



N° de série :
N° d'ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

Étude de l'effet antioxydant de l'espèce *Ephédra alata* alenda de la région d'El Oued chez les rats Wistar albinos exposés à la Deltaméthrine

Présenté Par :

GOUASMIA Soulef & ZOUBIRI Fatia

Devant le jury composé de :

Présidente:	Dr. MEDILA Ifriqya	MCB Université d'El Oued
Examineur :	Dr. DEROUICHE Samir	MCB Université d'El Oued
Promoteur :	Dr. DJAHRA Ali Boutlelis	MCA Université d'El Oued

Année universitaire

2016/2017

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions le DIEU, notre créateur tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et le courage de mener ce modeste travail à terme.

Nous adressant nos respects et reconnaissance à notre encadreur **Mr DJAHRA Ali Boutlelis**, pour avoir accepté de nous encadrer, pour son aide, ses précieux conseils, ses orientations et pour toute l'attention qu'il nous a prodigués tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme MEDILA Ifriqya**, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement, **Mr DEROUCHE Samir**, de nous faire l'honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail.

On adresse aussi nos chaleureux remerciements à tout l'ensemble des membres du laboratoire de département de science de la nature et de la vie, Université d'Echahid HAMMA LAKHDAR, El Oued, sans oublier **M^{elle} ZEGHIB Khaoula**, et **M^{elle} GOUBBI Sana** responsable du laboratoire.

Un grand merci aussi à toute l'équipe du laboratoire de contrôle de la qualité **FATILAB**.

Nos remerciements à tous les membres du laboratoire d'établissement public de santé de proximité, 19 mars, El Oued.

En fin, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Ainsi qu'à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et nos remerciements.

Dédicace

À mes parents qu'aucun hommage au monde ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À mon très cher mari Taher pour ses sacrifices, son soutien moral, matériel et sa gentillesse, Sans lui ce travail n'aurait vu le jour.

À mes enfants Anfel, Ikhlas et Mouhamed.

Je dédie ce modeste travail.



Soulef Gouasmia

Dédicace

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

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

A mes chères grand-mère et belle-mère que dieux les protèges

A mon cher mari qui m'a toujours aidé, soutenu et encouragé.

A ma chère sœur Samia

A mes chère frères Mustapha, Adhane et Mohamed.

A mes chères filles Nada et Darine

A mes chers neveux Razel et Adam

A toute ma famille

A mes amis

Je dédie ce mémoire.



Fatia Zoubiri

Sommaire

Résumé en Français	
Résumés en Arabe	
Résumé en Anglais	
Listes des figures	
liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION.....	01
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I Études de l'espèce végétale <i>Ephédra alata</i>	
Généralité.....	03
1 Famille Ephedraceae.....	03
2 Genre Ephédra.....	04
3 Etude de l'espèce <i>Ephédra alata</i>	04
3.1 Noms vernaculaire d' <i>Ephédra alata</i>	04
3.2 Description botanique d' <i>Ephédra alata</i>	04
3.3 Taxonomies d' <i>Ephédra alata</i>	04
3.4 Répartition géographique.....	05
3.5 Composition chimique d' <i>Ephédra alata</i>	05
3.5.1 Les alcaloïdes.....	05
3.5.2 Acides phénoliques.....	06
3.5.3 Tanins.....	06
3.5.4 Flavonoïdes.....	07
3.5.5 Huile essentielle.....	07
3.6 Usage thérapeutique d' <i>Ephédra alata</i>	07
3.7 Toxicité d' <i>Ephédra alata</i>	08
3.8 Posologie d' <i>Ephédra alata</i>	09
Chapitre II : Xénobiotique et Stresse oxydatif	
1. Xénobiotique.....	10
1.1 Toxicologique.....	10
1.2 Pharmacologique.....	10
1.3 Métabolisme des Xénobiotiques.....	10
1.3.1 Phase I.....	11
1.3.2 Phase II.....	11
1.4 Pesticides.....	13
1.5 Insecticides.....	13
1.5.1 Insecticides pyréthroidiens.....	14
1.5.2 Mécanismes toxicologique des insecticides pyréthroidiens.....	14
1.5.3 Deltaméthrine.....	15
2 Stress oxydatif.....	16
2.1 Radicaux libres.....	17

2.2 Malondialdéhyde (MDA).....	18
2.3 Antioxydant.....	18
2.4 Glutathion	19
DESIEME PARTIE : Etudes expérimentales	
Chapitre I: Matériels et méthodes	
1 Matériels utilisé.....	20
1.1 Fiche questionnaire.....	20
1.2 Matériel végétal.....	20
1.2.1 Site de prélèvement.....	20
1.2.2 Séchage.....	21
1.3 Matériel animal.....	21
1.4 Pesticides (Decis expert).....	22
2 Méthode suivies	22
2.1 Enquête ethnopharmacologique	22
2.2 Préparation des extraits aqueux.....	22
2.2.1 Macération.....	22
2.2.2 Décoction.....	22
2.2.3 Calcule du rendement des extraits.....	22
2.3 Analyse phytochimique préliminaires.....	23
2.3.1 Alcaloïdes.....	23
2.3.2 Tannins.....	23
2.3.4 Flavonoïdes.....	23
2.3.5 Saponines	23
2.3.6 Sucres réducteurs.....	23
2.3.7 Terpénoïdes.....	24
2.3.8 Stéroïdes.....	24
2.4 Dosage des composés phénoliques totaux des extraits	24
2.5 Effet antioxydant <i>In vitro</i> des extraits d' <i>Ephédra alata</i> par le DPPH.....	24
2.6 Etude de l'effet antioxydant <i>In vivo</i> des extraits d' <i>Ephédra alata</i>	26
2.6.1 Préparation de la solution pesticide.....	26
2.6.2 Préparation des solutions des extraits.....	26
2.6.3 Préparation de la poudre de la plante.....	26
2.6.4 Détermination de la DL ₅₀ des extraits d' <i>Ephédra alata</i>	26
2.6.5 Détermination de la DL ₅₀ de la Deltaméthrine.....	26
2.6.6 Protocole expérimentale.....	26
2.6.7 Sacrifice et prélèvement du sang et des organes.....	27
2.6.8 Dosage des paramètres biochimiques et enzymes sériques.....	27
2.6.9 Dosage des paramètres de stress oxydatif.....	28
2.6.9.1 Préparation des homogénats des organes.....	28
2.6.9.2 Dosage des protéines tissulaires.....	28
2.6.9.3 Dosage du malondialdéhyde (MDA) tissulaire.....	28
2.6.9.4 Dosage du glutathion réduit (GSH).....	29

2.6.9.5 Dosage du glutathion S-transférase (GST).....	30
2.7 Etude histologique.....	32
2.7.1 Préparation des blocs	32
2.7.2 Réalisation des coupes et coloration.....	32
2.8 Méthode d'analyse statistique.....	32
Chapitre II : Résultats et discussion	
1 Résultat	33
1.1 Enquête ethnopharmacologique	33
1.2 Rendement des extraits aqueux.....	41
1.3 Analyse phytochimique préliminaire.....	41
1.4 Dosage des composés polyphénoliques totaux.....	42
1.5 Effet antioxydant <i>In vitro</i> des extraits d' <i>Ephédra alata</i> par DPPH.....	42
1.6 Détermination de la dose létale DL ₅₀ des extraits.....	43
1.7 Effet du traitement par <i>l'Ephédra alata</i> sur la croissance corporelle et le poids relatif des organes.....	44
1.8 Effet du traitement par <i>l'Ephédra alata</i> sur le bilan sanguin	44
1.8.1 Bilan hépatique	44
1.8.2. Bilan rénale	46
1.8.3 Bilan lipidique	47
1.8.4 Autres paramètres	48
1.9 Effet du traitement par <i>l'Ephédra alata</i> sur les paramètres tissulaires du stress oxydant chez les rats exposés à la Deltaméthrine	50
1.9.1 Etude de la peroxydation lipidique (MDA).....	50
1.9.2 Etude du glutathion réduit (GSH).....	50
1.9.3 Etude de l'activité du Glutathion S- Transférase(GST).....	51
1.10 Etude histologique.....	52
DISCUSSION.....	56
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	62
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	64
ANNEXE.....	77
Résumé et mots-clés	

RESUME

L'objectif de ce travail est d'abord de contribuer à l'évaluation de l'*Ephédra alata* alenda de la région d'El Oued par une enquête ethnopharmacologique, au cours de laquelle nous avons constaté que l'importance de la plante semble être ignorée de la population. Deux extraits aqueux (macérât et décocté) sont préparés à partir de la partie aérienne de l'espèce végétale étudiée, l'analyse phytochimique de ces extraits a révélé la présence des Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Terpènes et Saponines, Aussi la concentration en composés polyphénoliques totaux est estimée à 13.72 mg EAG/g pour le macérât, et 13.45 mg EAG/g pour le décocté. L'évaluation de l'effet antioxydant de ces extraits par le piégeage du radical libre DPPH a donné les valeurs des IC₅₀ de l'ordre de 0.901mg/ml et 1.141mg/ml pour le macérât et le décocté respectivement. Afin d'étudier les effets antioxydants de l'*Ephédra alata* alenda, *In vivo*, des rats albinos ont été exposés à la Deltaméthrine (3.5 µl/kg/j) pendant 30 jours, puis traités pendant 14 jours, en plus de la Deltaméthrine, par trois formes différentes de l'espèce végétale (macérât, décocté et poudre), le quatrième lot est resté sans traitement (témoin positif) aussi un cinquième lot qui nous a servi comme témoin négatif. Les rats sont sacrifiés (après 44 jours), des paramètres biochimiques, stress oxydatif et histologiques, sont déterminés.

L'analyse des résultats obtenus montre une variation significative entre les différents lots pour le poids corporel et poids relatif. L'analyse des paramètres biochimiques et celles du stress oxydatif nous révèle des variations plus ou moins significatives, et qui montre l'effet du xénobiotique, ainsi que les restaurations induites par les extraits, plus remarquables dans le macérât par rapport au décocté, et complètement absentes dans la poudre de la plante. Enfin l'étude histologique du foie a confirmé les résultats biochimiques.

Mots clés : Enquête Ethnopharmacologique, *Ephédra alata* alenda, Deltaméthrine, Stress oxydatif, Antioxydant.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو المساهمة في تقييم نبتة *Ephédra alata* المتواجدة في منطقة الوادي عبر القيام بتحقيق واستجواب العديد من التجار المختصين في بيع النباتات الطبية وذلك عبر ملء استبيان مكننا من اكتشاف اهمية هذه العشبة والتي يبدو أنها غير معروفة جيدا من طرف سكان الوادي. بعد تحضير المستخلص الفعال المائي بنوعيه المنقوع والمغلي اللذان تم إعدادهما من الجزء الهوائي لنبتة العلندة، حيث كشف التحليل الكيميائي لهذه المستخلصات على احتوائها على القلويدات، التانينات ، الفلافونيدات، التربينات والصابونينات ، كما تم تقدير تركيز المركبات الفينولية الكلية ب 13.72 ملغ معبر بحمض الغاليك / ملغ بالنسبة للمستخلص المنقوع وب13.45 ملغ معبر بحمض الغاليك / ملغ، بالنسبة للمستخلص المغلي، وقد تم تقدير فعالية النبات المضادة للأكسدة باستعمال الجذر الحر DPPH والذي أعطى IC50 ما يقدر بحوالي 0.901 ملغ/مل و 1.141 ملغ / مل، بالنسبة للمستخلصين المنقوع والمغلي على التوالي.

كذلك للتحقق من الفعالية المضادة للأكسدة لنبات العلندة، في المختبر، تم تعريض الجرذان البيضاء للمبيد الكيميائي الدلتامثرين (3.5 ميكرو لتر/ كغ / يوم) لمدة 30 يوما، وبعد ذلك عولجت لمدة 14 يوما بمختلف المستخلصات النباتية (المنقوع، المغلي والمسحوق) مع إبقائها معرضة إلى الدلتامثرين. المجموعة الرابعة للفئران هي مجموعة السيطرة الموجبة المعرضة للدلتامثرين والغير معالجة بالنبات أما المجموعة الخامسة فهي مجموعة السيطرة السالبة. وبعد 44 يوم تم ذبح الفئران من اجل القيام بالتحاليل البيو كيميائية ومعايير الإجهاد التأكسدي مع إجراء المقاطع النسيجية للكبد.

النتائج المتحصل عليها أظهرت وجود تفاوت معنوي في وزن الجسم الكلي ووزن الأعضاء النسبي مع وجود اختلافات متباينة في معايير الإجهاد التأكسدي تحت تأثير الاكزينو بيوتيك ، مع ملاحظة إصلاحات قد تمت في مقاطع بعض الأنسجة التي أثبتت فعالية المستخلص المنقوع مقارنة بالمغلي وغيابها تماما في نسيج الكبد المعالج بمسحوق العلندة، وفي الأخير دراسة مقاطع أنسجة الكبد كانت موافقة للنتائج البيو كيميائية.

الكلمات المفتاحية : استبيان Ethnopharmacology ، *Ephédra alata* ، الدلتامثرين ، الإجهاد التأكسدي ، مضاد الاكسد.

ABSTRACT

The objective of this work is to contribute to the evaluation of the *Ephedra alata alenda* plant that grows in El Oued. By conducting an investigation by interrogating many specialized traders in the sale of medicinal plants by filling out a questionnaire that enabled us to discover the importance of this herb, which seems to be unknown to the population of El Oued. After the preparation of the water extract of the two types of soaked and boiling, which were prepared from the aerial part of the plant *Ephedra alata*, where revealed the chemical analysis of these plant extracts contain Alkaloids, Tannins, Flavonoids, Terpanoids and Saponins. The concentration of total phenolic compounds was estimated at 13.72 mg EAG/g for the soaked extract and 13.45 mg EAG/g for boiling extract. Effectiveness of the antioxidant plant using DPPH free root was estimated at IC₅₀ 0.901 mg/ml and 1.141 mg/ml for soaked and boiling extracts, respectively. Furthermore, in order to verify the antioxidant efficacy of the *Ephedra alata alenda* plant, in the laboratory, the white rats were exposed to the chemical agent Delamethrin (3.5 µl / kg / day) for 30 days and then treated for 14 days with various plant extracts (soaked, boiled and powdered) with Detamethrin then. The fourth group of rats is the positive control group exposed to Delthmethrin and non-treated by plant, while the fifth group is the negative control group. Forty-four days later, rats were slaughtered to perform biochemicals and oxidative stress tests with histological sections of the liver.

The results obtained showed significant differences in total body weight and relative weight of organs with varying differences in the oxidative stress parameters under the influence of the xenobiotic, noting the reforms in the sections of some tissues that demonstrated the effectiveness of the diluted extract compared to the boiling and its absence completely in the tissue of the liver treated with the powder. Finally, the study of liver tissue sections was confirmed with our biochemical results.

Keywords: Ethnopharmacologic, *Ephedra alata alenda*, Deltamethrin, oxydatif Stress, Antioxydant.

Liste des figures

Numéro	Titres	Pages
01	<i>Ephédra</i> , à gauche arbuste male, à droite arbuste femelle	03
02	Structure chimique de l'Ephédrine, Norephédrine, N-methylephédrine et Pseudoéphedrine	05
03	Structure de quelque composée phénolique le l' <i>Ephédra</i>	06
04	structure des proanthocyanidines type A.1 et C1	06
05	structure de quelque composant flavonoïdes contenue dans le genre <i>Ephédra</i>	07
06	Lobule hépatique, a : Coupe longitudinale, b : Coupe transversale	11
07	Schéma simplifiée du métabolisme d'un xénobiotique	12
08	L'homéostasie est un équilibre entre les niveaux de radicaux libres (RL) et les antioxydants (AOX)	17
09	Photo originale de l'espèce végétale <i>Ephédra alata</i> à partir du site de prélèvement	20
10	Localisation géographique de la zone d'étude (Oued Alanda, wilaya d'El Oued).	21
11	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant	25
12	Figure représentant le mécanisme réactionnel de l'MDA	29
13	Figure représentante le mécanisme réactionnel du GSH	30
14	Figure représentant le mécanisme réactionnel du GST	31
15	Répartition des enquêtés selon l'âge	33
16	Répartition des enquêtés selon le sexe	33
17	Répartirions des enquêtés selon le niveau scolaire	34
18	Répartition en pourcentage de l'échantillon enquêté selon la connaissance de l'utilisation de la plante	34
19	Répartition de la plante selon les associations possibles	35
20	Répartition de la plante selon la partie utilisée	35
21	Répartition de la plante selon la forme d'emploi	36
22	Répartition de la plante selon le mode de préparation	36
23	Repartions des doses utilisées de la plante	37
24	Répartition de la plante selon le mode d'administration	37
25	Répartition d' <i>Ephédra alata</i> selon le nombre de prise par jours	38
26	Répartition d' <i>Ephédra alata</i> selon la durée du traitement	38
27	Répartition d' <i>Ephédra alata</i> selon les types de maladie.	39
28	Répartition d' <i>Ephédra alata</i> selon les résultats obtenus	39
29	Répartition d' <i>Ephédra alata</i> selon sa toxicité	40
30	Répartition d' <i>Ephédra alata</i> selon la précaution d'emploi	40
31	L'activité anti-radicalaire des extraits brutes aqueux décoction et macérations.	42
32	IC ₅₀ des différents extraits d' <i>Ephédra alata</i> en mg/ml	43
33	Variations des enzymes TGO et TGP chez le groupe témoin et les différents groupes expérimentaux	45
34	Variations des enzymes YGT et PAL chez le groupe témoin et les différents groupes expérimentaux.	45
35	Variation de la concentration sérique en bilirubine directe et totale chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux.	46

36	Variation de la concentration sérique en urée, créatinine et acide urique, chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux	47
37	Variation de la concentration sérique en cholestérols et triglycérides chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux	47
38	Variation de la concentration sérique en glycémie chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux.	48
39	Variation de la concentration sérique en albumine et fer chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux.	49
40	Variation de la concentration sérique en protides et calcémies chez le groupes témoin et les groupes expérimentaux	49
41	Variation de la Malondialdéhy (MDA) dans le foie et les reins chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	50
43	Variation de la Concentrations du glutathion (GSH) dans le foie et les reins chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux	51
43	Variation de l'activité du glutathion S-transférase (GST) dans le foie et les reins chez le groupe témoins et les groupes expérimentaux	51
44	Structure histologique du foie chez les rats du lot témoin	52
45	structure histologique du foie des rats exposés à la Deltaméthrine	53
46	Effet du macérât d' <i>Ephédra alata</i> sur la structure histologique du foie chez rats exposés à la Deltaméthrine.	53
47	Effet du décocté d' <i>Ephédra alata</i> sur la structure histologique du foie des rats exposés à la Deltaméthrine.	54
48	Effet de la poudre d' <i>Ephédra alata</i> sur la structure histologique du foie des rats exposés à la Deltaméthrine	54

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
01	Pharmacologie, thérapeutique et toxicité de l'éphédrine	08
02	Les deux classes des pyréthroides	14
03	Formule chimique, poids et synonyme de la Deltaméthrine	15
04	Paramètres physico-chimiques de la Deltaméthrine	16
05	Résumé du protocole expérimental suivi et les concentrations utilisées	27
06	Pourcentage de l'extrait brut aqueux des tiges d' <i>Ephédra alata</i>	41
07	Métabolites mis en évidence dans les extraits aqueux d' <i>Ephédra alata</i>	41
08	Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux des extraits brut aqueux d' <i>Ephédra alata</i>	42
09	Taux de mortalité des rats en fonction des concentrations des extraits brut de la plante (macérât et décocté)	43
10	Poids initiale, Gain du poids et poids relative des organes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	44

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AOX : Système antioxydant.

BHT : Butylhydroxytoluène.

BSA : Sérum d'albumine de bovin.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CDNB : 1-chloro 2, 4 dinitrobenzène.

D: Décocté.

DDT : Dichlorodiphényltrichloréthane.

DL₅₀ : Dose Létale 50.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

DTNB : Dithiobis 2-nitrobenzoïque.

FDA : Food and Drug Administration.

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter.

YGT : Gamma Glutamyl Transférase.

GSH : Glutathion réduit.

GST : Glutathion S-Transférase.

H₂O : Eau.

HPLC : Chromatographie liquide haute performance.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice 50.

In : Inflammation.

M: Macérât.

MDA : Maondialdéhyde.

Mg de prot: mg de protéines.

mg EAG/g d'extrait : mg équivalent en acide gallique par g d'extrait.

Nz : Nécrose zonale.

nm : Nanomètre.

OS : Stress oxydatif.

P: Poudre.

PAL : Phosphatase alcaline.

R² : Coefficient de corrélation.

RL : Radical libres.

RNS : Espèces d'azote réactif.

ROS : Espèces d'oxygène réactif, (Reactive oxygen species).

SNC: Système nerveux central.

T: Témoin.

TBA : Thiobarbiturique.

TBARS : Thiobarbiturique Substance Réactif.

TBS: Tris-Buffered Saline.

TGO: Glutamate oxalo acétate-transaminase.

TGP: Transaminase glutamique pyruvique.

TNB: Thionitrobenzoïque.

TP: Témoin positif.

tr/min : Tour par minute.

UI/L : Unité internationale par litre.

UV-VIS : Ultra-Violet Visible

Introduction

INTRODUCTION

La pollution est une dégradation de l'environnement par l'introduction dans l'air, l'eau ou le sol des matières n'étant pas présentes naturellement dans le milieu (Hill, 2010). Elle entraîne une perturbation de l'écosystème dont les conséquences peuvent affecter la qualité globale de la vie ou contribuer considérablement à l'asthme, allergie, intoxication alimentaire, certains cancers, la neurotoxicité et à l'immunosuppression (Leguay, 1999).

Les pesticides sont des composés chimiques dotés de propriétés toxicologiques, utilisés par les agriculteurs pour lutter contre les animaux ou les plantes jugés nuisibles aux plantations, ces substances sont considérés comme la troisième cause de pollution dans le monde (Multinger, 2005). L'usage des pesticides a considérablement augmenté au cours des dernières décennies créant un danger croissant pour la santé des populations, puisque même une exposition de faible intensité a un risque à long terme qui est plus difficile à apprécier, ceux-ci sans parler des effets à court terme qui sont de mieux en mieux connus (effets neurologiques, cancers, malformations congénitales, système immunitaire affaibli et troubles de la reproduction) (Baldi *et al.*, 1996 ; Tron *et al.*, 2001).

Ces pesticides posent un véritable problème de santé publique, pas seulement pour les utilisateurs qui sont les plus exposés, mais aussi pour la population générale. En effet, notre organisme héberge des centaines de molécules toxiques dont de très nombreux pesticides, apportés par l'eau, l'air et les aliments consommés (Calvet, 2005).

Les perturbations causées par les produits phytosanitaires sont traitées par la médecine conventionnelle et traditionnelle, autrement appelée phytothérapie, et c'est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles, en proposant différentes préparations qui sont obtenus à partir de la plante fraîche ou sèche (Braun et Cohen ; 2015 ; Laarman, 2013 ; Verbois, 2015) . En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales grâce à de nombreux substances actifs (Benkhigue *et al.*, 2010). Parmi ces plantes on trouve l'*Ephédra alata* alenda, connue et employée en Chine depuis plus de cinq mille ans sous le nom de Ma-Huang, elle est très stimulante et qui tient une place importante dans la tradition herboriste de plusieurs pays. En herboristeries chinoise elle soulage les affections causées par le froid externe et un remède contre les toux et les troubles respiratoires. En herboristeries occidentale elle favorise la transpiration, dilate les bronchioles (ramification des bronches), diurétique et hypertenseur artériel. Aujourd'hui, elle est utilisée pour soigner divers affections, coups de froid, fièvres, asthme et les poussées aiguës de rhume ou de grippe et soulage les rhumatismes (Iserin, 2001).

