 886-890.

117- El Ftouh M, Mouline S, Badsı A & El FassyFihry M T. Médicaments antituberculeux : effets secondaires et conduite à tenir. *Med Maghreb*. 1998; 67:35-8.

Références bibliographiques

- 118- Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I & Menzies D.** Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167(11):1472–7.
- 119- Ribic C, Hauser C.** Adverse reactions to pyrazinamide. *Allergy.* 2002; 57:964.
- 120- Rakoston J L, Randriamanana D, Rakotomizao J R.** Lupus erythémateux systémique grave induit par l'isoniazide. *Rev Pneumol Clin.* 2009; 65:361-364.
- 121- Tatsuyuki M, Hiromi W, Shigenobu H.** Isoniazid induced pellagra and the n acetyl transferase gene genotype. *Am J Psychiatr.* 1999; 56:660.
- 122- Brik R, Am J Nephrol.** *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 18(5): 430-2.
- 123- Stone WJ et al.** *Antimicrob Agents Chemother.* 1976; 10(1):164-72.
- 124- Kaplowitz N, DeLeve L D.** Drug-induced liver disease. Informa healthcare, New-York, London. 2007.
- 125- Larrey D, Pageaux GP.** Drug-induced liver failure. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 17:141-3.
- 126- Timbrell J A.** Studies on the role of acetylhydrazine in isoniazid hepatotoxicity. *Arch Toxicol Suppl.* 1979; 2:1-8.
- 127-Noda A, Hsu K Y, Noda H, Yamamoto Y & Kurozumi T.** Is isoniazid-hepatotoxicity induced by the metabolite. hydrazine. *J UOEH.* 1983; 5:183-190.
- 128- Lauterburg B H, Smith C V, Todd E L & Mitchell J R.** Oxidation of hydrazine metabolites formed from isoniazid. *Clin Pharmacol Ther.* 1985; 38:566-571.
- 129- Deguchi T, Mashimo M & Suzuki T.** Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J Biol Chem.* 1990; 265:12757-12760.
- 130- Watkins P, Seligman P J, Pears J S.** Using controlled clinical trials to learn more about acute drug Induced liver injury. *Hepatology.* 2008; 48:1680–9.

Références bibliographiques

- 131- Nolan C M, Goldberg S V, Buskin S E.** Hepatotoxicity associated with isoniazid preventive therapy. *JAMA*. 1999; 281(11):1014–8.
- 132- Chow K M, Szeto C C, Leung C B.** Recurrent acute pancreatitis after isoniazid. *Neth J Med*. 2004; 62(5):172–4.
- 133-Coiffier G, Albert J D, Arvieux C, Guggenbuhl P.** Optimizing combination rifampin therapy for staphylococcal osteoarticular infections. *Revue du rhumatisme*. 2012; 79:397-404.
- 134- Andrews J M.** BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 8). *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64:454-89.
- 135- Jiang Z D, DuPont H L, La Rocco M & Garey K W.** In vitro susceptibility of *Clostridium difficile* to rifaximin and rifampicin in 3559 consecutive isolates at a university hospital in Houston. *J Clin Pathol, Texas*. 63:3355-8.
- 136- Faure S.** Antituberculeux. *Actual Pharm*. 2009 ; 48(484):45-8.
- 137- Françoise V B, Dr Sc. Pharm P T & Dr Méd.** Syllabus national belge de pharmacologie (coord: Prof. A. Herchuelz [ULB]). Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Université catholique de Louvain. 2007-2008:102.
- 138- Tupin A, Gualtieri M, Roquet-Banares F, Morichaud Z, Brodolin K & Leonetti J P.** Resistance to rifampicin: at the crossroads between ecological, genomic and medical concerns. *Int J Antimicrob Agents*, 2010; 35:519-23.
- 139- Acocella G.** Clinical Pharmacokinetics of rifampicin. *Clin.Pharmacokinet*. 1978; 3:108-27.
- 140- Kenney M T, Strathes B.** Metabolism and Pharmacokinetics of the Antibiotic Rifampin. *Drug Metab Rev*. 1981; 12:150-218.
- 144- Douglas J G, McLeod M.** Pharmacokinetics factors in the modern drug treatment of tuberculosis. *Clin Pharmacokinet*. 1999; 37: 127-46.
- 146-Bossche H V, Koymans L & Moereels H.** P450 inhibitors of use in medical treatment: focus on mechanisms of action. *Pharmacology and Therapeutics*. 1995; 67: 79–100.
- 147- Fromm M F, Busse D, Kroemer H K & Eichelbaum M.** Differential induction of prehepatic and hepatic metabolism of verapamil by rifampin. *Hepatology*. 1997;24: 796–80

