

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ EL CHAHID CHEIKH LARBI TEBESSI -TEBASSA-
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master L.M.D.

Domaine : Science de la nature et de la vie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie appliquée

Thème

**Etude du pouvoir hépato-protecteur de la *Nigella sativa*
contre le déséquilibre biochimique survenu lors d'une
intoxication médicamenteuse**

Présenté par

Bouchabou Douaa

Fatmi Nourhane

Mme Guedri Kamilia	MCA	Université Larbi Tebessi -Tébessa-	Présidente
Mme Hamiri Manel	MAA	Université Larbi Tebessi –Tébessa-	Examinatrice
Mme Messaadia Amira	MCB	Université Larbi Tebessi -Tébessa-	Promotrice

Date de soutenance :08/06/2023

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Les noms vernaculaires de la <i>Nigella sativa</i> L .dans le monde	8
2	La composition générale de <i>N.sativa</i>	10
3	Classification botanique de <i>Nigelle sativa</i>	17
4	Composition de 1 Kg d'aliments	20
5	Composition des lots utilisé dans l'expérience	22
6	Variation du poids corporel et du rapport organo-corporel chez les rates témoins et traités par l'ERY Gé et/ou la <i>Nigella Sativa</i> sous forme d'huile pendant 10 jours	41
7	Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et traitées par ERY Gé et/ou la <i>Nigella Sativa</i> pendant 10jours	44
8	Variation des paramètres sanguins chez les rats témoins (T) et les rats traités après 10 jours de traitement	49
9	Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau de foie chez les rats témoins et traités pendant 10 jours	52

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Structure chimique d'érythromycine	1
2	Inhibition de la synthèse protéique bactérienne par les macrolides érythromycine, clarithromycine et azythromycine	2
3	Mécanisme de l'inhibition de la synthèse protéique bactérienne par le chloramphénicol	2
4	Mécanisme de l'inactivation de l'érythromycine en milieu acide	5
5	Carte de la Mésopotamie et du croissant fertile	8
6	Nigella sativa, (a) plante entière, (b) fleurs et (c) capsule renfermant les graines	10
7	Structure chimiques des principaux constituants des huiles volatiles des graines de Nigella sativa	12
8	Préparation de la solution ERY Gé dans laboratoire contrôle de la qualité Fethallah walid	16
9	Photographie des graines Nigella sativa	17
10	Huile de nigelle pressée le 27/01/2023	18
11	Méthode d'extraction d'huile de nigelle pressée à froid	19
12	Entretien des animaux	21
13	Traitement des animaux	22
14	Prélèvement du sang et du foie	24
15	Diagramme récapitulatif du protocole expérimental	25
16	Mesure de la glycémie	26
17	Dosage des paramètres biochimiques	27
18	Préparation de la solution tbs	30
19	Préparation de la solution TCA-BHT, HCL, tris-TBA	31
20	Préparation homogénat	31
21	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de malondialdéhyde (photos personnelles)	33
22	Préparation de tampon phosphate	34
23	Préparation de l'homogénat	35
24	Préparation de la solution CDN	36

25	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin	37
26	Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage des protéines	38
27	Changements morphologiques et comportementaux des rats	40
28	Variation du poids corporel (g) des rates témoins et traitées après 10 jours du traitement	42
29	Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ATAL et PAL) chez les rats témoins et traités	45
30	Variation du taux de triglycérides et du cholestérol chez les rates témoin et traitées	46
31	Variation du taux de glycémie et du bilirubine chez les rates témoin et traitées	46
32	Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine), au niveau hépatique chez les rats témoins et traités pendant 10 jours.	52

Liste des abréviations

ALAT	Alanine aminotransférases
ASAT	Aspartate aminotransférases
PAL	Phosphatase alcaline
ECG	Electrocardiographie
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CCL4	tétrachlorure de carbone
CCMH	concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
CCMH	concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
CMH	complexe majeur dhistocompatibilité
CMV	volume corpusculaire moyen
CMV	cytomégalovirus
EE	Érythromycine estolate
ERY GÉ	Érythromycine Gé
GB	taux de globules blancs
GC-MS	gas chromatography-mass spectroscopy
GR	taux des érythrocytes
GSH	glutathion
GST	glutathion s-transférases
HB	hémoglobine
HDL	lipoprotéines de haute densité
HTC	hématocrite

IL-1B	interleukin 1 beta
IL-3	interleukin 3
LYM	Les lymphocytes
M	Médicament
MDA	malondialdéhyde
MN	combinaison
MON	monocyte
N	La Nigelle
PLT	Les Plaquettes
ROS	reactive oxygen species
T	témoin
TBHP	tert butyl hydroperoxide
TNF-A	tumor necrosis factor alpha
TQ	thymoquinone
HEL	Huile essentielle

Table des matières

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

Résumé (arabe-français-anglais)

Remerciement et dédicaces

Introduction

Revue bibliographique

1. Généralités sur l'érythromycine

1.1. Historique et origine	01
1.2. Structure chimique	01
1.3. Mécanisme d'action	02
1.4. Pharmacocinétique et pharmacodynamique.....	03
1.4.1. Pharmacocinétique	03
1.4.1.1. Absorption	03
1.4.1.2. Distribution	03
1.4.1.3. Métabolisme	03
1.4.1.4. Excrétion	04
1.4.2. Pharmacodynamie.....	04
1.5. Indications thérapeutiques	06
1.6. Effets indésirables et surdosage	06
1.7. Interactions médicamenteuses.....	07
2. Nigella sativa.....	07

2.1. Généralités.....	07
2.2. Historique.....	07
2.3. Etymologie	08
2.4. Description botanique de <i>Nigella sativa L.</i>	09
2.5. Composition chimique de la plante	10
2.5.1. Lipides et stérols	10
2.5.2. Composés aromatiques	11
2.5.3. Les protéines.....	11
2.5.4. Les vitamines et sels minéraux.....	11
2.5.5. Huiles volatile.....	11
2.6. Propriétés pharmacologiques de <i>Nigella sativa</i>	12
2.6.1. Effet hepatoprotective.	12
2.6.2. Effets sur le système immunitaire	12
2.6.3. Effets sur le système respiratoire	13
2.6.4. Effets sur le système gastro-intestinal.....	13

Partie expérimentale

3. Matériels et Méthodes	14
3.1. Matériel chimique : Erythromycine : ERY Gé	14
3.1.1. Définition et propriétés physico-chimique	14
3.1.2. Composition	14
3.1.3. Lieu de fabrication	14
3.1.4. Pharmacocinétique d'ERY Gé chez les animaux de laboratoire	15
3.1.4.1. Absorption	15

3.1.4.2. Distribution.....	15
3.1.4.3. Métabolisme	15
3.1.4.4. Excrétion.....	15
3.1.4.4.1. Excrétion rénale	15
3.1.4.4.2. Excrétion fécale	15
3.1.5. Préparation de solution.....	16
3.2. Matériel végétale : <i>Nigella Sativa</i>	17
3.2.1. Taxonomie	17
3.2.2. Méthode d'extraction d'huile de nigelle.....	18
3.2.3. Rendement	19
3.3. Entretien et traitement des animaux	19
3.3.1. Prélèvement sanguin	23
3.3.2. Prélèvement du foie	23
3.3.3. Mesure de la glycémie	26
3.3.4. Dosage des paramètres biochimiques	27
3.3.4.1. Dosage de l'aspartateamino-transférase (ASAT/TGO)	27
3.3.4.2. Dosage de l'alanine amino-transférase (ALAT/TGP)	28
3.3.4.4. Dosage du cholestérol	28
3.3.4.5. Dosage des triglycérides	28
3.3.4.6. Dosage de l'FNS.....	28
3.3.4.7. Dosage de la bilirubine	29
3.3.5. Mesure des paramètres du stress oxydant.....	29
3.3.5.1. Dosage de MDA selon Esterbauer <i>et al.</i> (1992)	29

3.3.5.2. Dosage de Glutathion S-transférase GST selon Habig et al. (1974)	33
3.4. Analyse statistique des résultats	38
4. Résultats et discussion	
4.1. Changements morphologiques et comportementaux	40
4.2. Influence du traitement sur la croissance corporelle	41
4.3. Influence du traitement sur le poids relatif (PR) du foie.....	41
4.4. Influence du traitement sur la variation de quelques paramètres biochimiques.....	44
4.5. Effets du traitement sur les paramètres hématologiques	49
4.6. Influence des traitements sur les paramètres du stress oxydant	50
4.6.1. L'activité enzymatique S-transférase GST	50
4.6.2. Le malondialdéhyde (MDA)	51
Conclusion et perspectives	
Références bibliographique	

Résumé

L'objectif de cette étude est de tester l'effet hépatoprotecteur de la *Nigella Sativa* contre l'hépatotoxicité induite par l'érythromycine chez le rat. L'érythromycine est un antibiotique de la famille des macrolides. C'est un des médicaments les plus utilisés dans la population Algérienne dans les dernières années, il provoque une hépatotoxicité à des doses élevées. L'étude a été réalisée sur un groupe des rats femelles Wistar albinos réparties en 4 lots : un lot contrôle, un lot traité par l'huile de nigelle, un lot traité par 92mg/kgd'érythromycine uniquement et un dernier lot traité par l'huile de nigelle suivi de l'érythromycine.

Nos résultats montrent dans un premier temps que l'exposition de l'érythromycine à entraîner une diminution de la croissance pondérale, une perturbation du métabolisme biochimique marquée essentiellement par une hyperlipidémie, une augmentation significative du bilan hépatique sanguin accompagnée par une augmentation du rapport hépato-corporel. Sur le plan oxydatif, on note une augmentation du taux de MDA et une diminution du taux de GST.

Tandis que l'administration d'huile de nigelle chez les rates traitées par l'érythromycine permet de rétablir l'ensemble des paramètres mesurés dans cette étude. Aucune différence significative n'est enregistrée par rapport au groupe témoin.

Ces résultats témoignent du pouvoir antioxydant et protecteur de (*Nigella sativa*) contre l'effet oxydatif d'érythromycine.

En conclusion, l'huile de nigelle possède un effet protecteur contre les lésions hépatiques induites par l'érythromycine.

Mots clés : Erythromycine, Antibiotique, toxicité, foie, hépatotoxicité, nigella sativa, antioxydante, rats.

Abstract

The objective of this study is to test the hepatoprotective effect of *Nigella Sativa* against erythromycin-induced hepatotoxicity in rats. Erythromycin is an antibiotic of the macrolide family. It is one of the most used drugs in the Algerian population in recent years, it causes hepatotoxicity at high doses. The study was carried out on a group of female Wistar albino rats divided into 4 groups : a control group, an oil-treated group, a group treated with 92mg/kg erythromycin only and a final group treated with erythromycin followed by nigel oil.

Our results show initially that the exposure of erythromycin to cause a decrease in weight growth, a disturbance of biochemical metabolism marked mainly by hyperlipidemia, a significant increase in blood liver activity accompanied by an increase in liver-body ratio. On the oxidative side, there is an increase in MDA and a decrease in GST.

Whereas the administration of nigella oil in erythromycin-treated rats allows to restore all the parameters measured in this study. No significant differences were recorded from the control group.

These results demonstrate the antioxidant and protective power of (*Nigella sativa*) against the oxidative effect of erythromycin.

In conclusion, nigel oil has a protective effect against liver damage induced by erythromycin.

Key words : Erythromycin, antibiotic, toxicity, liver, hepatotoxicity, nigella sativa, antioxidant, rats.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو اختبار التأثير الوقائي لحبة البركة ضد السمية الكبدية التي يسببها الإريثروميسين في الفئران. الإريثروميسين هو مضاد حيوي لعائلة الماكروليد. وهو أحد أكثر الأدوية استخدامًا بين السكان الجزائريين في السنوات الأخيرة، ويسبب تسمم الكبد بجرعات عالية. أجريت الدراسة على مجموعة من إناث فئران ويستار ألبينو مقسمة إلى أربع مجموعات : مجموعة شاهد، مجموعة معالجة بزيت حبة البركة، مجموعة معالجة بالايريثروميسين فقط ومجموعة أخيرة معالجة بزيت حبة البركة والايريثروميسين معا.

تظهر نتائجنا في البداية أن تعرض الإريثروميسين يتسبب في انخفاض في نمو الوزن، وهو اضطراب في التمثيل الغذائي الكيميائي الحيوي يتميز بشكل أساسي بفرط شحميات الدم، وهي زيادة كبيرة في نشاط الكبد في الدم مصحوبة بزيادة في نسبة الكبد إلى الجسم. على الجانب التأكسدي، هناك زيادة في (مالونالديهيد) وانخفاض في نسبة (الجليتاسيون اس ترانسفيراز)

في حين أن إعطاء زيت البركة الى الفئران المعالجة بالإريثروميسين يسمح باستعادة جميع التغيرات التي تم قياسها في هذه الدراسة. لم يتم تسجيل أي اختلافات كبيرة من المجموعة الضابطة.

توضح هذه النتائج مضادات الأكسدة والقوة الوقائية لـ (حبة البركة) ضد التأثير التأكسدي للإريثروميسين.

في الختام، زيت حبة البركة له تأثير وقائي ضد تلف الكبد الناجم عن الإريثروميسين .

الكلمات المفتاحية

ايريثروميسين، مضاد حيوي، السمية، الكبد، السمية كبدية، حبة البركة، مضادات الأكسدة، فأران

Remerciements

*Nous remercions **Allah** tout puissant de nous avoir donné le privilège et la Chance d'étudier et de nous avoir donné la force, la patience et le courage*

Pour terminer ce travail.

*Nous remercierons vivement Dr **Guedri Kamilia**, non seulement pour avoir accepté de présider ce jury, mais aussi pour la formation qui nous a donné.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à Dr **Hamiri Manel** pour l'intérêt et l'attention qu'elle est accordé à ce travail et d'avoir accepté d'en être l'examinatrice.*

*Nos plus vifs remerciements vont à notre promotrice Dr **Messaadia Amira** de nous avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils, qu'elle trouve ici notre profonde gratitude.*

*Nous tenons à remercier le pharmacien **zaraa Sofiane** pour ses informations, ses conseils et son aide de toutes les manières possibles dans notre travail.*

*Nous remercions laboratoire contrôle de la qualité **Fethallah walid**.*

Dédicaces

Avant toute chose Je remercie ALLAH le plus puissant qui me donné une grande force pour mener à bien cette mémoire.

AL-Hamdulillah...

Je dédie ce modeste travail à ma très chère mère

KHELADI Naïma

source de tendresse et exemple de dévouement, qui n'a jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi. La personne qui m'a élevé et m'a inculqué de bonnes valeurs de vie, celle que tous les mots ne suffisent pour lui exprimer mon amour et ma gratitude. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon cher père Mouhamed, qui a changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions tous au long de mon parcours d'étude. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Un dédicace spécial a la personne qui à souffert sans me laisser souffrir, qui a jamais dit non pour me rendre heureuse, mon cher fiancé Fawaz, que dieu le protège et le bénisse.

A ma merveilleuse sœur Ikram

À qui je souhaite la réussite et tout le bonheur du monde, que Dieu la Protégé.

A mon petit frère Waïl, je souhaite que Dieu Tout-Puissant de t'accorder le succès dans ta vie

Douaa

Dédicaces

Je remercie en premier lieu :

Dieu tout puissant

De m'avoir donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail

*Au prophète **MOHAMMED** que la prière et le salut soient sur lui.*

*À celui qui a transformé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions pour moi, **mon cher père**, que Dieu ait pitié de lui et lui accorde le paradis le plus élevé*

A celle qui a attendu avec patience les fruits de ça bonne éducation et ses dévouements

ma chère mère

*À mes **chères sœurs, Imene et Radia** pour leurs encouragements permanents, et leur*

Soutien moral

*A mes **chers frères, Chames Eddine, Bilal, Djaber.***

A ma petite famille

*A mon binôme **Douaa***

*Et mes amies **Chadha et Imene, Amani***

Merci d'être toujours là pour moi

NOUR

Introduction générale

Introduction

Les intoxications médicamenteuses sont un véritable fléau dans de nombreux pays du monde, ainsi une cause fréquente d'admission aux urgences et en réanimation. Sont dues à l'ingestion accidentelle ou volontaire de médicaments. La voie orale demeure la voie d'absorption la plus utilisée, le risque ou les conséquences dépendent de la quantité ingérée et de la nature des médicaments (**Zerrar *et al.*, 2020**). Ces derniers présentent des propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales mais lorsque la quantité des métabolites toxiques dépasse les capacités métaboliques du foie, ils attaquent et détruisent les cellules hépatiques : c'est l'hépatite toxique. Selon cette étiologie plusieurs maladies hépatiques comme : la cirrhose, la stéatose, le tumeur du foie et le nécrose hépatique... sont détectées suite à une intoxication médicamenteuse. Près de 1 000 médicaments sont répertoriés comme susceptibles de provoquer une hépatite toxique (**Boukhalfa *et al.*, 2016**).

Alors, l'hépatotoxicités médicamenteuses ou les DILI (drug-induced liver injuries), sont des événements indésirables caractérisés par des lésions affectant l'ensemble de la structure hépatique conséquentes à la prise d'un médicament. Peu fréquentes, leur incidence est estimée entre 1/10 000 et 1/100 000 individus selon les molécules et elles sont la première cause de retrait des médicaments du marché. Parfois létales et à l'origine de près de 50% des cas d'hépatites fulminantes. Les médicaments hépatotoxiques les plus fréquemment retrouvés dans la littérature sont, après le paracétamol, les antibiotiques, les AINS (anti inflammatoires non stéroïdiens) et les antiépileptiques (**Rhyner *et al.*, 2010**).

On trouve une autre modalité de traitement vis-à-vis les déférents lésions hépatiques, c'est les plantes médicinales, elle sont utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle, en raison de l'insuffisances des soins de santé et le manque des médicaments essentiels et le cout élevé des médicaments.