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle et durant ces dernières années la phytothérapie est très répandue, mais malheureusement la majorité des gens qui maîtrisent la médecine traditionnelle n'ont aucune formation spécialisée ou connaissances scientifiques avec des utilisations anarchiques sans connaître ses dangers et ses risques. Comme exemple *L'Ephédra alata* alenda qui est très répandue dans les zones sahariennes du sud Algérien (Halis, 2007) et dont l'utilisation a considérablement augmenté récemment, du a plusieurs recherches qui affirme son effet anticancéreux dans plusieurs pays. A la lumière de ces données, l'idée de notre travail, dans le cadre de cette étude est de répondre à ces questions:

- L'utilisation de cette plante par la population est-elle justifiée ?
- Est-elle riche en substances naturelles à usages thérapeutiques ?
- Les extraits de *L'Ephédra alata* alenda ont-ils un effet antioxydant *In vitro* ?
- Quel est l'effet antioxydant de cette plante chez des rats exposés au xénobiotique : Deltaméthrine ?

Première partie

Synthèse

bibliographique

Chapitre I

Études de l'espèce

végétale

Généralité

Avant d'entamer l'étude de l'espèce végétale *Ephédra alata*, qui est une plante très répandue dans la région d'El Oued, il est nécessaire de mentionner que cette dernière fait partie de l'embranchement des Spermaphytes, sous embranchement des Gymnospermes et la classe des Gnetopsida composée de trois ordres : Gnetales, Welwitschiales et Ephedrales, comprenant chacune une seule famille, qui sont respectivement : Gnetaceae, Welwitschiaceae et Ephedraceae dont l'espèce à étudier fait partie.

1 Famille Ephedraceae

L'Ephedraceae est une famille de gymnospermes comprend un seul genre (*Ephédra*) avec environ 60 espèces. Ils ont survécu jusqu'à présent s'en étant adaptée à un habitat très extrême (Christenhusz et al., 2011; Friedman, 1996; 1998). Ces plantes sont des herbacées vivaces qui peuvent dépasser 1 m de hauteur, avec une forte odeur de pin et un goût astringent (Leung et Foster, 1996).

Les plantes de la famille des Ephedraceae sont constituées principalement d'arbustes de type persistant et de plantes herbacées vivaces, ils font référence à des plantes du genre dioïques et dont quelques-unes sont monoïques et qui se présentent avec un feuillage verticillé et caduc dont les feuilles sont opposées ayant plus l'aspect d'écailles engainantes. Ils ont une inflorescence verticillée et dont les fleurs unisexuées (fleurs mâles et femelles séparées) peuvent pour certaines être hermaphrodites (Savolainen et al, 2002).



Figure 1 : *Ephédra*, à gauche arbuste male, à droite arbuste femelle (Evret et Zichhorn, 2013).

2 Genre Ephédra

L'*Ephédra* est probablement l'une des plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité, *Ephédra sinica* est utilisée en médecine traditionnelle chinoise depuis plus de 5000 ans (Weiss, 1988), *Ephédra gerardiana* a été employé dans la médecine folklorique indienne depuis les temps anciens, Même à l'époque de l'Empire romain, cette plante était bien connu et décrite, mais son utilisation a diminué au fil des ans. Au début du XX^e siècle, l'intérêt pour l'herbe a progressivement repris (Jones, 1999).

Le genre Ephédra est un groupe primitif évolutif d'arbustes qui poussent sur terrain sec, rocheux ou sableux dans le désert ou les zones arides, cette plante est fortement aromatique, avec un goût amer. La tige séchée est la partie de l'arbuste utilisée (Blumenthal, 1998).

3 Etude de l'espèce *Ephédra alata*

3.1 Noms vernaculaire d'*Ephédra alata*

Selon les herboristes et les personnes pratiquants la médecine traditionnelle l'*Ephédra alata* est appelée dans la région d'El Oued Alanda. Mais selon Elhillali, (1988) les noms vernaculaires de la plante étudiée sont :

Nom arabe : *alenda, adam, djachia, eladher,*

Nom français : *Ephédra*

Nom Anglais : *Ephédra (Ma-huang)*

3.2 Description botanique d'*Ephédra alata*

Arbuste de 1 à 3 mètres de hauteur à rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre, portant au niveau de nœud de petites feuilles opposées alternant d'un nœud à l'autre (Ozenda, 1991; Danin, 1973). Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents) les mâles groupées en cônes ovales, les femelles groupées en cônes pédonculés. Ces Graines sont ovoïdes et ces fruits entourés de bractées largement membraneuses (Freitag et Maier-Stolter, 1989 ; Ghanem, 2008). Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant, sa floraison est du mois de Mars à Juin (Derbel et *al.*, 2010).

3.3 Taxonomie d'*Ephédra alata*

Selon Ozenda (1991), la position systématique de l'espèce végétale *Ephédra alata* alenda est :

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement: Gymnospermes

Classe : Gnetopsida

Ordre : Ephedrales

Famille : Ephedraceae

Genre : Ephedra

Espèce : *Ephedra alata*

3.4 Répartition géographique

De façon générale *Ephédra* est réparti dans les régions arides et semi arides, du nord Afrique, l'Asie, l'Europe et les Amériques elle poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Egypte et le Moyen-Orient (Hegazi et El-Lamey, 2011 ; Caveney et *al.*, 2001). Cette plante se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes et des côtés sèches des montagnes (Limberger et *al.*, 2013 ; Price, 1996). En Algérie, *Ephédra alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux (Ozenda, 1991).

3.5 Composition chimique d'*Ephédra alata*

Les constituants principaux de l'espèce *Ephédra alata* sont: Alcaloïdes, Acides phénoliques, Tanins, Flavonoïdes, Huiles essentielles et Saponines, (Hegazi et El-Lamey, 2011).

3.5.1 Alcaloïdes

Les parties aériennes des différentes espèces d'*Ephédra* contiennent de 0,02 % à 3,4 % d'Alcaloïdes concentrés dans les entre-nœuds (Leung et Foster, 1996). Environ 80% de ces Alcaloïdes sont représentés par l'Ephédrine qui est connu pour être la substance actif de ce genre (Phinney et *al.*, 2005), on trouve aussi la Pseudoéphédrine, la Norephedrine et la Méthyléphédrine (Yuki et *al.*, 2009). Il est à noter que Les Alcaloïdes peuvent être utilisés comme antipaludéens, antalgiques, antispasmodiques, bactéricides et stimulants, à fortes concentrations ces molécules entraînent très souvent une toxicité aiguë (Rujjanawate et *al.*, 2003).

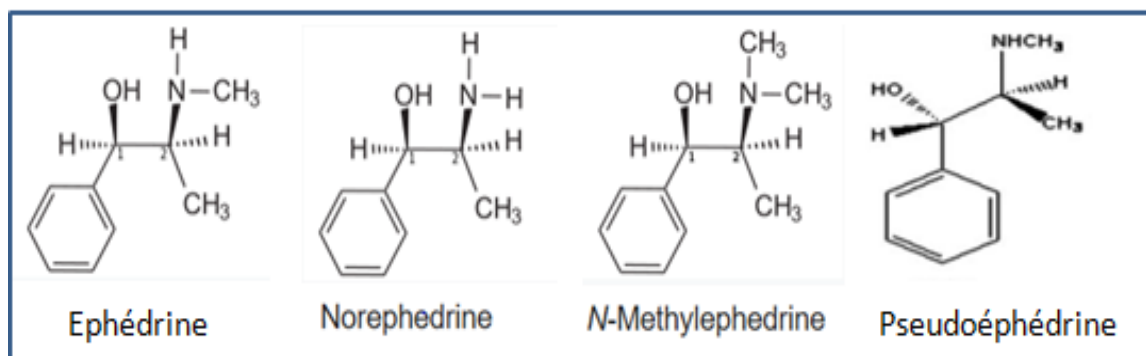


Figure 2 : Structure chimique de l'Ephédrine, Norephédrine, N-Méthylephédrine et Pseudoéphédrine (Guoyi et *al.*, 2007)

3.5.2 Acides phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux qui jouent un rôle important dans la résistance aux maladies et la protection contre les parasites, (Servili et Montedoro, 2002 ; Keerthi *et al.*, 2014), l'Ephédra contiens divers composés phénoliques, tels que acide Trans-cinnamique, Catéchine, Syringine, Epicatéchine, Eymplocoside, Kaempférol 3-O-Rhamnoside 7-O-Glucoside, Isovitexine 2-O-Rhamnoside, qui contribuent de manière significative à l'activité antioxydante de la plante (Amakura *et al.*, 2013).

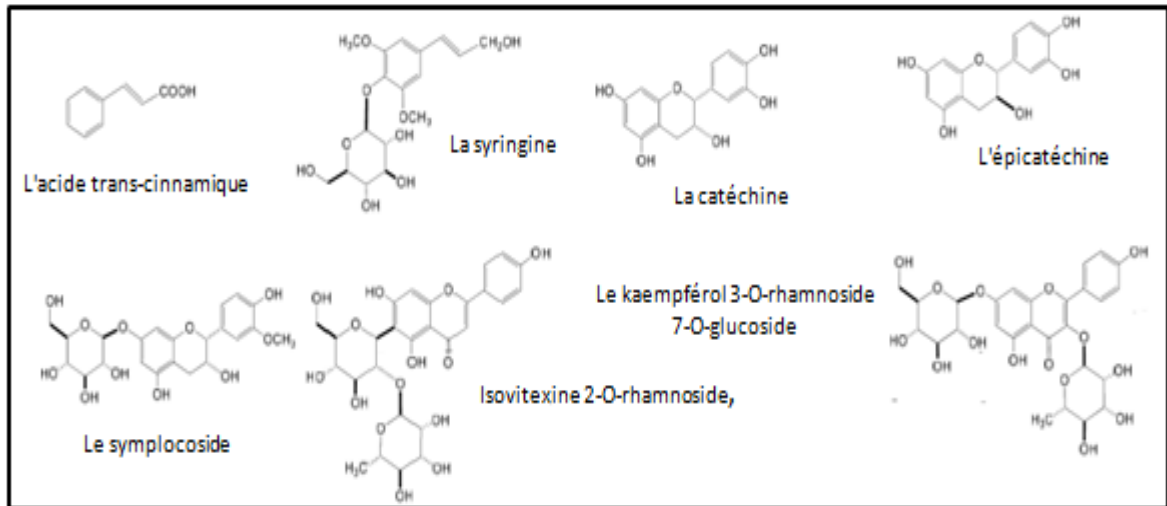


Figure 3 : Structure de quelques composés phénoliques de l'Ephédra (Amakura *et al.*, 2013)

3.5.3 Tanins

Les tanins, principalement les Proanthocyanidines sont produits en grande quantité dans les tiges de cette plante, lui conférant son gout astringent (Soni *et al.*, 2004), il est à noter que les tanins sont des composés phénoliques faisant précipiter les protéines et possédant des propriétés antioxydantes, ils ont également la capacité de stopper le développement des microbes (Bruneton, 1999).

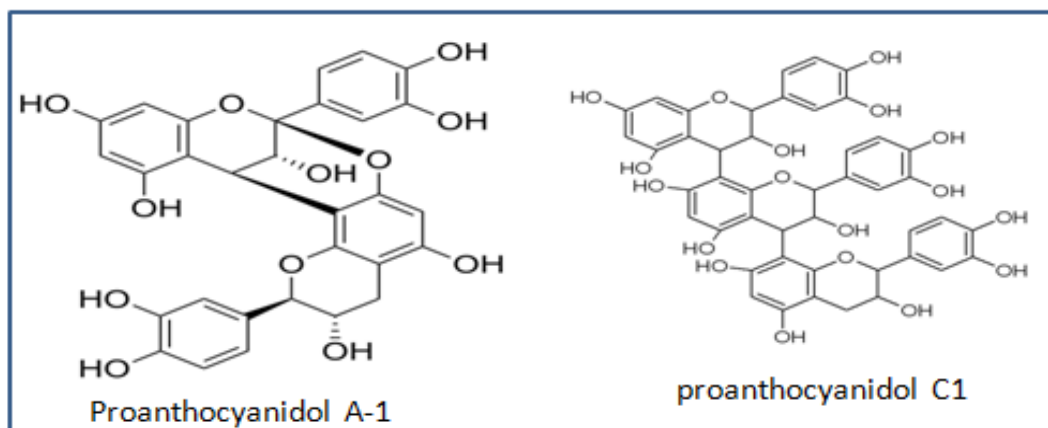


Figure 4 : Structure des Proanthocyanidines type A.1 et C1 (Bruneton, 2009).

3.5.4 Flavonoïdes

Ce sont des pigments responsables de la coloration chez les végétaux, ils protègent la plante des différents agents pathogènes, possédant une activité antioxydante et pouvant diminuer la perméabilité capillaire en renforçant leur résistance, ils sont connus par leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses (Hidayat et Fatmawati, 2016 ; Ueli et *al.*, 1991). Les flavonoïdes isolés chez *Ephédra alata* sont de type Flavone dont : Herbacétine, Ivicénine II, Lucénine, Apigénine, Kaempferol 3-Rhamnoside, Quercétine 3Rhamnoside et Herbacétine 7-O-Glucoside (Nawwar et *al.*, 1984).

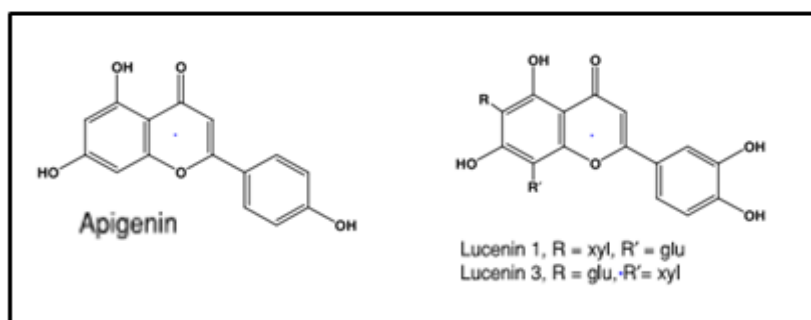


Figure 5 : Structure de quelques flavonoïdes contenus dans le genre *Ephedra* (Castledina et Harbone, 1976 ; Chumbalov et Chekmeneva, 1976)

3.5.5 Huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils produites par des organismes vivants et isolées uniquement par des moyens physiques (pressage et distillation) d'une plante entière ou d'une partie végétale, ils possèdent diverses propriétés biologiques, raison pour laquelle ils sont très utilisés en cosmétique, industrie alimentaire et sanitaire (Hüsni et Gerhard, 2010) . D'après Wang et *al.* (2006), les principaux constituants d'huile essentielle du genre *Ephedra* sont : α -Terpinéol, Terpinen-4-ol, Linalool, 2,3-Dihydro-2 Méthylbenzo-Furanne, Cis-P-Menth-2-ène-7-ol., P-Vinylanisole, 3-Méthyl-2-Butén-1-ol, Phytol, γ -Eudesmol et Tétraméthylpyrazine.

Lors de l'analyse des huiles essentielles à partir de tiges d'*Ephédra*, on obtient toutes sortes de composés différents. Une étude a révélé la présence de plus de 127 substances volatiles, parmi lesquelles on note : L-alpha-Terpineol, Limonène et Linalool. En général, plusieurs de ces huiles volatiles ont une influence sur le système nerveux central (Haze, 2002 ; Ji, 1997)

3.6 Usage thérapeutique d'*Ephédra alata*

Certaines espèces d'*Ephédra* ont longtemps été utilisées dans la médecine chinoise comme décongestionnant nasal, contre la toux et les faiblesses de la circulation (Abourashed, 2003 ; Sakamotos et *al.*, 1988). De nouvelles utilisations pour l'*Ephédra* ont récemment émergé, ils

sont due à l'éphédrine qui stimule le système nerveux sympathique, accélérant la fréquence cardiaque, dilate les bronchioles, et provoque en général une contraction des vaisseaux sanguins (vasoconstriction) (Dollery, 1991).

Beaucoup de produits contenant de l'éphédrine sont efficaces pour la perte du poids, (Josefson, 1995) et ceux-ci en augmentant la lipolyse et la glycolyse (Boozer et al., 2001), ils sont aussi efficaces pour améliorer la thermogenèse à froid et retarder l'apparition de l'hypothermie, (Vallerand, 1993).

Certain genre d'Ephédra ont significativement réduit les taux de glucose dans le sang chez des souris diabétiques normales et alloxanés (Konno et al., 1985), cependant, le même extrait n'a pas réussi à réduire les taux de glucose sanguin par rapport au témoin positif, (Shabana, 1990).

3.7 Toxicité d'Ephédra alata

A doses trop fortes, l'éphédrine provoque une hépato toxicité avec une nécrose massive visible lors de l'examen histologique (Zheng et Navarro, 2016), elle induit aussi la nervosité, l'insomnie, maux de tête, vertiges, palpitations, sueurs, nausées et vomissements, parfois des douleurs précordiales et quelquefois des dermatites (Dollery, 1994). Les aspects pharmacologiques et toxicologiques des effets sympathomimétiques de l'éphédrine sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Pharmacologie, thérapeutique et toxicité de l'éphédrine (Hoffman et Lefkowitz, 1996).

Effet pharmacologique	Usage thérapeutique	Effet secondaire	Toxicité
Augmentation de la fréquence cardiaque et la pression artérielle	Cas spécifiques de blocus cardiaque, hypotension posturale et hypotension avec anesthésie spinale associée	Hypertension Palpitation	Arythmies Infarctus du myocarde Accident cardiaque Arrêt cardiaque Mort
Constriction des vaisseaux sanguins périphériques	Anti histaminiques locaux	Sécheresse de la peau	
Bronchi dilatation	L'asthme bronchique		
Mydriase		Vertiges	
Stimulation du SNC	Narcolepsie; Dépression	Insomnie, anxiété	Psychose
Rétention d'urine	Incontinence urinaire	Retenue d'urine	

3.8 Posologie d'*Ephédra alata*

Les deux substances actives composants le genre Ephédra sont l'Ephédrine et la Pseudo-éphédrine, en juin 1997, la FDA (Food and Drug Administration) propose certaines recommandations concernant les compléments alimentaires contenant de l'éphédrine, La dose consommée ne doit pas être supérieure à 8 mg par prise, sans dépasser 24 mg par jour, le traitement ne doit pas excéder sept jours (Carey, 2000).

Chapitre II
Xénobiotique
&
Stress oxydatif

1 Xénobiotique

L'homme est toujours exposé à plusieurs composés étrangers tels que les médicaments, les polluants, additifs alimentaires, cosmétiques, pesticides; qui sont appelés xénobiotiques, (Du Grec, Xénos : étranger; Bios : nature), ce sont des substances artificielles, leurs Structure et propriétés biologiques diffèrent de celles d'origine naturelle (Satyanarana et Chakrapani, 2013), et Selon leur métabolisme dans le corps ou le mode de réaction on les divise en deux classes:

1.1 Toxicologique

Médicaments (principes actifs, excipients), cosmétologie, agro-alimentaire, environnement (production industrielle, pollution), biomatériaux et détergents.

1.2 Pharmacologique

Bioconversion ou élimination du principe actif vont en contrôler l'efficacité ; mécanisme de résistance (notamment en chimiothérapie ou antibiothérapie) (Grandfils, 2006). Donc Il est important de connaître leurs mode d'action au niveau cellulaire pour comprendre comment parer aux agressions chimiques et ainsi aider à préserver l'environnement. (Jorgen, 2004).

1.3 Métabolisme des xénobiotiques

Le terme «métabolisme» décrit les réactions qui permettent à un système pour enlever une substance étrangère, ou xénobiotique. (Stevens, 2014).

Le foie est le principal organe du métabolisme des xénobiotiques, et sa compréhension est fondamentale pour le traitement des différentes maladies. Chez les adultes humains il pèse environ 1300 à 1700 g, c'est l'organe le plus lourd de l'organisme, il s'agit d'une masse parenchymateuse continue comme une éponge pénétrée par des tunnels qui contiennent des vaisseaux afférents et efférents, avec son soutien structural majeur ces vaisseaux sanguins rend le tissu conjonctif du foie doux et spongieux. La vascularisation hépatique se caractérise par une capacité élevée, et une faible résistance. Ses fonctions sont nombreuses exocrine, endocrine et paracrine (Arias, 2009), il est responsable de la production des composants du sérum sanguin (Albumine), il produit la Bile, il sert de réservoir de nutriment (Glycogène) enfin il est responsable de l'élimination des produits de dégradation métabolique ainsi que de la détoxification des substances endogènes et exogènes (Bilirubine, Hormones Stéroïdes et médicaments) (Schweglar et Lucius, 2013).

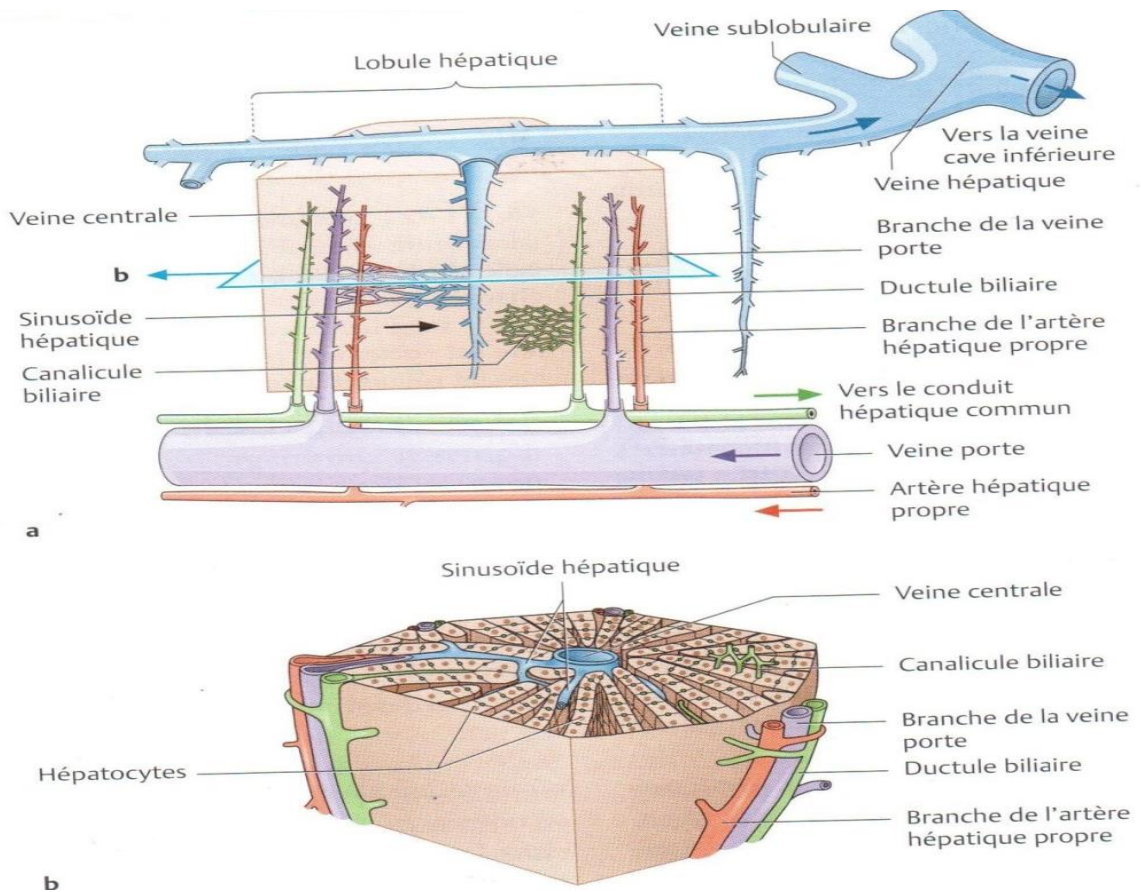


Figure 6: Lobule hépatique, a : Coupe longitudinale, b : Coupe transversale (Schweglar et Lucius, 2013).

Au moins 30 types d'enzymes différents catalysent les réactions intervenant dans le métabolisme de ces xénobiotiques qui se divisent en deux phases pouvant survenir ensemble ou séparément, aussi occasionnellement un xénobiotique peut être excrété sans modification (Murray et al 2013).