Références bibliographiques

- 148- Laval Q.** Antibiotique RIFADIN. Capsules de rifampine. USP dosées à 150 mg et à 300 mg ; MONOGRAPHIE DE PRODUIT: 206328. 2017.
- 149- Bopaka R G, El Khattabi W & Afif H.** Le « DRESS » syndrome aux antituberculeux. Rev PneumolClin, 2014; 70:185-8.
- 150- Draz N, Datta S, Webster DP.** Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome secondary to antituberculosis drugs and associated with human herpes virus-7 (HHV-7). BMJ Case Rep. 2013.
- 151- Waseem D, Muzamil L & Najeebullah S.** Dress syndrome: a review and update. Skin Dis Skin Care. 2016; 1:1-4.
- 152- Ben m'rad M, Leclerc-Mercier S, Blanche P, Franck N, Rozenberg F, Fulla Y.** Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome: Clinical and Biologic Disease Patterns in 24 Patients. Medicine (Baltimore). 2009; 88(3):131-40.
- 153- World Health Organization.** Side-effects of anti-tuberculosis drugs. TB/HIV: a Clinical Manual. Second Edition. Geneva. 2003:129-35.
- 154- Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council.** Acceptability, compliance, and adverse reactions when isoniazid, rifampin, and pyrazinamide are given as a combined formulation or separately during three-times-weekly antituberculosis chemotherapy. Am Rev Respir Dis, 1989; 140:1618-1622.
- 155- Roblot F, Besnier J M, Giraudeau B, Simonnard N, Joinville-Bera A P & Coipeau P.** Lack of association between rifampicin plasma concentration and treatment-related side effects in osteoarticular infections. Fundam Clin Pharmacol. 2007; 21:363-9.
- 156- Fernandez-Villar A, Sopena B, Fernandez-Villar J, Vazquez-Gallardo R, Ulloa F, Leiro V, Mosteiro M & Pineiro L.** The influence of risk factors on the severity of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8(12): 1499- 1505.
- 157- Cohn H.** Clinical studies with a new rifamycin derivative. J Clin Pharmacol. 1969; 9:118-125.
- 158- Mallat A.** Hépatites médicamenteuses: diagnostic et prise en charge. Gastroenterol Clin Biol. Masson. Paris. 1999:23-906.

Références bibliographiques

- 159- Shakya R, Rao B S, Shrestha B.** Incidence of hepatotoxicity due to antitubercular medicines and assessment of risk factors. *Ann Pharmacother.* 2004; 38:1074-1079.
- 160- Godel A, Marchou B.** Rifampicine. EMC (Elsevier Masson Sas), *Traité de Médecine Akos.* Paris. 2007:5-0080.
- 161- Suc J M, Durand D.** Manuel de Néphrologie clinique. Ellipses Ed. 2001;527.
- 162- Muthukumar T, Jayakumar M, Fernando E M, Muthusethupathi M A.** Acute renal failure due to rifampicin : A study of 25 patients. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40:690-6.
- 163- Devarajan P.** Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(6):1503-20.
- 164- Ogata H, Kubo M & Tamaki K.** Crescentic glomerulonephritis due to rifampin treatment in a patient with pulmonary atypical mycobacteriosis. *Nephron.* 1998; 78(3): 319-22.
- 165- Covic A, Golea O, Segall L, Meadipudi S, Munteanu L, Nicolicioiu M, Tudorache V, Covic M & Goldsmith D J.** A clinical description of rifampicin-induced acute renal failure in 170 consecutive cases. *J Indian Med Assoc.* 2004; 102(1):20-5.
- 166- Fries D, Druet P.** Maladies rénales. Hermann science Ed. 1992 ;644.
- 167- Alop V.** Antibiothérapie et insuffisance rénale aiguë. Alop Valerie, Bordeaux. **2007.** - [http://agenceprd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0161348.htm# Rcp_6_1_ListeExcipients_5](http://agenceprd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0161348.htm#Rcp_6_1_ListeExcipients_5) 20:25-27/03/2018.
- 168- Blanc M.** Produits de la ruche et apithérapie : la gelée royale. *L'abeille de France* n°644. Novembre 1981. p.403. pdf A
- 169- CUVILLIER A.** Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire. Thèse de l'Université de Lille 2. 2015; 22.
- 170- Ashby R, Forêt S, Searle I & Maleszka R.** MicroRNAs in honey bee caste determination. *Scientific reports.* Vol. 6. PDF C. 2016.
- 171- Rossant A., Desmouliere A. (dir.).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. 132 p. Thèse de doctorat : Pharmacie. Limoges : Université de Limoges : 2011.