Les plantes médicinales sont une source vitale de nouveaux composés potentiellement utiles pour le développement d'une thérapie efficace afin de lutter contre des problèmes de foie. De plus les produits à base de plantes ont l'avantage d'une meilleure accessibilité et acceptabilité, une meilleure compatibilité avec le corps humain, et un minimum d'effets secondaires et sont plus faciles à stocker. Parmi les plantes médicinales les plus exploitées à travers le monde, on

rencontre la *Nigella sativa* qui a été utilisée depuis des siècles contre une multitude de maux, et notamment comme antidiabétique, antihypertenseur et anti-inflammatoire. Les études récentes soulignent des propriétés spectaculaires et prometteuses (antitumorales, hypoglycémiantes, immunostimulantes et antioxydantes) (**Guergouri, 2018**).

Plusieurs d'autres activités tels que l'activité anti-hépatotoxique et anti-néphrotoxique ont été aussi attribuées à l'huile de *Nigella Sativa* (**Aggoune, 2012**).

Ce travail vise à évaluer l'effet hépatoprotecteur de l'huile de *Nigella sativa* contre le déséquilibre biochimique survenu lors d'une intoxication médicamenteuse liée à un antibiotique. Il est organisé en trois parties complémentaires ; la revue bibliographique comporte les divers aspects bibliographiques abordés, la seconde partie décrit l'ensemble des matériels et méthodes suivis lors des expérimentations développées puis la partie résultats et discussion dans laquelle on révèle nos résultats et qui sont discutés selon la bibliographie disponible, cette dernière partie est suivie de conclusion et quelques perspectives.

Revue bibliographique

1.3. Mécanisme d'action

Les macrolides sont des substances bactériostatiques qui inhibent la synthèse protéique en se fixant de façon réversible au niveau de la sous-unité ribosomiale 50 S des microorganismes sensibles (Figure 2). L'érythromycine interfère avec la fixation du chloramphénicol qui agit également à ce niveau (voir figure 3). On pense que l'érythromycine n'inhibe pas directement la formation de la liaison peptidique mais inhibe plutôt l'étape de translocation au cours de laquelle une molécule d'ARNt peptidique nouvellement synthétisée passe du site accepteur du ribosome sur le site donneur peptidique (Merle, 1998).

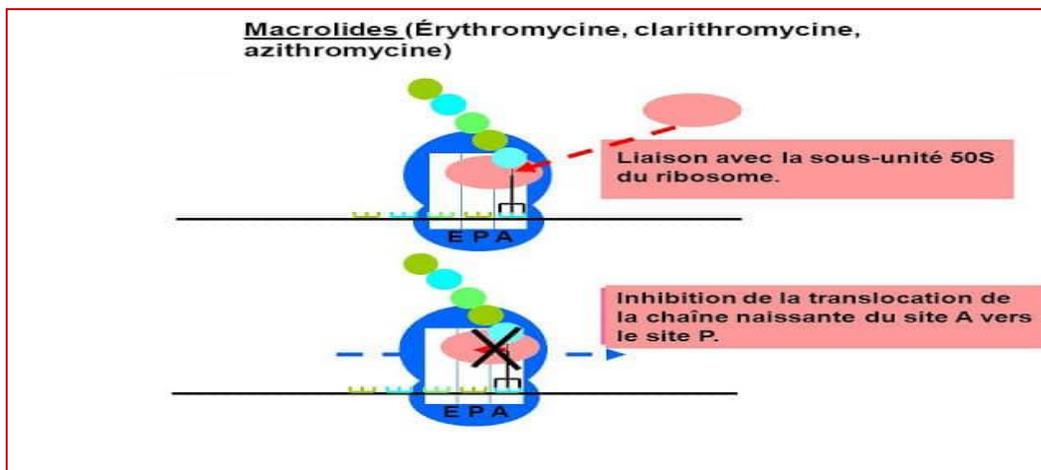


Figure 02. Inhibition de la synthèse protéique bactérienne par les macrolides érythromycine, clarithromycine et azythromycine (web)

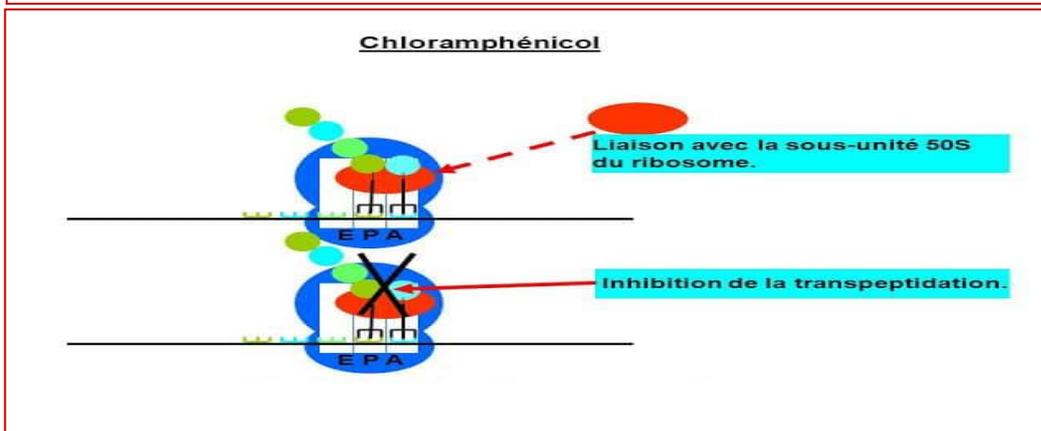


Figure 03. Mécanisme de l'inhibition de la synthèse protéique bactérienne par le chloramphénicol (web)

1.4. Pharmacocinétique et pharmacodynamique

1.4.1. Pharmacocinétique

1.4.1.1. Absorption

L'érythromycine est plutôt lentement absorbée après administration orale. Les concentrations sériques maximales se produisent de 1 à 6,3 heures après l'administration et varient de 0,1 à 4,8 µg/ml, selon la formulation et le revêtement d'érythromycine administré. L'absorption orale est inférieure à 50 % et l'érythromycine est dégradée par l'acide gastrique. Elle est absorbée dans l'intestin grêle (**le duodénum**) sous forme de base d'érythromycine. La biodisponibilité orale de la base et des sels d'érythromycine non protégés est inférieure à 50 % de la dose. La nourriture réduit l'absorption de l'érythromycine. **Wilson et Van Boxtel (1978)** ont observé que le propionate et le stéarate d'érythromycine étaient mieux absorbés avant qu'après le petit déjeuner (**Griffith et black, 1970**).

1.4.1.2. Distribution

L'érythromycine est distribuée dans divers tissus et liquides. On estime qu'environ 10 % de l'érythromycine traverse le placenta et que les taux sanguins du fœtus ne sont pas supérieurs à 10 % (habituellement plus près de 2 %) de ceux qui sont en circulation normale. On estime que le lait maternel contient 0,1 % d'une dose quotidienne chez les femmes enceintes (**Wilson et Van Boxtel, 1978**).

1.4.1.3. Métabolisme

Le métabolisme de l'érythromycine a été étudié chez différentes espèces animales et chez l'homme. Ces études montrent que l'érythromycine est rapidement métabolisée dans **le foie**, principalement par un processus de N-déméthylation. (**Lee et al., 1956**).

Des-N-méthyl-érythromycine est le principal métabolite et le seul métabolite microbiologiquement actif de l'érythromycine. Cependant, l'activité antimicrobienne est vraisemblablement faible et la seule forme d'érythromycine connue pour être active in vivo est la base libre. Il est excrété dans la bile et éliminé par les selles. Seule l'érythromycine a été trouvée dans le foie, et l'absence de méthyl-N-érythromycine indique qu'elle est excrétée dans la bile

immédiatement après déméthylation de l'érythromycine. Elle est absorbée par le tractus intestinal, mais la quantité infime de desN-méthyl-érythromycine disponible dans l'organisme peut expliquer son absence dans l'urine (Lee *et al.*, 1956).

1.4.1.4. Excrétion

1.4.1.4.1. Excrétion rénale

Chez l'humain, la portion d'une dose d'érythromycine excrétée dans l'urine varie de 0,02 à 20 % et l'élimination de la demi-vie peut être prolongée dans les maladies rénales. Toutefois, sauf insuffisance rénale complète, rénale l'altération n'a qu'une incidence mineure sur la pharmacocinétique de l'érythromycine (Wilson et Van Boxtel, 1978).

1.4.1.4.2. Excrétion fécale

Chez l'humain, 15 % de la dose administrée était excrétée dans la bile (Griffith et black, 1970).

1.4.2. Pharmacodynamie

Trois éléments essentiels sont à prendre en considération dans ce cadre, à savoir la stabilité de la molécule en milieu acide, son caractère basique et enfin sa capacité à se lier au cytochrome P450 (Rhyner *et al.*, 2010).

1.4.2.1. Stabilité en milieu acide

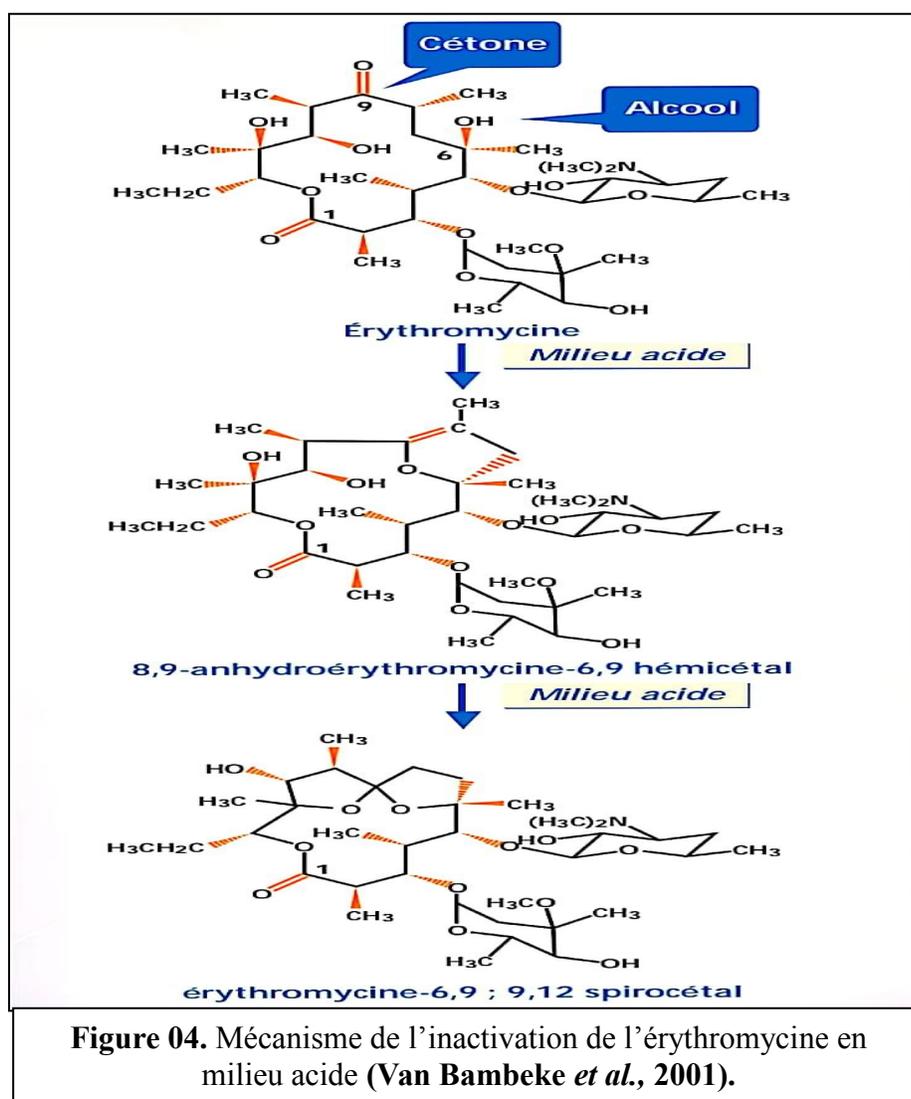
L'érythromycine est caractérisée par une forte instabilité en milieu acide, ce qui entraîne une biodisponibilité médiocre, mais surtout très variable en fonction du niveau de l'acidité gastrique. Cette instabilité résulte de la proximité spatiale de la fonction cétone en C9 et de la fonction hydroxyle en C6, qui, par cyclisation intramoléculaire, peut mener à la formation de produits microbiologiquement inactifs (figure 4) (Van Bambeke *et al.*, 2001).

1.4.2.2. Demi-vie sérique

L'érythromycine est rapidement éliminée du plasma, ce qui impose de multiples administrations journalières (puisque les études pharmacodynamiques montrent que l'activité est dépendante du temps pendant lequel la concentration sérique demeure supérieure à la CMI) (Van Bambeke *et al.*, 2001).

1.4.2.3. Sécurité d'emploi, liaison au cytochrome P 450 et interactions médicamenteuses

l'érythromycine se lie fortement au cytochrome P450, ce qui est à la base de ses interactions avec les autres médicaments normalement métabolisés à l'intervention de ce cytochrome. La métabolisation de l'érythromycine par le cytochrome P450 conduit en effet à la formation d'un dérivé oxydé capable de s'y lier avec forte affinité, ce qui rend l'enzyme indisponible pour la métabolisation d'autres médicaments. Ceux-ci voient dès lors leur élimination diminuée, engendrant un risque de toxicité potentiellement très grave si le produit non métabolisé est lui-même doué d'une activité non désirée (Rhyner *et al.*, 2010).



1.5. Indications thérapeutiques

La dose classique d'érythromycine (érythromycine base) par voie orale pour l'adulte varie de 1 à 2 g par jour, généralement administrée en quantités égales toutes les 6 heures, suivant la nature et la sévérité de l'infection. Des doses quotidiennes d'érythromycine par voie orale allant jusqu'à 8 g, administrées pendant 3 mois, ont été bien tolérées. La prise de nourriture doit être si possible évitée juste avant et après la prise orale d'érythromycine sous forme de base ou de stearate ; cette précaution n'est pas nécessaire dans le cas de l'estolate ou de l'éthyl-succinate d'érythromycine. Chez l'enfant, la dose orale d'érythromycine est de 30 à 50 mg/kg/jour, en quatre prises. Cette dose peut être doublée en cas d'infections sévères (**Merle, 1998**).

1.6. Effets indésirables et surdosage

- ✓ Nausées, vomissements, diarrhées, douleur à l'estomac. D'exceptionnels cas de colite pseudo-membraneuse ont été rapportés : maladie de l'intestin avec diarrhée et douleurs au ventre. De rares cas de pancréatite (affection du pancréas), pouvant arriver rapidement après le début du traitement notamment lors de l'utilisation de forte dose ou au cours d'un surdosage, ont été rapportés.
- ✓ Rares manifestations cutanées allergiques, le plus souvent bénignes. Très rarement, voire exceptionnellement, elles peuvent être graves : lésions rouges de la peau de taille variable, qui peuvent s'étendre à tout le corps (érythème polymorphe) ; lésions sévères de la peau à l'aspect de cloque et de bulle sur le corps (syndrome de Lyell et de Stevens-Johnson).
- ✓ Augmentation possible des enzymes du foie pouvant aboutir à une hépatite, avec éventuellement fièvre, jaunisse, douleurs abdominales qui devront faire immédiatement arrêter le traitement.
- ✓ Trouble de l'audition : perte d'audition (surdité) ou bourdonnement, sifflement ou encore tintement, qui disparaissent généralement à l'arrêt du traitement.
- ✓ Des rythmes cardiaques anormaux (notamment, palpitations, accélération du rythme cardiaque, battements cardiaques irréguliers menaçant le pronostic vital appelés torsades de pointes ou ECG, tracé cardiaque, anormal) ou crise cardiaque (arrêt cardiaque). (**ANSM, 2022**)

1.7. Interactions médicamenteuses

On a montré que l'érythromycine potentialisait les effets de l'astémizole, de la carbamazépine, des corticostéroïdes, de la ciclosporine, de la digoxine, des alcaloïdes de l'ergot, de la terfénadine, de la théophylline, du triazolam, du valproate et de la warfarine, certainement en interférant avec les cytochromes P450 participant au métabolisme de ces substances (Merle, 1998).

2. *Nigella sativa*

2.1. Généralités

Au cours des dernières années, les plantes médicinales requièrent une attention particulière dans le traitement de maladies humaines parmi ces plantes ; la *Nigella sativa*. Les graines de *Nigella sativa* ont été utilisées traditionnellement dans la médecine populaire comme un remède naturel pour diverses maladies ainsi que comme une épice. (Mosbah, 2016)

2.2. Historique

La graine de *Nigella sativa* L. provient du sud de l'Europe, de l'Afrique du Nord et du sud-ouest de l'Asie. Au cours de l'histoire, le cumin noir a été utilisé comme un élément nutritif, préventif et curatif. (Hebidi, 2019) La découverte des fossiles du début du Crétacé (-250 millions d'années) témoigne l'existence de la nigelle à la fin de l'Ère secondaire (Hebidi, 2019). En effet, dans la civilisation sumérienne, des tablettes d'argiles découvertes en Mésopotamie datant de plus de 5000 ans, ont été utilisées autrefois comme support dans lesquelles ont été cités la graine de nigelle et prouvant ainsi son utilisation depuis des millénaires (Saidi, 2010).