1.3.1 Phase I

Les réactions de la phase I impliquent la biotransformation d'un xénobiotique à un métabolite plus polaire en introduisant ou démasquant un groupe fonctionnel (Alcool, Amine, Thiol). L'oxydation est la réaction la plus courante, elle est catalysée par les oxydases telles le cytochrome P 450. Il existe d'autres réactions dans cette phase et qui sont: réduction; hydrolyse, désamination, désulfatations, désalogenation, l'époxydation, peroxygénation (Neal, 2012 ; Murray et al, 2013 ; Timbrell, 2009).

1.3.2 Phase II

Les métabolites de la phase I qui ne sont pas suffisamment polaires pour l'excrétion rapide par les reins sont transformés en composés plus hydrophiles par une conjugaison avec des

composés endogènes dans le foie, ce sont les réactions de conjugaison impliquant des composés tels que l'acide Glucuronique, les acides aminés (Glycine), le Glutathion, le Sulfate, l'Acétate et le groupe Méthyle. (Neal, 2012 ; Satyanarana et Chakrapani, 2013 ; Timbrell, 2009).

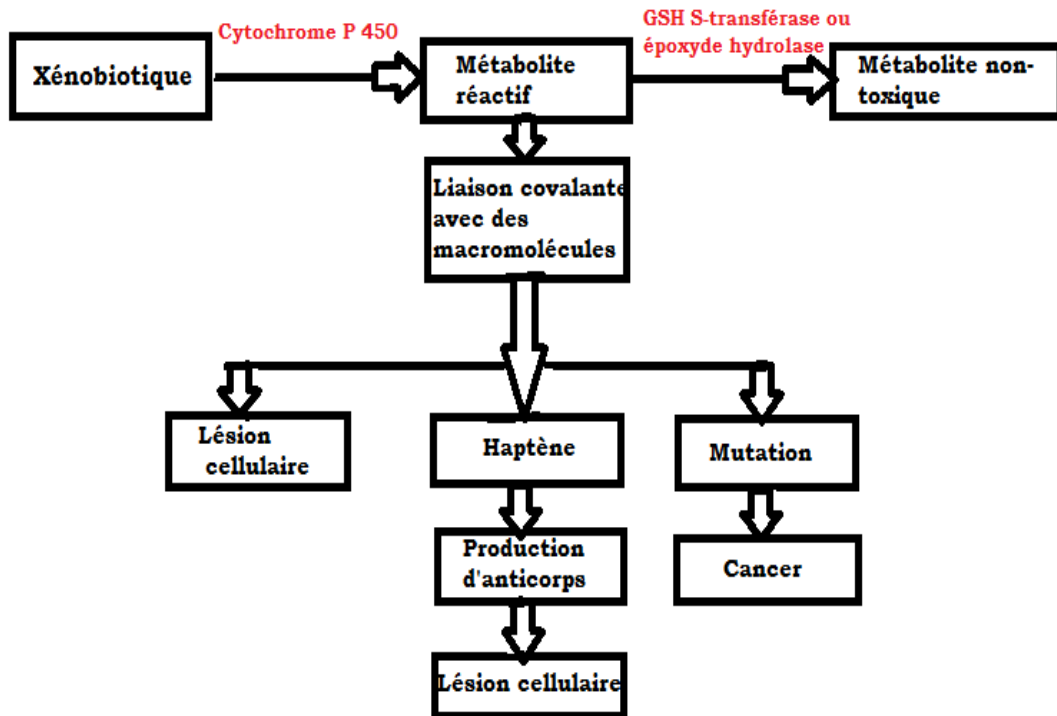


Figure 7: Schéma simplifié du métabolisme d'un xénobiotique (Murray et al 2013).

Les toxines sont généralement éliminées du corps soit par le rein, soit par le foie et le tube digestif. Donc le rein est nécessaire pour maintenir l'équilibre acido-base, tout en excréant les déchets et les toxines. Il est responsable de la préservation de l'environnement interne du corps en utilisant trois mécanismes généraux pour atteindre ces objectifs: filtration glomerular, reabsorption tubulaire et secretion tubulaire. Une compréhension des bases de ces processus est importante car ils peuvent affecter l'excrétion ou la rétention de diverses toxines (Timolin, 2015).

Les déchets endogènes liposolubles et les substances étrangères (médicaments, toxines) qui sont peut hydrosolubles, ne peuvent pas être éliminés par le rein mais le foie peut le faire par l'intermédiaire de la bile. Le déchet endogène dépendant de la bile le plus importante est la Bilirubine. D'autres substances liposolubles seront traitées de la même manière par le foie (Schweglar et Lucius, 2013).

Parmi les xénobiotiques, qui provoquent des perturbations dangereuses et qui sont d'origine agroalimentaire, il y a les pesticides.

1.4 Pesticides

Le terme «pesticide» englobe une grande variété de substances utilisées pour détruire les formes de vie indésirables (Moffat, 2011) , aussi défini comme une substance ou un mélange destiné à prévenir, repousser , détruire ou atténuer tout parasite (Nollet et Rathore, 2010). Aujourd'hui plus d'un millier de pesticides sont disponibles et largement utilisés dans le monde, pour la protection des cultures et la lutte antiparasitaire, ainsi que dans l'hygiène humaine et animale. L'utilisation agricole générale des pesticides porte avec des dangers potentiels pour l'homme directement par l'exposition aux résidus toxiques dans les aliments, et indirectement à travers son environnement. En plus les pesticides affectent la biosynthèse des composés phytochimiques des plantes (vitamines, Polyphénols, Glutathione) (Cooper et al, 2007 ; Waine et Dorough, 1977).

Sur la base de leur champ d'utilisation les pesticides sont classés en: insecticides, herbicides, rodenticides, fongicide, nématecides, molluscicides et acaricides mais les formulations commerciales peuvent être des mélanges de pesticides provenant de différentes classes (Ballantyne & Marrs, 2004).

1.5 Insecticides

Environ 75% des espèces animales dans le monde sont des insectes, certaines sont des prédateurs bénéfiques ou des pollinisateurs, mais beaucoup sont des ravageurs (Duffus et Worrth, 2006). Un insecticide est un poison ou une substance toxique qui tue les insectes (Nollet et Rathore, 2010), et qui peuvent être classés en huit groupes chimiques dont les cinq suivants sont les plus importants :

- Composés organophosphorés (OP)
- Carbamates (par exemple Aldicarb)
- Les hydrocarbures chlorés, qui comprennent le dichlorodiphényltrichloréthane (DDT et ses analogues).
- Uréas substituées (par exemple diflubenzuron)
- Les pyréthroïdes, à la fois naturels (le pyréthrine II), ou structure synthétique (la Deltaméthrine) (Moffat, 2011).

1.5.1 Insecticides pyréthroïdiens

Il existe plus de 70 variétés dans le monde, de plus ces pesticides sont largement utilisés dans les ménages comme Insecticides pour contrôler les moustiques, les cafards et les parasites chez les animaux de ferme. Historiquement, les recherches sur la synthèse des pyréthroïdes sont menées depuis 1940, lorsque la structure chimique des principes actifs contenus dans une

plante insecticide appelée le Pyrèthre a été étudié et déterminé (Stoytcheva, 2011). Les pyréthroïdes naturels ont été extraites des fleurs de chrysanthèmes qui contiennent les esters insecticides appelés pyréthrines et Pyréthrum est le nom donné à l'extrait d'oléorésine de fleurs de chrysanthèmes séchées (Duffus et Worth, 2006). Les insecticides synthétiques sont connus sous le nom de pyréthroïdes (chimiquement similaires au Pyréthrines) et sont plus stables, car ce sont des insecticides très puissants avec une faible toxicité pour les mammifères et pour cela ils ont gagné une forte part de marché et qui représentent 25% de La vente des pesticides dans le monde (Stoytcheva, 2011)

1.5.2 Mécanisme toxicologique des insecticides pyréthroïdiens

Malgré la toxicité élevée des pesticides pyréthroïdiens contre les insectes et les poissons, elle est faible ou modérée pour les humains ou les mammifères, ils conduiront à des symptômes neurotoxiques tels que (Convulsions, tremblements, ataxie, paralysie), et l'exposition à long terme aux pyréthroïdes peut causer des blessures, des ganglions lymphatiques et de la rate, et le risque de cancer et affectera la fonction du système immunitaire humain. Des personnes exposés à ces pesticides à long terme subiront une intoxication chronique caractérisée par des maux de tête, Vertiges, nausées, démangeaisons de la peau et autres symptômes (Stoytcheva, 2011), et basées sur les caractéristiques d'empoisonnement deux classes de pyréthroïdes sont distinguées, et qui sont représentées dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Les deux classes des pyréthroïdes (Duffus et al, 2006)

	Caractères chimique	Classe toxique	symptômes
Classe1	Pyrethin, Allethrine, Tétramethrine, Resmethrine, Phenothrin, Permethrine	T-syndrome Action sur le système nerveux central et périphérique	Hyperexcitation Tremblement
Classe2	a-cyano substitued : Cypermethrin, Deltamethrine, Fenvalerate, Fluvalinate	CS-syndrome Action sur le système nerveux centrale Mammalien	Paresthésie cutanée Salivation Crises chroniques Picotement cutané

La classe 1: affectent les canaux de sodium dans les membranes nerveuses avec un prolongement de l'afflux de sodium provoquant une décharge neuronale répétitive et un potentiel après-aval prolongé mais pas de dépolarisation sévère de la membrane.

La classe 2: renferme la Deltaméthrine conduit à une plus grande et persistante dépolarisation de la membrane et un afflux de sodium plus prolongé avec un éventuel blocage des nerfs.

Alors que le premier groupe exerce ses principaux effets sur la synaptique transmission provoquant une excitabilité et un tremblement, le deuxième groupe montre ses premiers effets sur le système nerveux sensoriel. D'autres actions comprennent l'inhibition de $\text{Na}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPase est l'altération de l'homéostasie des ions calcium et de chlorure (Duffus et al, 2006).

1.5.3 Deltaméthrine

La Deltaméthrine est un insecticide pyréthroïdien synthétique développé en 1974. Son nom chimique est le cyano (3-phénoxyphényl) méthyle 3- (2,2-Dibrométhéthyl) - 2,2diméthylcyclopropanecarboxylate de dibrométhylène (Masters et Masters, 1992).

les caractéristiques et les paramètres physico-chimiques de la Deltaméthrine sont présentés dans les tableaux 3 et 4

Tableau 3 : Formule chimique, poids et synonyme de la Deltaméthrine (Fiches signalétiques AGRITOX).

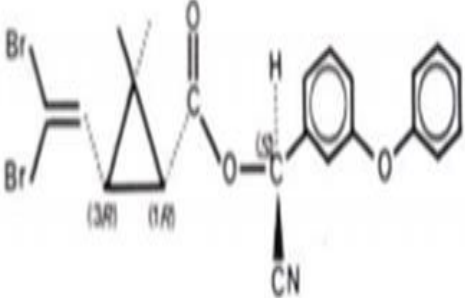
Formule brute	Formule plane	Poids moléculaire (g)	Synonymes
$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{NO}_3$		505.21	Deltaméthrine Deltaméthrin Decaméthrine

Tableau 4: Paramètres physico-chimiques de la Deltaméthrine (Fiches signalétiques AGROTEX).

Paramètre	Valeur
Vapeur Pression	12.4 nPa à 25°C
Constante de Henry	0.031 pa *m ³ /mole à 20° C
Solubilité dans l'eau	0.0002 mg/l à 25°C et au pH 7.5 – 7.9 < 0.005 mg/l à 20° C et au pH 6.2
Coefficient de partage	log P : 4.6 Octanol/eau a pH de 7.6 et 25°C
Solubilité dans un solvant organique à 20°C (g/l)	Acétate éthylique: 200-300. Acétone : 300-600. Acetonitrile : 60 – 75. Dichloroethane : > 600. DMSO : 200-300. Méthanol : 8.15. n-Heptane : 2.47. Xylène : 175
Vitesse d'hydrolyse	Demi-vie: 2.5 jours à 25° C et au pH=9 Stable à 25°C et au pH entre 5 et 7 Demi-vie: 31 jours à 23° C et au pH=8
Dissociation dans l'eau	Absence de dissociation

2 Stress oxydatif

Le concept du stress oxydatif (OS) dans la maladie signifie qu'un stimulus environnemental est capable de créer un radical libre par hasard, qui provient des mitochondries, qui est très dangereux pour tous les systèmes du corps, il est causé par l'augmentation des niveaux d'espèces d'oxygène réactif (ROS) et d'espèces d'azote réactif (RNS) (Armstrong et Stratton, 2016).

Les xénobiotiques sont une menace importante pour les cellules humaines car ils conduisent à la production des espèces hautement réactives d'oxygène telles que les anions super oxydes, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène. Ces ROS sont produites physiologiquement dans la cellule à travers la réduction de l'oxygène moléculaire en eau pendant le métabolisme aérobie qui interagit indifféremment avec des macromolécules essentielles telles que l'ADN, les protéines et les lipides et conduisant à la perturbation des processus physiologiques. Ainsi une production excessive ou une élimination insuffisante des ROS conduisent à une augmentation du stress oxydatif, ce phénomène est associé à la pathologie de plusieurs maladies comprenant l'athérosclérose, les maladies neuro-dégénératives telles que : maladie d'Alzheimer et de Parkinson, cancer, cataracte, diabète, maladies inflammatoire, troubles psychiatriques et processus de vieillissement (Favier et *al.*, 1994). Aussi une production excessive ou une élimination insuffisante des ROS conduisent à une augmentation du stress oxydatif (Armstrang, 2015). Autrement dit, le stress oxydatif est défini comme étant un déséquilibre entre la production des radicaux libres (RL) et la création des métabolites, appelés oxydants, et leur élimination par des mécanismes de protection nommé systèmes antioxydants (AOX) (Laher, 2014).

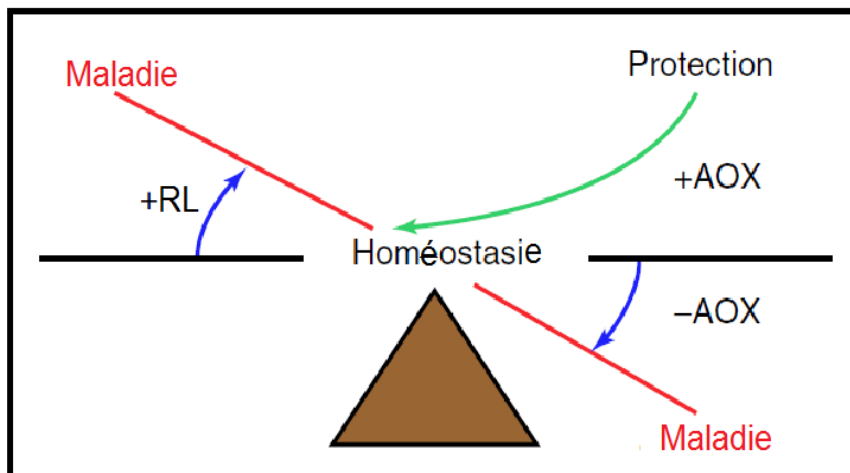


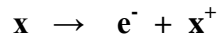
Figure 8: L'homéostasie est un équilibre entre les niveaux de radicaux libres (RL) et les antioxydants (AOX). (Armstrong et Stratton ,2016)

2.1 Radicaux libres

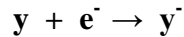
Chaque cellule de l'organisme vivant peut générer de l'oxygène réactif, et certains types de cellules sont même spécialisés pour le faire, soit continuellement, soit sous la forme d'un "éclatement oxydatif". Un radical libre est défini comme étant toute espèce qui a un ou plusieurs électrons impaires, qui est difficile à être détecter, identifier et quantifier, aussi leur

réactivité est responsable de leur toxicité (Favier, 1994 ; Packer et Glazer, 1990 ; Minisci, 1997).

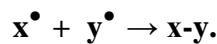
D'après Armstrang et *al.* (2011), il existe de nombreux radicaux libres dans la chimie et la biologie, le plus simple est l'hydrogène atomique avec un proton et un électron unique. Ils peuvent être formés par la perte d'un seul électron d'un non-radical:



Ou par le gain d'un seul électron par un non-radical:



Ils peuvent réagir avec d'autres molécules de plusieurs façons. Ainsi, si deux radicaux se rencontrent, ils peuvent combiner leurs électrons non accompagnés et se joindre pour former un lien covalent:



Les radicaux libres peuvent provenir d'un stimulus spécifique tel que le rayonnement ultraviolet, les multiples facteurs environnementaux, la mauvaise nutrition ou le mode de vie sédentaire. Ils peuvent attaquer les protéines, lipides, hydrates de carbone et acides nucléiques provoquant des dommages cellulaires et subcellulaires par le ROS ou RNS (Amstrong, 2016).

2.2 Malondialdéhyde (MDA)

C'est un produit de décomposition oxydatif des lipides insaturés méditées par les radicaux libres c'est un marqueur de stress oxydatif. La détermination de l'MDA formée à partir de la peroxydation lipidique a été utilisée pour examiner l'apparition d'oxydants et les dommages associés à de nombreuses maladies comme le cancer, la maladie d'Alzheimer, l'arthrite, l'inflammation, le diabète, l'athérosclérose et le sida ainsi que le vieillissement (Haj et *al.*, 2012). L'analyse de l'MDA est cependant extrêmement difficile car il est très réactif et facilement polymérisé en formant des produits d'addition avec des substances biologiques telles que les protéines, phospholipides et l'ADN (Shibamoto, 2002).

2.3 Antioxydants

Les antioxydants sont des composés qui à faible concentration empêche les dommages oxydatifs des molécules par les oxydants (radicaux libres et métabolites réactifs), tandis que les produits de la réaction entre oxydant et antioxydant ne devrait pas être toxique (Gutteridge et Halliwell, 2010 ; Durackova, 2014).

Deux classes d'antioxydants sont utilisées pour la suppression des radicaux libres produits au niveau des cellules et dans les tissus, soit directement par les piègeurs de ces radicaux libres (par exemple les vitamines E et C et les flavonoïdes) soit par des composées capables

d'oxyder un radical libre par le mécanisme de transfert d'un électron (l'enzyme antioxydant (SOD) et l'Ubiquinone) (Afanasev, 2009).

Selon leurs taille on distingue : les antioxydants de poids moléculaire élevé comprennent : l'enzyme superoxyde dismutase, la catalase, le glutathion peroxydase et protéiniques non enzymatiques tel que l'albumine, la transferrine, et de faible poids moléculaire qui comprennent des composés hydrophiles et lipophiles produits en organisme, par exemple, l'acide urique, l'acide lipoïque, le Glutathion ou l'Ubiquinol. L'organisme obtient aussi des antioxydants exogènes à partir des aliments, par exemple, la vitamine C et la vitamine E et aussi des composés de structure polyphénolique synthétisés dans les plantes, y compris Flavonoïdes (Laher, 2014).

Beaucoup de recherches et de développement des composés exerçant des effets antioxydants ont été menée dans l'espoir de contrôler le stress oxydatif dans un certain nombre de maladies humaines. Un autre aspect fascinant dans les stratégies de défense antioxydante est lié à un certain nombre de vitamines et micronutriments antioxydants (Favier, 1994).

Donc la cellule peut conserver des mécanismes antioxydants (glutathion, vitamine E et C, l'enzyme catalase et l'élément trace le sélénium) contre les effets des oxydants (Tirosh, 2015).

2.4 Glutathion

Le glutathion réduit (GSH) est un tri peptide (Glu-Cys-Gly) contient un groupe thiol nucléophile qui réagit facilement avec des xénobiotiques alcalines (Stevens, 2014). C'est un agent de conjugaison actif qui fonctionne en neutralisant les ROS et d'autres xénobiotiques à travers l'enzyme glutathion S-transferase (GST). Ainsi, le niveau d'expression de la GST est le facteur le plus important pour la détermination de la sensibilité des cellules aux produits chimiques toxiques ou aux composés xénobiotiques. Par conséquent, la détection des taux de GST est fondamentale dans le diagnostic clinique des maladies liées à la ROS (Armstrang, 2015).

Deuxième partie

Etudes expérimentales

Chapitre I

Matériels & Méthodes

1 Matériels utilisé

1.1 Fiche questionnaire

Une enquête ethnopharmacologique a été effectuée auprès de 71 herboristes et personnes pratiquants la médecine traditionnelle dans la région d'El Oued, La fiche questionnaire utilisée est définie par Soltener (1989), elle comporte deux parties : la première concerne l'informateur et la deuxième concerne la plante et son utilisation dans le traitement médical (Annexe 1).

1.2 Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail expérimental est une espèce médicinale appartenant à la famille des Ephedraceae, qui est l'*Ephédra alata* Alenda et comme sa partie aérienne est la plus utilisée par les herboristes, se fut elle qu'on a choisie pour cette étude expérimentale. La plante étudiée a été récoltée en Décembre 2016 (Figure 9)



Figures 9: Photo originale de l'espèce végétale *Ephédra alata* a partir du site de prélèvement.

1.2.1 Site de prélèvement

Les échantillons de la plante ont été prélevés à partir d'un site de la région d'Oued Alenda situé à 33°14'08" Nord et 6°45'33" Est. Le site fait partie de la wilaya d'El Oued localisée au Sud Est Algérien (Figure : 10).

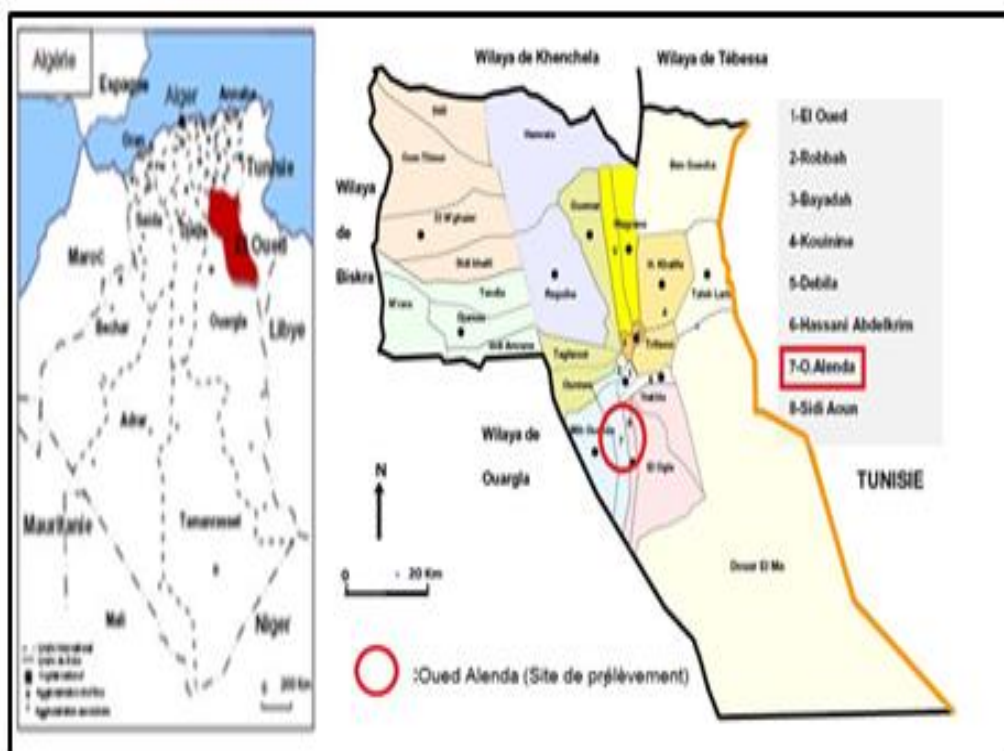


Figure 10 : Localisation géographique de la zone d'étude (Oued Alenda, wilaya d'El Oued). (P.D.A.U.wilaya d'El Oued 1997).

1.2.2 Séchage

Les plantes prélevées tôt le matin et au moment du débourrement sont placées dans des sacs en tissu puis transportées immédiatement, en vue du séchage et d'analyses. Les tiges sont soumises à un rinçage à l'eau du robinet pour éliminer les impuretés puis étendues en couches minces, à l'abri de la lumière et à bonne aération. Une fois sèches les tiges sont soumises à un broyage puis placées dans des sacs en papier opaque jusqu'au début de l'expérimentation.