Références bibliographiques

- 172- Kamakura M.** Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*. Vol. 473.n° 7348. **2011**; 478-483.
- 173- Painter Theophilus S, Biesele John J.** The fine structure of the hypopharyngeal gland cell of the honey bee during development and secretion *Zoology Proc. NAS*. 1966; 55:1414-1419.
- 174- Jean-Prost P, LeConte.** Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier. 2005; 698p.
- 175- Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A.** Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research*, S0944- 5013, 30083-0. 2016.
- 176- Philippe J. M.** le guide de l'apiculteur, Troisième Edition EDISUD, 1999, p.1087.
- 177 – Gharbi B,** Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine-pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I. **2011**. pp. 221. PDF D
- 178- Nagai T, Inoue R.** Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food chemistry*. Vol. 84, n° 2. 2004 ; 181–186.
- 179- Mateescu C.** (page consultée le 17/11/11) Les produits de sécrétions et leurs rôles dans la colonie d'abeilles, [en ligne] Adresse URL : <http://www.beekeeping.com/anercea/secretions>.
- 180- Professeur Joyeux.** La Lettre du Professeur Joyeux. La gelée royale : intérêt en thérapeutique humaine.
- 181- Elser R.** Si la gelée royale m'était contée, Editions de la pensée moderne. Orléans. 1919.
- 182- Haydak M H.** Larval food and the development of castes in honeybee. *Jour. Econ. Ent.* **1943**; 36: 778-792.
- 183- Chauvin R.** (sous la direction de). *Traité de biologie de l'abeille*. 5 vols. Masson, Paris. 1968
- 184- Clément H, Contes-Y L, Barbancon J M & Vaissière B, Collectif.** *Le traité rustica de l'iculture*. (Rustica éditions, 2011).
- 185- Martini M C, Seiller M.** *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3^e édition. Paris : Editions Tec & Doc ; Cachan : Éditions Médicales internationales. 2006. XXVIII-1051 p.

Références bibliographiques

- 186- Ramadan M F, Alsghamdi A.** Bioactive compounds and health promoting properties of royal jelly: A review. *J Funct Foods*. Jan 2012; 4(1):39–52.
- 187- Amigou M.** Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse de Doctorat Vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. 2016 ; 139, 27-41
- 188- Rigal M L.** Miel et gelée royale utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoges Faculté de Paris.
- 189- Apimondia - standing commission of apitherapy.** Traité d'Apithérapie. La médecine par les abeilles [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN : 2- 9600270-0-0. **2001.**
- 190- Cuvillier A.** Miel, Propolis, Gelée royale :Les abeilles alliées de notre système immunitaire. Thèse. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille. 2015; 13
- 191- Hegazi AG.** Biological activity of royal jelly in Apimondia .2001 .
- 192- Han B, Li C, Zhang L, Fang Y, Feng M & Li J.** Novel royal jelly proteins identified by gel-based and gel-free proteomics *J. Agri. Food Chem*. Sep 1.pdfI. 2011.
- 193- Shin H S ,Ustunol Z.** *Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria : An in vitro comparison Food Research International.* **2005; 38:721-728**
- 194- Domerego R, Imbert G, Blanchard C.** Les remèdes de la ruche Editions Alpens, Monaco. 2009 ; 95p.
- 195 Cherbuliez T H, Domerego R.** *L'apithérapie Médecine des abeilles.* Bruxelles : Amyris. 2003 ; 255p
- 196- Caillas A.** Si la gelée royale m'était contée. Editions de la pensée moderne. Orléans. 1977.
- 197- Donadieu Y.** La gelée royale thérapeutique naturelle, 5° Edition. Paris. Maloine edit.1981; 79p
- 198- SWEETMAN S. Royal jelly C & Martindale.** The complete drug reference. 33° Edition, Pharmaceutical Press. Londres. 2002.