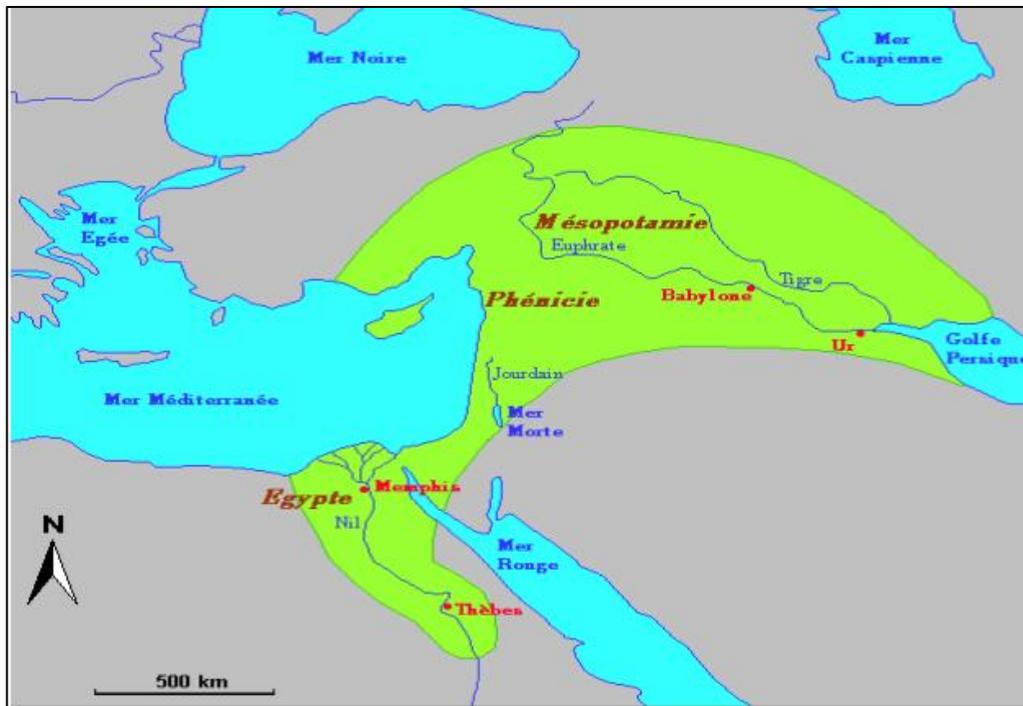


Figure 05. Carte de la Mésopotamie et du croissant fertile (Hebidi, 2019).

2.3. Etymologie

Le nom de genre « *nigelle* » découle du latin « *niger* » ou « *nigellus* » qui signifie noirâtre, se référant à la couleur noire de ses graines (Moussaoui, 2014) quant au nom d'espèce « *sativa* », il signifie « semer » ou « cultiver » car *Nigella sativa* est une variété cultivée spécialement pour ses graines comestibles à usage culinaire comme épice ou à des fins comestiques et médicinales (Hebidi, 2019). *Nigella sativa* a également de nombreux noms vernaculaires dans le monde, en voici quelques exemples dans le tableau suivant :

Tableau 01. Les noms vernaculaires de la *Nigella sativa* L. dans le monde (Hebidi, 2019)

PAYS	Synonyme de <i>N. sativa</i>
France	Cheveux de vénus, Nigelle, Poivrette
Espagne	Niguilla, Pasionara
Allemagne	Zwiebelsame, Schwarzkümmel
Angleterre	Devil in the bush, Love in the mist, Fennel flower, Onion seed
Italie	Nigella, Melanzis
Hongrie	Neidonkuka Feketekömény, Parasztbors, Kerti katicavirág, Borzaskata mag

Pologne	Czarnuszkawna
Inde et Sri Lanka	Kalounji, Munga reala
Finlande	Neidonkuka
Estonie	Mustkõõmen
Norvège	Svartkarve
Pays Arabes	Sinouj, Sanouz, Shunez, Habbah sauda, Habbet el beraka, Kamun aswad
Russie	Charnushka
Suède	Svartkummin
Arménie	Svartkummin Shoushma
Turquie	Çörekottu siyah

2.4. Description botanique de *Nigella sativa* L.

La nigelle est une plante herbacée annuelle érigée, atteignant 60 cm de hauteur, avec une végétation bien développée. C'est une plante hermaphrodite (**Hebidi, 2019**). Elle est constituée d'une tige, de feuilles, de fleurs, d'un fruit, et de graines :

- La tige est dressée, abondamment ramifiée, devenant creuse avec l'âge, de couleur vert clair à vert foncé (**Moussaoui, 2014**).
- Les feuilles sont plumeuses et normalement d'une couleur verte, mais deviennent brun ou rouge avec l'âge. Elles sont finement divisées en petites lanières. Les feuilles inférieures sont courtes et pétaloïdes et les feuilles supérieures sont longues (**Hebidi, 2019**).
- La floraison débute au mois d'avril et s'étend jusqu'au mois d'août. Les fleurs de la *Nigella sativa* ont la particularité d'être composées de cinq pétales de couleur blanche ou bleue. Leur diamètre varie de 20 à 35 mm. Elles sont solitaires terminales. Les fleurs sont vert pâle quand elles sont jeunes, bleu clair à maturité (**Ghedira, 2006**).
- Le fruit a la forme d'une capsule globuleuse formée de 3 à 6 carpelles, soudés entre eux jusqu'à la base. Chaque capsule contient plusieurs graines triangulaires blanchâtres qui noircissent à maturité, après exposition à l'air. (**Hebidi, 2019**).
- Les graines de la *Nigella sativa* sont ovoïdes et mesurent de 2 à 3,5 mm. Elles présentent 3 à 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée. Les graines, friables sont oléagineuses au goût épicé et l'huile qu'elles contiennent est grasse dont 60% environ sont des

acides gras insaturés et 30 % environ d'acide gras saturés. Elles sont petites, dénoyautées, et présentent un fond blanc huileux. En l'écrasant, elle libère une odeur de camphre (Hebidi, 2019).

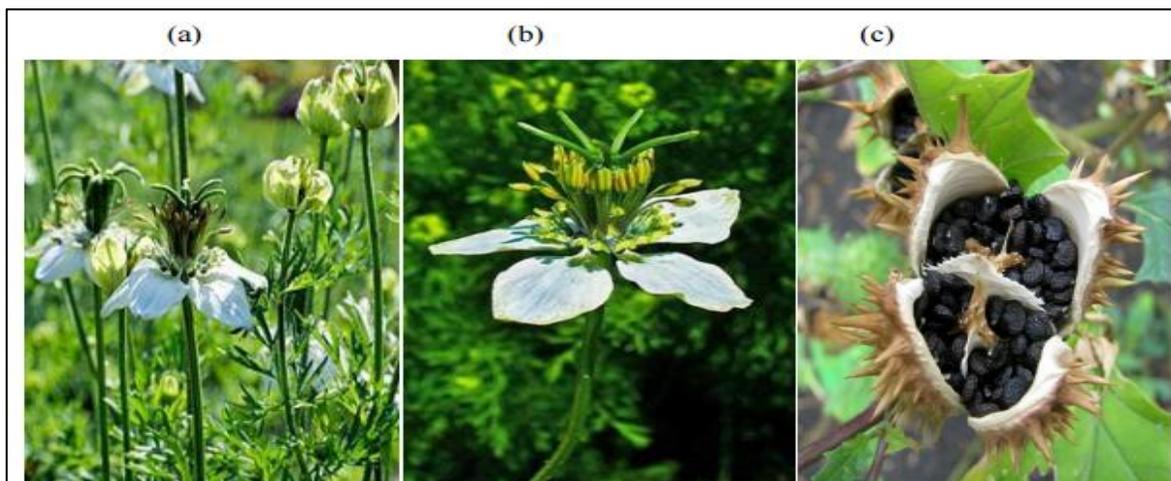


Figure 06. *Nigella sativa*; (a) plante entière, (b) fleurs et (c) capsule renfermant les graines (Guergouri, 2018)

2.5. Composition chimique de la plante

Tableau 02. La composition générale de *N. sativa* (Hebidi, 2019).

Constituants	Quantités (%)
Lipides	38,20
Glucides	33,5
Protéines	20,9
Fibres	7,94
Sels minéraux	3,7-7

2.5.1. Lipides et stérols

Les graines de *Nigella sativa* renferment environ 0,4-2,5% de l'huile essentielle, plus de 30% d'huiles fixes et 38% de lipides totaux dont les phospholipides. Les acides oléique et linoléique sont les deux acides gras majeurs de l'huile de *Nigella sativa*, ils constituent 75% des acides gras totaux (Benkaci, 2012). Les stérols représentent environ 2% de l'huile fixe. La plupart sont retrouvés sous forme estérifiée et libre. Aussi, on peut rencontrer le cholestérol à l'état de trace, c'est-à-dire environ 1% (Hebidi, 2019).

2.5.2. Composés aromatiques

C'est en 1963 que la thymoquinone, monoterpène oxygéné, a été isolée dans l'huile de nigelle par El-Dakhakhny. D'autres études ont mis en évidence 32 constituants par GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy) dont la majorité sont des monoterpènes: p-cymène (38%), thymoquinone (30%), carvacrol (5-11%), α -pinène (5-14%), β -pinène (5%), limonène (4%), longifolène (1,2-8%), 4-terpinéol (1,98-6,59%) et t-anéthol (0,25-4,28%) (**Mosbah, 2016**).

2.5.3. Les protéines

Les graines de *Nigella sativa L.* contiennent environ 20% de protéines. Une étude sur la composition chimique des graines de cumin noir saoudienne réalisée en 1992, Mr Saleh Al Jassir. Parmi ces acides aminés, huit acides aminés essentiels ont été trouvés. Les principaux acides aminés dans les graines de cumin noir sont l'acide glutamique suivi de l'arginine, l'acide aspartique, la leucine et la glycine (**Hebidi, 2019**). Ces acides aminés majeurs constituaient plus de 54% des acides aminés 22 totaux présents dans les protéines des graines de cumin noir. La cystine et la méthionine étaient les acides aminés mineurs dans les graines de cumin noir, alors que le tryptophane était absent (**Al-Jassir, 1992**).

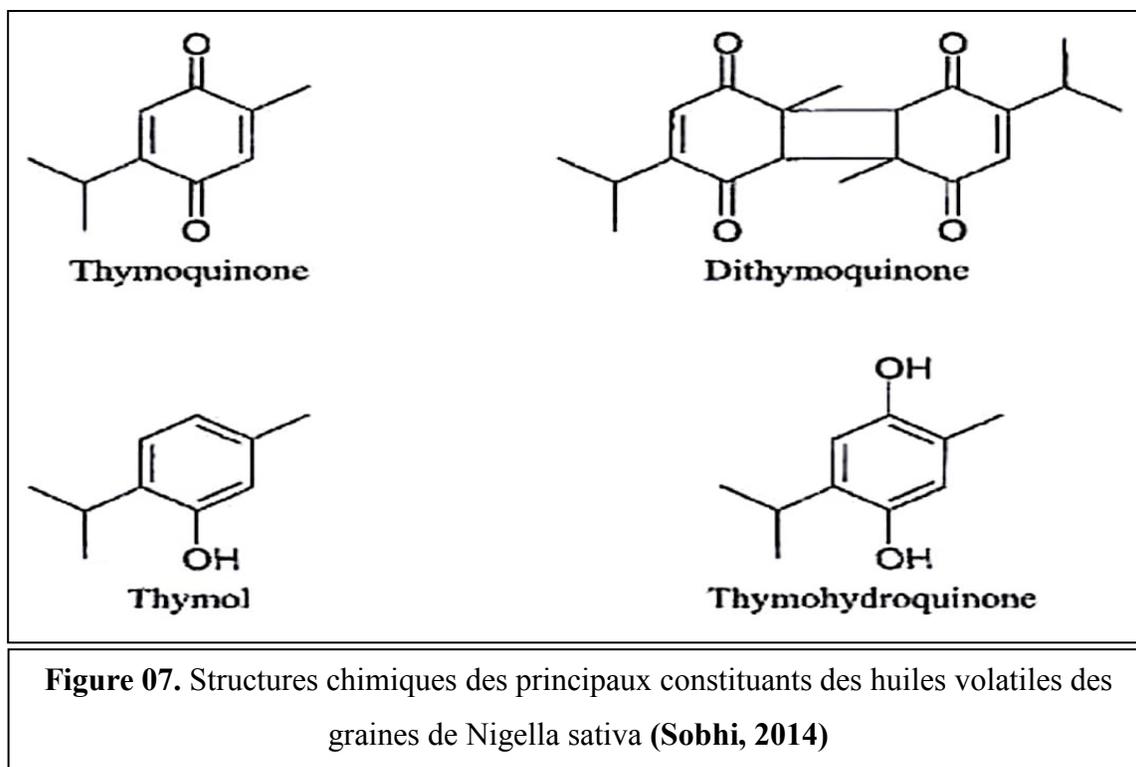
2.5.4. Les vitamines et sels minéraux

Une étude menée en Turquie en 1992 sur la composition en vitamines des graines de *Nigella sativa L.* relève la présence de vitamine B1 (Thiamine), B2 (Riboflavine), B6 (Pyridoxine), B9 (Acide folique) et PP (Niacine) (**Al-Jassir, 1992**).

Une étude réalisée en Arabie Saoudite par **Al-Jassir** relève la présence de sels minéraux dans les graines de *Nigella sativa L.* En effet, Le potassium est l'élément prédominant dans les graines suivi par le phosphore, puis le sodium et le fer. Cependant, le zinc, le calcium, le magnésium, le manganèse et le cuivre étaient présents en petites quantités et donc une autre source est nécessaire pour fournir certains de ces éléments. (**Nergiz, 1993**)

2.5.5. Huiles volatile

Les composants majeurs des huiles volatiles de *Nigella sativa* sont thymoquinone (27,8% - 57%), p-cymene (7,1% - 15,5%), carvacrol (5,8%- 11,6%), t-anethole (0,25% - 2,3%) ,4- terpineol (2% - 6,6%) et longifolene (1% - 8%) (**Sobhi, 2014**).



2.6. Propriétés pharmacologiques de *Nigella sativa*

2.6.1. Effet hepatoprotective

Plusieurs études ont montré les effets protecteurs de *Nigella sativa* contre les lésions hépatiques provoquées par les ROS à travers ses propriétés de piégeage des radicaux libres et d'améliorer les défenses antioxydants dans le corps (Mollazadeh et Hosseinzadeh, 2014). Les composants de cette plante inhibent l'activation des cellules de Kupffer et les médiateurs pro-inflammatoires et permet une normalisation de l'état redox altéré en accélérant l'élimination de l'éthanol et de l'acétaldéhyde à partir du sang (Mosbah, 2016).

2.6.2. Effets sur le système immunitaire

Les graines de *Nigella sativa* présentent *in vitro* des propriétés immuno-potentialisatrices des lymphocytes T humains qui ont montré que les graines activent la sécrétion d'IL-3 et augmentent la production d'IL-1 β par les lymphocytes T, ce qui indique un effet stimulateur sur les macrophages, soit direct ou via IL-1 β . Il était montré que les protéines isolées de la graine entière sont responsables d'effet stimulant sur la production de cytokine (TNF- α) ainsi que sur la prolifération des lymphocytes en culture (Guergouri, 2018).

2.6.3. Effets sur le système respiratoire

Les propriétés antitussives et antiasthmatiques des graines de *Nigella sativa* sont bien reconnues depuis des siècles faisant d'elle une des plantes les plus recommandées pour le traitement des maladies respiratoire, cette activité a été étudiée par un grand nombre de chercheurs. En 1993, EL-Tahir et ses co-équipiers ont démontré que l'huile volatile de *Nigella sativa* administrée chez le cochon d'inde en intraveineuse induit une augmentation (dose dépendante) de la fréquence respiratoire et de la pression intra-trachéale **(Guergouri, 2018)**.

2.6.4. Effets sur le système gastro-intestinal

Les graines de *Nigella sativa* sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des désordres gastro-intestinaux, L'extrait aqueux des graines réduit de 36% l'indice d'ulcère induit par l'acide acétylsalicylique (aspirine) et diminue l'activité peptique et la production d'acide chez le rat **(Guergouri, 2018)**. Cette huile ainsi que la thymoquinone protègent contre les lésions gastriques induites par le processus d'ischémie-reperfusion, et ceci grâce à leur pouvoir antiradicalaire **(Guergouri, 2018)**. L'extrait alcoolique des graines de *Nigella sativa* présente également une activité antiulcéreuse qui a été attribuée aux flavonoïdes qu'il contient **(Guergouri, 2018)**.

Partie expérimentale

Matériels & Méthodes

3. Matériels et Méthodes

3.1. Matériel chimique : Erythromycine : ERY Gé

3.1.1. Définition et propriétés physico-chimique

L'érythromycine, un antibiotique de la famille des macrolides, est produite par une souche de *Streptomyces erythraeus*. ERY Gé est un médicament générique sous forme de comprimé (20) à base d'érythromycine (500 mg). (ANSM, 2022)

Cette base forme facilement des sels au contact des acides. L'ERY Gé se présente sous forme de comprimé de couleur blanc, inodore ou presque inodore, légèrement hygroscopique, au goût amer. Elle est très soluble dans le méthanol, l'éthanol, l'acétone et le chloroforme, et soluble aussi dans l'eau. Son point de fusion se situe entre 135 et 140 °C. (Pfizer, 2021)

C'est un :

- ✓ Anti-infectieux généraux à usage systémique
- ✓ Antibactériens à usage systémique (ANSM, 2022)

3.1.2. Composition

La substance active est :

Propionate d'érythromycine.....583mg

Quantité correspondant d'érythromycine base Pour un comprimé.....500mg

Les autres composants sont : Amidon de maïs, stéarate magnésium, talc, cellulose microcristalline. (ANSM, 2022)

3.1.3. Lieu de fabrication

Sophartex

21, Rue du pressoir

28500 Vernouillet – France

Autorisation de mise sur le marché le 29/07/1985 par le laboratoire Bouchara-Recordati.
(ANSM, 2022)

3.1.4. Pharmacocinétique d'ERY Gé chez les animaux de laboratoire

3.1.4.1. Absorption

Le principal site d'absorption chez le **rat**, le chien est l'**intestin grêle**. L'administration orale d'érythromycine propionyle (25 mg/kg) chez les rats n'a pas produit de concentrations sériques maximales élevées ($< 0,1 \mu\text{m/ml}$). Toutefois, la concentration sérique maximale a été atteinte rapidement (1 heure après l'administration). À la fin de six heures avant l'administration, seule une trace d'activité antibiotique a été trouvée dans le sérum de rat (**Anderson et al., 1959**).

3.1.4.2. Distribution

Chez les rats ayant reçu 100 mg de base d'érythromycine par kg p.c. par voie orale, l'érythromycine est concentrée dans le foie, glandes sous-maxillaires, rate, surrénales, poumons et reins deux heures après l'administration. De grandes quantités sont également trouvées dans le thymus, la peau, les muscles, les organes reproducteurs et le cœur (**Lee et al., 1953**).

3.1.4.3. Métabolisme

L'érythromycine est rapidement métabolisée dans le foie, principalement par un processus de N-déméthylation chez le rat et le chien et dans le système microsomique hépatique du lapin (**Lee et al, 1956 ; Wilson et Van Boxtel, 1978 ; Pineau et al., 1990 ; Tsubaki et Ichikawa, 1985**).