1.3 Matériel animal

Afin d'éviter la variabilité entre les deux sexes, nous n'avons utilisé que des rats mâles de souche WISTAR ALBINOS ($257.58 \text{ g} \pm 21.73$) fournies par les laboratoires de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont divisés en cinq lots et hébergés au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'université Elchahid Hamma Lakhdar, dans des cages en plastique (six rats par cage : $n = 6$) munies d'une porte étiquette où le nom du lot est mentionné selon le traitement. Les rats sont soumis à une période d'adaptation (15 jours) où ils ont un accès libre à l'eau et à

l'aliment sous des conditions de lumière et de température contrôlées (12 heures d'éclairage / Température de 25±2 °C).

1.4 Pesticides (Decis expert)

Decis expert est un insecticide composé d'une seule matière active qui est la Deltaméthrine appartenant à la famille des pyréthriinoïdes, c'est une molécule très utilisée en agriculture pour son large spectre d'activité sur les insectes nuisible. Le produit provient des laboratoires Bayer ; avec une concentration de l'ordre de 0.1mg/ml et qui a été homologué en 2009.

2 Méthodes suivies

2.1 Enquête ethnopharmacologique

La fiche questionnaire préparer au préalable est rempli directement au cours d'un entretien avec les herboristes et personnes pratiquants la médecine traditionnelle dans la région de El Oued.

2.2 Préparation des extraits aqueux

2.2.1 Macération

10 g de la plante sèche *Ephédra alata* est broyés et mélangés avec 100 ml d'eau distillée puis macérés à température ambiante et dans l'obscurité. Après 48h la préparation est filtrée avec du papier Wattman, ensuite évaporés à 60°C, à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R- 200 (Matkowski et Piotrowcka, 2006).

2.2.2 Décoction

Pour cette extraction nous avons utilisé la méthode de décoction donnée par les herboristes, et pour cela 5g de la plante sèche est broyés et mélangés avec 100 ml d'eau distillée, une fois l'eau bouillie la température est abaissée jusqu'à diminution du liquide de moitié (50ml). La préparation est filtrée avec du papier Wattman, ensuite évaporée à 60°C, à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R-200.

2.2.3 Calcule du rendement des extraits

Les rendements des extraits bruts aqueux, macérât et décocté isolés ont été quantifié selon la formule :

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

R : Rendement.

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV: Poids de Matière Végétale(g).

2.3 Analyses phytochimiques préliminaires

Les tests photochimiques ont été réalisés sur les deux extraits préparés de la plante décocté et macérât.

2.3.1 Alcaloïdes

Quelques gouttes du chlorure d'hydrogène (HCl) concentré sont ajoutées à 1ml de la solution d'extrait aqueux, l'apparition d'un précipité brun-rouge, après l'ajout de deux gouttes du réactif de Dragendorff, indique la présence des Alcaloïdes (Prashant et *al.*, 2011).

2.3.2 Tannins

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

2.3.4 Flavonoïdes

Dans un tube à essai, mettre 5ml d'extrait à tester (macérât ou décocté) plus 5ml d'ammoniaque (NH_3) dilué et 1ml d'acide sulfurique (H_2SO_4). L'apparition d'une couche supérieure avec une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes. (Prashant et *al.*, 2011)

2.3.5 Saponines

Test de mousse, Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, le tube est agité vigoureusement pendant 5 minutes puis laissé au repos 15 minutes. La formation d'une mousse persistante et supérieure à 1 cm indiquait la présence des Saponines (Koffi et *al.*, 2009).

2.3.6 Sucres réducteurs

Dans un tube à essai, 1ml de liqueur de Fehling est ajouté à 1ml de l'extrait à analyser la préparation est incubée dans un bain marie de type MEMMERT, bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs (Bekro et *al.*, 2007)

2.3.7 Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2ml de chloroforme (CHCl₃) et 3ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. La formation d'une couleur brune rougeâtre indique la présence des Terpénoïdes (Dharmendra et *al.*, 2012).

2.3.8 Stéroïdes

Dans 1 ml d'extrait végétal ajouter 0.5 ml de solution d'acide acétique (C₃H₆O₃), suivi par 0.5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte cela prouve la présence des stéroïdes non saturés. Dans un deuxième tube, le même volume de H₂SO₄ est ajouté à 1 ml d'extrait végétal. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des dérivés stéroïdes (Dharmendra et *al.*, 2012)

2.4 Dosage des composés phénoliques totaux des extraits

Les composés phénoliques totaux ont été estimés par méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999).

Pour cela 100 µl des extraits brut aqueux sont mélangés à 200 µl du réactif de Folin et 3,16 ml d'H₂O. Le mélange est incubé à température ambiante pendant 3 minutes. Ensuite 600 µl de la solution carbonate de sodium anhydre (Na₂CO₃) 20 % sont ajoutés au mélange. Après 2 heures d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance des préparations est déterminée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS de type .OPTIZEN POP 1A.

La quantification est faite selon une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 200 µg/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec.

2.5 Effet antioxydant *In vitro* des extraits d'*Ephédra alata* par le DPPH

Le 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (Figure11). (Parejo et *al.*, 2002).

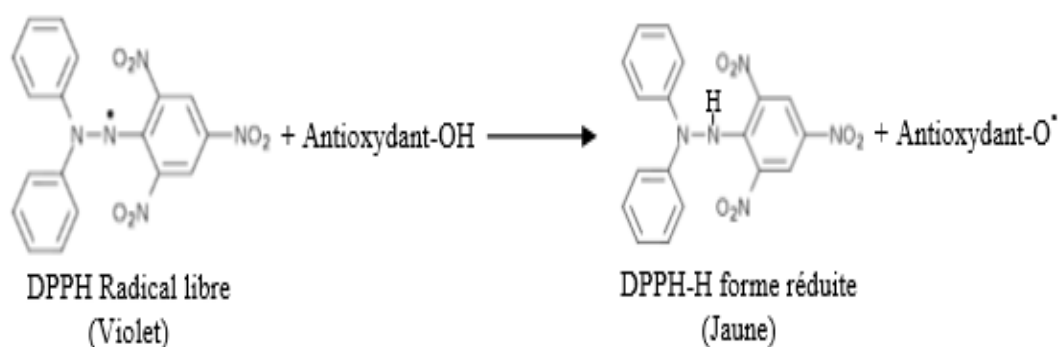


Figure 11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (Akrouit *et al.*, 2009).

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou *et al.*, (2007).

50 µl des différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,950 ml des solutions aqueux du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl d'eau distillée avec 1.950 ml du DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS de type OPTIZEN POP 1A.

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

$$I \% = ((Ac-At)/Ac)*100$$

Ac : absorbance du control

At : absorbance du test effectué.

Une solution antioxydante d'acide ascorbique est également préparée dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant des extraits aqueux, nous avons introduit le paramètre IC₅₀ (concentration inhibitrice 50).

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

2.6 Etude de l'effet antioxydant *In vivo* des extraits d'*Ephédra alata*.

2.6.1 Préparation de la solution du pesticide

La concentration de 3.5 µl/kg/j de Deltaméthrine est préparée, à partir d'une solution mère dans de l'eau distille.

2.6.2 Préparation des solutions des extraits végétaux

Les concentrations des extraits de l'espèce végétale *Ephédra alata* (macérât et décocté) sont préparés extemporanément, les extraits sont dilués dans l'eau physiologique stérile (NaCl 0,9%) en fonction de la concentration désirée. La concentration de l'extrait est calculée en fonction du poids vif de l'animal selon la dose recommandée par les herboristes (30mg/kg/J).

2.6.3 Préparation de la poudre de la plante

On mélange la dose de la poudre d'*Ephédra alata* avec la nourriture .la quantité de 0.1875 g/kg/J est calculée à partir du rendement de l'extrait décoction.

2.6.4 Détermination de la DL₅₀ des extraits d'*Ephédra alata*

Nous avons choisi la méthode de Litchfield et Wilcoxon (1949), Pour la détermination de la dose létale 50 (DL₅₀), qui est la quantité de produit qu'il faut administrer pour que 50 % de la population d'organismes étudiée (rats) meurent. La DL₅₀ des extraits bruts aqueux d'*Ephedra alata* alenda n'est pas connue dans la littérature consultée ainsi la recherche d'une éventuelle toxicité de la plante est nécessaire. Pour ce faire, et pour chaque extrait (macérât et décocté) des solutions à différentes concentrations (250, 1000, 2000 mg/kg/j), sont préparées dans une solution d'eau physiologique stérile (NaCl 0.9%) puis administrées à raison d'un volume de 1 ml par gavage à l'aide d'une sonde à six lots de trois rats (n=3). Un septième lot servant de témoin est gavé par une solution physiologique sans extrait.

2.6.5 Détermination de la DL₅₀ de la Deltaméthrine

Pour la Deltaméthrine, nous n'avons pas calculé la DL₅₀, nous nous sommes référés aux travaux de Djahra (2014), qui attestent que la DL₅₀ de la Deltaméthrine est de 7µg/kg/j et la dose administrée au rats est de 3.5 µl/kg/j.

2.6.6 Protocole expérimentale

Le principe consiste à provoquer chez les rats, une intoxication et à évaluer l'effet antitoxique, de la poudre et des extraits bruts aqueux d'*Ephédra alata*. Après avoir

divisé les rats en cinq lots de six individus (n=6), ils ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, puis ils ont été traités pendant 44 jours. Les 30 premiers jours, les rats ont reçu uniquement le pesticide, les 14 jours suivants ils reçoivent le pesticides et les doses de la plante (macérât, décocté et poudre). La dose du pesticide est diluée dans de l'eau distillée, puis mis dans des biberons et à portée des animaux, la poudre est mélangée avec la nourriture, et finalement, les extrait macérât et décocté sont gavé à l'aide d'une sonde. Le protocole expérimental est résumé dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résumé du protocole expérimental suivi et concentrations utilisées.

	Insecticide (Decis expert) ($\mu\text{l/kg/j}$)	Extrait aqueux macérât (mg/kg/j)	Extrait aqueux décocté (mg/kg/j)	Poudre d' <i>Ephédra</i> <i>alata</i> (g/kg/j)	Sérum physiologique (ml)
Lot N°1 (T)	-	-	-	-	1
Lot N°2 (TP)	3.5	-	-	-	1
Lot N°3 (M)	3.5	30	-	-	-
Lot N°4 (D)	3.5	-	30	-	-
Lot N°5 (P)	3.5	-	-	0.1875	-

2.6.7 Sacrifice et prélèvement du sang et des organes

Les rats sont sacrifiés après 44 jours, 24 heures après la dernière administration de la plante (extraits et poudre). Les animaux sont sacrifiés par décapitation. Le sang est recueilli dans des tubes secs qui seront centrifugés à 3000 tr/min pendant 5 min. Le sérum est récupéré puis conservé au froid (4 °C) en vue des analyses biochimiques.

Après dissection de l'abdomen, le foie et les reins sont extraits et bien lavés par une solution physiologique NaCl 0.09 %, pesés et ensuite divisés en deux parties, la première est fixée dans une solution de formol à 10 % pour la réalisation des coupes histologiques et la deuxième est conservée au froid pour le dosage des paramètres du stress oxydatif.

2.6.8 Dosage des paramètres biochimiques et enzymes sériques

Les paramètres analysés sont : Glutamate Oxalo acétate-Transaminase (TGO), (TGP), Transaminase glutamique pyruvique. Phosphatase Alcaline (PAL), Gamma Glutamyl Transférase (γ GT), Bilirubine directe, Bilirubine totale, Urée, Créatinine, Acides urique, Cholestérol, Triglycéride, Glucose, Protides, Albumine, Fer Sérique et calcémie, Les dosages sont réalisés grâce à un analyseur clinique automatisé de type

BIOLIS 24I. Les mesures sont effectuées à une longueur d'onde caractéristique pour chaque dosage. Le dosage des paramètres analysés est accompli par des différents kits. Les détails des méthodes analytiques utilisées pour ces analyses sont présentés dans l'annexe.

2.6.9 Dosage des paramètres du stress oxydatif

2.6.9.1 Préparation de l'homogénats des organes

1g de tissu (foie ou reins) de chaque rat des différents lots étudiés, a été broyée avec 9 ml de solution tampon tris appelée aussi Tris-buffered saline (TBS), composée de, Tris 50 m M, NaCl 150 m M avec un pH 7.4, puis centrifugée à 3000 tours/min pendant 15 minutes, le surnageant obtenu est conservés à -20°C en vue d'effectuer le dosage des paramètres du stress oxydatif.

2.6.9.2 Dosage des protéines tissulaires

Le dosage des protéines est effectué par la méthode de Bradford (1976) qui permet de déterminer des concentrations tissulaires de protéines. C'est une méthode colorimétrique utilisant le bleu de Coomassie comme réactif, ce dernier s'associe au groupement amine (NH₂) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu, l'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide, tandis que son intensité correspond à la concentration des protéines. On verse une quantité de 0,1 ml de l'homogénat à doser dans une fiole et on complète à 5 ml avec le réactif de Bradford. Après agitation et une période de repos de 5 mn, la lecture est faite à une longueur d'onde de 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type OPTIZEN POP 1A. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine réalisée dans les mêmes conditions.

2.6.9.3 Dosage des Malondialdéhyde (MDA) tissulaires

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532 nm (Yagi, 1976).

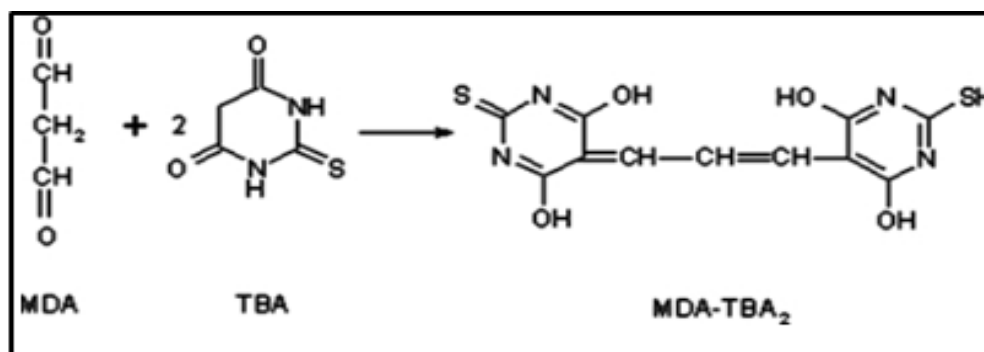


Figure 12 : Figure représentant le mécanisme réactionnel de l'MDA (Ligor et *al.*, 2011).

Pour le réactif, 20g d'acide trichloroacétique (TCA); 375 mg d'acide thiobarbiturique (TBA); 0,01g de Butylhydroxytoluène (BHT); 25 ml de Chlorure d'hydrogène (HCl) 1N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie de type Nuve NB9, jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml et complété le volume par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

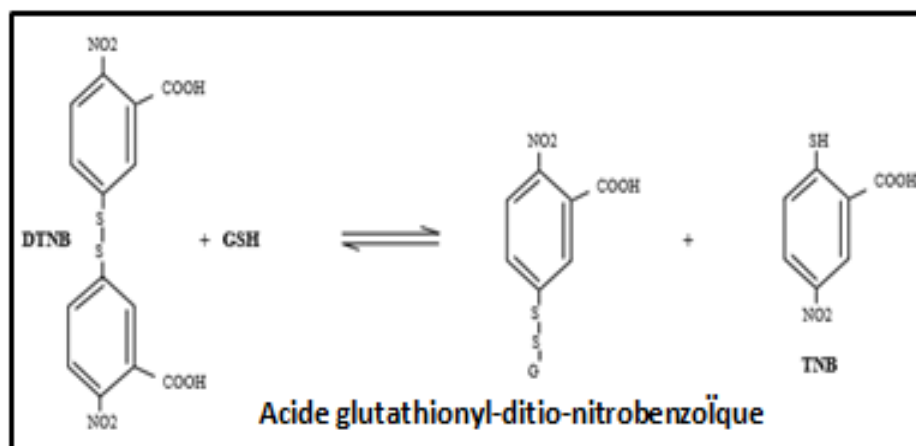
Le dosage du MDA se fait par prélèvement de 100ul d'échantillon (homogénat) et 400ul de réactif TBA dans des tubes à essai en verre qui seront fermé hermétiquement et chauffer au bain Marie à 100° C pendant 15 minutes, puis refroidis dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Après centrifuger à 3000 tr/mn pendant 5 minute, l'absorbance du surnageant est déterminée à une longueur d'onde de 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre OPTIZE-POP-1A.

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

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon}/1.53 \times 10^5)/\text{mg de prot.}$$

2.6.9.4 Dosage des glutathion réduit (GSH)

Le dosage de l'activité du GSH est déterminé par la méthode colorimétrique de Wechberker et Cory (1988). Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2 nitrobenzoïque (DTNB) qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) ce dernier présente une absorbance à 412nm.



Figures 13 : Figure représentant le mécanisme réactionnelle du GSH (Baker, 1990).

A l'aide d'un agitateur de type IKA VORTEX GENIVS 3, on mélange 0.8 ml d'homogénat et 0.2 ml d'acide salicylique (0.25%), le mélange est plongé dans un bain de glace pendant 15 min, puis centrifugé à 1000 tours/min pendant 5 min. 0.5ml de surnageant est prélevé et ajouter à 1ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. Après 5 min à température ambiante l'absorbance est déterminée à une longueur d'onde de 412 nm l'aide d'un spectrophotomètre contre le blanc (eau distillé).

La concentration du GSH est estimée selon la formule suivante :

$$\text{GSH} = \left(\frac{DO}{13.1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} \right) / \text{mg de protéines}$$

GSH : Micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (nM / mg de protéines).

Do : La lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

13,1 : Coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

Vd : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : Volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : Volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : Volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml

2.6.9.5 Dosage du glutathion S-transférase (GST)

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig et al., (1974). Elle est basée sur la cinétique de formation d'un

complexe entre un substrat de GST: le 1-chloro-2-4-dinitrobenzène (CDNB), et le glutathion (GSH). Le complexe formé peut être visualisé à une longueur d'onde de 340 nm par spectrophotométrie UV/ visible.

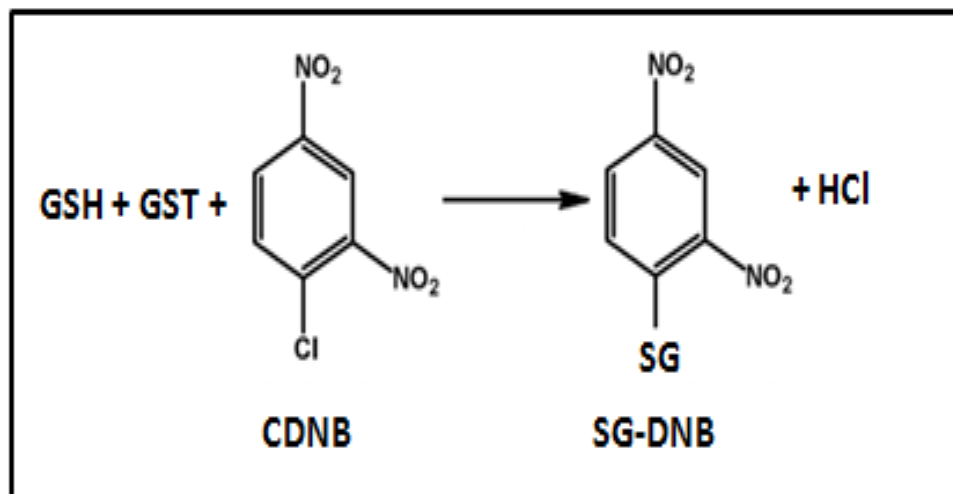


Figure 14: Figures représentant le mécanisme réactionnel du GST (Parker et Wilice, 1994).

Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 6), puis centrifugé à 14000 trs/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GST (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65 mg GSH, 1 ml d'éthanol, 100 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 min à une longueur d'onde de 340 nm (Spectrophotomètre GENENSYS 8) contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{GST}_s = \frac{\Delta DO/mn}{9.6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

GSTs: glutathion S-transférase en micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB.

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

2.7 Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du centre d'analyse pathologique Ben Bordi, service l'anapath, El Oued, la technique utilisée est celle décrite par Houlot (1984).

2.7.1 Préparation des blocs

Les fragments de foie préalablement fixés dans le formol à 10 % sont disposés dans des cassettes qui sont ensuite placées dans un automate (Leica TP1020). Les fragments d'organes sont d'abord déshydratés par submersion dans des bains d'éthanol à des concentrations croissantes (60 %, 70%, 80%, et 100%). les échantillons subissent deux bains de xylène et deux autres de paraffine fondue. Le xylène occupe la place de l'eau et par conséquent facilite la pénétration de la paraffine puisque cette dernière est hydrophobe. La durée des bains est de 24 heures. A l'aide d'un appareil d'inclusion, les échantillons du foie sont placés dans des moules métalliques et recouverts de paraffine fondue. Après refroidissement, les blocs sont prêts à la coupe.

2.7.2 Réalisation des coupes et coloration

Les blocs sont placés dans le microtome afin de réaliser des coupes de 3µm d'épaisseur. A l'aide d'une pince très fine, les coupes sont placées sur des lames qui sont ensuite déparaffinées par chauffage à l'étuve pendant une heure. Pour mettre en évidence les hépatocytes, les coupes sont d'abord réhydratées par submersion successive dans les bains suivants : bain de xylène (5 min), bains d'éthanol (5 min). Après rinçage dans de l'eau distillée (5 min), les coupes réhydratées sont placées dans un bain d'hématoxyline (5 à 6 min) pour colorer les noyaux. L'excès de colorant est enlevé par un bain d'eau additionné de quelques gouttes d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH), ensuite elles sont mises dans un bain d'éosine (5 min) pour colorer le cytoplasme et l'excès de colorant est enlevé par l'éthanol. Les lames ainsi colorées sont couvertes de lamelles et prêtent à l'observation microscopique.

2.8 Méthode d'analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne ± écart-type. L'analyse des données a été effectuée par application du test T de Student, qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes, en utilisant le logiciel MINITAB (Version 17) et EXCEL (Version 2013) qui nous ont aidé pour faire les tests et les courbes.

Chapitre II

Résultats & Discussion

Résultats

1 RESULTATS

1.1 Enquête ethnopharmacologique

Age

Les résultats de l'enquête ethnopharmacologique montrent que l'âge des personnes questionnées est compris entre 19 et 78 ans, ils ont été repartie en 6 classes et sont représentées dans la figure 15.

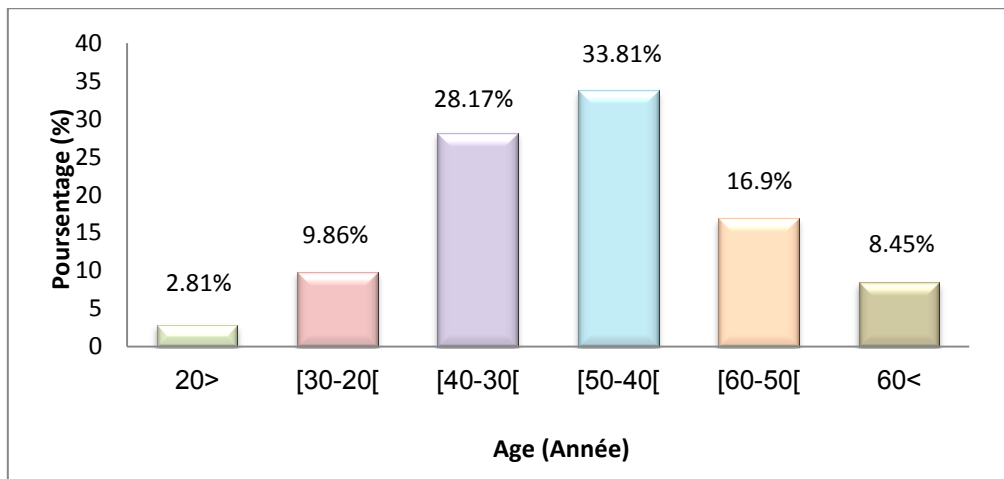


Figure 15. Répartition des enquêtés selon l'âge.