Références bibliographiques

- 199- Begon J.** La cire pure d'abeilles, La Belgique apicole, Février **1978**.
- 200- (Anonyme 1).** ASSOCIATION EUROPEENNE D'APITHERAPIE. La médecine par les abeilles - Traité d'apithérapie , CD-ROM d'Apitherapie v1.0
- 201- Cousin L.** L'abeille et le conseil à l'officine »thèse Faculté de Médecine et de Pharmacie Université de POITIERS. 2014 ; 27p.
- 202- GASIC S, Vucevic D, Vasilijic S, Antunovic M, Chinou I & Colic M.** Evaluation of the immunomodulatory activities of royal jelly components in vitro. Immunopharmacolimmunotoxicol. 2007.
- 203-Hashimoto M, Kanda M, Ikeno K, Hayashi Y, Nakamura T, Ogawa Y, Fukumitsu H, Nomoto H & Furukawa S..** Oral administration of royal jelly facilitates mRNA expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and neurofilament H in the hippocampus of the adult mouse brain. Biosci.Biotechnol.Biochem. 2005: 69; 800–805.
- 204- Hattori N , Ohta S , Sakamoto T , Mishima S & Furukawa S.** Royal jelly facilitates restoration of the cognitive ability in trimethyltin-intoxicated mice. Evid Based Complement Alternat Med. 2011; 165968.
- 205- Plantes.** Gelée Royale. Mr palntes et les plantes médicinale. pour tout savoir sur les plantes qui soignant. 2010. Renault L. Les plantes melliferes. Paris: Editions Rustica. 2012 ;111 p. - Le traite Rustica de l'apiculture.2^e edition.Paris:Editions Rustica;2003.528
- 206- Fujiwara S, Imai J, Fujiwara M, Yaeshima T, Kawashima T & Kobayashi K.**A potent antibacterial protein in royal jelly.Purification anddetermination of the primary structure of royalisin, J BiolChem, 1990.
- 207- Eshraghi S, Seifollahi F.** Antibacterial Effects of Royal Jelly on Different Strains of Bacteria. Iranian Journal of Public Health 2003 ; 32(1) : p25-30.
- 208- Kamakura M, Mitani N, Fukuda T & Fukushima M.** Antifatigue effect of fresh royal jelly in mice. J NutrSciVitaminol. 2001.
- 209- Park H M, Cho M H, Cho Y & Kim S Y.** Royal jelly increases collagen production in rat skin after ovariectomy. J Med Food. 2012. 15, 568–575.
- 210- Cihan, Yasemin B, CIHAN, Celaledin R, MUTLU, Hasanet UNAL, Dilek.** Effect of royal jelly on serum trace elements in rats undergoing head and neck irradiation. Kulak

Références bibliographiques

burunboğazihtisasdergisi: KBB = Journal of ear, nose, and throat. Vol. 23, n° 1. Février 2013. 37-43 pp. PMID: 23521411.

211- Liu JR., Yang YC. Shi LS & Peng CC. Antioxydant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest J. Agri. Food Chem. 2008. 56(23):11447-11452 .

212- Kaynar L C, Aysun, Hacıoglu, Sibel K, Eser, Barış, Koçyigit, İsmail, Canöz, Özlem, Tasdemir, Arzu, Karadag, Canan, Kurnaz, Fatih, Saraymen, Recep & Silici, Sibel. Efficacy of royal jelly on methotrexate-induced systemic oxidative stress and damage to small intestine in rats. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines. Vol. 9, n° 3. **2012**; 412-417 pp..