3.1.4.4. Excrétion

3.1.4.4.1. Excrétion rénale

L'excrétion urinaire d'érythromycine représente environ 10 % d'une dose orale ou d'une dose intraveineuse administrée. Vingt heures après l'administration d'érythromycine isotopique chez les rats, 27 à 36 % de la radioactivité a été récupérée dans l'urine (**Lee et al., 1956**).

3.1.4.4.2. Excrétion fécale

Chez les rats, l'érythromycine et ses métabolites sont excrétés principalement par voie biliaire, mais aussi en partie par passage direct à travers la paroi intestinale (**Baggot et Gingerich 1976**).

3.1.5. Préparation de solution

Nous avons préparé une solution à base d'ERY Gé administrée aux rats par gavage oral à une concentration de 92mg/kg.

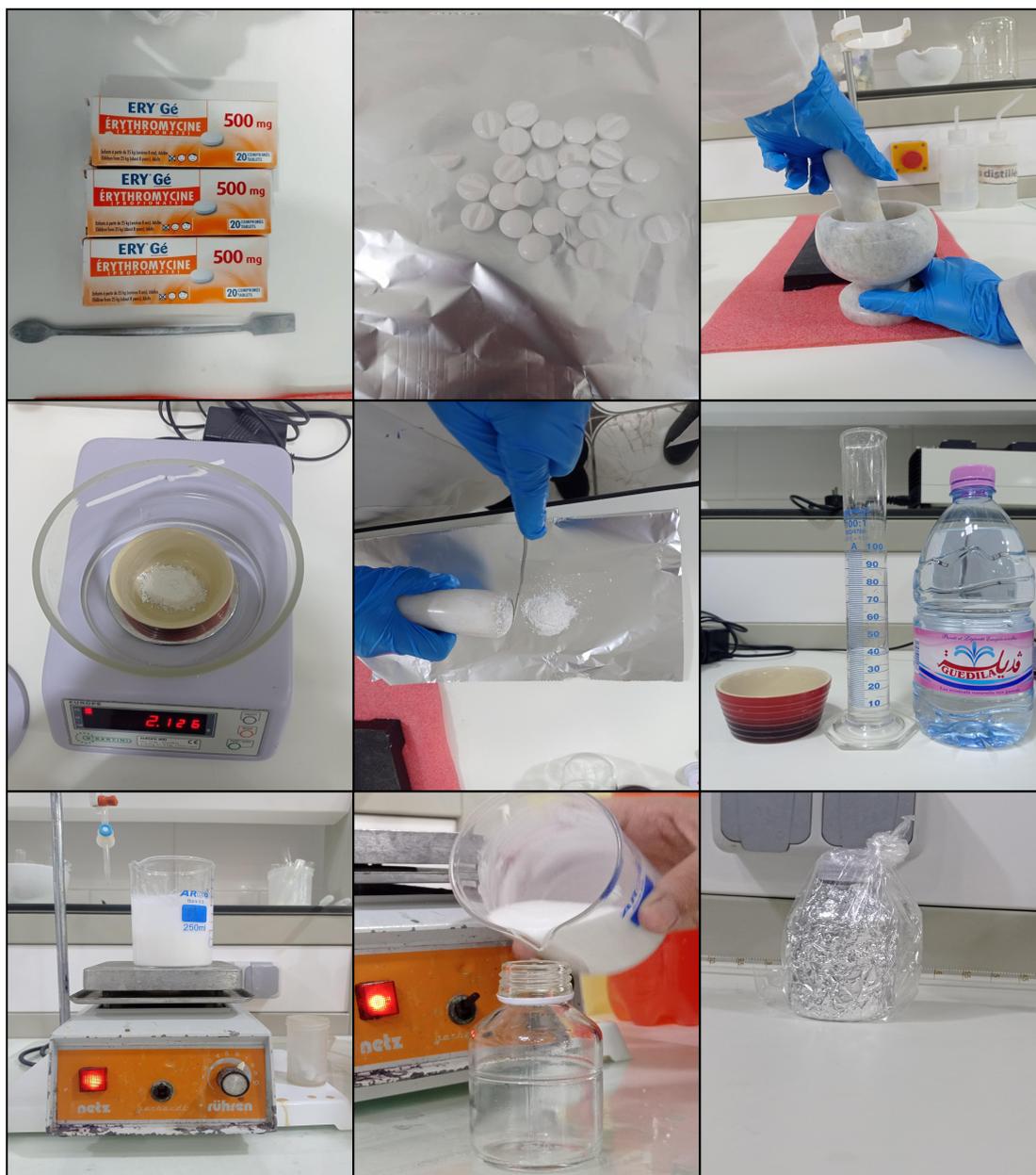


Figure 08. Préparation de la solution ERY Gé dans laboratoire contrôle de la qualité Fethallah Walid (photo personnelle)

3.2. Matériel végétale : *Nigella Sativa*

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille des *Ranunculacées*. Une étude bibliographique nous a permis d'effectuer ce choix. Ainsi, les critères de sélection sont les suivants :

- Notre prophète Mohammed (que la prière et le salut d'Allah soient sur lui), que la graine de la nigelle était un remède contre tous les maux et a dit : « Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort.»
- Utilisation traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies.
- Le non toxicité de la plante.
- Richesses en substances aromatiques douées de propriétés pharmaceutiques.



Figure09. Photographie des graines *Nigella sativa* (Guergouri ,2018)

3.2.1. Taxonomie

Tableau 03. Classification botanique de *Nigelle Sativa* (Zohary, 1983).

Règne	plante
Sous-règne	tracheobionta
Division	Magnoliophyta (angiosperme)
Classe	Magnoliopsida (dicotylédone)
Ordre	Ranunculales
Famille	Ranunculaceae
Genre	<i>Nigella</i>
Espèce	<i>Nigella sativa</i> L

Nous avons utilisé dans cette étude : **Huile de nigelle pressée à froid**



Figure 10. huile de nigelle pressée le 27/01/2023

Nous avons commandé cette huile à partir du : www.remaide.fr

Adresse de l'atelier : 602 chemin de saint sauveur, 30600 Vauvert. France



3.2.2. Méthode d'extraction d'huile de nigelle

Les graines on provenance de la Syrie, sont placées dans la casserole puis versées dans le chapeau de la presse.

Une presse électrique mécanique à vis permet d'écraser les graines doucement a une a faible vitesse de rotation 18 Hertz sans aucun solvant et l'huile sortira lentement par les trous. Les résidus secs des graines sont appelés tourteau.

L'huile est de couleur noire, d'une odeur caractéristique avec un goût doux

Pour la conservation, l'huile est mise directement dans des bouteilles en verre teinté sans décantation.

3.2.3. Rendement

1kg de graines écrasées = environ 500 ml d'huile.



Figure 11. Méthode d'extraction d'huile de nigelle pressée à froid

3.3. Entretien et traitement des animaux

Pour cette étude nous avons réceptionné 24 rats femelles (*Albino wistar*), de l'animalerie d'El Oued, âgés de 12 semaines. L'élevage des rates a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université Larbi Tébessi -Tébessa - Les animaux étaient hébergés dans des cages en polyéthylène munies d'étiquettes où sont mentionnés le nom du lot, le traitement subit et les dates des expérimentations, les cages sont tapissées d'une litière en copeaux de bois nettoyées quotidiennement.

Ces rates ont été soumises à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de $(22 \pm 2^\circ\text{C})$ et une photopériode naturelle (12/12H). Elles ont été nourries avec un concentré énergétiquement équilibré sous forme de : Croquette et l'eau *ad libitum*. Le tableau (03) résume la composition de l'aliment. Le poids vif moyen des rates au début de l'expérimentation est d'environ $200\text{g} \pm 5\text{g}$.

Tableau 04. Composition de 1kg d'aliments

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	%
Maïs	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1,6
Calcaire	9	0,9
Cellulose	10	1,0
Minéraux	10	1,0
Vitamines	10	1,0



Figure 12. Entretien des animaux (photo personnelle)

Après une période d'accoutumance, les animaux ont été répartis au hasard en quatre groupes de six rats chacun. Elles ont subi quotidiennement différents traitements pendant 10 jours. On note que le suivi a nécessité une pesée du poids corporel afin de déterminer la dose de traitement adéquate.

Tableau 05. Composition des lots utilisé dans l'expérience

Lot T	groupe témoin, les rates reçoivent une eau potable et une nourriture simple.
Lot N	les rates reçoivent une quantité de 0,4 ml d'huile de nigelle.
Lot M	les rates reçoivent par gavage de 92mg/kg jour d'ERY Gé.
Lot MN	groupe combinaison, les rats reçoivent 0,4ml d'huile de nigelle par gavage puis 92mg/kg d'ERY Gé après 30 minutes du temps.



Figure13. traitement des animaux (photo personnelle)

3.3.1. Prélèvement sanguin

Après une période de 10 jours, les animaux sont sacrifiés par décapitation ; le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés; l'un contenant l'EDTA pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS), et l'autre héparinés pour le dosage des paramètres biochimiques

3.3.2. Prélèvement du foie

Le foie est immédiatement prélevé et rincé avec de l'eau physiologique, conservé au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (GST et MDA). La figure 1 résume les différentes étapes du protocole expérimental.



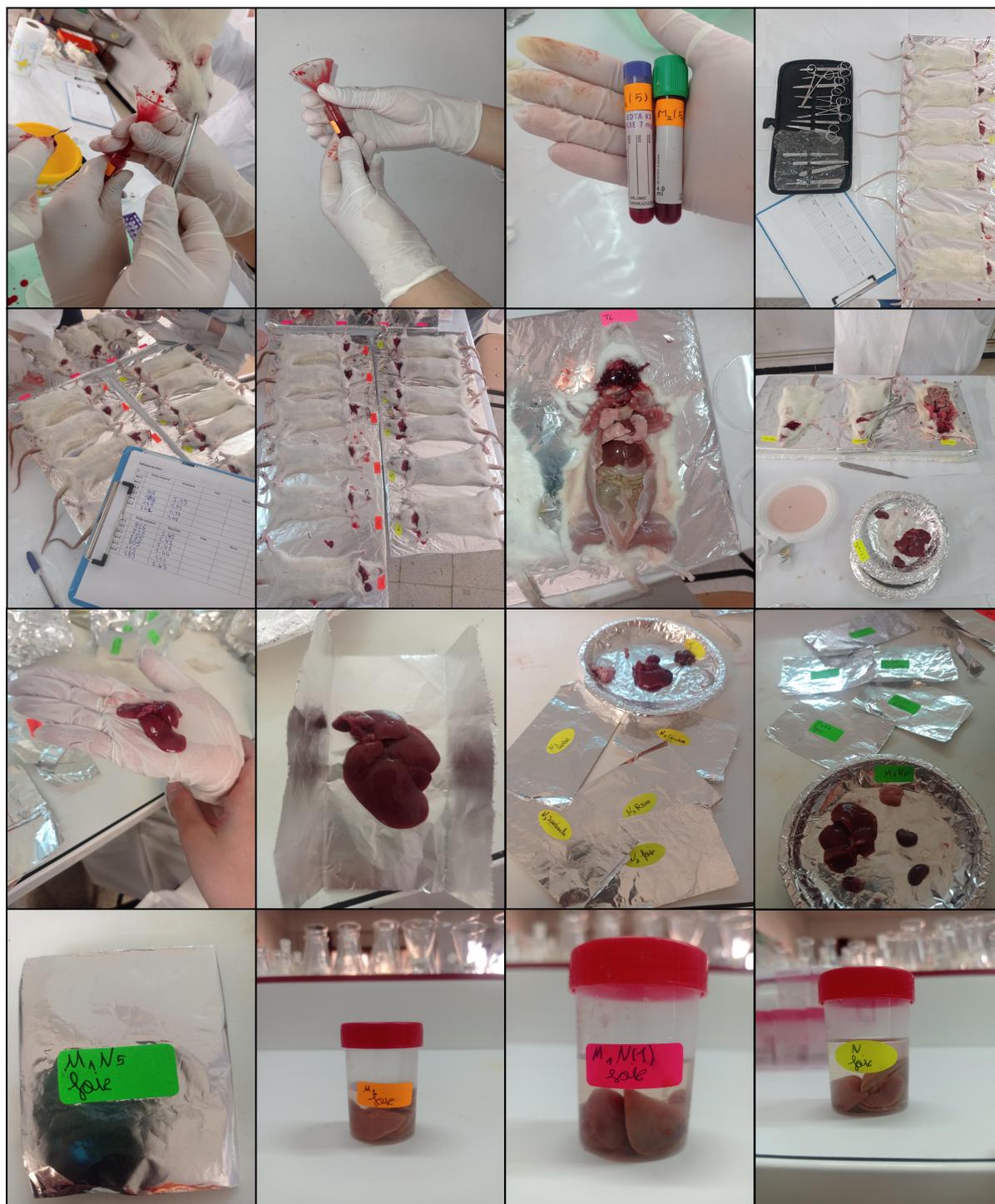


Figure 14. Prélèvement du sang et du foie (photo personnelle)

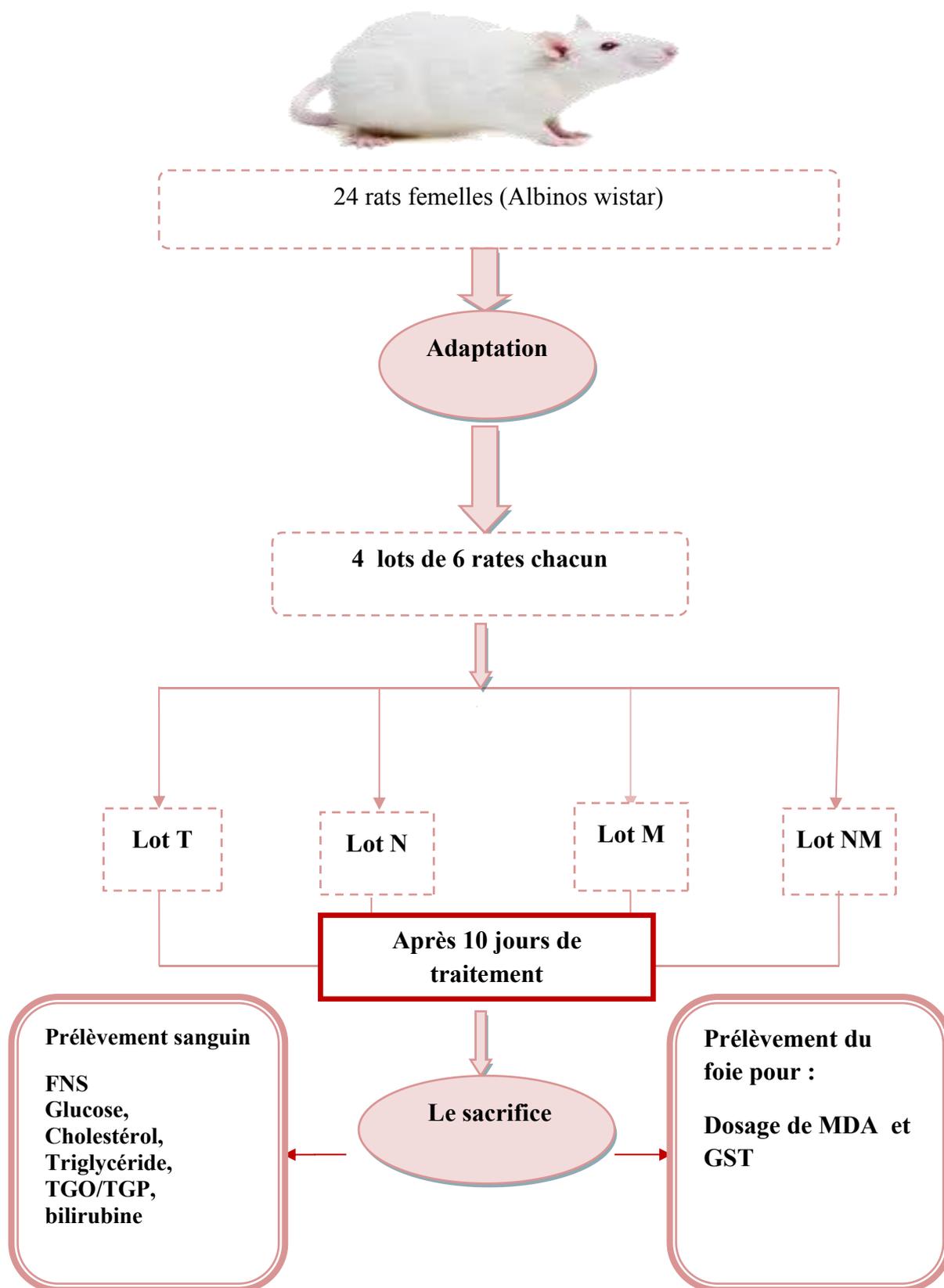


Figure 15. Diagramme récapitulatif du protocole expérimental

3.3.3. Mesure de la glycémie

Principe

Le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique in vitro (externe) pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire. La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

Mode opératoire

Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette réactive One call Extra (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).

Le symbole d'une goutte clignote.

Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.