Comme le montre l'histogramme ci-dessous la catégorie d'âge la plus importante est entre 40 et 50 ans qui représente 33.81% des personnes interrogées, après la classe entre 30 et 40 ans représentée par 28.17%, puis les classes,]50-60],]20-30], >60 ans et enfin < 20 ans ,représentées respectivement par les pourcentage suivants, 16.9, 8.45, 9.86 et 2.81%.

Sexe

Les résultats du sexe de l'enquête sont représentés dans la figure 16.

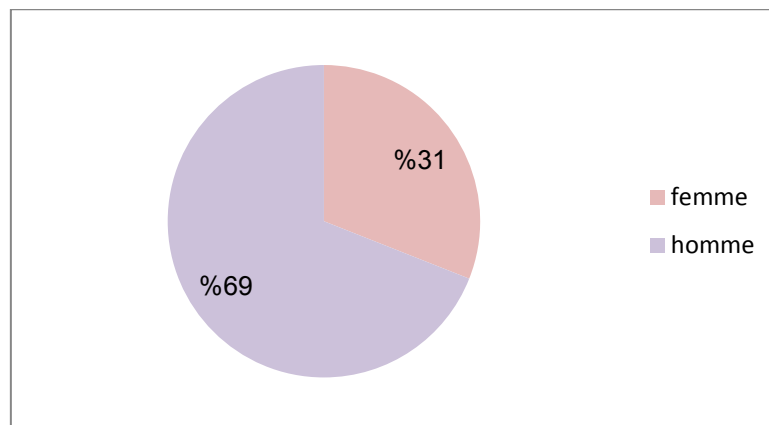


Figure 16 : Répartition des enquêtés selon le sexe

Les résultats montrent que le pourcentage des hommes (69%) est plus élevé par rapport au pourcentage des femmes (31%) questionnées.

Niveau scolaire

Les résultats du niveau scolaire sont représentés dans la figure 17.

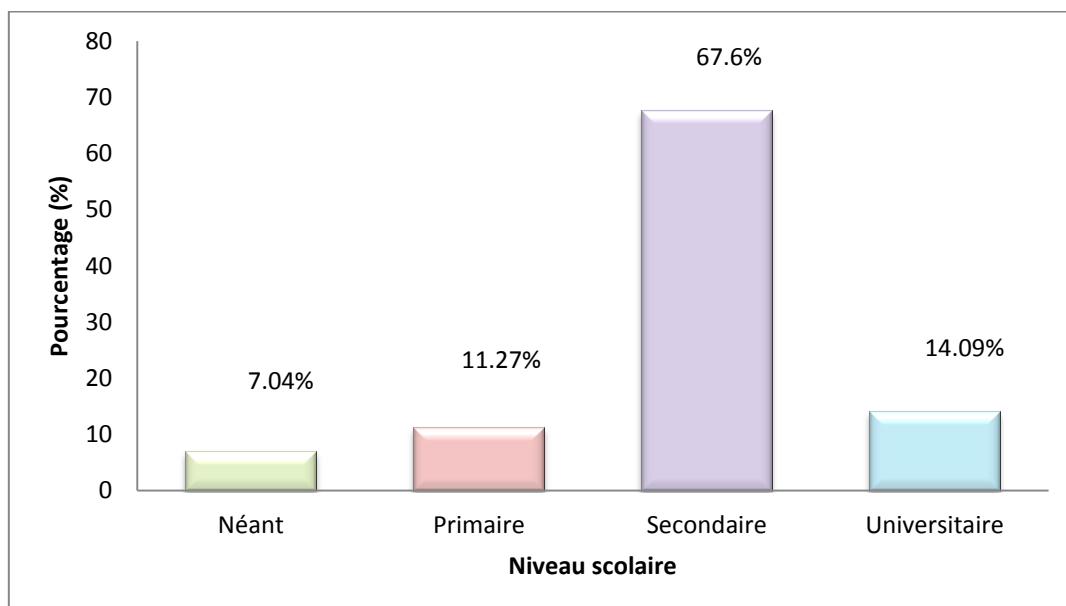


Figure 17. Répartition des enquêtés selon le niveau scolaire.

Le niveau scolaire de 67.6 % des enquêtés est secondaire, contre 14.09% universitaire, tandis que 11.27% et 7.04 % est primaire et néant respectivement.

Questionnaire valable

Les résultats de la validité des questionnaires sont représentés dans la Figure 20.

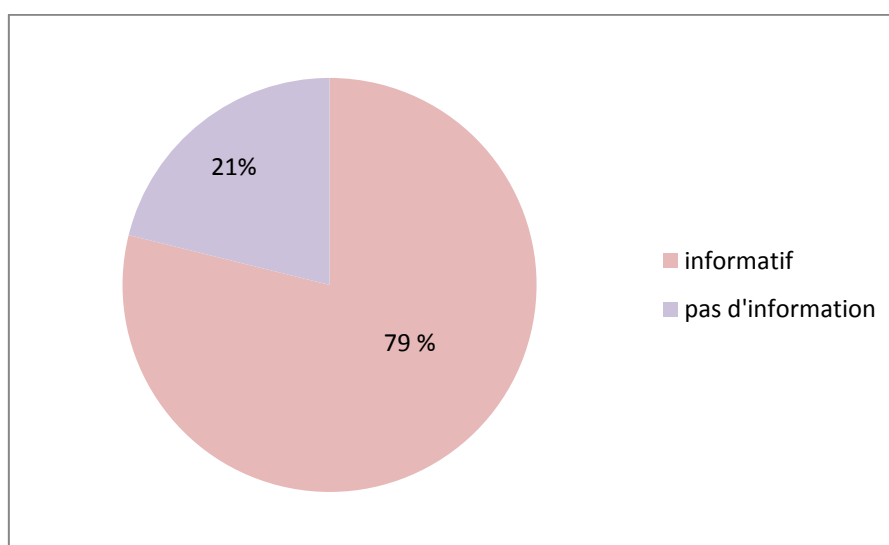


Figure 18 : Répartition en pourcentage de l'échantillon enquêté selon la connaissance de l'utilisation de la plante.

Selon le résultat de l'enquête 21% des personnes questionnées ont affirmé que la plante n'avait aucun intérêt médical et qu'elle est utilisée pour le chauffage, par contre, 79% ont déclaré qu'ils utilisent la plante pour soigner quelques maladies.

Association possible

Concernant les associations possibles de la plante, les résultats obtenus sont représentés dans la figure 19.

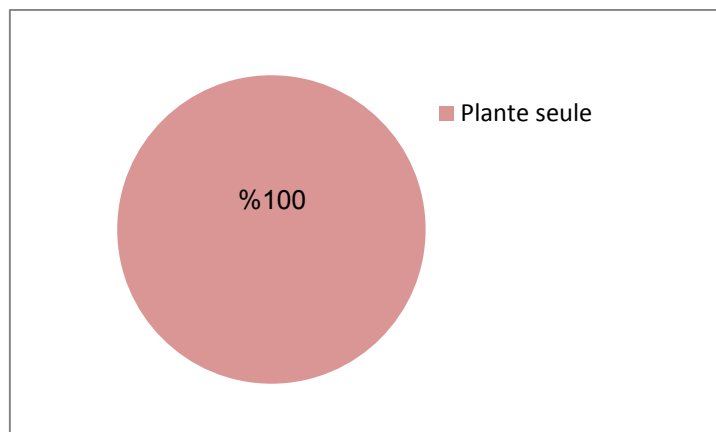
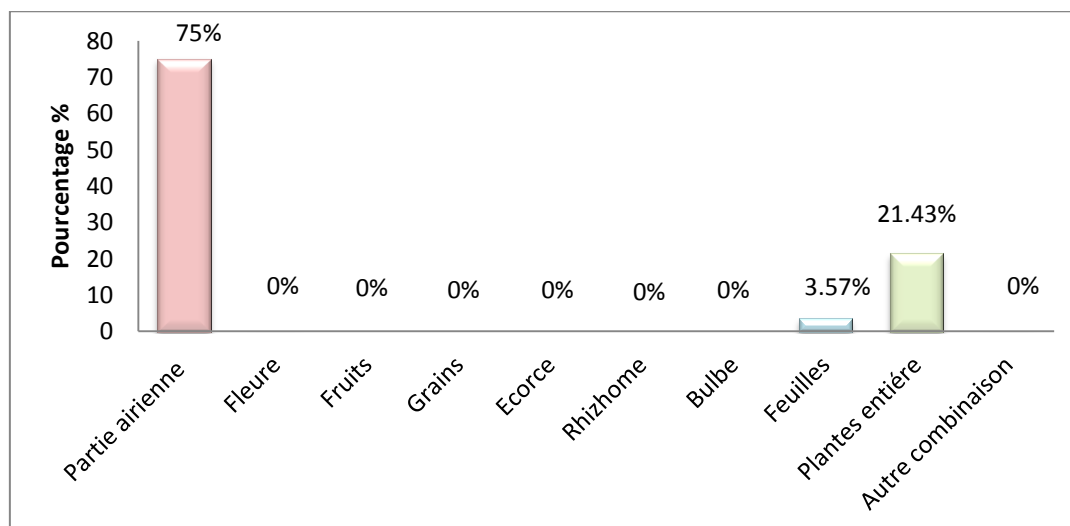


Figure 19. Répartition de la plante selon les associations possibles.

Comme le montre la Figure 19, 100% des gens questionnés ont déclaré que la plante été utilisé seul et sans associations possibles.

Parties utilisées

Pour la partie utilisée, les résultats sont résumés dans la figure 20.



Figures 20 : Répartition de la plante selon la partie utilisée.

D'après les résultats obtenues 75% ont déclaré que la partie utilisée été la tige, 21.43% la plante entière et 3.57% les feuilles; les autres parties (fleure, fruits grains, écorce, rhizome, bulbe et autres combinaisons) ne sont pas utilisés.

Forme d'emplois

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 21.

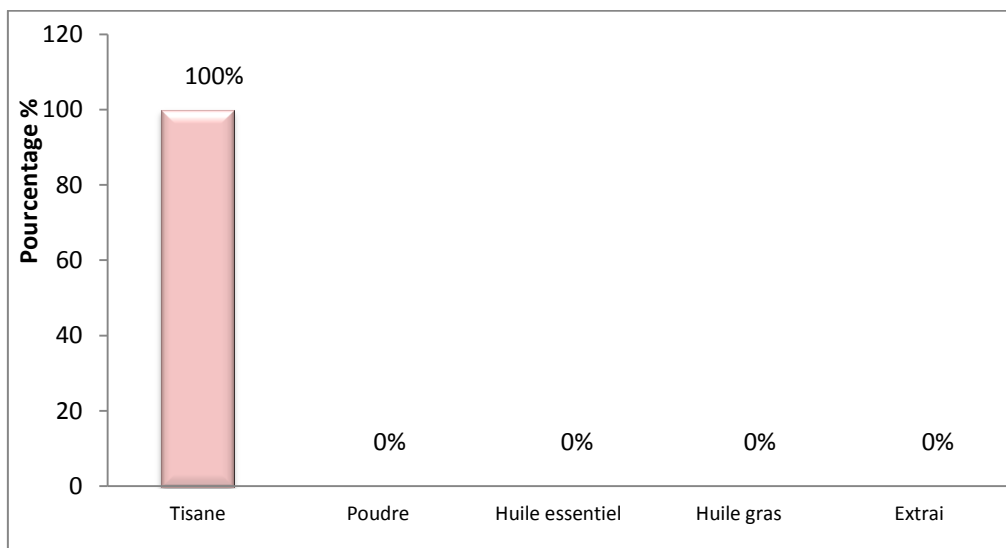


Figure 21. Répartition de la plante selon la forme d'emploi.

Comme le montre la figure 21, 100% des personnes questionnées ont déclaré que la plante été utilisée sous forme de tisane.

Mode de préparation

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 22.

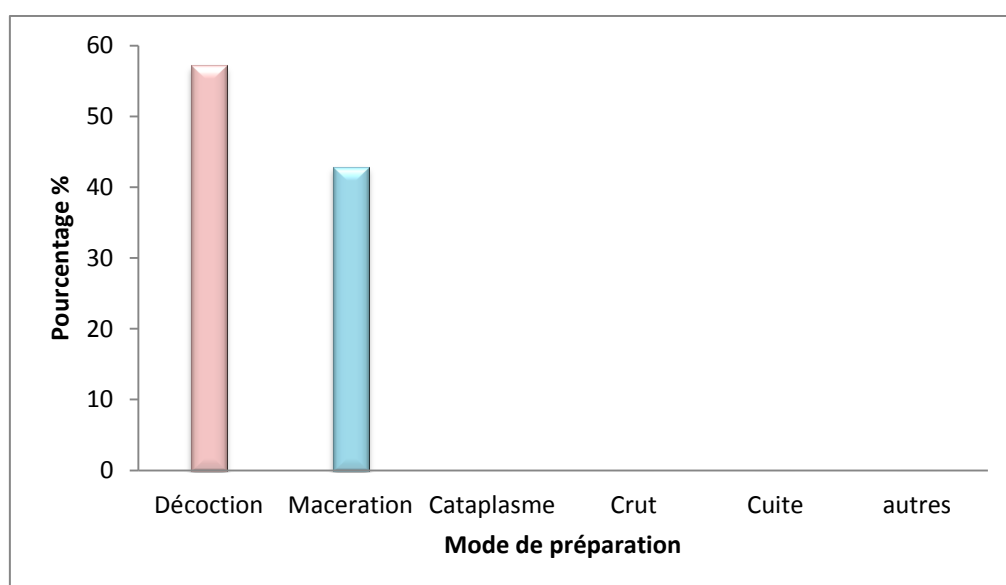


Figure.22 : Répartition de la plante selon le mode de préparation.

57.14% des enquêtés ont déclaré utiliser la plante sous forme décocté, contre 42.86% qui ont affirmé l'utiliser sous forme de macérât.

Dose utilisée

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 23.

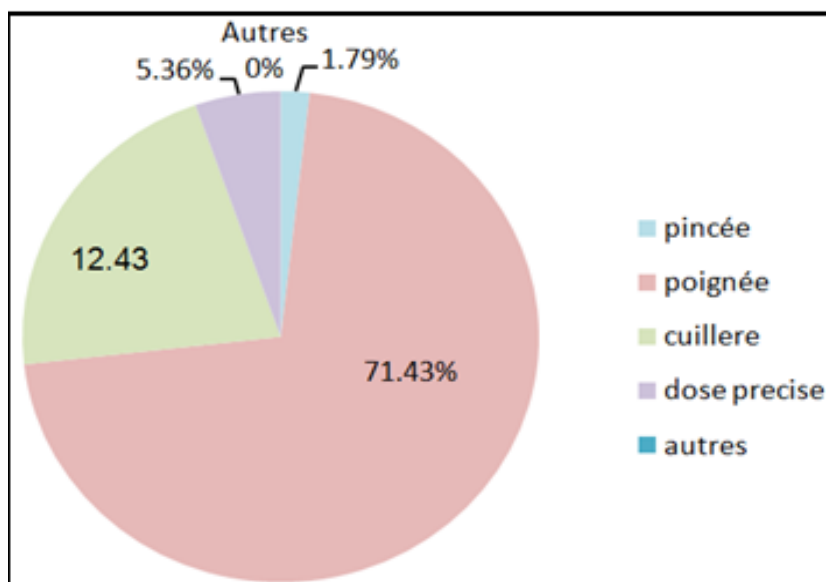


Figure 23 : Répartition des doses utilisées de la plante.

71.43% ont déclaré qu'ils mesurent leurs dose à la poignée contre 12.43% qui ont déclaré mesurer leurs dose à la cuillère, par contre 5.36% et 1.79% ont affirmé donner des doses précises, et en pincées respectivement.

Mode d'administration

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 24.

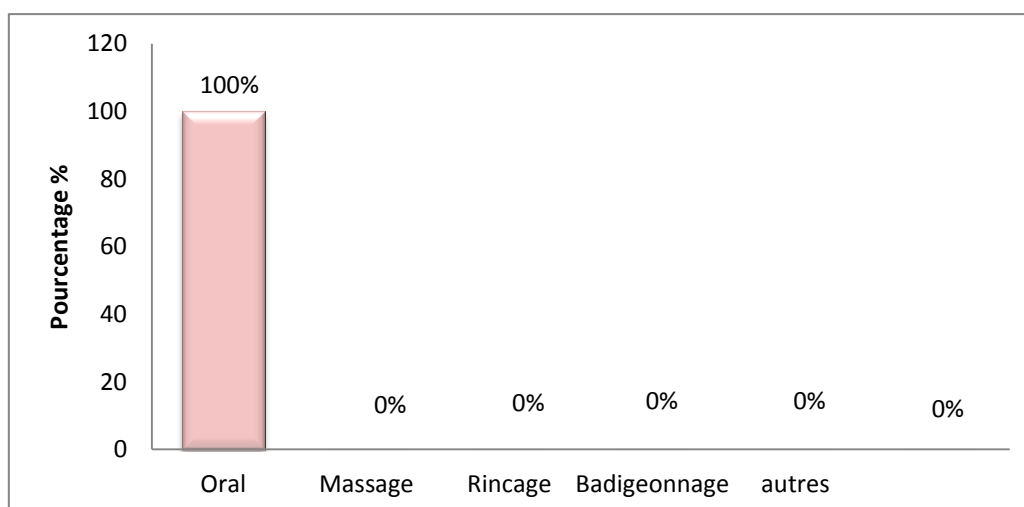


Figure 24 : Répartition de la plante selon le mode d'administration.

L'analyse des questionnaires a montré que 100% des enquêtés ont affirmé administrer la plante par voie orale.

Posologie

En ce qui concerne le nombre des prises par jour, les résultats trouvés sont représentés dans la figure 25.

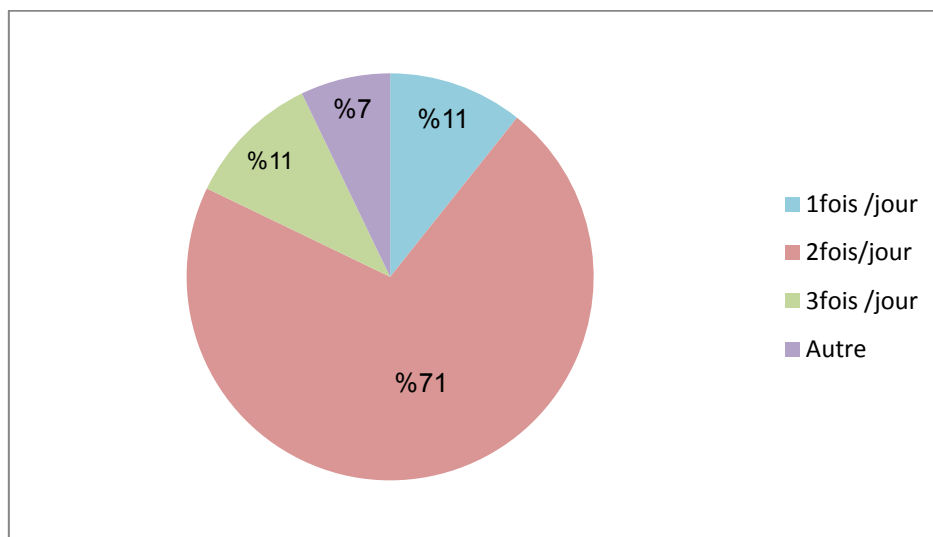


Figure 25 : Répartition d'*Ephédra alata* selon le nombre des prises par jours. 71%, ont déclaré une fois par jour contre 11%, deux fois et trois fois par jour, enfin 7% n'ont pas précisé le nombre de prise par jour.

Durée de traitements

Pour la durée du traitement les résultats de l'enquête sont représentés dans la figure 26.

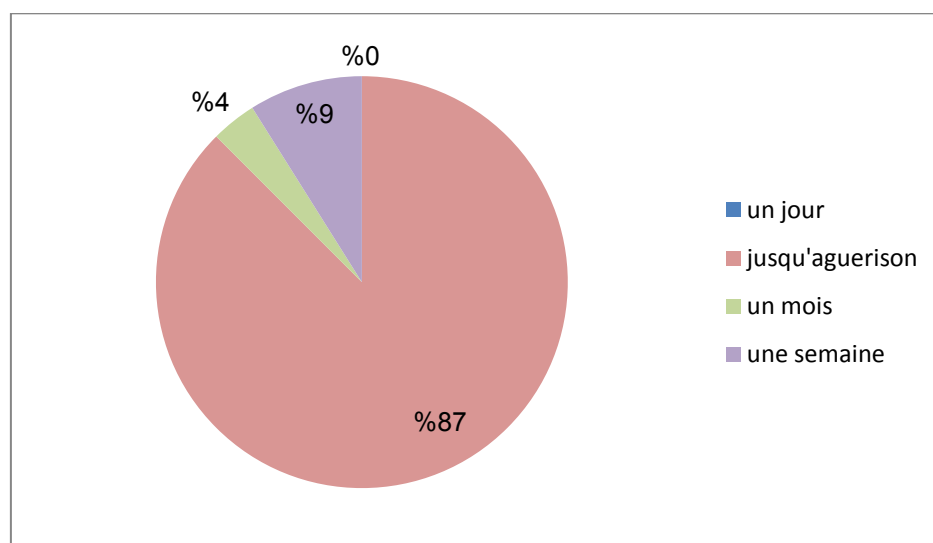


Figure 26 : Répartition d'*Ephédra alata* selon la durée du traitement.

87% des enquêtés ont déclaré que le traitement dure jusqu' à la guérison, contre 9% qui affirme que le traitement dure une semaine et 4% un mois.

Type de maladie

Les résultats concernant les types de maladie pour lesquelles *Ephédra alata* est utilisée sont représentés dans la figure 27.

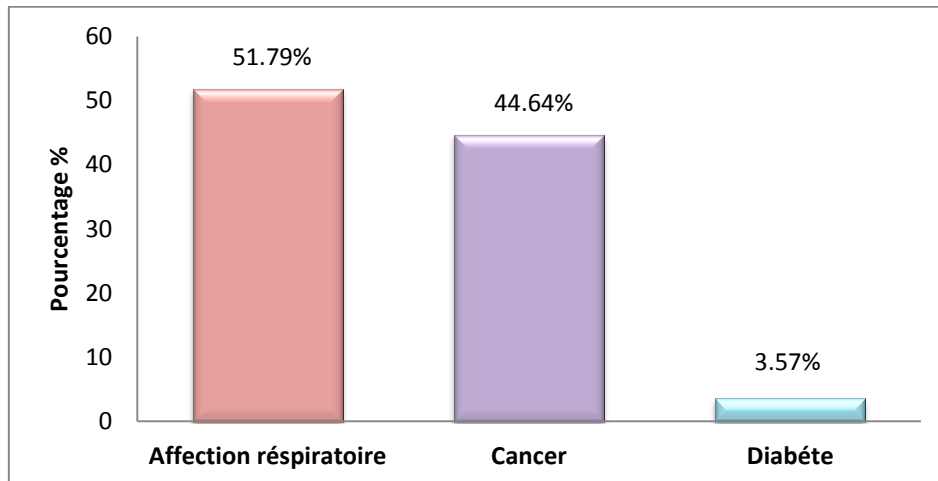


Figure 27. Répartition d'*Ephédra alata* selon le type de maladie.

On remarque que 51.79% ont déclaré qu'elle soigne les affections respiratoires contre 44.64%, le cancer et enfin 3.57% contre le diabète.

Résultat du traitement

En ce qui concerne la repense à la question : « quelle est le résultat obtenus après avoir été traité par *Ephédra alata* » les résultats obtenus sont représentés dans la figure 28.