213- Kanbur, Murat, Eraslan, Gökhan, Beyaz, Latife, Silici, Sibel, Liman, Bilal Cem, Altinordulu, Suleet Atasever & Ayhan. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. Experimental and toxicologic pathology: official journal of the GesellschaftfürToxikologischePathologie. Vol. 61, n° 2. mars**2009**. 123-132 pp.

214- Elsnekeety AA, Elskholy W, Abbas NF, Ebaid A, Amra HA & Abdelswahhab MA. Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. Toxicon Off J Int Soc Toxinology. aug 2007; 50(2):256–69.

215- Librowski, T., Czarnecki, R.Comparative analysis of Apistmul Crataegi Forte and royal jelly in the experimental heart action disturbance, Herba Pol. 2000; 46(3), 145-150.

216- Fujii A., Kobayashi S & Kuboyama N. Augmentation of wound healing by royal jelly in streptozotocin-diabetic rats. Japanese journal of pharmacology, vol. 53, n° 3. 1990; 331 337.

217- Kwakman P H S, Velde AA, de Boer L, Speijer D, Vandenbroucke-Grauls C M, Zaat S A.. How honey kills bacteria. FASEB J. 2010; **24**, 2576–2582

218- Tamura T. et al. Antitumoreffects of royal jelly, Nippon YakurigakuZasshi. 1987.

219- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1984; 1112-1116.

220- Wenger C. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1984; 1094-1098.

221- Rosalki S et al. Clin Chem. **1993**; 39/4: 648-652.

Références bibliographiques

- 222- Gendler S.** Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton **1984**; 1268-1273 and 425.
- 223- Rodkey F L.** Clin Chem. **1965**; 11: 478-487.
- 224- Webster D.** Clin Chem. **1974**: Acta 53: 109-115.
- 225- Koller A.** Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. **1984**; 1316-1324 and 418
- 226- Burtis A .** Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC **1999**.
- 227- Kaplan A.** Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- 228- Schultz A.** Uric acid. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company. 1984 ; 1261-6.
- 229- Martoja R. Martoja P M.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Paris : Edition Masson. 1967; 345.
- 230- Silici S, Ekmekcioglu O, Eraslan G & Demirtas, A.** Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. Urology. 2009; 74, 545–551
- 231- Klaassen C D , Watkin J B.** Mechanism of formation, hepaticuptake and biliaryexcretion. Pharmacol. Rev. 36, 1–67. 1984.
- 232-Ronald L, Koretz M D.** Chronichepatitis: science and superstition. In: Gitnick, G. CurrentHematology. 12. Mosby-Year. Chicago. 1992; 53–75.
- 233- Meyer D J, Harvey J W.** Hematologic changes associatedwithserum and hepaticironalterations in dogswithcongenitalportosystemicvascular anomalies. J VetIntern Med;8: 55–6. **1994**.
- 234- Sallie R., J. M. Tredger, and R. Williams ().** Drugs and the liver, Biopharmaceutics and Drug Disposition. vol. 12, no. 4. 1991; 251–259 pp.
- 235- Turgut K. Klinikenzimoloji ().** VeterinerKliniklaboratuartes-hiskitabÖ. Konya. **2000**;179 201 p.