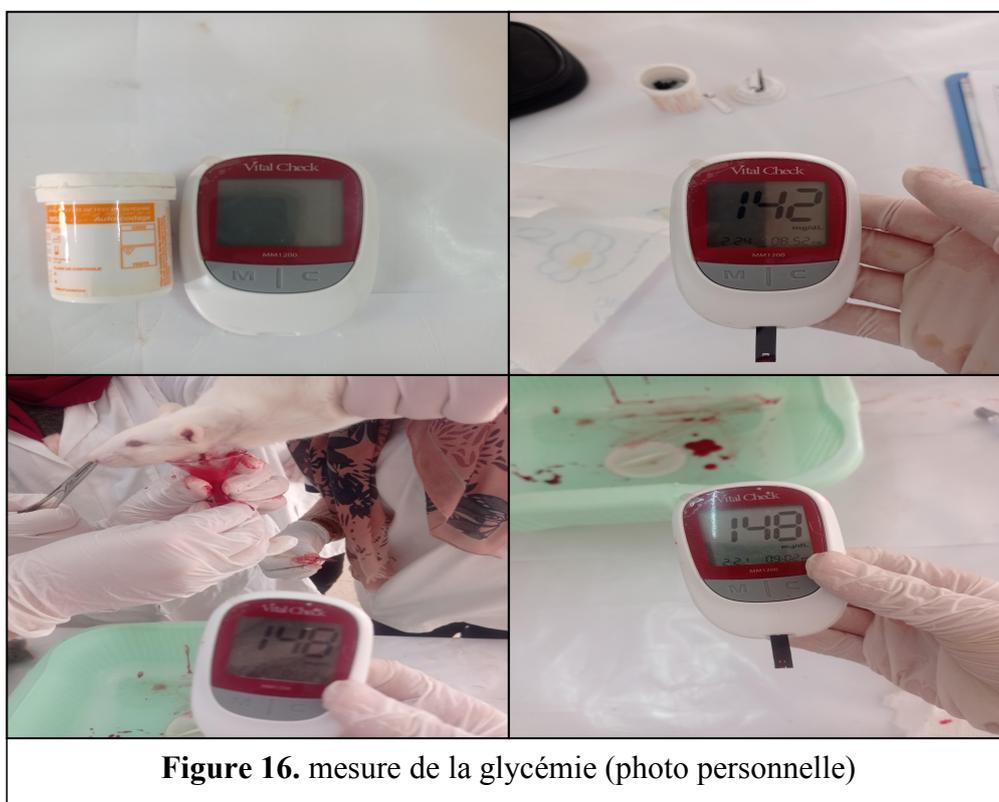


Figure 16. mesure de la glycémie (photo personnelle)

3.3.4. Dosage des paramètres biochimiques

Après centrifugation, le sérum est rapidement récupéré et aliquoté dans des tubes eppendorfs, transporté dans une glacière le jour même du sacrifice au laboratoire d'analyse médicale privé pour la détermination des paramètres biochimiques.



Figure 17. dosage des paramètres biochimiques (photo personnelle)

3.3.4.1. Dosage de l'aspartateamino-transférase (ASAT/TGO)

Principe

L'aspartateamino-transférase (ASAT) appelée aussi oxaloacétate de glutamate (GOT)

Catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate

Formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate

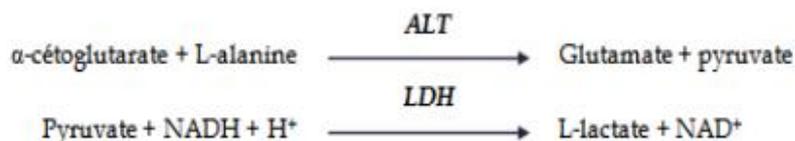
Déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺.

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'aspartateamino-transférase dans l'échantillon.



3.3.4.2. Dosage de l'alanine amino-transférase (ALAT/TGP)

Principe : le principe est présenté selon le schéma réactionnel suivant :



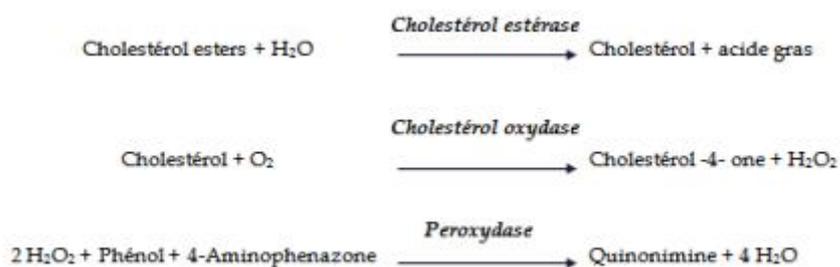
La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine amino-transférase dans l'échantillon.

3.3.4.4. Dosage du cholestérol

Principe

Le cholestérol présent dans le sérum ou le plasma, à travers les chaînes de réaction

Indiquées, forme un complexe colore qui peut être quantifié spectrophotométriquement.



3.3.4.5. Dosage des triglycérides

Principe : les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré, l'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

3.3.4.6. Dosage de l'FNS

Principe :

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par l'analyseur MINDRAY (full automatic blood cell counter model BC-30s). Le tube de sang total avec l'EDTA (anticoagulant) est placé dans l'automate ; et la mesure de la FNS commence. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran, et sont ensuite imprimés. Les paramètres déterminés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine (Hb), hématocrite (HT), plaquettes (PLT), lymphocytes (LY), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

3.3.4.7. Dosage de la bilirubine

Principe : La bilirubine est transformée par l'acide sulfanilique di azoté en azobilirubine, composée colorée qui peut être mesurée par photométrie. Des deux fractions de la bilirubine dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre qui est fixée à l'albumine, seulement la première réagit directement, tandis que la bilirubine libre réagit après avoir été déplacée de la protéine par un accélérateur. La différence entre les deux mesures de la bilirubine totale (avec l'accélérateur) et la bilirubine directe (sans accélérateur) permet la déduction de la bilirubine indirecte. Les termes de bilirubine «direct» et «indirect» font exclusivement référence aux caractéristiques de la réaction en présence ou en l'absence d'un accélérateur ou solubilisant, et correspondent juste aux deux fractions de bilirubines.

3.3.5. Mesure des paramètres du stress oxydant

3.3.5.1. Dosage de MDA selon Esterbauer *et al.* (1992)

Principe :

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

Préparation des solutions

Préparation du tampon Tris-Buffered Saline (tris 50mM, NaCl 150 mM pH 7.4)

- Dissoudre 8,775g NaCl dans 1l d'eau distillée.
- poser 6,057g Tris et compléter le volume à 1l par la solution NaCl (150 mM).
- ajuster le pH à 7,4.



Figure 18. préparation de la solution TBS (photo personnelle)

Solution Tri Chloroacetic Acid-Butylated Hydroxy Toluene TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)

- Dissoudre 20 g TCA dans 100 ml d'eau distillée
- Poser 1 g de BHT
- Compléter le volume à 100 ml par la solution TCA
- Agiter à chaud

Solution HCl (0,6 M)

- Prélever 51,5 ml HCl
- Compléter le volume à 1L par l'eau distillée

Solution tris-TBA (tris 26mM, TBA 120mM)

- Dissoudre 3,149 g tris dans 1L d'eau distillée
- Poser 17,299 g TBA
- Compléter le volume à 1L par la solution tris (26mM)



Figure 18. préparation de la solution TCA-BHT, HCL, tris-TBA (Photo personnelle)

Préparation homogénat

250mg tissu + 2.5 ml tampon TBS (tris 50mM, NaCl 150 mM pH 7.4) →→→→ broyage
→→→ homogénat



Figure 19. préparation homogénat (photo personnelle)

Mode opératoire

- Prélever 375 µl de l'homogénat
- Additionner 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- Agiter (vortex)
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10min> formation du culot et surnageant

- Prélever 400 µl de surnageant
- Ajouter 80 µl HCl (0.6M)
- Ajouter 320 µl de la solution tris -TBA (tris 26mM, TBA 120mM)
- Agitation, puis incubation au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min.

Lecture de la densité optique à 530 nm contre le blanc (même procédure sauf remplacer l'eau distillée à la place de surnageant). L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration de MDA est calculée selon la formule suivante :

C : Concentration MDA en nmoles/mg de protéines.

DO : Densité optique lue à 530 nm

E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5$ M

L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.

X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

$$C(\text{nmol/mg protéine}) = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

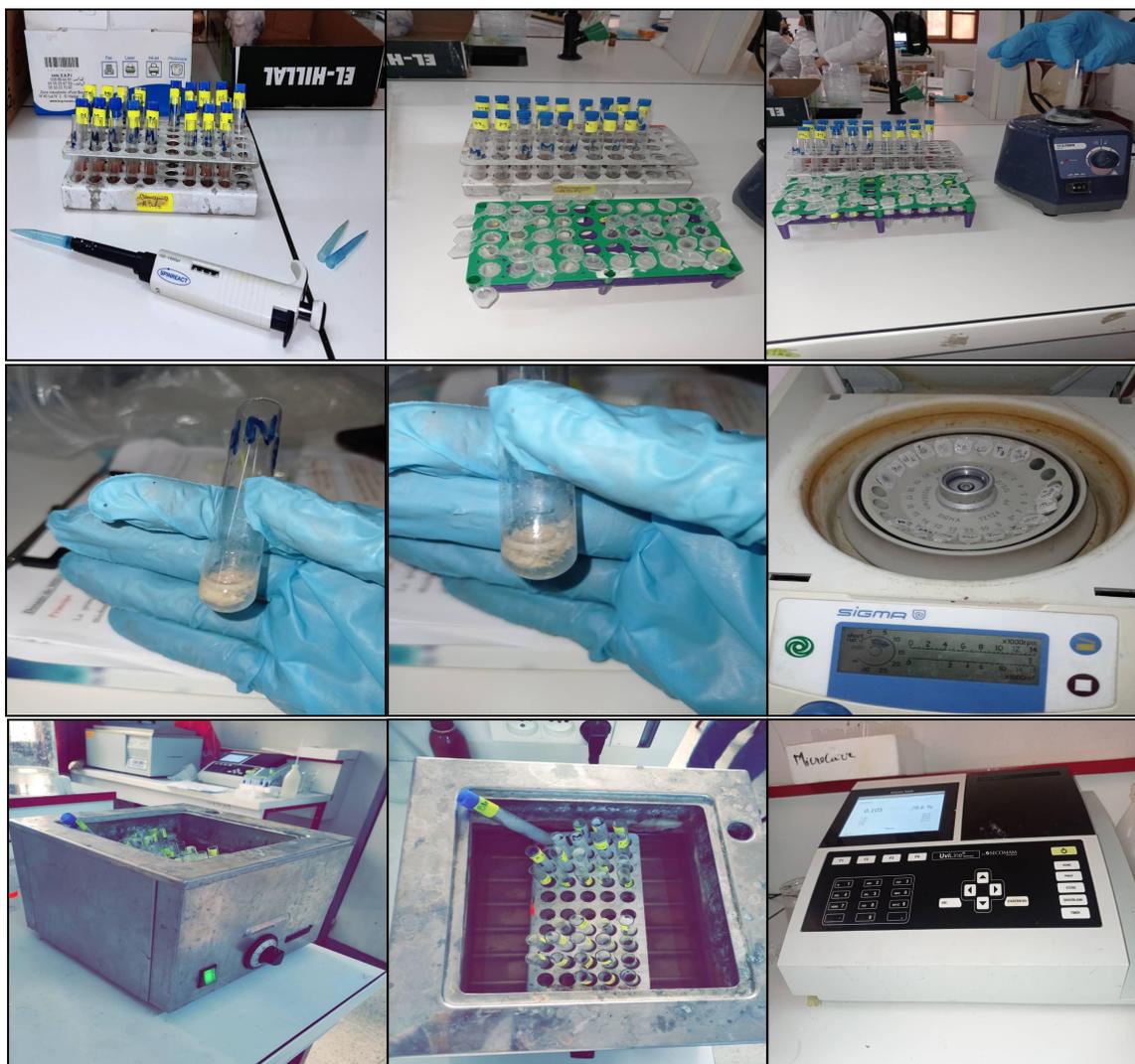


Figure 20. Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage de malondialdéhyde (photos personnelles)

3.3.5.2. Dosage de Glutathion S-transférase GST selon Habig et al. (1974).

Principe :

La mesure de l'activité des GST, consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général le 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement aux nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm.

Préparation de tampon phosphate (0.1M pH 6.5)

- Solution (A) : dissoudre 35,8 g de Na_2HPO_4 dans 1 l d'eau distillée
- Solution (B) : dissoudre 13,8 g de NaH_2PO_4 dans 1 l d'eau distillée

- Mélanger 61,5 ml de la solution (A) + 438,5 ml de la solution (B), et ajouter 21,39 g de saccharose.



Figure 21. préparation de tampon phosphate (0.1M pH 6.5)

Préparation de l'homogénat

100 mg de tissu + 1ml tampon phosphate (0,1M pH 6,5) → → → → → broyage à froid
→ → → → → homogénat.

Remarque : garder à froid les homogénats jusqu'à la fin de l'homogénéisation.

Centrifugation de l'homogénat à 9000 tr/min pendant 15min → → → → → récupération du

Surnageant pour le dosage de GST et mg de protéines.

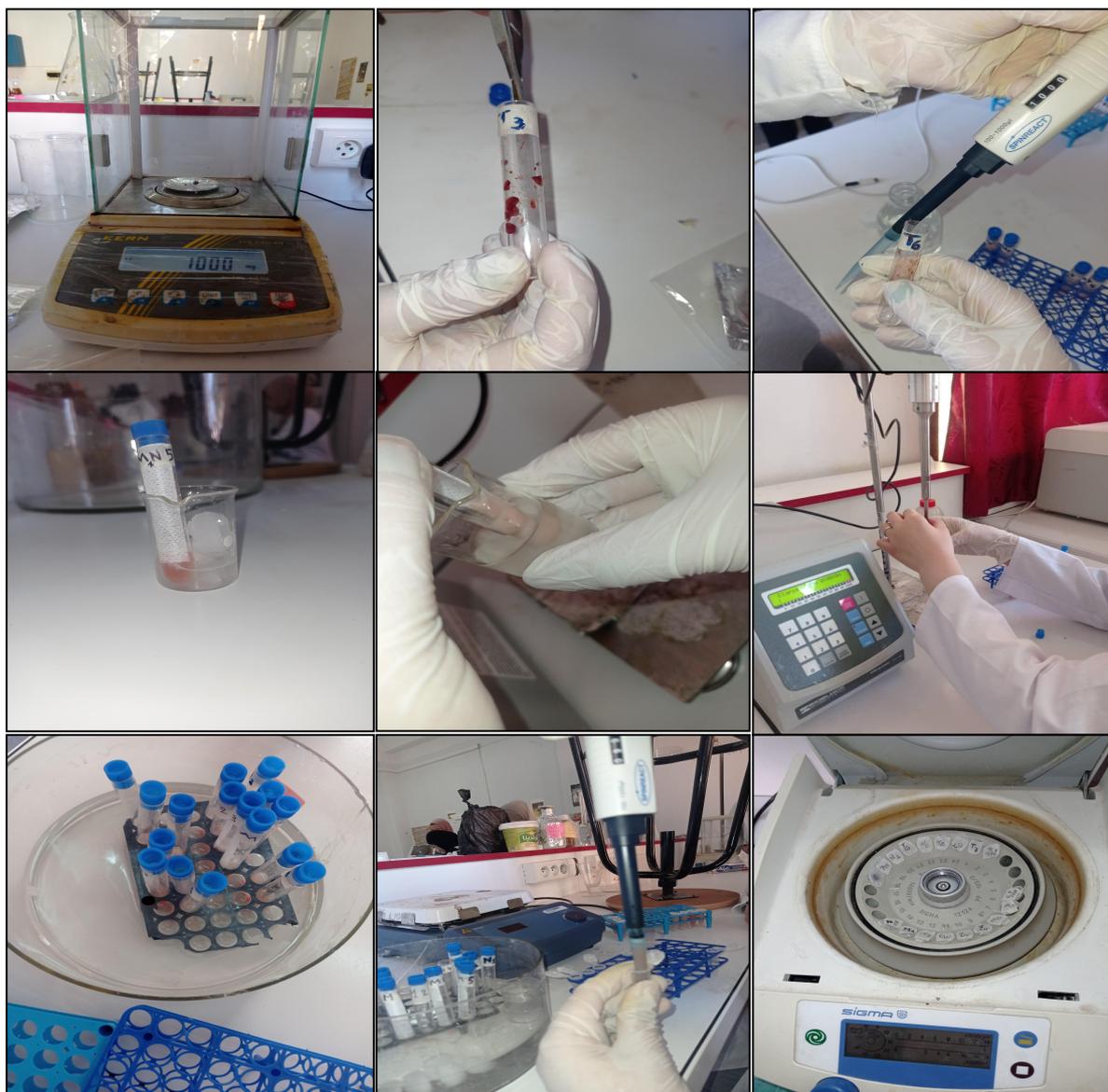


Figure 22. préparation de l'homogénat

Préparation de la solution CDNB (0.02M)

- Dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 ml d'éthanol absolu.



Figure 23. préparation de la solution CDN (photo personnelle)

Préparation de la solution GSH (0.1M)

- Dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 ml d'eau distillée.