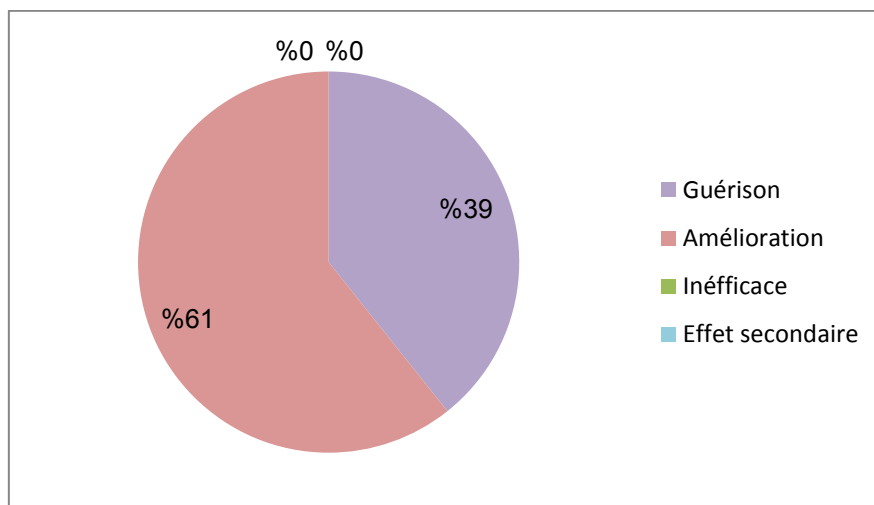


Figure 28 : Répartition d'*Ephédra alata* selon les résultats obtenus du traitement.

Les résultats obtenus après l'absorption de *Ephédra alata*, 61% des enquêtés ont affirmé la guérison contre 39% qui ont déclaré obtenir une amélioration.

Toxicité

Pour la toxicité d'*Ephédra alata* les résultats sont représentés dans la figure 29.

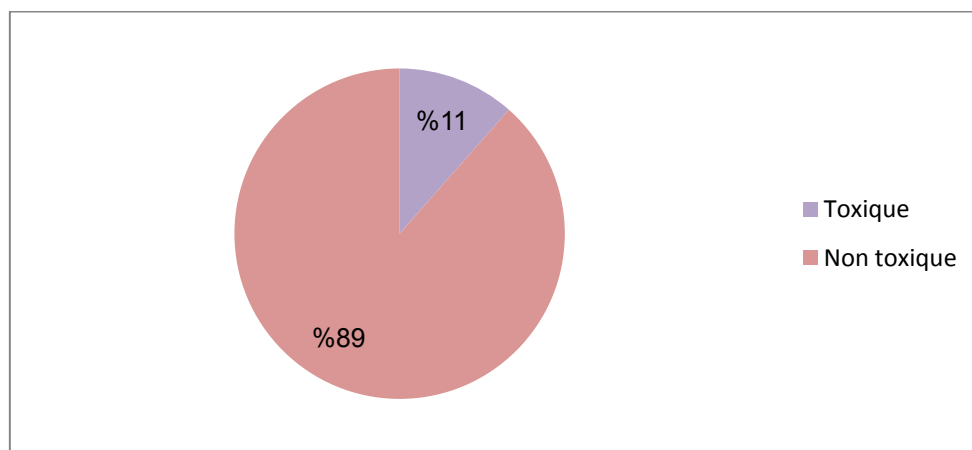


Figure 29 : Répartition d'*Ephédra alata* selon sa toxicité.

L'analyse des questionnaires montre que 89% des personnes questionnées ont affirmé que la plante n'est pas toxique contre 11% qui ont déclaré qu'à long terme la plante est toxique.

Précaution d'emploi

Concernant les précautions d'emploi les résultats obtenus sont représentés dans la figure 30.

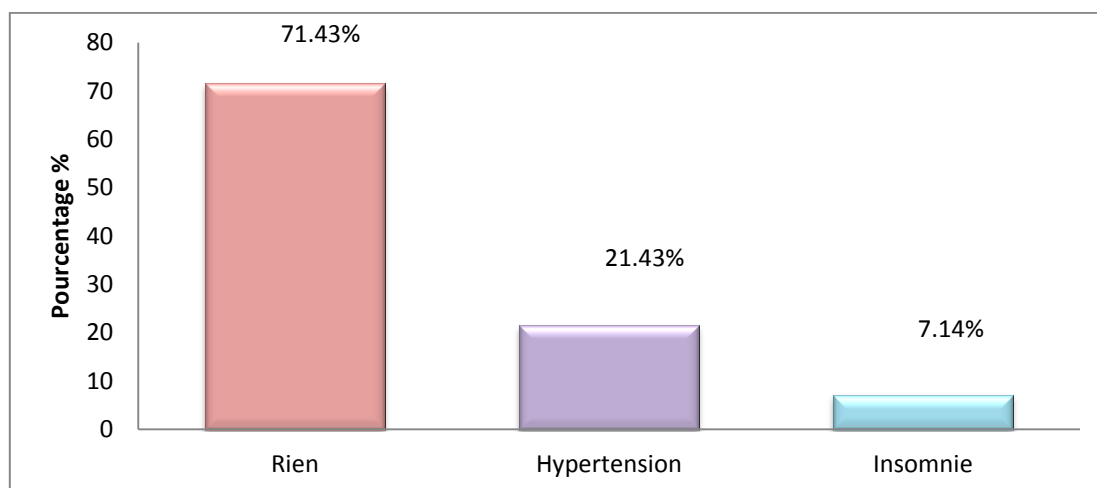


Figure 30 : Répartition d'*Ephédra alata* selon la précaution d'emploi.

Comme le montre la figure 32, 71.43% ont déclaré qu'il n'y avait aucune précaution d'emploi par contre, 21.43% ont affirmé qu'*Ephédra alata* est à éviter pour les hypertendus et 7.14% ont déclaré qu'elle provoque de l'insomnie.

1.2 Rendement des extraits aqueux

Les valeurs obtenues du rendement de l'extrait brut aqueux sont représentées dans le tableau suivant (Tableau 6):

Tableau 6: Pourcentage de l'extrait brut aqueux des tiges d'*Ephédra alata*.

	Poids sec utilise (g)	Poids sec obtenus (g)	Pourcentage d'extrait (%)
Macération	10	1.3± 0.2	13
Décoction	10	1.6± 0.4	16

La préparation des extraits bruts aqueux macération et décoction de la drogue a donné un rendement de l'ordre de 1.3g, 1.6g, respectivement, ce qui correspond à un pourcentage de 13 et 16%.

1.3 Analyses phytochimiques préliminaires

Les résultats des analyses phytochimiques préliminaires de l'espèce végétale *Ephédra alata* sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Métabolites mis en évidence dans les extraits aqueux d'*Ephédra alata*.

Principe actifs	Macérât	Décocté
Alcaloïdes	+	+
Tanins	+	+
Flavonoïdes	+	+
Terpènes	+	+
Saponines	+	+
Stérols	-	-
Sucres réducteurs	+	-

- : absence, + : présence

A partir des résultats de l'analyse phytochimique, on remarque que les deux extraits obtenus de notre plante sont caractérisés par la présence des : Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Terpénoïdes et Saponines et l'absence des Stéroïdes, enfin les sucres réducteurs qu'on retrouve dans le macérât mais pas dans le décocté.

1.4 Dosage des composés polyphénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir des extraits bruts aqueux a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, (l'acide gallique) à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par mg d'extrait (mg EAG/mg d'extrait). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9926$ (Annexe 2).

Tableau 8: Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux des extraits bruts aqueux d'*Ephédra alata*.

Teneur en composés phénoliques (mg EAG/mg d'extrait)	
Extrait aqueux macérât	Extrait aqueux décocté
13.72 ± 0.02	13.42 ± 0.06

Les résultats du dosage des phénols totaux révèlent que les extraits bruts aqueux (macérât et décocté) de l'espèce *Ephédra alata* contiennent une teneur de l'ordre de 13.72 et 13.42 mg, respectivement, équivalent de l'acide gallique par mg d'extrait (mg EAG/mg d'extrait).

1.5 Effet antioxydant *In vitro* des extraits d'*Ephédra alata* par DPPH

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire de nos extraits via le test DPPH a conduit aux résultats illustrés par la figure 31.

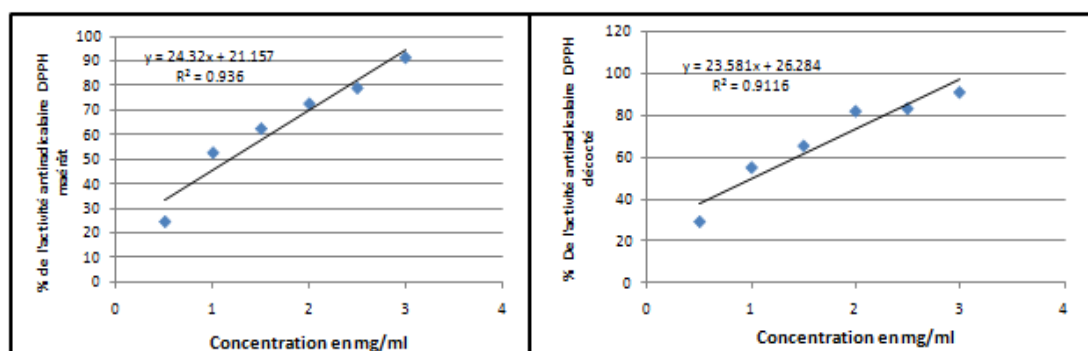


Figure 31 :L'activité anti-radicalaire des extraits bruts aqueux décoction et macérations.

L'IC₅₀ de chaque extrait est déduit à partir de l'équation de régression correspondant à sa courbe d'étalonnage et exprimée en mg/ml. Les résultats sont représentés graphiquement sur la figure 32.

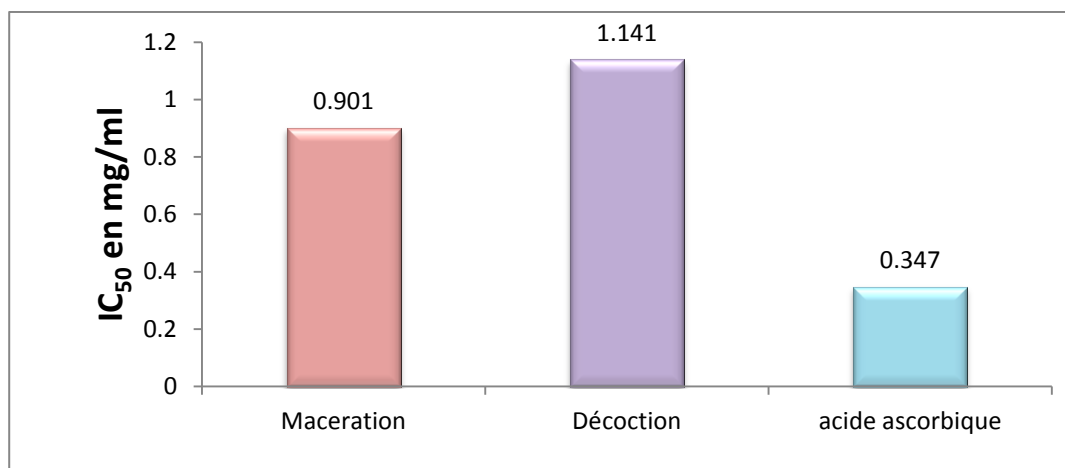


Figure 32: IC₅₀ des différents extraits d'Ephédra alata en mg/ml

D'après l'histogramme illustré dans la figure 35, qui représente l'IC₅₀ des différents extraits de notre plante et le standard (acide ascorbique), nous remarquons les valeurs des IC₅₀ des extraits végétaux sont de l'ordre de 0.901mg/ml et 1.141mg/ml, pour le macérât et décocté respectivement. Un pouvoir anti radicalaire remarquable pour le macérât comparé au décocté.

1.6 Détermination de la dose létale 50 des extraits bruts

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 9:

Tableau 9: Taux de mortalité des rats en fonction des concentrations des extraits bruts de la plante (macérât et décocté).

Lots	Traitements	Nombre de rats mort	% De mortalités
I	250 mg/kg d'extrait brut aqueux macérât	0	0
II	1000 mg/kg d'extrait brut aqueux macérât	0	0
III	2000 mg/kg d'extrait brut aqueux macérât	0	0
IV	250 mg/kg d'extrait brut aqueux décocté	0	0
V	1000 mg/kg d'extrait brut aqueux décocté	0	0
VI	2000 mg/kg d'extrait brut aqueux décocté	0	0
VII	1 ml Solution physiologique (Témoin).	0	0

D'après les résultats du tableau 9 on remarque que l'administration des extraits bruts aqueux à trois doses étudiées n'a provoqué aucun changement de comportement et par conséquent aucune mortalité.

1.7 Effet de traitement par l'Ephédra alata sur la croissance corporelle et le poids relatif des organes

L'analyse de la croissance corporelle et le poids relatif des organes (poids de l'organe *100/poids de l'animal) est résumée dans le tableau 10.

Tableau 10: Poids initiale, Gain du poids et poids relatif des organes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

		Témoin	Témoin Positif	Macérât	Décocté	Poudre
Poids initial		244.83±15.40	267.33±31.23	264.00±16.84	258.5±22.06	269.33±20.41
Gain de poids (g/j)		0.424±0.7	0.045±0.063 **	0.193±0.090 *	-0.159±0.115 ** ^a	-0.53±0.13 *** ^b
Poids relatif	Foie (g)	3.359±0.039	3.341±0.1 ^{NS}	3.084±0.046 ^a	3.168±0.070*	2.908±0.11 ^{***a}
	Reins (g)	0.595±0.014	0.608±0.056 ^{NS}	0.589±0.056 ^{NS}	0.592±0.011 ^{NS}	0.678±0.021 ^{*a}

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type moyen (n=6).

* p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin

a p < 0.05 ; b p < 0.01 ; c p < 0.001 comparaison avec le lot exposé à la Deltaméthrine

NS : non significatif

Comme le montre le tableau l'exposition des rats à la Deltaméthrine leur ont provoquée une diminution hautement significative du poids, par rapport au témoin, on observe aussi une diminution significative du poids chez les rats traités par l'Ephédra alata.

L'analyse du poids relatif du foie montre une diminution de ce dernier chez les lots traités par l'Ephédra alata, et une différence non significative chez le lot exposé à la Deltaméthrine, par rapport au témoin.

L'analyse des résultats du poids relatif des reins, montre une différence non significative chez les différents lots, sauf pour le lot poudre, ou on observe une augmentation significative par rapport aux témoins.

1.8 Effet du traitement par l'Ephédra alata sur le bilan sanguin

1.8.1 Bilan hépatique

TGO et TGP

Les effets de la Deltaméthrine et de l'Ephédra alata sur le TGO et TGP, chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 33.

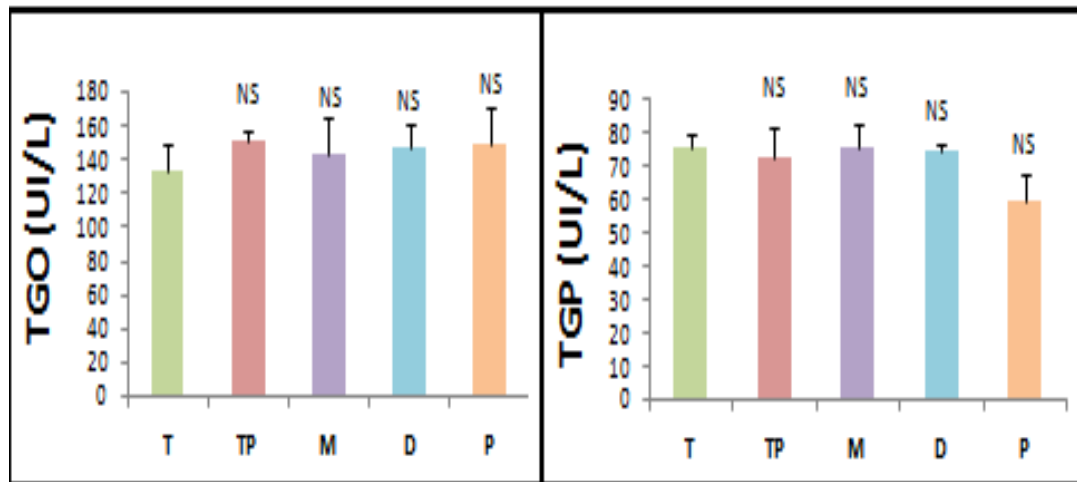


Figure 33: Variations des enzymes TGO et TGP chez le groupe témoin et les différents groupes expérimentaux

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : non significative.

Comme le montre les histogrammes il n’y a pas de différence significative entre les lots étudiés pour le TGO et le TGP.

YGT et PAL

Les effets du Deltaméthrine et de l’*Ephédra alata* sur le YGT et PAL, sur les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 34.

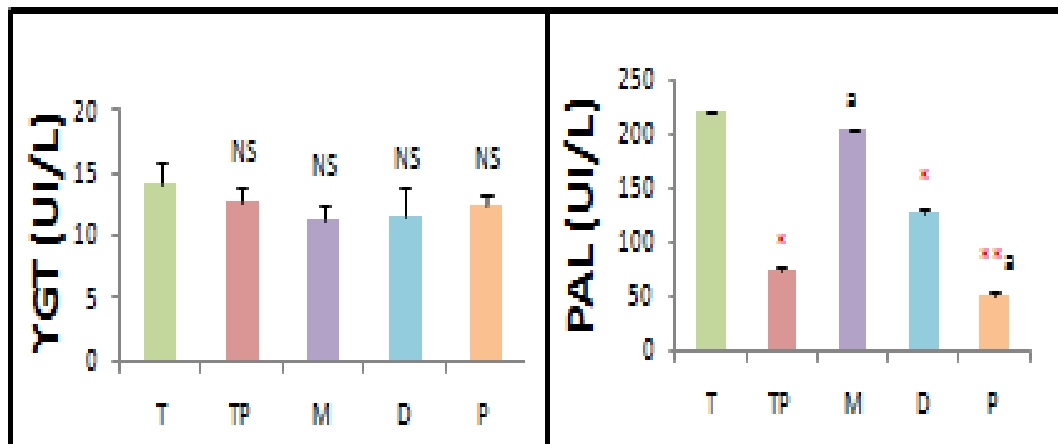


Figure 34: Variations des enzymes YGT et PAL chez le groupe témoin et les différents groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

Pour le YGT on constate qu'il n'y a pas de différence significative entre tous les lots, par contre pour le phosphatase alcalin on note une diminution significative, par rapport au témoin, chez les lots exposés à la Deltaméthrine et les lots traités par le décocté et la poudre, par contre il n'y a pas de différence significative entre le témoin et le lot traité par le macérât.

Bilirubine directe et totale

Les effets de la Deltaméthrine et de l'*Ephédra alata* sur la bilirubine directe et totale chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 35.

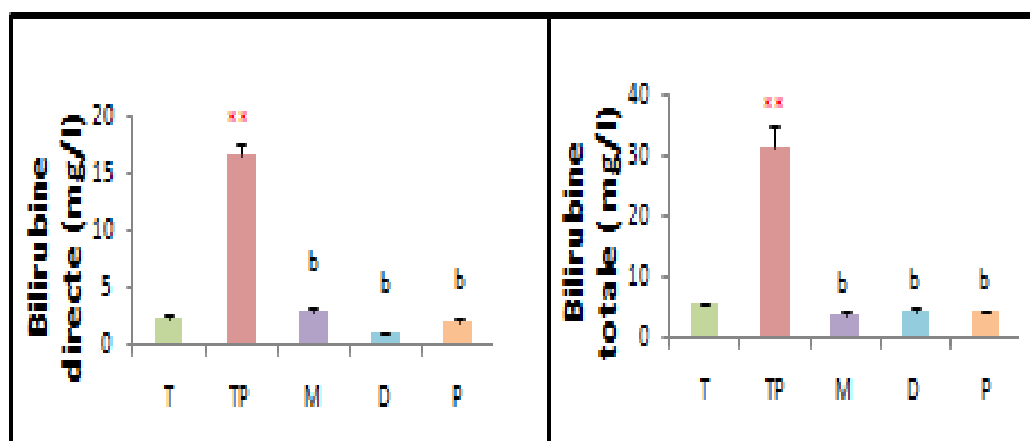


Figure 35: Variation de la concentration sérique en bilirubine directe et totale chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

Concernant la bilirubine, directe et totale, nous observons une augmentation hautement significative chez le lot exposé à la Deltaméthrine, et une différence non significative chez les lots traités par l'*Ephédra alata*, par rapport au témoin. La comparaison des lots traités par la plante au lot exposés à la Deltaméthrine montre une diminution hautement significative du taux des bilirubines.

1.8.2. Bilan rénale

Les effets de la Deltaméthrine et de l'*Ephédra alata* sur le bilan rénal chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 36.

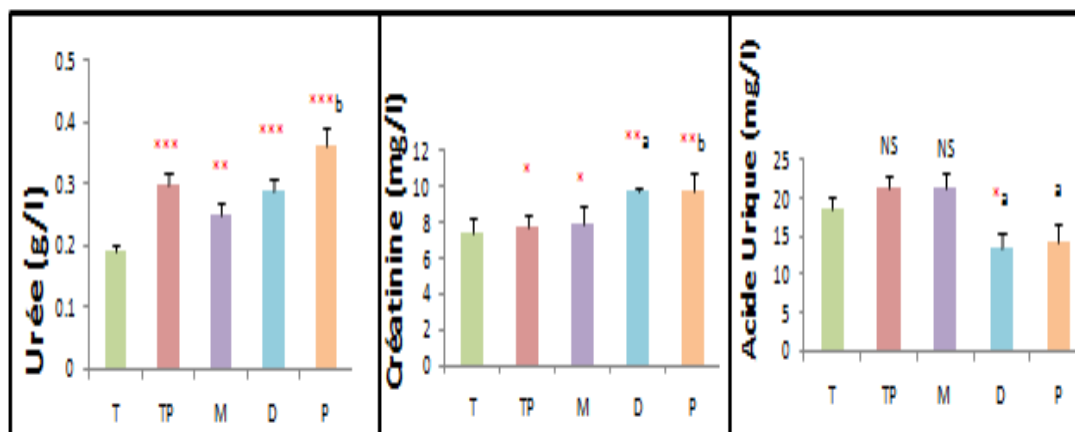


Figure 36: Variation de la concentration sérique en urée, créatinine et acide urique, chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

L'analyse des variations du taux de l'urée et de la créatinine nous montre une augmentation de ces paramètres chez tous les lots par rapport au témoin.

Il y a une diminution significative du taux de l'acide urique chez les groupes traités par le décocté et la poudre, par rapport au lot exposé à la Deltaméthrine.

1.8.3 Bilan lipidique

Les effets de la Deltaméthrine et de l'*Ephédra alata* sur le bilan lipidique chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 37.

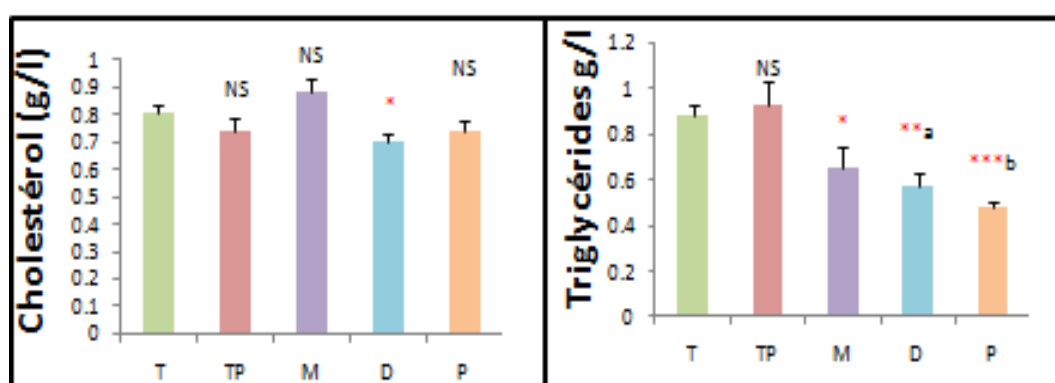


Figure 37: Variation de la concentration sérique en cholestérols et triglycérides chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

On observe une diminution significative du taux de cholestérol chez le lot traité par le décocté par rapport au témoin et une diminution du taux des triglycérides chez les lots traités par l'*Ephédra alata* par rapport aux témoins.