Références bibliographiques

- 236- Hajimehdipoor H, SadeghiZ, ElmiS, ElmiA, Ghazi-Khansari M & AmanzadehY .** Protective effects of SwertialongifoliaBoiss. and its active compound, swerchirin, on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice .JP harm Pharmacol. **2006**;58:277–80
- 237- Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, Yildirim S, Kara A, Ismail , Fikrullah K, Habib E, & Mehmet T.** Royal Jelly Modulates Oxidative Stress and Apoptosis in Liver and Kidneys of Rats Treated with Cisplatin. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2011.
- 238- Radhika S, Ramneek K, Manishi M & Vija L.** Assessment of hepatotoxicity of first-line anti-tuberculosis drugs on Wistar rats . Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol : 27.2017.
- 239- Frederico S C , Evanoel C L , Jorge L O D, Angelo C. Pintob , Maria Cristina S. Lourenço , Karen M G , M M C , Carlos F A, Claudia A F A , Israel F , Thadeu E M M Costai, Carmen P , Maria G H ,& Nubia Boechat .** New Hydrazides Derivatives of Isoniazid Against Mycobacterium tuberculosis: Higher Potency and Lower Hepatocytotoxicity . European Journal of Medicinal Chemistry. 10.1016/j.ejmech.2018.01.071 . 21 January 2018.
- 240- Formaldehyde – OECD – SIDS, Initial assessment report – UNEP publications, 2002** (www.chem.unep.ch/irptc/sids/ oecdsids/sidspub.html 1.)
- 241- KargarJahromi H, Pourahmad M & KargarJahromi A.** Protective effects of salep against isoniazid liver toxicity in wistar rats. Journal of Traditional and Complementary Medicine, Elsevier. 2017.
- 242- Mahmoud A, Fenghour M.** Etude de l'effet protecteur d'un produit de la ruche, la gelée royale sur le Stress oxydatif et l'inflammation induit par le formaldéhyde chez le rat. Université des Frères Mentouri Constantine. 2016 ; p : 109.
- 243- Marie F O.** Dosage sanguin de l'albumine. Doctissimo santé. La clozapine : Guide d'utilisation. Institut universitaire en santé mentale de Québec. 03 mars 2017.
- 244- Chouaib S, Manel R.** Effet préventif de la quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par la rifampicine et l'isoniazide. Université des Frères Mentouri. Constantine .2015 ; 65.
- 245- Benhaddouandaloussi A .** Étude des propriétés antidiabétiques de Nigella sativa : Sites d'action cellulaires et moléculaires .Thèse de doctorat, Université de Montréal. 2009.

Références bibliographiques

- 246- DeFronzo R A, Bonadonna R C & Ferrannini E.** Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview .Diabetes Care. Vol 15, No 3 : 318-368. In Benhaddou-Andaloussi A (2009) .Étude des propriétés antidiabétiques de Nigellasativa: sites d'action cellulaires et moléculaires. **1992.**
- 247- Barnett AH, Eff C, Leslie RDG et Pyke DA (1981).** Diabetes in identical twins.Diabetologia. **1981** ; 20: 87-93.
- 248- Newman B, Selby JV, SlemendaClFabsitz R & Friedman G D .** Concordance for type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus in male twins.DiaSetologia. Thèse de doctorat. Université de Montréal. **1987** ; 30: 763-738.
- 249- American Diabetes Association.**Standards of medical care in diabetes – 2014. Diabetes Care. 2014; 37.
- 250- La Revue Prescrire,** Interactions médicamenteuses. 2012. Vol. 32, N°350, 560 p.
- 251- Vital Durand D, Le Jeune C.** Dorosz – Guide pratique des médicaments, 32ème édition, Maloine Ed, Paris. 2013 ; 1905 p.
- 252- Münstedt, Karsten, Bargello, Matthias & Hauenschild, Annette.** Royal jelly reduces the serum glucose levels in healthy subjects. Journal of medicinal food. Vol. 12, n° 5, pp. 1170-1172.DOI 10.1089/jmf.2008.0289.PMID: 19857086. Octobre 2009.
- 253- Guillausseau P G, Michelin M L ().**Physiopathologie du diabète de type 2. La Revue de Médecine Interne. Vol 24. **2003** ; 11:730-737.
- 254- Percie du Sert P. (2003)** Ces pollens qui nous soignent. Guy Trédaniel Editeur. 2nde édition, 2003 ; 211p.
- 255- Domerego R.** Chapitre X : Santé, bien-être, apithérapie in Clément H. et al. Le Traité Rustica de l'apiculture Editions Rustica. Paris. **2009** ; 390-417.
- 256- El-Nekeety A A, El-Kholy W, Abbas N F , Ebaid A , Amra H A & Abdel Wahhab, M. A.** Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. Toxicon. 2007; 50(2), 256-269.
- 257- Dimitrios T, Isabelle.** Appréciation de la fonction rénale créatininurie, urée et filtration glomérulaire. Forum medsuiss. 2006 ; 6: 414-419.