Mode opératoire

Les réactifs utilisés	Blanc (µl)	Echantillon (µl)
Tampon phosphate (0.1M, pH 6.5)	850	830
CDNB (0.0 2M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100
Surnageant	-	20
Eau distillée	20	-

La densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1

Minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

Dosage de mg de protéines dans l'échantillon tissulaire méthode de Bradford

Mode opératoire

- Prélever 0,1 ml (100 µl) de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc (5ml de BBC + 0.1 ml eau distillée).
- La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par

comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

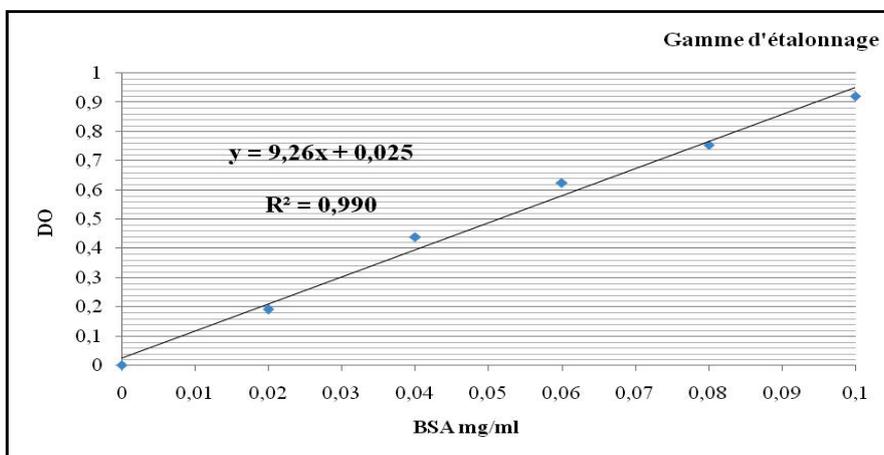


Figure 24. Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin

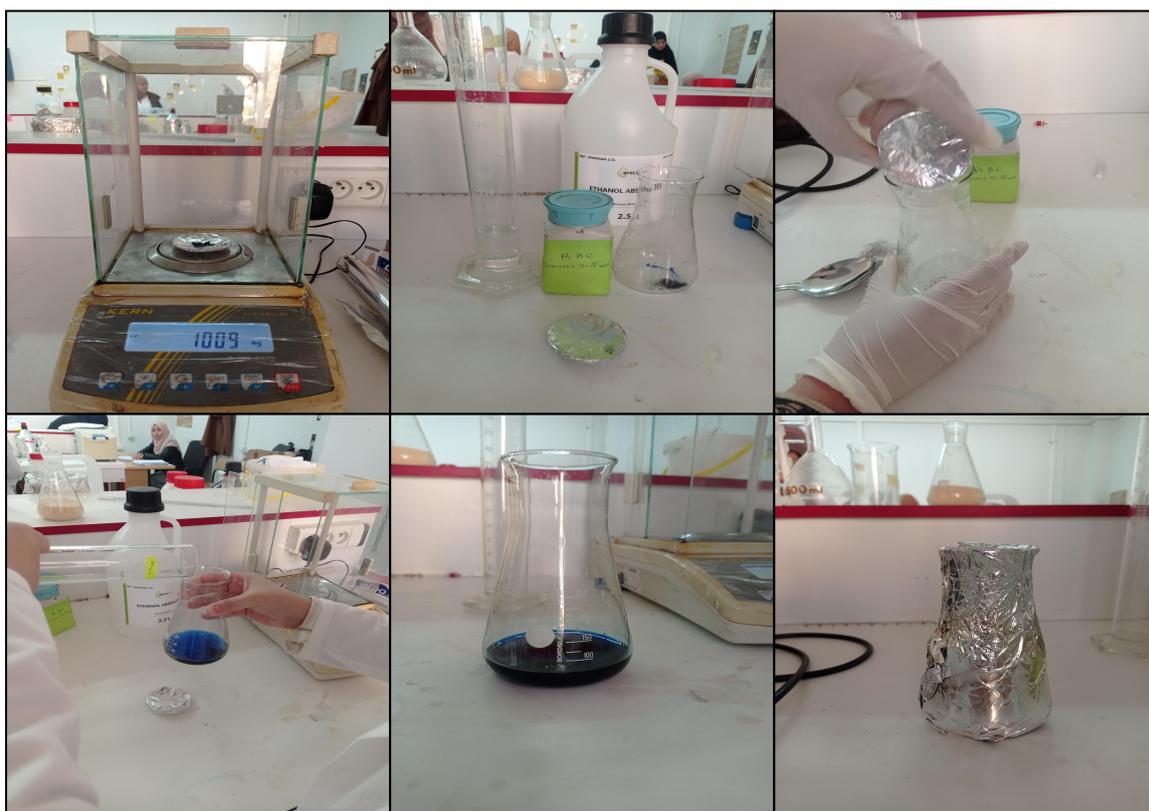




Figure25. Galerie photos résumant les différentes étapes du dosage des protéines (photos personnelles)

3.4. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen ($Moy \pm SEM$), la comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes sont comparées par un test t de Student. L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 13.31). Les différences sont considérées comme :

- a. Significative lorsque ($P \leq 0,05$)

b. Hautement significative lorsque ($P \leq 0,01$)

c. Très hautement significative lorsque ($P \leq 0,001$) en comparaison au témoin

Résultats & discussion

4. Résultats et discussion

Le but de notre travail est de développer une inflammation hépatique chez les rats, afin de tester l'existence d'un effet protecteur du *Nigella Sativa*. Dans ce cadre, on a utilisé l'érythromycine (ERY Gé), un médicament antibiotique ayant la capacité de provoquer une hépatotoxicité dans le cas d'utilisation de forte dose et pour de longues périodes (**Jerine et Sabina, 2018**).

4.1. Changements morphologiques et comportementaux

Les rattes montrent des changements morphologiques et comportementaux, après une semaine de traitement par l'ERY Gé, elles présentent une fatigue, une diarrhée, une épistaxis avec une difficulté à bouger, une perte d'appétit et des nausées. Après dissection, on a observé dans ces lots que le foie est de grande taille et de couleur foncé comparativement au contrôle. Ces changements indiquent que l'ERY Gé a des effets sur le foie. Aucun changement n'a été détecté dans les lots traité par l'huile de nigelle.

Malgré on a choisi d'abord une dose de 800mg/kg d'après **Pari et Uma. (2003)** ; **Pari et Murugan. (2004)**, mais on a constaté une mortalité totale des spécimens.

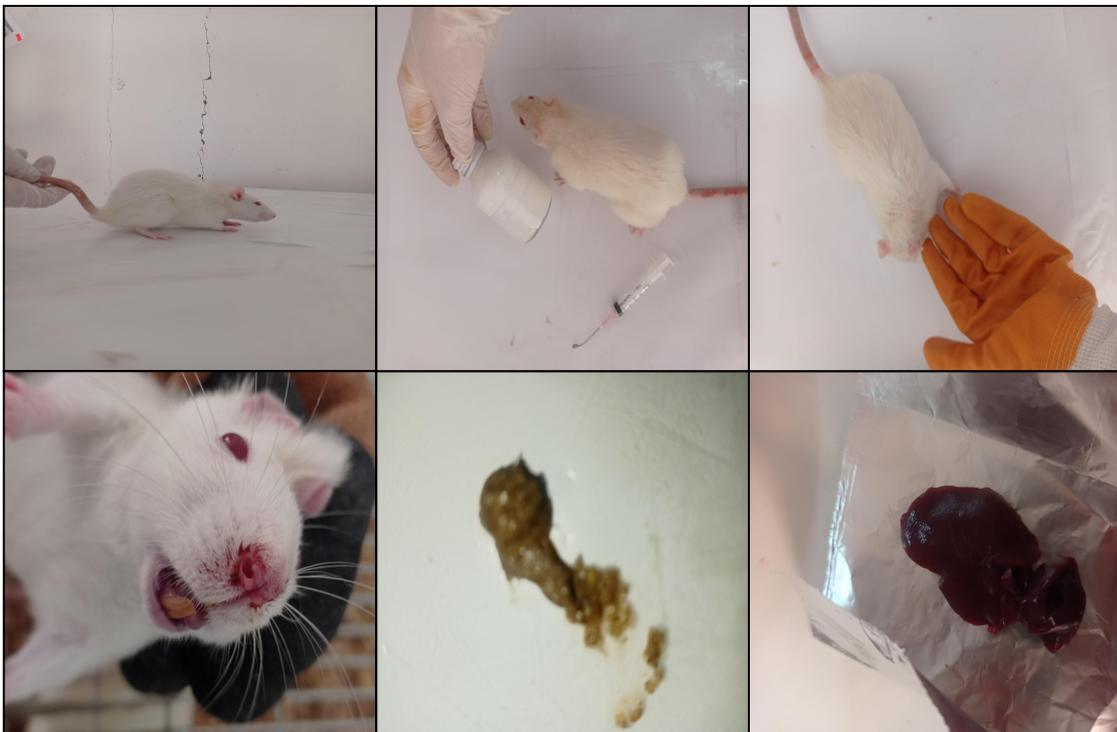


Figure 27. Changements morphologiques et comportementaux des rats traités par 92mg/kg d'ERY Gé.

4.2. Influence du traitement sur la croissance corporelle

Le suivi de la masse corporelle des animaux durant la période de traitement indique une augmentation du poids corporel chez les lots témoins (+5,62g) et traités par l'huile de *Nigella Sativa* (+1,24g). La ration alimentaire n'a pas changé et les animaux ont gardé un appétit normal ce qui a conservé leurs poids.

Cependant, on note une diminution hautement significative sur la croissance physiologique des rates traitées par l'érythromycine à raison de 92mg/kg/jour (-6,53g) par rapport au groupe témoin.

Chez le lot traité par la combinaison (ERY+ N), on note une diminution significative dans la première semaine de traitement, suivie d'une augmentation significative dans les derniers jours de traitement (+1,06g) par rapport au groupe témoin.

4.3. Influence du traitement sur le poids relatif (PR) du foie

L'étude statistique de la variation des poids du foie par rapport à 100 g du poids corporel montre une augmentation très hautement significative du rapport hépato-corporel chez le lot traité avec l'ERY Gé par rapport au lot témoin.

On constate que l'administration de l'huile de nigelle améliore le poids relatif du foie, mais qui reste hautement significative en comparaison avec le lot témoin

Tableau 06. Variation du poids corporel et du rapport organo-corporel chez les rates témoins et traités par l'ERY Gé et/ou la *Nigella Sativa* sous forme d'huile pendant 10 jours.

	T	N	M	NM
Poids initial (g)	204,5±16,6	202,2±19,0	209,8±14,4	204,5±20,0
Poids final (g)	216,0±7,72	204,7±12,6	193,3±11,3**	206,7±12,1
Gain de poids (%)	5,62	1,24	-6,53	1,06
PR du foie (%)	2,568±0,158	2,906±0,478	3,3380±0,109***	3,120±0,255**

** (P≤ 0,01) Différence significative par rapport au témoin

*** (P≤ 0,001) Différence significative par rapport au témoin

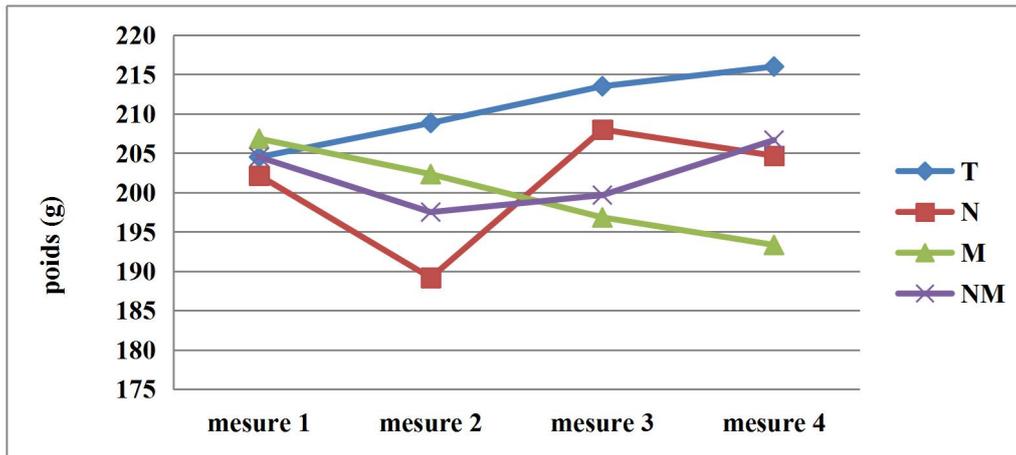


Figure 28. Variation du poids corporel (g) des rates témoins et traitées après 10 jours du traitement.

Nos résultats révèlent une diminution importante du gain de poids chez le lot M traité par 92mg/Kg d'érythromycine quotidiennement pendant 10 jours. Ce résultat concorde avec celui obtenu par **Sambo et al. (2009)** qui ont constaté qu'il y avait une perte importante de poids corporel après avoir reçu d'érythromycine stéarate (100mg/Kg) comparativement au groupe témoin. La perte de poids corporel observée dans les groupes administrés de l'érythromycine par rapport aux rats du groupe témoin pourrait être attribuée à la perte d'appétit observée au cours de l'étude, ce qui aurait pu entraîner une diminution de l'apport alimentaire ou des lésions dans l'intestin, entraînant une malabsorption (**Sambo et al., 2009**). Aussi, **Lu et al., (2013)** on montré que le poids corporel des rats dans les groupes 900 et 1200 mg/kg a diminué progressivement pendant les 7 jours d'administration d'érythromycine estolate par rapport au groupe témoin.

Une étude antérieure réalisée sur des rats males traités par érythromycine stéarate (**Abdel-Hameid, 2007**) a entraîné une diminution significative du poids corporel après 14 jours, comparativement au même groupe avant le traitement. Cela signifie que les rats traités à l'érythromycine stéarate ont souffert d'une perte d'appétit, comme l'ont signalé **Helal et al., (2003)**.

L'érythromycine est une cause majeure de perte de poids, car il affecte l'apport alimentaire et provoque une irritation gastrique (**Lafleur et Kergoat 2000**)

Dans le même contexte, **Thevin, (2022)** souligné que L'érythromycine peut entraîner principalement des troubles digestifs : nausées, vomissement, diarrhée..., cette différence dans l'incidence des troubles digestifs est due à son activité agoniste des récepteurs à la motiline (hormone qui facilite l'activité motrice de l'estomac et de l'intestin). La fréquence de ces troubles digestifs dépend de nombreux facteurs (dosage, forme, sel utilisé, prise ou non pendant un repas etc) et peut être très variable. Selon **Carter et al., (1987)** la fréquence des troubles digestifs varie entre 7 et 40% et peut monter jusqu'à 73% en cas de hautes doses d'érythromycine (≥ 1 gramme par jour).

Nos résultats exposent aussi une augmentation très significative du rapport hépato-corporel des rates traitées par l'érythromycine par rapport au groupe témoin. Cette hypertrophie tissulaire est éventuellement due à l'accumulation d'érythromycine et ses métabolites dans les organes responsables de la détoxification. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **Viluksela et al., (1988)**, lorsqu'ils ont déclaré que le poids relatif du foie a légèrement augmenté dans tous les groupes traités par érythromycine (stéarate, acistrate, carbonate, estolate) mais l'augmentation a été significative ($P < 0,05$) seulement chez les femelles qui ont reçu 2×100 mg/kg/jour d'érythromycine estolate.

En revanche, l'administration de la *Nigella Sativa* sous forme d'huile au groupe traité par l'érythromycine a entraîné une amélioration du poids corporel et relatif du foie.

En médecine traditionnelle dans des pays de l'Asie, au Moyen-Orient et en Extrême-Orient les graines de *Nigella sativa* sont utilisées contre les désordres gastro-intestinaux, la diarrhée, les douleurs abdominales, l'indigestion, la dyspepsie, l'anorexie et les vomissements (**Gali et al., 2006 ; Azadeh et al., 2014**). En effet la *Nigella sativa* est rapporté comme digestif et stimulant de l'appétit (**Gilani et al., 2004**). On suggère que les saponines des graines de la nigelle sont les responsables de la stimulation de l'appétit, **Petit-Pr et al. (1995)** ont confirmé que les saponines stimulent l'appétit chez des animaux traités par des graines de nigelles.

4.4. Influence du traitement sur la variation de quelques paramètres biochimiques

Le gavage des rates par l'ERY Gé à raison de 92 mg/kg a entraîné un déséquilibre du métabolisme biochimique caractérisé par une augmentation significative de l'ASAT et l'ALAT ($P \leq 0,05$). Une augmentation significative du bilan lipidique évalué par l'élévation du taux de cholestérol et des triglycérides ; et une augmentation non significative dans le taux de bilirubine ; aucune variation au niveau de la glycémie par rapport au groupe témoin.

L'addition de la *Nigella sativa* sous forme de huile rétabli l'ensemble des paramètres biochimiques mesurés dans notre étude. Aucune différence significative n'a été enregistrée en comparaison avec le groupe témoin. Cependant, Nos résultats ont montré que l'administration d'huile de nigelle pourrait partiellement normaliser les paramètres lipidiques altérés dans le modèle expérimental.

Tableau 07. Variation de quelques paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités par ERY Gé et/ou la *Nigella Sativa* pendant 10 jours.

Paramètres	Unité	T	N	M	NM
glycémie	g/l	1,416±0,050	1,428±0,017	1,418±0,040	1,370±0,058
TGO (ALAT)	UI/l	141,71±8,69	148,80±4,97	154,20±6,80*	149,00±6,36
TGP (ASAT)	UI/l	57,20±6,98	62,40±9,18	67,40±7,16*	65,00±10,2
Bilirubine T	mg/l	4,614±0,461	5,166±0,750	4,740±0,336	3,504±0,571
Cholestérol	g/l	1,286±0,055	1,268±0,072	1,360±0,045*	1,256±0,036
Triglycérides	g/l	0,432±0,033	0,438±0,064	0,496±0,046*	0,482±0,062

* ($P \leq 0,05$) ; ** ($P \leq 0,01$) *** ($P \leq 0,001$) Différence significative par rapport au témoin.