1.8.4 Autres paramètres

Glycémie

Les effets de la Deltaméthrine et de l'*Ephédra alata* sur la glycémie chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 38

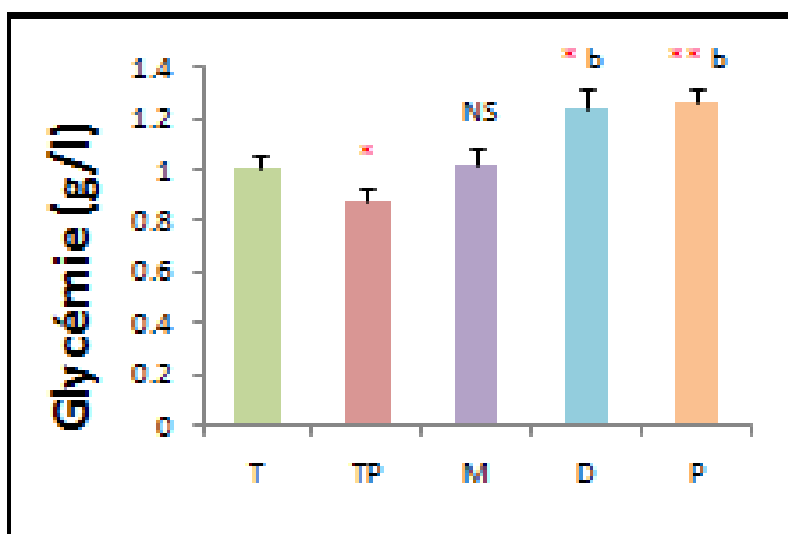


Figure 38: Variation de la concentration sérique en glycémie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

On observe une diminution significative du taux de glucose sanguin chez le lot exposé à la Deltaméthrine par rapport au témoin, et une augmentation de la glycémie chez les lots traités par le décocté et la poudre, par rapport aux témoins.

Albumine et fer sérique

Les effets de la Deltaméthrine et de l'*Ephédra alata* sur l'albumine et le fer sérique chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 39.

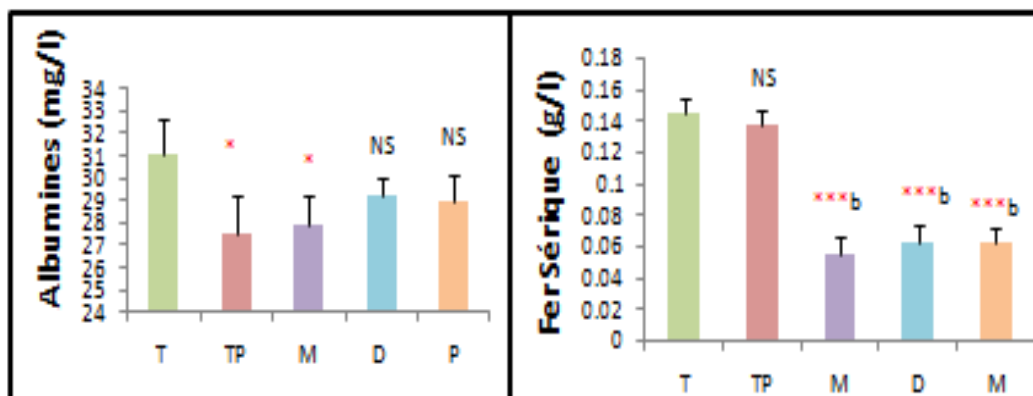


Figure 39: Variation de la concentration sérique en albumine et fer chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

Les résultats montrent une diminution du taux de l'albumine chez le lot exposé au pesticide et le lot traité par le macérât. L'analyse des résultats du fer sérique montre une diminution de ce paramètre chez les lots traités par la plante.

Protides et calcémies

Les effets du Deltaméthrine et de l'*Ephédra alata* sur les protides et la calcémie chez les différents lots étudiés sont représentés dans la figure 40.

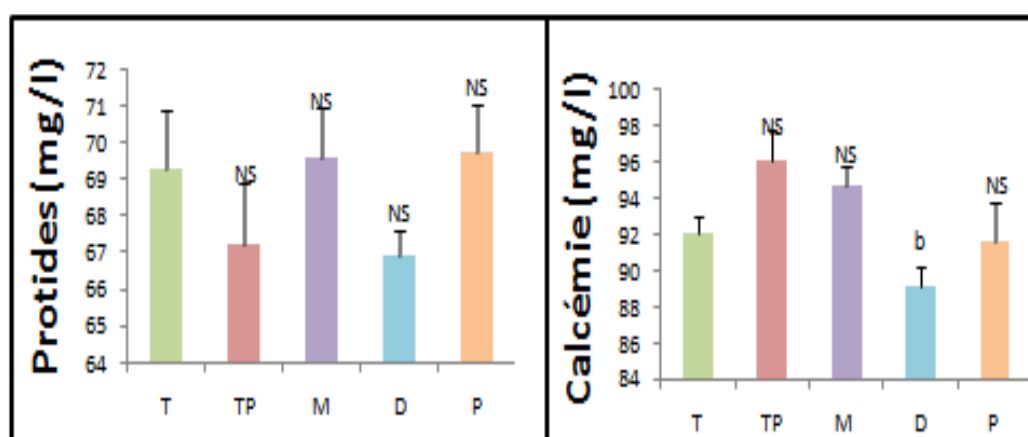


Figure 40: Variation de la concentration sérique en protides et calcémies chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

L'analyse des résultats des protéides montre une différence non significative entre les différents lots. Par contre pour la calcémie on note une diminution de son taux chez le lot traité par le décocté.

1.9 Effet du traitement par l'*Ephédra alata* sur les paramètres tissulaires du stress oxydatif chez les rats exposés à la Deltaméthrine

1.9.1 Etude de la peroxydation lipidique (MDA)

L'effet du traitement par l'*Ephédra alata* sur la peroxydation lipidique (MDA) tissulaire, chez les rats exposés à la Deltaméthrine est représenté dans la figure 41.

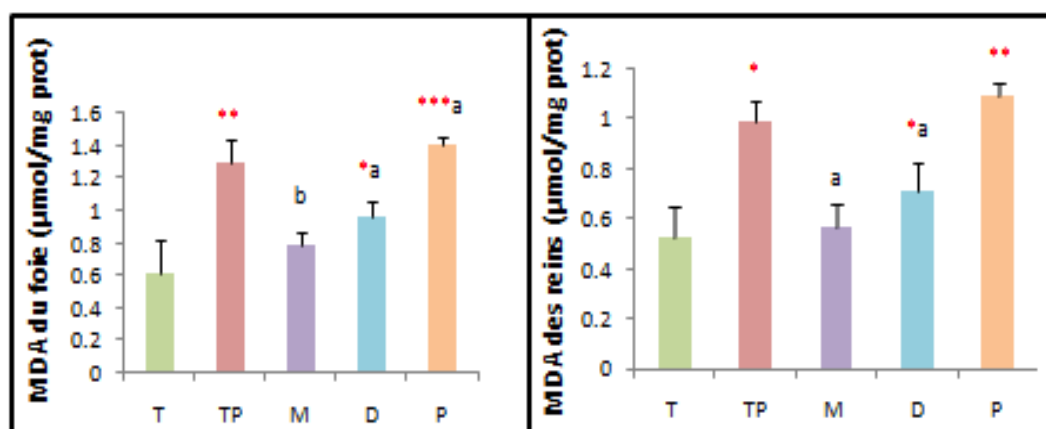


Figure 41: Variation de la Malondialdéhyde (MDA) dans le foie et les reins chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

L'analyse de ces résultats nous montre une augmentation du taux de l'MDA chez le lot exposé à la Deltaméthrine et les lots traités par le décocté et la poudre d'*Ephédra alata*, par rapport au témoin, aussi on observe une diminution de la concentration de l'MDA chez le groupe traité par le macérât et le décocté d'*Ephédra alata*, par rapport au lot exposé au pesticide.

1.9.2 Etude du glutathion réduit (GSH)

L'effet du traitement par l'*Ephédra alata* sur le glutathion réduit (GSH) tissulaire, chez les rats exposés à la Deltaméthrine est représenté dans la figure 42.

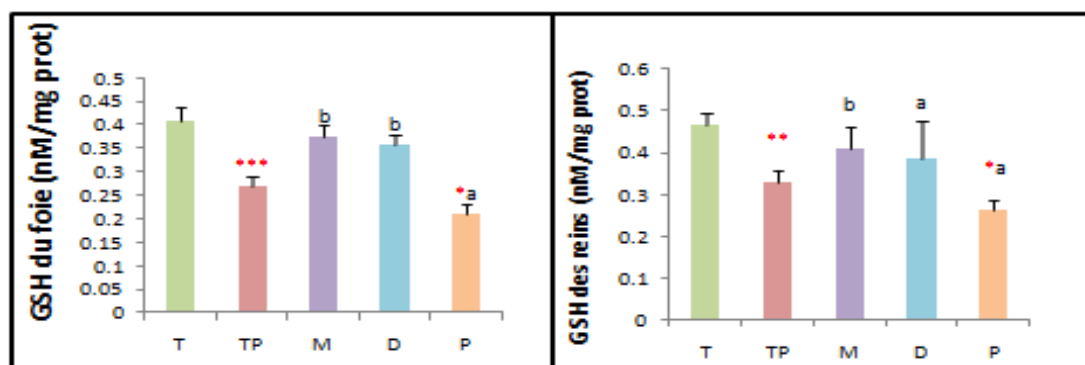


Figure 42: Variation de la Concentrations du glutathion (GSH) dans le foie et les reins chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

On ce qui concerne le GSH (au niveau du foie et des reins), on remarque une diminution de sa concentration chez le lot exposé au pesticide et le lot traité par la poudre d'*Ephédra alata*, par rapport au témoin, aussi on note une augmentation du taux de GSH chez les lots traités par le macérât et le décocté ; et une diminution chez le groupe traité par la poudre, par rapport au lot exposé à la Deltaméthrine.

1.9.3 Etude de l'activité du Glutathion S Transférase (GST)

L'effet du traitement par l'*Ephédra alata* sur le glutathion S Transférase (GST) tissulaire, chez les rats exposés à la Deltaméthrine est représenté dans la figure 43.

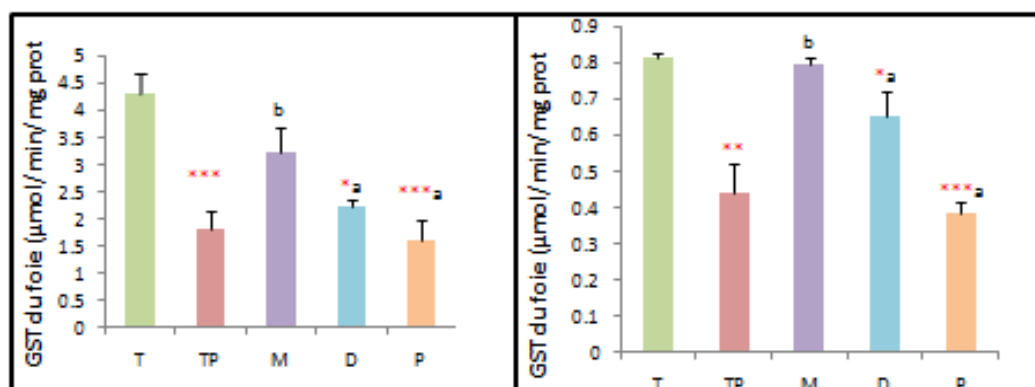


Figure 43: Variation de l'activité du glutathion S-transférase (GST) dans le foie et les reins chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n=6)

T : Témoin, TP : Témoin positif, M : macérât, D : Décocté, P : poudre. NS : Non Significatif.

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à la Deltaméthrine (TP): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

L'analyse de ces résultats nous révèle une diminution de l'activité du GST dans le foie et les reins chez les rats exposés au pesticide, et les rats traités par la poudre d'*Ephédra alata*, par rapport au témoin, aussi on note augmentation du taux du GST chez les lots traité par les extraits de la plante.

1.10 Etude histologique

Pour confirmer les résultats biochimiques obtenus, on a réalisé des coupes histologiques (au niveau des tissus du foie), qui permette d'avoir une idée générale sur le pouvoir des substances actives de l'espèce *Ephédra alata* vis-à-vis de l'intoxication provoqué par la Deltaméthrine.

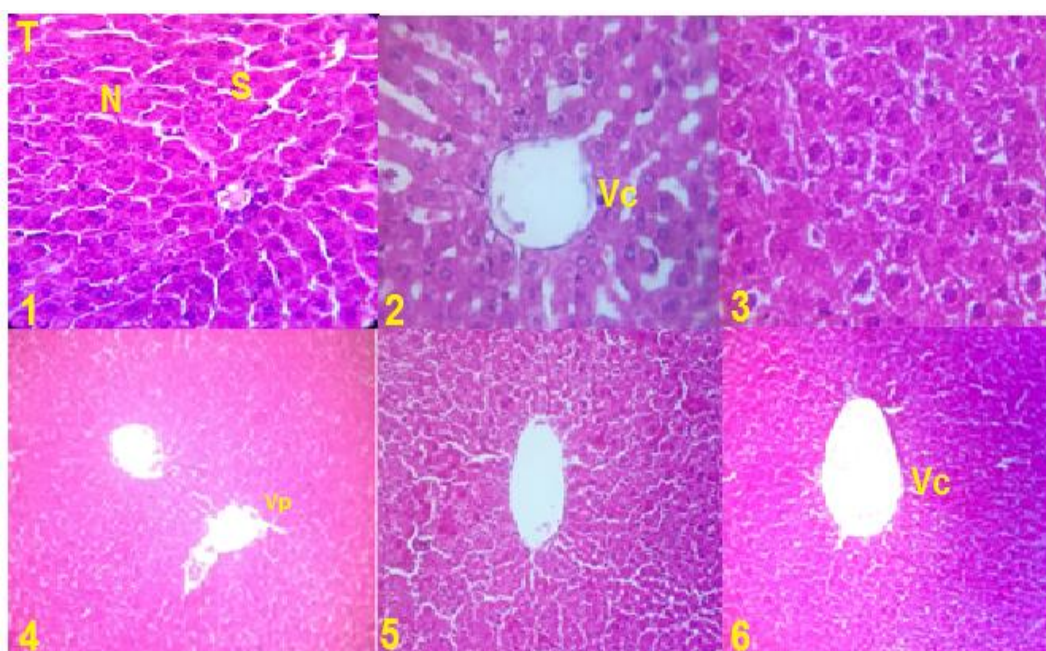


Figure 44: Structure histologique du foie chez les rats du lot témoin

T: lot des rats témoins. Vc : Veine centro-lobulaire. S: Sinusoïde hépatique, N: Noyau, Vp: Veine porte
Photo: (1, 2, 3) (GX40); (4, 5, 6) (GX10).

Chez les rats du lot témoin (figure 44), l'observation des coupes histologiques nous révèle des cellules hépatiques bien définies avec des noyaux basophiles (de couleur bleu violacé) et dont la taille est trop grande aussi le nucléole est visible au centre et concernant la veine centro-lobulaire elle est bien délimitée par des hépatocytes.

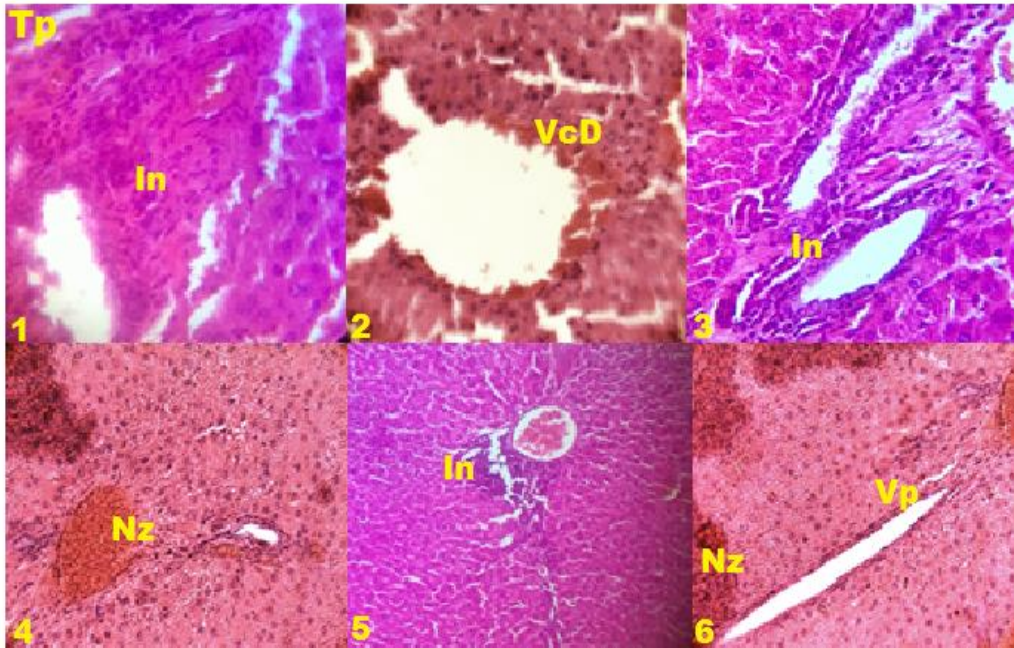


Figure 45: Structure histologique du foie des rats exposés à la Deltaméthrine.

TP: lot des rats témoins traités par la Deltaméthrine. In: Inflammation. Nz: Nécrose zonale. VcD : Veine centro-lobulaire dilaté . Vp : veine porte. Photos: (1, 2, 3) (GX40); (4, 5, 6) (GX10).

L'observation des coupes du lot témoin ayant consommé la Deltaméthrine seulement (figure 45), nous révèle des hépatocytes nécrosés ainsi que des inflammations, surtout au tour des veines portes, les veines centro-lobulaires sont dilatées avec des formes irrégulières.

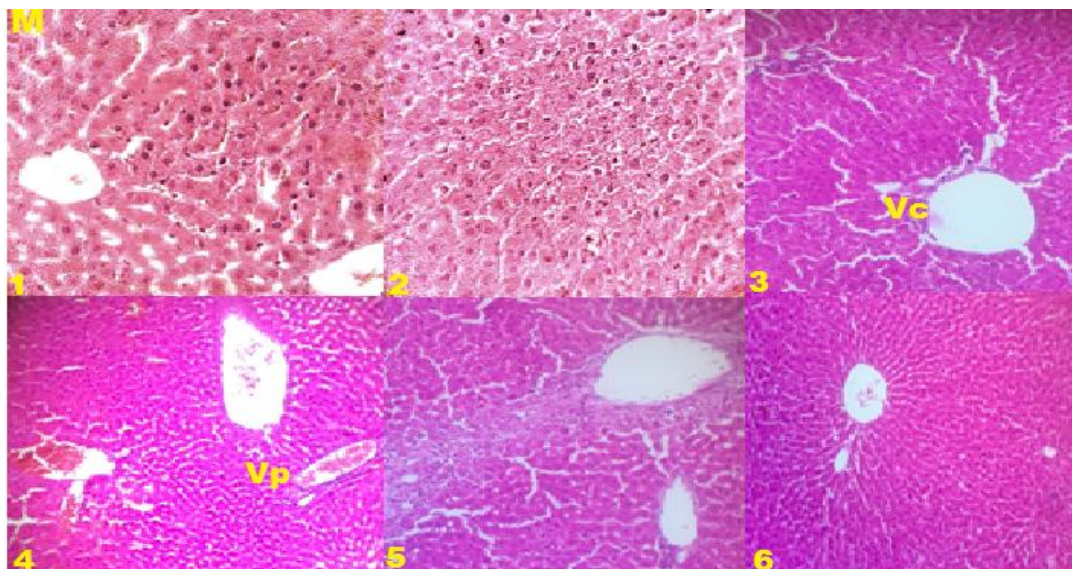


Figure 46: Effet du macérât d'*Ephédra alata* sur la structure histologique du foie chez rats exposés à la Deltaméthrine.

M: Lots des rats traités par le macérât de la plante. Vp: veine porte. Vc : veine centro-lobulaire. Photos: (1, 2, 3) (GX40), (4, 5, 6) (GX10).

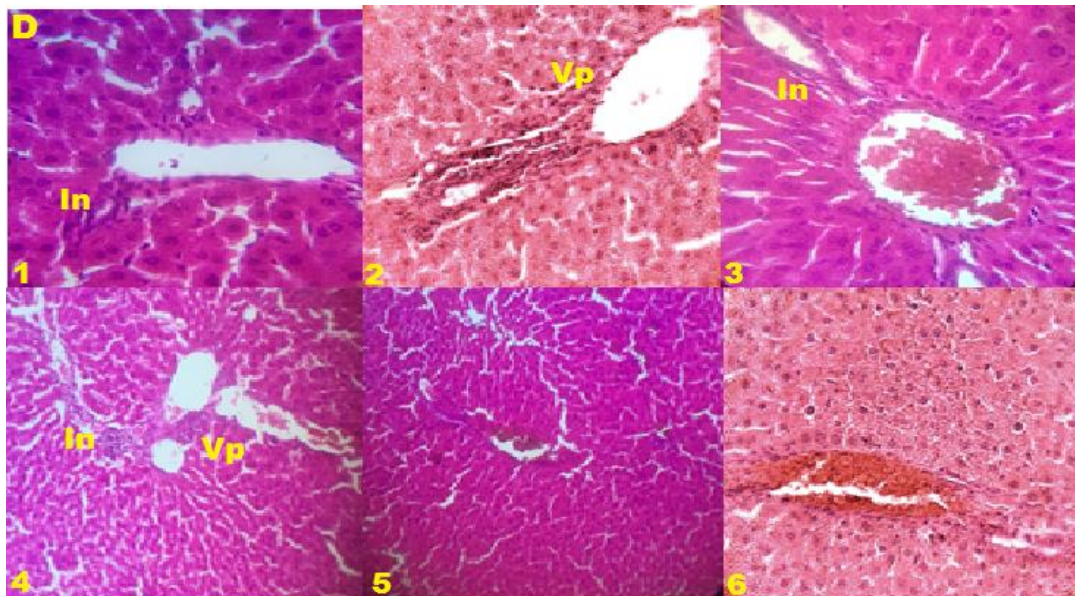


Figure 47: Effet du décocté d'*Ephédra alata* sur la structure histologique du foie des rats exposés à la Deltaméthrine.

D: Lots des rats traités par le décocté de la plante. In : Inflammation. Vp: Veine porte. Vc : Veine centro lobulaire. Photos: (1, 2, 3) (GX40), (4, 5, 6) (GX10).

Pour les lots exposés a la Deltaméthrine, puis traités par les extraits de *l'Ephédra alata* (figure 46 et 47), on observe diminution des foyers inflammatoires au tour des veines portes et Centro lobulaires, on remarque aussi les sinusoides bien délimités par les hépatocytes et l'absence des cellules nécrosés. Ces observations sont remarquables chez le lot traité par le macérât, par rapport à celui traité par le décocté.