Références bibliographiques

- 258- Frank C L U.** Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris. 1992 ; 73- 202 pp.
- 259- Rémond Catherine.** Surveillance infirmière en pré et postopératoire. 3ème édition. Édition LAMARE. Paris. 2007 ; 37p.
- 260- Fritz G, Barner C, Schindler R, Boemke W & Falke K.** Amoxicillin-induced acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18 : 1660-2.
- 261- Cetam L.** Effets protecteurs de la gelée royale contre les effets toxiques de pesticides. La présente étude a été entreprise pour étudier l'effet protecteur de la gelée royale (GR) contre la toxicité induite par un pyréthrianoïde de synthèse, la lambda-cyhalothrine (LCT), chez des souris Swiss albinos. *J Med Food* 2011.
- 262-Fenniche S, Maalej S, Fekih L, Hassene H, Belhabib D & Megdiche M L.** Manifestations of rifampicin-induced hypersensitivity. *Presse Med* 2003; 32: 1167-9.
- 263- Covic A, Goldsmith D, Segall L, Stoicescu C, Lungu S & Volovat C.** Rifampicin induced acute renal failure: a series of 60 patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:924-9
- 264- Thangamani M, Matcha J, Edwin MF, Muthayeepalayam AM.** Acute renal failure due to rifampicin: a study of 25 patients. *Am J Kidneys Dis* 2002; 40(4):690-6

Date de la soutenu : le 20/06/2018

Thème : Etude de l'effet préventif de la gelée royale contre l'hépatotoxicité et néphrotoxicité induite par deux médicaments (Isoniazide / Rifampicine)

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet protecteur de la gelée royale vis-à-vis l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par des médicaments antituberculeux isoniazide/rifampicine (INH/RMP) chez des lapins mâles de la souche *Oryctolagus Cuniculus*.

Pour cela, 15 lapins mâles ont été répartis en 3 lots, le premier servant de témoin, a reçu de l'eau physiologique par voie orale (gavage), le deuxième a reçu une dose unique de isoniazide/rifampicine (75/150 mg) par voie orale pendant 15 jours et le troisième lot a reçu un traitement combiné de l'isoniazide/rifampicine (75/150 mg) et de la gelée royale (10mg/2ml) par voie orale pendant 15 jours successifs. Les résultats obtenus ont montré que l'isoniazide/rifampicine a un effet hépatotoxique et néphrotoxique, ceci est révélé par un déséquilibre métabolique des paramètres biochimiques étudiés au niveau du foie et du rein avec une augmentation hautement significative du taux de l'activité enzymatique de TGP, de TGO et les taux d'albumine, du cholestérol et de l'urée, une réduction très hautement significative de l'activité de la PAL, une augmentation significative pour la glycémie et de la protéine totale et une augmentation très hautement significative de taux de l'acide urique et triglycéride, sachant que les résultat de traitement avec la gelée royale ont révélé une amélioration dans tous des paramètres biochimiques précédents.

L'étude histologique du foie et du rein a démontré l'implication du INH/RMP dans l'hépatotoxicité, se traduisant par une dilatation de la veine porte et de la veine centrale, et une accumulation des cellules inflammatoires avec une nécrose hépatique. D'autre part, la néphrotoxicité induite par ces médicaments peut causer des altérations glomérulaires et tubulaires importantes, l'espace de Bowman est rétréci à cause de la dégénérescence cellulaire et les lésions des capillaires glomérulaires, hémorragie dans la lumière tubulaire et nécrose dans l'épithélium tubulaire. Cependant, la supplémentation en gelée royale aux lapins traités par INH/RMP, a atténué certains effets nocifs du INH/RMP. Ceci met en évidence les rôles protecteurs, antioxydants et anti-inflammatoires de la gelée royale vis-à-vis l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité induites par INH/RMP.

Mots clés : médicament antituberculeux, isoniazide/rifampicine, gelée royale, lapins l'hépatotoxicité, néphrotoxicité.

Jury d'évaluation :

Présidente : Mme BOUAKKAZ Amel MCB Université Abess Laghrour- Khenchela

Examineur : Mr MAAMAR hichem MCB Université Abess Laghrour- Khenchela

Promotrice : Mme DJEMIL Randa MCB Université Abess Laghrour- Khenchela

Lieu de travail : *Laboratoire où le travail a été réalisé : laboratoires pédagogiques de l'Université de Khenchela
Laboratoire de l'hôpital Ahmed Ben Balla Khenchela
Laboratoire d'anatomie pathologique EPH Ahmed Ben Bella El hamma*