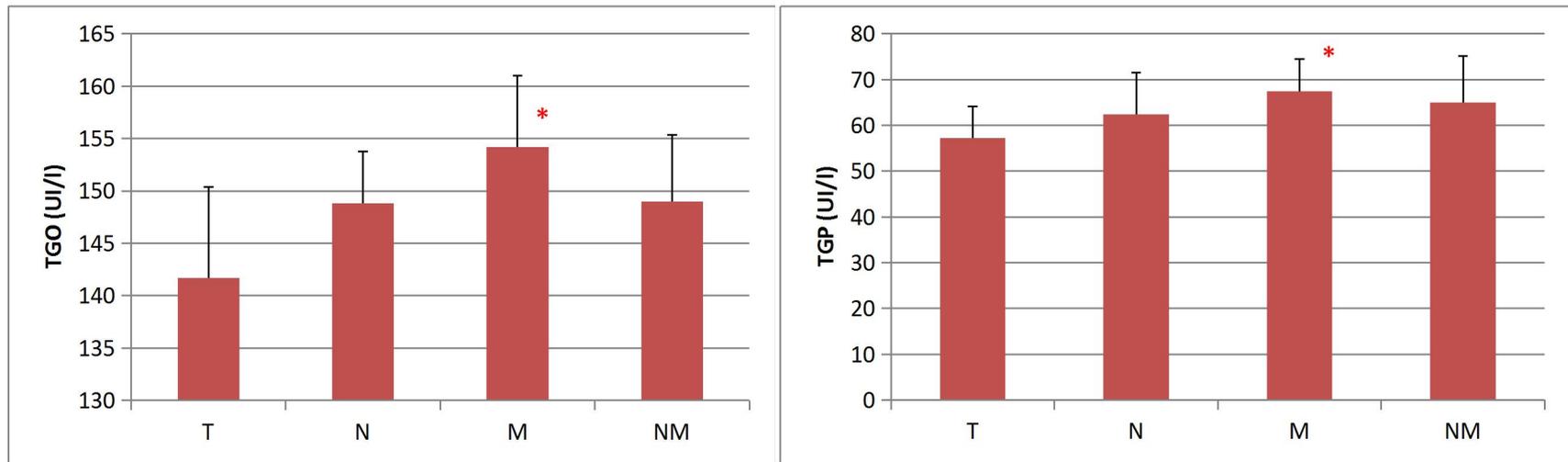


Figure 29. Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ATAL) chez les rats témoins et traités

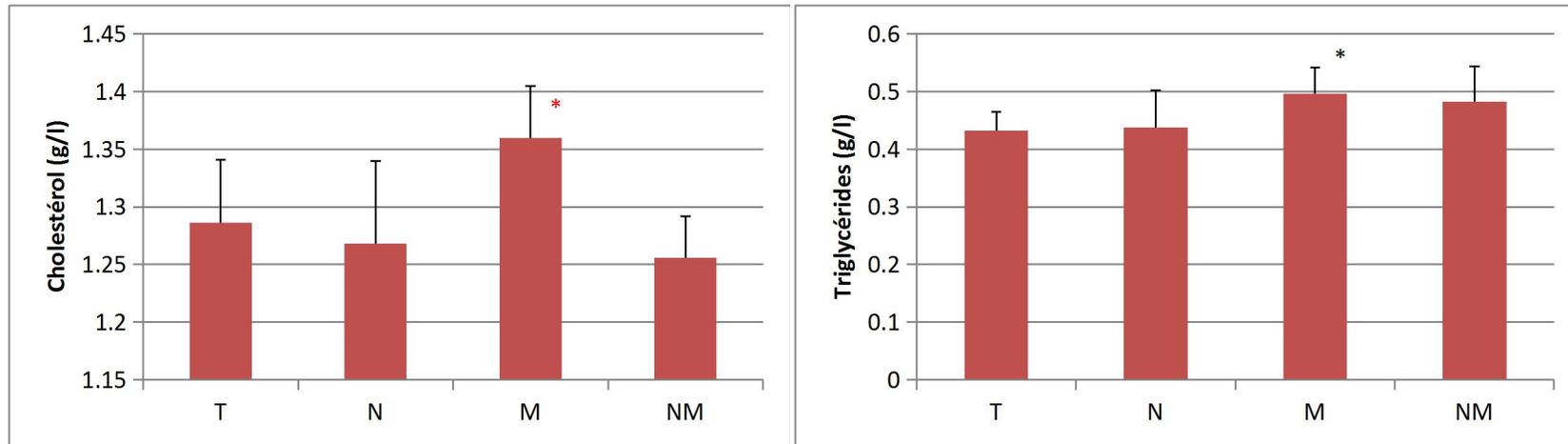


Figure 30. Variation du taux de triglycérides et du cholestérol chez les rates témoin et traitées.

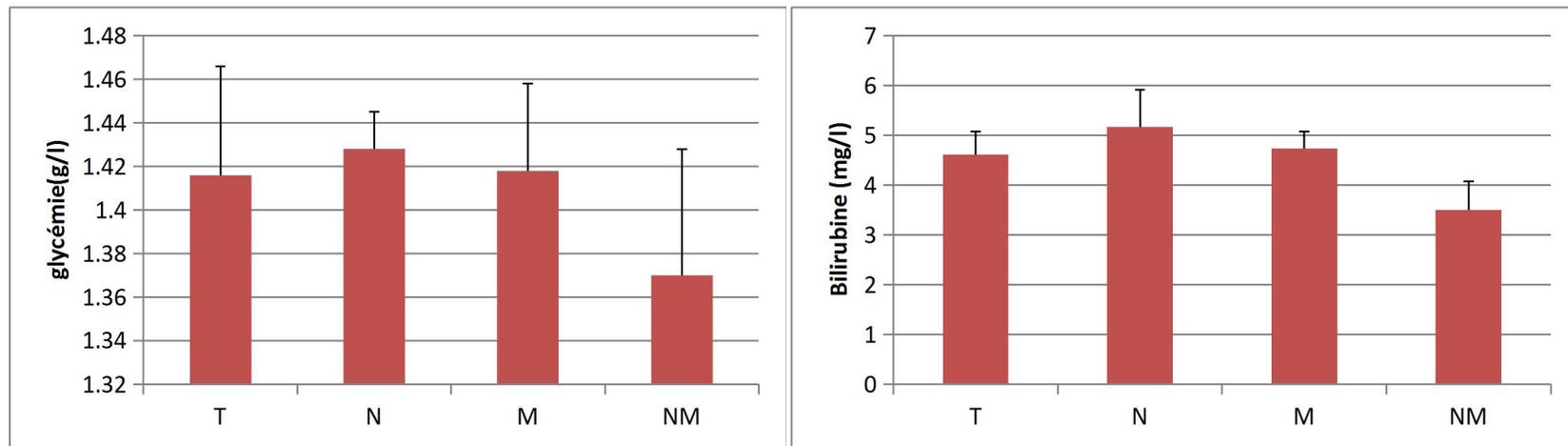


Figure 31. Variation du taux de glycémie et du bilirubine chez les rates témoin et traitées.

Le foie, principal organe de détoxification, est capable de neutraliser toutes les substances toxiques, pour cela nous sommes intéressés aux transaminases (ASAT et ALAT) plasmatiques pour refléter l'activité fonctionnelle du foie (**Karami-Mohajeri et Abdollahi, 2011**). Les antibiotiques sont reconnus d'être responsables de dysfonctionnement hépatiques.

Notre étude a révélé que la consommation de la solution ERY Gé par gavage à raison de 92mg/kg provoque un trouble biochimique marqué essentiellement par une augmentation significative du bilan hépatique accompagnée par une hyperlipidémie.

L'ASAT, l'ALAT, et la bilirubine sont les bio-marqueurs les plus sensibles qui sont directement impliqués dans l'étendue de la toxicité et des lésions hépatiques puisqu'ils sont cytoplasmiques et libérés immédiatement dans le flux sanguin après l'atteinte cellulaire (**Farag et al., (2010) ; Pari et Murugan, (2004) ; Sallie et al., (1991) ; (Hameid, (2007).**

L'augmentation des activités des biomarqueurs observés dans la présente étude correspondent aux dommages hépatiques étendus induits chez les rats traités avec ERY Gé. Cela a été précédemment enregistré par **Venkateswaran et Pari (1997) ; Helal et al. (2003) ; Pari et Murugan (2004)**, dans lequel une augmentation marquée des transaminases et de la bilirubine a été enregistrée chez les rats traités à l'érythromycine estolate.

Une étude ancienne faite aussi sur l'hépatotoxicité des macrolides a prouvé que les activités des aminotransférases sériques et des phosphatases alcalines sont modérément augmentées (**Pessayre et al., 1995**).

Dans le même contexte, les résultats de l'étude de **Sambo et al. (2009)** ont montré que l'administration d'érythromycine à des rats a entraîné une augmentation des niveaux d'ALAT, d'ASAT, de phosphatase alcaline et de bilirubine.

En revanche, l'administration de la *Nigella sativa* sous forme d'huile seule ou en combinaison avec l'érythromycine a entraîné une amélioration des paramètres biochimiques mesurés dans notre étude. Aucune différence significative n'a été enregistrée en comparaison avec le groupe témoin.

Plusieurs études antérieures ont montré l'effet hépatoprotecteur de la thymoquinone (composant bioactif de la nigelle) qui a fait diminuer les taux d'ALAT au niveau des hépatocytes isolés et oxydés par de l'hydroperoxyde de *tert*-butyle (TBHP) (**Soudani et al., 2011**). De la même manière, des dommages hépatiques produits par le traitement de souris par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) ont été réparés par une dose unique de thymoquinone

(Daba et Abdel-Rahman, 1998) Selon **Mosbah, (2016)** Le traitement par l'huile de la *Nigella Sativa* des rats ayant une hépatotoxicité par l'éthanol à améliorer considérablement l'activité des transaminases et les a ramenés à des valeurs normales indiquant le maintien de l'intégrité fonctionnelle de la membrane cellulaire hépatique . Ceci concorde avec l'étude de **Hebidi, (2019)** qui a rapporté que l'AST, l'ALAT ont été significativement ramenés à des niveaux normaux par un extrait aqueux à 10% de la *nigella sativa*. L'effet protecteur des fractions de *Nigella sativa* peut être attribué à l'inhibition de la peroxydation des lipides qui conduisent à la stabilisation de membranes plasmiques **(Darwish et al., 2012 ; Gani et al., 2013)**.

Aussi que l'augmentation du bilan lipidique dans notre étude due a la dégradation des lipides totaux, Cela a été confirmé par **Abdel-Hameid, (2007)**, lorsqu'il constaté que le taux de cholestérol a été significativement augmenté chez les rats traités avec l'érythromycine estolate. Ceci est corrélé à la réduction des lipides totaux, ce qui peut refléter une augmentation du taux de lipolyse due à l'activité lipasique accrue.

Par contre, l'huile végétale de *Nigella sativa*, comme les fibrates, diminue le cholestérol et les triglycérides sériques et améliore le taux de HDL sérique. Les fibrates agissent par le biais de l'activation du récepteur α activé par le péroxysome **(Hebidi, 2019)**. Plusieurs études réalisées sur l'effet des graines de *Nigella sativa* sur l'évolution des lipides plasmatiques chez des animaux diabétiques ou normaux, révèlent que l'huile fixe de ces graines normalisent les niveaux sanguins de ces paramètres **(Zaoui et al., 2002 , Sobhi, 2014)**. De plus, Il a été rapporté que les acides gras contenus dans l'huile des graines de *Nigella sativa* sont responsables de son effet sur la cholestérolémie **Sobhi, 2014)**. Ces acides gras agissent en inhibant la synthèse du cholestérol par les hépatocytes **Sobhi, 2014)**.

Une diminution significative du taux sérique de cholestérol, LDL et triglycérides, et une augmentation des HDL sériques ont été observées chez des rats dont l'alimentation a été enrichie par l'huile de nigelle **(Daba et Abdel-Rahman, 1998)**.

4.5. Effets du traitement sur les paramètres hématologiques

Nos données ont également montré aucunes anomalies au niveau des paramètres de la formule de numération sanguine chez les rats traités par l'érythromycine. Ainsi, nous avons observé une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) des plaquettes (PLT), du taux des érythrocytes (GR) et une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) du volume corpusculaire moyen (CMV) des rats soumis à l'érythromycine par rapport au témoin. Aucune influence sur les lymphocytes (Lym), l'hémoglobine (Hb), l'hématocrite (HTC), et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), les monocytes (Mon), et le taux de globules blancs (GB) n'est enregistré chez tous les lots. Toutefois, dans le groupe de combinaison la présence de l'huile de *Nigella sativa*, à provoquer une amélioration de l'ensemble des paramètres par rapport au témoin.

Tableau 08. Variation des paramètres sanguins chez les rats témoins (T) et les rats traités après 10 jours de traitement ($M \pm SD$, $n = 7$).

Paramètres	Unités	T	N	M	NM
GB	$10^3/\mu\text{l}$	17,02±1,76	14,50±0,99*	17,50±1,34	15,96±1,19
Lym	$10^3/\mu\text{l}$	12,12±1,89	9,760±0,50*	12,10±1,06	11,50±1,39
Mon	$10^3/\mu\text{l}$	2,040±0,34	1,920±0,85	2,200±0,39	1,860±0,21
GR	$10^6/\mu\text{l}$	6,914±6,58	6,582±0,56	8,040±0,114**	6,852±0,51
Hb	g/dl	15,38±0,91	14,80±1,24	16,20±0,20	14,52±0,56
HTC	%	39,34±1,83	37,10±2,76	41,04±1,05	38,22±2,60
CMV	μM^3	56,90±0,69	56,42±1,92	51,20±1,40***	55,82±2,14
CCMH	g/dl	39,12±1,38	39,86±0,93	39,48±0,59	38,12±1,53
PLT	$10^3/\mu\text{l}$	699±116	828±105	896,4±88**	795±168

Dans cette étude, il n'y avait aucun signe d'anémie chez les rats traités avec ERY Gé. Contrairement à ce qu'il a trouvé par **Abdel-Hameid, (2007)** lorsqu'il a constaté une réduction significative des globules rouges, des valeurs Hb et HCT des rats traités avec l'érythromycine estolate peuvent refléter les effets indésirables induits dans les organes hématopoïétiques. La diminution de la valeur du nombre de globules rouges peut être liée à l'inhibition d'érythropoïèse ou diminution du débit de globules rouges. La réduction de la valeur HCT et de la teneur en Hb observée chez les rats traités à l'EE peut refléter l'état anémique à la suite de l'action des médicaments.

Helal et al., (2003) ont enregistré aussi une teneur réduite en Hb chez les rats traités à l'érythromycine estolate contrairement à ce que l'on a trouvé dans la présente étude. Ils ont pensé que l'état anémique induit après traitement par l'EE pourrait être attribué à la libération des globules rouges immatures, de sorte que la valeur de HCT a également été réduite. La réduction de CMH et CCMH chez les rats traités avec EE est une indication d'anémie induite par l'érythromycine, tandis que l'augmentation du CMV pourrait éventuellement refléter le gonflement des globules rouges qui est finalement en panne.

L'administration d'huile de Nigelle dans notre étude en combinaison avec l'ERY Gé a amélioré les paramètres susmentionnés en comparaison avec le témoin. **Bouasla et al., (2014)** ont interprété que cette amélioration indique le pouvoir thérapeutique et antioxydant de la *Nigella Sativa* contre l'hématotoxicité d'érythromycine dans leur étude.

Kehili et al., (2017) ont constaté qu'une faible dose d'extrait de nigelle a causé une amélioration du taux de l'hémoglobine, des plaquettes et des globules rouges.

L'étude de **Rasouli-Hiq et al., (2016)** sur les souris et les rats a prouvé que le traitement avec l'extrait de nigelle améliore de manière significative la perturbation hématologique causée par le cisplatine (une drogue cytotoxique).

4.6. Influence des traitements sur les paramètres du stress oxydant

4.6.1. L'activité enzymatique S-transférase GST

Les résultats mentionnés au tableau (0) et la figure () permettent de montrer sur le plan hépatique une diminution très hautement significative de l'activité enzymatique de GST chez les rats exposés au ERY Gé en comparaison au témoin.

On note une amélioration considérable de l'activité GST suite à l'addition de la *Nigella Sativa* sous forme d'huile, aucune modification significative n'est reportée en comparaison avec le groupe témoin

4.6.2. Le malondialdéhyde (MDA)

Dans la présente étude les rats traités par ERY Gé (92mg/kg) ont montré une hépatotoxicité associée à la peroxydation lipidique, qui est exprimée par une augmentation hautement significative de MDA ($p < 0.001$) (Figure) par rapport au témoin.

Contrairement aux rats traités par l'huile de nigelle et de suite par ERY Gé, une diminution significative de l'MDA ($p < 0.05$) a été constatée pendant le traitement.

Tableau 09. Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine) au niveau de foie chez les rats témoins et traités pendant 10 jours.

	T	N	M	MN
MDA	61,5 \pm 19,2	51,8 \pm 13,9	96,47 \pm 7,36**	90,4 \pm 17,7*
GST	0,0186 \pm 0,003	0,0155 \pm 0,002	0,0017 \pm 0,0002***	0,0153 \pm 0,004

* ($P < 0,05$) : différence significative comparant au témoin.

** ($P < 0,01$): différence hautement significative comparant au témoin.

*** ($P < 0,001$): différence très hautement significative comparant au témoin.

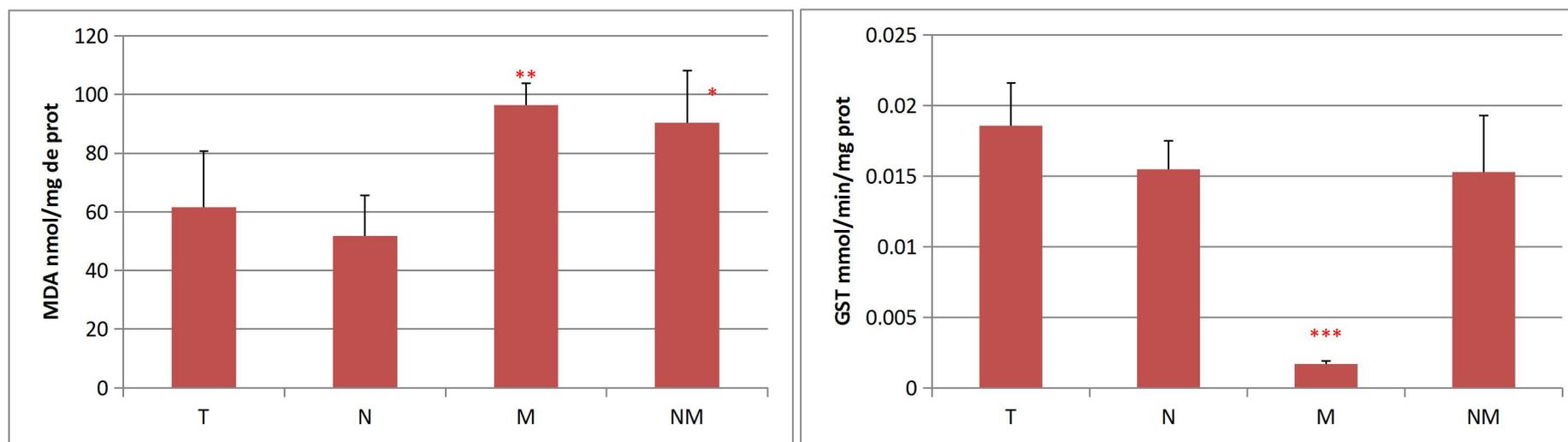


Figure 32. Variation de malondialdéhyde (nmol/mg protéine) et de glutathion S-Transférase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protéine), au niveau hépatique chez les rats témoins et traités pendant 10 jours.

Le stress oxydant est une circonstance anormale dans laquelle sont placés les tissus de notre organisme lorsqu'ils sont face à un flux accru de radicaux libres qu'ils n'arrivent plus à piéger ou à détruire (**Agrawal et Sharma, 2010**). Les enzymes antioxydantes sont considérées comme la première ligne de la défense cellulaire contre les dommages oxydative.

Les glutathion-S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports de biosynthèses intracellulaires (**Poonkuzhali et al., 2001**). La famille enzymatique de glutathion S-Transférase (GST) est impliquée dans les processus de la détoxification, en assurant la conjuguer de GSH avec les produits de la peroxydation lipidique (**Manawadi et Kaliwal, 2010**). Les niveaux de cet antioxydant peuvent fournir une idée claire sur l'ampleur des dégâts qui se produisent dans les tissus de l'organisme (**Sies, 1993**).

Le malondialdéhyde (MDA) est le produit de peroxydation lipidique le mieux étudié. Il se forme suite à l'oxydation des acides gras polyinsaturés par des réactions chimiques et enzymatiques. C'est l'un des marqueurs clé du stress oxydatif (**Tsikakos, 2017**).

Nos résultats ont enregistré un effondrement de l'activité enzymatique de glutathion S-Transférase chez les rats traités par ERY Gé. Cela pourrait bien être le résultat de sa participation en tant qu'antioxydant dans la neutralisation des radicaux libres et le puissant composant du système enzymatique de récupération des ces radicaux **Sandhu et Kaur, (2002)**.

Pari et Uma. (2003) ont signalé que l'estolate d'érythromycine est métabolisé en dérivés de nitrosoalkane réactifs, qui peuvent être davantage métabolisés en radicaux nitroso réactifs. La formation de ces radicaux dans le traitement par EE pourrait être responsable de la dégradation des phospholipides dans le foie. Puisque l'EE produit une toxicité par des intermédiaires toxiques. L'estolate d'érythromycine provoque une augmentation de stress oxydative par épuisement des antioxydants. Cela peut être dû à leur utilisation accrue pour neutraliser les radicaux libres générés lors de la toxicité d'érythromycine estolate.

Le taux de malondialdéhyde dans la présente étude a connu une augmentation significative chez les rats traités par ERY Gé. Cela a été expliqué que les niveaux accrus de MDA reflètent la peroxydation lipidique comme conséquence du stress oxydatif causé par l'érythromycine **Abdel-Daim, (2014)**. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Shete et al., (2011)**

lorsqu'ils ont souligné que la peroxydation mesurée sous forme de MDA a augmenté chez les animaux traités par érythromycine estolate.

L'hépatoprotection assurée par l'huile de *Nigella sativa* se manifestait aussi par une diminution du taux du MDA ainsi que par une augmentation de l'activité des systèmes de défense antioxydants dans le plasma et le foie **Mosbah, (2016)**. L'effet protecteur des fractions de *Nigella sativa* peut être attribué à l'inhibition de la peroxydation des lipides qui conduisent à la stabilisation de membranes plasmiques (**Darwish et al., 2012; Gani et al., 2013**). Cet effet suggère que ces dernières ont tendance à prévenir les lésions hépatiques et de supprimer la fuite des enzymes vers le courant circulatoire en préservant les membranes hépatocytaires, une étude a déjà démontré que l'huile totale de la susdite plante possède une importante activité antihémolytique in vitro (**Mosbah et al., 2015**). **Meral et al., (2001)** ont confirmé que l'huile totale de nigelle permis la réduction du taux de MDA des lapins diabétiques d'une part, et l'augmentation de la concentration du GSH et celui de la céruloplasmine d'une autre part.

La thymoquinone (TQ), la dithymoquinone, et le thymol ont été testés contre plusieurs ROS, et tous les composés testés de *Nigella sativa* ont exercé des effets antioxydants forts **Mosbah, (2016)**. Les flavonoïdes sont connus pour être des antioxydants, des piègeurs de radicaux libres et anti-lipoperoxydants ce qui procure de l'hépatoprotection **Guergouri, (2018)**.

Conclusion & perspectives

Conclusion

En conclusion, L'atteinte hépatique médicamenteuse ou DILI est un problème majeur de l'hépatologie moderne, qui est souvent sous-diagnostiquée. Pourtant, elle est la cause la plus répandue d'insuffisance hépatique aiguë en Algérie et tous les pays du monde et la raison la plus fréquente de retrait de vente des médicaments du marché.

D'autre part, est pour atténuer l'impact des médicaments sur la santé nous sommes orientés vers les plantes médicinales, source importante de flavonoïdes et polyphénols qui regorgent de vertus thérapeutiques. On a essayé de démontrer l'effet protecteur de la *nigella sativa* contre l'hépatotoxicité induit par un type d'antibiotique, l'érythromycine.

Nos résultats montrent dans un premier temps que l'administration de l'érythromycine à raison de 92 mg/kg/j pendant 10 jours a occasionné.

- Une diminution significative corporelle.
- Une augmentation très hautement significative des poids relatifs du foie
- un déséquilibre du métabolisme biochimique caractérisé par une augmentation légèrement significative de l'ASAT et l'ALAT, Une augmentation significative du bilan lipidique.
- Sur le plan oxydatif, on a marqué une augmentation du taux de MDA, avec une baisse de l'activité de GST.

Dans un second temps, l'addition de *Nigella sativa* sous forme d'huile (0.4ml/kg/j) permet de restaurer l'ensemble des paramètres mesurés dans cette étude. Aucune différence significative n'est enregistrée par rapport au témoin. Cette amélioration témoigne de l'effet antioxydant et protecteur de cette plante médicinale contre l'effet oxydatif de l'érythromycine.

Il serait judicieux de compléter cette recherche par une étude approfondie s'intéressant à :

- Étude de composition d'huile de nigelle.
- Prolonger l'exposition de l'érythromycine pour découvrir son effet à long terme.
- Prolonger la durée d'exposition des animaux afin de savoir si ces perturbations pourraient aboutir à l'apparition de pathologies chroniques.
- Compléter le dosage des marqueurs de la défense antioxydante (GSH, catalase, glutathion peroxydase et superoxydodismutase, Vit C et Vit E).

- Une étude histologique pour permettra la recherche d'éventuelles lésions tissulaire pathologique liées notamment à une inflammation,une dégénérescence et nécrose.

Références bibliographique

1. **Abdel-Hameid, N. A.**, (2007). Protective role of dimethyl diphenyl bicarboxylate (DDB) against erythromycin induced hepatotoxicity in male rat. *Toxicol in Vitro*, 21(40): 618-625.
2. **Aggoune, L.**, (2012). Activité antibactérienne et inhibitrice de β -lactamases des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa* L. Mémoire de Magister : Biochimie Appliquée. Sétif : Université Ferhat Abbas, 126.
3. **Al-Jassir, MS.**, (1992). Chemical composition and microflora of black cummin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia, *Food Chem.* 45(4): 239-42.
4. **Anderson, R.C., Lee, C.C., Worth, H.M., Harris, P.N.** (1959). *J. American Pharmaceutical Association*, XLVIII, 11, 623-628.
5. **Azadeh S., Mahdieh R., Mona E., Mahsa H J.** (2014). «Effects of *Nigella sativa* L. Seed Extract on Fatigue, Blood Biochemical Parameters and Thyroid Function in Male Mice». *Chinese Medicine*, 5, 16-21.
6. **Baggot J. D., and Gingerich, D. A.** (1976). Pharmacokinetic interpretation of erythromycin and tylosin activity in serum after intravenous administration of a single dose to cows. *Research in Veterinary Science*, 21, 318-323.
7. **Benkaci-Ali, F., Baaliouamer, A., Wathelet, JP., Marlier, M** (2012). Chemical composition and physicochemical characteristics of fixed oils from Algerian *Nigella sativa* seed, *Chem Nat Compd.* 47(6): 925-31.
8. **Berrehal, M.** (2018). Evaluation de l'effet protecteur d'un extrait de lichen contre l'hépatotoxicité induite par le diclofenac de sodium chez le rat. Mémoire de master : Immunologie Moléculaire et Cellulaire. Constantine : Université des frères Mentouri, 53.
9. **Bouasla I., Bouasla A., Boumendjel A.** (2014). *Nigella sativa* oil reduces aluminium chloride-induced oxidative injury in liver and erythrocytes of rats. *Biol Trace Elem Res* 162:252–61.
10. **Boukhalfa, I., Benelmufti, F.** (2016). Les substances à pouvoir toxique sur le foie. Mémoire de master : biologie animale. Constantine : Université des Frères Mentouri, 55.
11. **Carter, B., Woodhead, JC., Cole, KJ., Milavetz, G.**, (1987). *Gastrointestinal Side*

- Effects with Erythromycin Preparations. Drug Intell Clin Pharm, 21(9): 734-8.
12. **Daba M., Abdel-Rahman M.** (1998). Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. Toxicol Lett 95:23-9.
 13. **Darwish HA., Abd-Raboh NR., Mahdy A.,** (2012). Camel's milk alleviates alcoholinduced liver injury in rats. Food and Chemical Toxicology. 50, 1377-1383.
 14. **Darwish H., Abd-Raboh., Nahdy A.,** (2012). Camel's milk alleviates alcoholinduced liver injury in rats. Food and Chemical Toxicology. 50, 1377-1383.
 15. **Fabienne, T.** (2021). Etude des mécanismes impliqués dans l'hépatotoxicité des médicaments anti-cancéreux : exemples de la trabectédine et des inhibiteurs de tyrosine kinases. Thèse de doctorat : Pharmacologie. Paul Sabatier : Université Toulouse 3, 247.
 16. **Farag A, Elhalwagy M, Farid H** (2010). Effect of ginger supplementation developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. Pestic Biochem Physiol, 97: 267–74.
 17. **Gali-muhtasib. H., Nahed el-najjar, Regine schneider-stock** (2006). « Lead Molecules from Natural Products, The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components». Elsevier 133-152.
 18. **Gani MS., John AS.** (2013). Evaluation of hepatoprotective effect of *Nigella sativa L.* International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 5, 428-430.
 19. **Ghedira, K** (2006). La nigelle cultivée : *Nigella sativa L. (Renonculacée)*. Phytothérapie, 4(5):220.
 20. **Gilani. A.H., Q. Jabeen, M.A.U. Khan.** (2004). «A review of medicinal uses and pharmacological activities of *Nigella sativa*. » Pakistan journal of biological sciences.7: 441-451.
 21. **Guergouri, FZ** (2018). Etude de l'effet des extraits de *Nigella sativa* sur la toxicité Hépatique induite par le CCl₄ chez le rat *wistar*. Thèse de doctorat : Biochimie. Sétif, Algérie : Université Ferhat Abbas Sétif 1, 127.
 22. **Hebidi, M** (2019). Contribution à l'étude de la graine de nigelle ou cumin noir *Nigella sativa L.* Thèse de doctorat : Pharmacie. Marseille, France : Université Aix Marseille. 148.

23. **Helal, A.D., El-Sayed, E.M., Mubuarak, M.G.A.,** (2003). Using dimethyl diphenyl bicarboxylate (DDB) as antierythromycin hepatotoxicity in goat and rat. Third International Scientific Conference at University of Mansoura, 567–582.
24. **Jerine P, S., Sabina E, P.** (2008). Aqueous leaves extract of madhuca longifolia attenuate diclofenac- induced hepatotoxicity: Impact on oxidative stress, inflammation and cytokines, Cellular biochemistry. 119(7), 6125-6135.
25. **Lafleur, M., Kergoat, M.J.,** (2000). Maigrir en milieu d'hébergement un appel à l'aide silencieux. Le Médecin du Québec, 35 (10). 51-57.
26. **Lee, C.-C., Anderson, R C., and Chen, K. K.,** (1953). Tissue distribution of erythromycin in rats. Antibiotics and Chemotherapy, III (9), 920-924.
27. **Lee, C.-C., Anderson, R C., and Chen, K. K.,** (1956). Distribution and excretion of radioactivity in rats receiving N-methyl-C14-erythromycin, J. Pharmacology and Experimental Therapeutics, 117, 265-273.
28. **Leelavinothan, P., Arokiasamy, U.,** (2003). Protective Effect of Sesbania grandiflora Against Erythromycin Estolate-Induced Hepatotoxicity. Société Française de Pharmacologie, 58 (5), 439-443.
29. **Lu, X., Tian, Y., Lian, X., Jin, Y., Jin, T., Zhaw, Q., Hu, B., Shen, X., Fan, X.,** (2013). Integrated systems toxicology approaches identified the possible involvement of ABC transporters pathway in erythromycin estolate-induced liver injury in rat. Food and Chemical Toxicology.
30. **Malmborg, A.** (1986). The resistance of erythromycin. Journal of antimicrobial chemotherapy, 18, 293_299.
31. **Meral I., Yener Z., Kahraman T., Mert N.,** (2001). Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. J Vet Med; 48:593-599.
32. **Merle, S.** (1998). Médicament antimicrobiens: Tétracycline, Chloramphenicol, Érythromycine. In : Alfred G. Gilman. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. New York : Mc Graw-Hill Fr, 1125_1146.

33. **Mollazadeh, H., Hosseinzadeh H** (2014). The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iranian journal Basic Medical Sciences*. 17, 958-966.
34. **Mosbah, A.,** (2016). Etude de l'effet hépatoprotecteur de l'huile totale et de la fraction neutre des graines de *Nigella sativa* contre l'hépatotoxicité induite par l'éthanol chez le rat. Thèse de doctorat : Biochimie. Sétif, Algérie : Université Ferhat Abbas Sétif 1, 121.
35. **Moussaoui, M.,** (2014). La nigelle : Ses variétés et ses graines Ed. Sabil. 80 p.
36. **Nergiz, C., Ötles, S.,** (1993). Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chem*, 48(3):259- 61.
37. **Pessayre, D., Larrey, D., Brentano, F.C., Benhamon, J.P.,** (1985). Drug interactions and hepatitis produced by some macrolide antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 16, 181–194.
38. **Pineau, T., Galtier, P., Bonfils, C., Derancourt, J., Maurel, P.,** (1990). Purification of a sheep liver cytochrome P-450 from the P450III_A gene subfamily: its contribution to the N-dealkylation of veterinary drugs. *Biochemical Pharmacology*, 39 (5), 901-909.
39. **Platon, V.-M., Dragoi, B., Marin, L.,** (2022). Erythromycin Formulations—A Journey to Advanced Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 14, 2180.
40. **Rhyner, G., Zahedi, K., Stadler, P., Hayoz, D.,** (2010). Hépatotoxicité médicamenteuse due aux antibiotiques. *Revue Médicale Suisse*, 6 : 2180-7.
41. **Saidi, B** (2010). La Graine de nigelle: remède sacré ou sacré remède ? *Habba Sawda*. Paris: Ed. Iqra Ed. Les Quatre Sources.
42. **Sallie, R., Tredger, J.M., William, R.,** (1991). Drugs and the liver. *Biopharmaceutical Drug Disposition*, 12, 251–259.
43. **Sambo, N., Garba, S.H., Timothy, H.,** (2009). Effect of the aqueous extract of *psidium guajava* on erythromycin-induced liver damage in rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 24 (2), 171 -176.
44. **Shete R, V., Pawashe P, M., Kore K, J., Otari K, V.,** (2011). Protective Role of *Luffa cylindrica* Linn against Erythromycin Estolate Induced Hepatotoxicity. *Current Pharma Research*, 1. (4), 315-319.

45. **Sobhi, W** (2014). Caractérisation de l'huile des graines de *Nigella sativa* et étude de son activité hypoglycémiant et son hépatotoxicité. Thèse de doctorat : Biochimie. Sétif, Algérie : Université Ferhat Abbas Sétif 1, 179.
46. **Soudani N., Troudi A., Bouaziz H.** (2011). Cardioprotective effects of selenium on chromium (VI)-induced toxicity in female rats. *Ecotoxicol Environ Saf* 74:513–20
47. **Thevin, P.**, (2022). Utilisation De L'erythromycine À Bas Dosage En Pédiatrie, Etat Des Lieux Et Mise Au Point Galénique. Thèse D'exercice Du Diplôme D'études Spécialisées De Pharmacie Hospitalière : Pharmacie. France : Université De D'aix Marseille, 87.
48. **Tsubaki, M., and Ichikawa, Y.** (1985). Isolation and characterization of two consecutive forms of microsomal cytochrome P-450 from bovine liver. *Biochimical et Biophysical Acta.*, 830, 244-257.
49. **Van Bambeke, F., Verhaegen, J., Tulkens, P.M.**, (2001). Érythromycine, autres macrolides et kétolides : usages cliniques actuels et perspectives. *La Lettre de l'Infectiologue*, Tome XVI. (10), 318_331.
50. **Venkateswaran, S., Pari, L., Viswanathan, P., Venugopal, P., Menon** (1997). Protective effect of Livex, a herbal formulation against erythromycin estolate induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 57, 161_167.
51. **Viluksela, M., Hanhijarvi, H., Husband, R.F.A., Kosma, V.-M., Collan, Y., Manisto, P.T.**, (1988). Comparative liver toxicity of various erythromycin derivatives in animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 21: 9-27.
52. **Wilson, J. T., and Van Boxtel, C. J.**, (1978). Pharmacokinetics of erythromycin in man. *Antibiotics and Chemotherapy*, 25, 181-203.
53. **Zaoui A., Cherrah Y., Mahassini N., Alaoui K., Amarouch H., Hassar M** (2002). Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* ; 9(1):69- 74.
54. **Zerrar, O., Imadouchene, L., Toumi, A., Arar, A.**, (2020). Pertinence de l'analyse toxicologique au cours d'une intoxication médicamenteuse aigue : Elargissement du protocole toxicologique au niveau du service de toxicologie de Thèse de doctorat : Pharmacie. Tizi-ouzou : Université de Mouloud Mammeri, 134.

Webographie

- 55. Pfizer-Canada-SRI.** Monographie d'ERYC [en ligne] (page consultée le 21/04/2021).
<https://www.pfizer.ca/>
- 56. ANSM.** Base de données publique des médicaments [en ligne] (page consultée le 31/03/2022).
<https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=61572941&typedoc=N>
- 57. Mayer, G., Camberlein, E., BACTERIOLOGY - CHAPITRE SIX ANTIBIOTIQUES – SYNTHÈSE DES PROTÉINES, SYNTHÈSE D'ACIDE NUCLEIQUE ET METABOLISME** [en ligne] (page consultée le 04/09/2013).
<https://www.microbiologybook.org/French%20Bacteriology/bact6.htm>