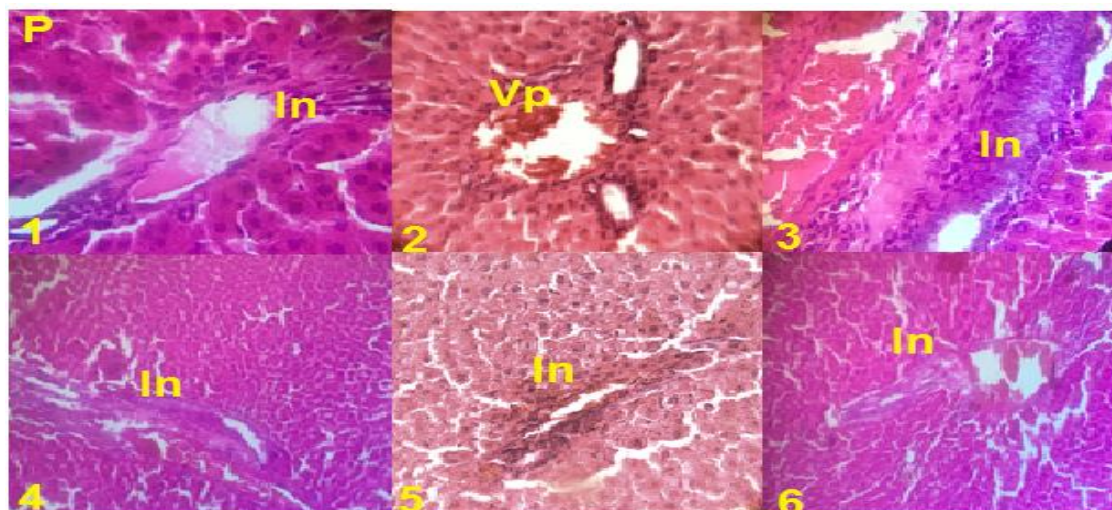


Figure 48: Effet de la poudre d'*Ephédra alata* sur la structure histologique du foie des rats exposés à la Deltaméthrine

P: Lots des rats traités par la poudre de la plante. In : Inflammation. Vp : Veine porte Photos: (1, 2, 3) (GX40), (4, 5, 6) (GX10).

Chez les rats traités par la plante sous forme de poudre (figure 48), on observe une augmentation importante de zones nécrosées et inflammatoires surtout au niveau des veines portes.

Discussion

DISCUSSION

Bien que certains médicaments à base d'herbes possèdent des propriétés thérapeutiques prometteuses, beaucoup d'entre eux restent non testés et leurs efficacités n'ont pas été évaluées scientifiquement. Parmi ces plantes, l'espèce végétale *Ephédra alata* alenda, de la région d'El Oued et qui fut le thème de notre étude. Débutée par une enquête ethnopharmacologique, peu d'informations sont recueillis à l'issue de cette enquête et l'importance de la plante semble être méconnue par la population, dont 21 % l'ignorent totalement, même s'ils connaissent son nom, ils n'ont aucune idée de son utilisation en médecine traditionnelle et l'utilisent soit pour le pâturage ou le chauffage et la cuisson.

Selon Marié (1990), dans la médecine chinoise ils utilisent soit la plante entière soit seulement la partie aérienne mais en mixture avec d'autres plantes et a des doses précises et sous forme de décoction, ceux-ci vu ces effets secondaires qui peuvent provoquer un arrêt cardiaque (Josefson, 1995), autrement dit la plante n'est jamais utilisée seule, alors que Tous les enquêtés ont déclaré utiliser *Ephédra alata* sans association avec d'autre plante, et seulement 21.43% la prescrivent entières.

Pour la posologie, et comme l'éphédrine est le principe actif majeur de la plante (Daijiten, 1990) il est important de noter que selon la FAD, il ne faut pas dépasser la dose de 8 mg par prise soit 24 mg par jours et ne pas consommer cette drogue au-delà d'une semaine (Carey, 2000). Par contre d'après notre étude nous avons remarqué que les herboristes ne prennent pas tous ces données en considération.

En ce qui concerne le type de maladie soignée, 51.79% ont déclaré qu'elle soigne les affections respiratoires, ces effets vasoconstricteurs et bronchodilatateurs expliquent l'utilisation traditionnelle de l'éphédra en tant que décongestionnant nasal et antiasthmatique (Dollery, 1991), même que la plante est utilisée depuis plus de 5000 ans, et par plusieurs civilisation pour les mêmes propriétés (Kitahara *et al.*, 2013). 3.7% des enquêtés ont déclaré qu'ils prescrivent l'*Ephédra alata* pour le diabète, ces résultats sont compatible avec l'étude de Kono (1985), qui déclare que l'*Ephédra* a réduit de manière significative le taux de glucose chez des souris Diabétiques normales et alloxanés, aussi en Egypte, l'extrait alcoolique d'*Ephédra Alata* a montré une diminution persistante de la glycémie une heure après son administration aux rats à jeun. Par contre chez les rats alloxanés, le même extrait n'a pas réussi à réduire les taux de glucose sanguin par rapport au témoin positif, (Shabana, 1990). Enfin et selon Fetrow et Avila (1999), l'éphédrine est contre-indiquée chez les patients souffrant de

diabète. Quant à son utilisation contre le cancer (44.64 %), « nouvelle propriété de la plante » ont déclaré quelques herboristes, et qu'elle est due à plusieurs recherches qui affirment que *l'Ephédra alata* a une activité anticancéreuse, mais rien n'est prouvé pour *l'Ephédra alata* de la région d'El Oued, alors que les recherches de Hyuga et al (2011), ont indiqué que l'extrait de *l'éphédra herbicide* inhibe la croissance des cellules cancéreuses.

En ce qui concerne la toxicité et les précautions d'emploi très peu d'herboristes les ont pris en considération, la réalité est que de nombreux cas d'effets indésirables graves et même mortels ont été rapportés liés à la mauvaise utilisation de l'éphédra ou l'éphédrine (Zaacks et al., 1999).

Dans cette étude, l'eau a été choisie comme solvant étant donné qu'il est le solvant le plus polaire et le plus utilisé en phytothérapie (Sahreen et al., 2010), quant au choix des extraits aqueux, macérât et décocté, vu que c'est les modes les plus utilisés par les herboristes. Les résultats obtenus des rendements des deux extraits (macérât et décocté) sont de l'ordre de 13 et 16% respectivement, de matière sèche de la plante, ceux-ci concorde avec les travaux de Su et al., (2006), qui déclare que le rendement des extractions aqueuses augmente avec la température, en effet, cette dernière induit la perturbation des cellules facilitant la pénétration de l'eau et la solubilisation des molécules. Enfin, d'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient selon la méthode d'extraction utilisée. (Albano et Miguel, 2011 ; Zang et Hamauru, 2003).

Les résultats de l'analyse phytochimique effectuée sur les extraits aqueux de la partie aérienne d'*Ephédra alata* ont montré la présence de certains composés actifs, Alcaloïdes, Flavonoïdes, Terpène, Tanins et Saponines dans les deux extraits, alors que les stérols sont absents, enfin les sucres réducteurs on les trouve dans le premier et pas dans le deuxième. Ces résultats sont en accord avec la littérature (Amakura et al, 1993 ; Hussein et al, 1997 ; Nawwar, et al 1984)

De plus, les teneurs des Polyphénols totaux étaient estimés à 13.72 mg EAG/g dans le macérât, et 13.45 mg EAG/g dans le décocté. En Cisjordanie un taux de 30.53mg EAG/g d'extrait a été avancé par Kmail et ses collaborateurs (2017), une teneur extrêmement importante comparée à la nôtre, Cette variabilité dans les résultats pourrait être liée aux conditions climatiques du biotope de l'espèce ou aux différentes méthodes suivies lors de l'extraction (Bruneton, 1999 ; Munoz et al., 2006).

Nos résultats indiquent que le macérât présente une activité plus élevée par rapport au décocté, vis-à-vis le piégeage du radical libre DPPH avec un IC₅₀ de 0.901 et 1.141mg/ml respectivement. Dans une étude similaire sur les extraits éthanoliques de l'*Ephédra procréra* (même genre de notre espèce végétale) les auteurs ont signalé un taux d'IC₅₀ de l'ordre de 0.056 mg/ml (Dehkordi et al., 2015), un taux très bas, indiquant une activité antioxydante importante comparée à la notre, car Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle, même qu'il y a une corrélation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (Jeong et al., 2004 ; Yildirim et al., 2001).

Concernant l'étude de l'effet antioxydant *In vivo* des extraits végétaux vis-à-vis la Deltaméthrine, le teste de la DL₅₀ n'as provoqué aucune mortalité et aucun changement du comportement

L'exposition à la Deltaméthrine chez les rats a provoqué une diminution du poids corporel, par rapport aux rats du lot témoin. Ce résultat est en accord avec plusieurs études ou le même effet a été noté chez les animaux de laboratoire (Emara et Draz, 2007 ; Zhang et al., 2008) . Aussi, l'addition d'*Ephédra alata* aux rats exposés à la Deltaméthrine a engendré une diminution de poids corporel par rapport aux groupes témoins, ce ci est en accord avec l'étude de Boozer et al. (2001) qui affirme que l'*Ephédra alata* favorise la perte de poids.

Dans notre étude le poids relatif du foie a diminué de manière significative chez les lots ayant ingérés la plante, en extrait ou en poudre, ceux-ci pourrait êtres explique par la diminution du poids corporel chez ces lots due a l'accélération du métabolisme de dégradation des lipides sous l'action de l'*Ephédra alata* (Murray, 1995).

Concernant le poids relatif des reins, la différence n'est pas significative pour tous les lots, sauf le lot qui a consommé la plante en poudre où on a noté une augmentation significative par rapport aux témoins, cet effet peut être traduit par une rétention rénale provoqué par l'*Ephédra alata* (Reinier et Leval, 2011), et c'est ce qui explique la mégalie des reins enregistrée chez ce lot (Kopple et Massry, 2004).

D'après Sing et al. (1998), des taux très élevés des enzymes sériques TGO, TGP, PAL, Y-GT sont des bio-indicateurs de l'endommagement des cellules hépatiques, dans notre études les variations de ces enzymes sont non significatives signe que le taux de 3.5µl/kg/j de la Deltaméthrine, n'a pas provoqué une lyse hépatocellulaire.

Les résultats obtenus montrent clairement que le xénobiotique a provoqué une augmentation des taux de la bilirubine directe et totale dans le sang, ce qui peut être expliqué par un mauvais fonctionnement du foie qui ralentit leur évacuation dans la bile (Robinson, 1990), L'effet protecteur d'*Ephédra alata* est reflété par la diminution du taux de la bilirubine chez les rats traitées par la plantes par rapport aux rats exposés au pesticide. Il est important de savoir que ce paramètre est très sensible et que sont augmentation est le premier signe d'un problème hépatique (Brooker, 2011).

Les résultats obtenus montrent clairement que la Deltaméthrine affecte la fonction excrétrice des néphrons, l'unité structurale et fonctionnelle des reins, révélée par l'augmentation significative des niveaux de l'urée et la créatinine sanguine, mais de manière non significative de l'acide urique. Un taux élevé de ces produits dans le sang, peut être traduit par d'un dysfonctionnement rénal du a la présence d'une néphropathie caractérisée par une réduction de la filtration glomérulaire (El-Nekeety et al. 2009).

En ce qui concerne le bilan lipidique on note une diminution significative du Triglycérides chez les lots traités par l'*Ephédra alata*, ces résultats concordent avec ceux de Murray, (1990) qui atteste que l'éphédrine de l'*Ephédra* augmente le taux du métabolisme réducteur des tissus adipeux.

Pour la glycémie, les résultats obtenus montrent des variations significatives des valeurs. Les différentes formes de la plante ont provoqué une augmentation, de plus en plus remarquable de la glycémie sanguine (macérât, décocté et poudre) ceux ci pourrait expliquer pourquoi cette plante est déconseillée pour les diabétiques (Fetrow et Avila, 1999).

Dans notre travail la Deltaméthrine a provoqué une diminution significative de l'Albumine, et l'effet réparateur de l'*Ephédra alata* n'est pas observé chez le lot gavé par le macérât, or il est nettement remarquable chez les deux autres lots ou on marque une différence non significative par rapport au témoin. L'albumine est la protéine la plus abondante dans le sang, sa fabrication est au niveau du foie est très sensible à toute atteinte de cet organe, donc en cas d'insuffisance hépatique, La concentration sanguine d'Albumine chute, (Mira, 2008)

Nous enregistrons une augmentation du marqueur de la peroxydation lipidique le MDA, dans le foie et les reins chez le lot exposé a la Deltaméthrine, par rapport aux rats témoins, ce qui indique une diminution des antioxydants qui jouent un rôle très

importants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique (Vertuani et *al.*, 2004), il est important de savoir que l'oxydation des lipides rendent les membranes plus rigides aboutissant au développement de beaucoup de processus pathologiques (Das et *al.*, 2004 ; Levin et *al.*, 1990). Ces résultats peuvent être expliqués par l'accumulation des radicaux libres, générés par la Deltaméthrine le tout se traduit par une peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques et rénaux. Par contre, nos résultats montrent que le traitement par l'*Ephédra alata* pourrait empêcher l'altération induite par la Deltaméthrine, en jouant un rôle important dans la prévention des complications induites par la peroxydation lipidique, cette réparation est nettement observée chez les rats traités par le macérât.

Nos résultats montrent que l'activité du GSH et GST hépatique et rénal a diminué chez les rats exposés à la Deltaméthrine, et aussi chez les rats ayant consommé la plante en poudre, par rapport au témoin, en revanche on constate une augmentation significative chez les autres lots, et ce-ci par rapport au groupe exposé à la Deltaméthrine. Face au dommage oxydatif causé par les radicaux libres oxygénés sous l'effet toxique du xénobiotique, la cellule vivante peut se défendre grâce à plusieurs systèmes de détoxification dont le plus important est celui du glutathion qui est un tri-peptide jouant un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydatif (Kaplowitz et *al.*, 1985 ; Masella et *al.*, 2005). Ce système enzymatique contient également le glutathion S-transférase qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les substances étrangères, avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (Saka et *al.*, 2011). L'augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydantes peut servir de mécanisme de compensation supplémentaire pour maintenir l'intégrité de la cellule et la protection contre les dommages des radicaux libres (Boelsterli, 2007).

Nous avons observé une restauration des activités des enzymes antioxydantes chez les rats intoxiqués par la Deltaméthrine après l'administration des extraits d'*Ephédra alata* qui suggère l'effet protecteur de ce produit contre les dommages oxydatifs induits par le xénobiotique. En revanche cette activité n'a pas été enregistrée chez le cinquième lot qui a consommé l'*Ephédra alata* sous forme de poudre, ou en a noté une diminution des taux de GST et GSH, par rapport aux témoins.

L'analyse histologique du foie confirme les résultats biochimiques, où on note que la Deltaméthrine a induit des modifications structurales remarquables, qui ont mené à des perturbations des paramètres biochimiques (Djahra, 2014). D'une part l'utilisation des substances naturelles comme des solutions thérapeutiques, dans notre cas le

principe actif de l'espèce végétale *Ephédra alata*, a réparé les lésions issues de xénobiotique (Deltaméthrine). D'autre part, et comme l'Ephédrine est le principe actif majeur de l'espèce *Ephédra alata* il est important de savoir qu'elle a beaucoup d'effets indésirables (surtout a des concentrations élevés), parmi les quelle, provoquer une hépato toxicité avec nécrose massive sur les tissu hépatique (Zang et Navaro, 2016).

Conclusion
&
Perspectives

CONCLUSSION ET PERSPECTIVES

La phytothérapie est l'ensemble des plantes médicinales, permettant de remédier à des problèmes du quotidien de manière naturelle, elle est de plus en plus utilisée, et son efficacité est reconnue. L'espèce végétale *L'Ephédra alata* alenda, utilisée en médecine traditionnelle est une plante très répandue dans la région d'El Oued. L'objectif de Notre travail a été de contribuer à l'évaluation de cette espèce végétale par une enquête ethnopharmacologique suivie d'une valorisation de ces effets sur des rats albinos exposés au Decis expert, un pesticide très utilisé.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que: Selon l'enquête ethnopharmacologique, *l'Ephédra alata* alenda est très peu prescrite par les herboristes de la région, aussi les utilisations citées (maladie respiratoire, diabète et cancer) sont en accord avec celles rapportées dans la littérature, par contre et concernant la posologie et les précautions d'emplois, ils les ont totalement négligées.

L'analyse phytochimique de la partie aérienne de *l'Ephédra alata* a mis en évidence les métabolites secondaires suivants : Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Terpènes, Saponines dans les deux extraits (macérât et décocté), alors que les stérols sont absentes, et enfin les sucres réducteurs sont présents dans le macérât, mais pas dans le décocté. Il est à noter que leurs rendements ont été de l'ordre de 13 et 16% respectivement. Aussi la concentration en composés polyphénoliques est estimée à 13.72 mg EAG/g dans le macérât, et 13.42 mg EAG/g dans le décocté. Enfin l'évaluation de l'effet antioxydant des extraits de la plante par le piégeage du radical libre DPPH a donné les valeurs des IC_{50} de l'ordre de 0.901mg/ml pour le macérât et 1.141mg/ml, pour le décocté.

L'étude *In vivo* de l'effet de cette plante vis-à-vis les xénobiotiques a montré une diminution du poids corporel ainsi que le poids relatif du foie traduit par l'accélération du métabolisme de dégradation des lipides. Le traitement par *l'Ephédra alata* a induit une importante restauration de certains paramètres biochimiques, ce qui montre l'effet protecteur de cette plante. La diminution de l'état de stress oxydatif induit par l'exposition à la Deltaméthrine est nettement observée dans le macérât par rapport au décocté, par contre dans la poudre il est totalement absent. Et enfin notre étude histologique a confirmé les résultats précédents.

Vu l'importance de ces résultats, il est nécessaire de faire d'autres travaux approfondis pour étudier :

- L'extraction par d'autres solvants organiques.

- L'identification des substances chimiques par des méthodes chromatographiques telles que le CCM, HPLC, CPGMS.....
- Tester l'effet antioxydant des extraits végétaux par d'autres méthodes de piégeage : FRAP, Caroténoïdes...
- La purification des substances majeures de l'espèce *Ephédra alata* et essayer son activité biologique (comme antioxydant).
- Finalement et afin d'éviter les effets indésirables de la plante il est nécessaire de déterminer sa dose optimale.

Références
bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abourashed, E. (2003). Ephedra in perspective—a current review. *Phytotherapy Research*; Aug; 17(7):703-12.
- Albano, S. M. & Miguel, M.G., (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*. 33: 1-6.
- Afanasev, I. B. (2009). Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals, Taylor and Francis group. Chemical Rubber Company Press. London. New York, Chap. 6, P. 176.
- Akrouf, A., Hajlaoui, H., Mighri, H., Najjaa, H. & Neffati, M. (2009). Antimicrobial and antioxydant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Académie des sciences*.24, 1-7.
- Amakura, Y., Yoshimura, M., Yamakami, S., Yoshida, T., Wakana, D., Hyuga, M., Hyuga, S., Hanawa, T. & Goda, Y. (2013). Characterization of Phenolic Constituents from Ephedra Herb Extract, *Molecules*, 18, 5326-5334. 3.
- Arias, I. M. (2009). The liver biology and pathology. Fifth edition. Wiley-Blackwell, Ukraine, Chap 1, P 4-6.
- Armstrong, D., Gadoth, N. & Gobel, H.H. (2011). Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. *Oxidative Stress and Free Radical Damage in Neurology*. Humana Press Tel Aviv, Israel & Springer Science and Business Media. LLC, Chap1, P.2.
- Armstrong, D. (2015). *Advanced Protocols in Oxidative Stress III*. Springer Science et Business Media, New York. Chap10, P 123.124.125. Chap 4, P 49.
- Armstrong, D. & Stratton, D.R. (2016), *Oxidative Stress and Antioxidant Protection. The Science of Free Radical Biology and Disease*, Edition John Wiley. New Jersey, Chap1, P4.8.
- Anonyme : Fiches signalétiques AGRITOX. (2008). AGRITOX - Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques. Deltaméthrine in [http : //www.agritox.anses.fr/php/fiches.php](http://www.agritox.anses.fr/php/fiches.php).
- Baker, M., Cerniglia, G. & Zaman, A. (1990). *Anal. Biochem*. Edion mason. France, Paris.P 190.
- Baldi, I., Mohamed Brahim, B., Brochard, P., Dartigues, J. F. & Salamon, R. (1998). Effets retardés des pesticides sur la santé: état des connaissances épidémiologiques. Elsevier Masson, Issy les Moulineaux, France. Vol. 46, N°2, PP. 134-142.

- Ballantyne, B., Marrs, T.C. (2004). Pesticide Toxicology and International Regulation. John Wiley & Sons. Linear transformer driver, Ukraine. Chap.4, P.129-141.
- Békrol, Y.A., Mamyrbekova, J. A., Boua, B. & Fézan, H. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). Sciences & Nature Vol. 4 N°2 : 217 – 225.
- Benhammou, N; Atik Bekkara, F. & Kadifkova, P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf, Advances in Food Sciences, 29(3), 155-161.
- Benkhiguel, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A. & Douira1, A. (2011). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Botanica barcinonensis. Vol. 53, pp.191-216.
- Blumenthal, M. (1998). The complete German commission monographs. American Botanical Council, Texas, p: 125-126.
- Boelsterli, U. A. (2007). Mechanistic Toxicology: The Molecular Basis of How Chemicals Disrupt Biological Targets. Second Edition. Chemical Rubber Company Press. P.93-97.
- Boozer, C.N., Nasser, J.A. & Heymsfield, S.B. (2001). An herbal supplement containing ma-huang-guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. international journal obesity relat metab disord. 25: 316–324.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Academic Press, 72 (57), 248-254.
- Braun, L. & Cohen, M. (2015). Hers & Natural Supplements, An evidence-based guide. Volume 1, 4TH Edition. Elsvier Australia. Chap. 2, P.19-20.
- Brooker, C. (2011). Le corps humain: Étude, structure et fonction. De boeck. Deuxième édition. Page 334.
- Bruneton J., (1999). Les tanins. Editions médicales internationales. p.369-404.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd., revue et augmentée, Paris, Technologie & Document. Éditions médicales internationales. P. 978-2-7430-1188-8.
- Calvet, R., (2005). Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. France Agricole Editions Amazon France. P 12.

- Carey, J. (2000). Herbal remedies: this market is a bit too free. *Business Week*. September 4 : 75-76.
- Castledina, R.M. & Harborne, J.B., (1976). *Phytochemistry*. Journal of the American Pharmacists Association. Vol. 20 P. 339–345.
- Caveny, S., Charlet, D.A., Freitag, H., Maier-Stoiete, M. & Starratt, A. N. (2001). New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). *American Journal of Botany*. Vol.88, N°7.P. 1199–1208.
- Christenhusz, M., Reveal, J., Farjon, A., Gardner, M., Mill, R. & Chase, M.W. (2011). A new classification and linear sequence of extant gymnosperms. *Phytotaxa* 19: 55-70
- Cooper, J. Niggli, U. & Leifert, C. (2007), Edition Woodhead publishing Limited, USA, Chap 16,P 320.321.
- Danin, A., (1973). Contributions to the flora of Sinai. New and confused taxes. Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh.32: 259–271.
- Das, K.K. & Das, S.N. (2004). Studies on the role of ascorbic acid on nickel induced hepatic nucleic acid concentration in rat. *Basic Clinic Physiologic Pharmacol*. 15, 185-195.
- Dehkordi, N.V., Kachouie, M. A., Pirbalouti, A. G., Maekpoor, F. & Rebef M. (2005). Total phenolic content, Antioxydant and antibacterial activities of the extract of *Ephedra procera* Fisch. Et Mey. *Acta Poloniae. Drug Reseach*, vol.72 N°. 2 pp. 341-345.
- Delores, C.S (2004), *Nutrition and Well-Being A to Z*, Volume 1 A-H, Thomson Gale. P. 42.
- Derbel, S., Touzard, B., Triki, MA. & Chaieb, M. (2010). Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*. Vol. 205. pp. 471–474.
- Dharmendra, S., Poonam, S., Abhishek, G., Shikha, S., Ekta, S. & Rajeev N. (2012). Qualitative Estimation of the Presence of Bioactive Compound in *Centella Asiatica*: An Important Medicinal Plant. *International Journal of Life Science and Medical Science*. Vol. 2 N° 1. PP. 5-7.
- Djahra, A.B. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. These de Doctorat. *Biologie Végétale*. Université BADJI MOKHTAR-Annaba, Alger.PP 73.
- Dollery, C. (1991). *Therapeutic drugs*. Churchill Livingstone Incorporation: New York. P.65.

- Dollery, C. (1994). Determination of enantiomers in ephedrine mixtures by polarimetry. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 83: 1310–1314.
- Duffus, J. H. & Worth, H. G. J (2006). *Fundamental Toxicology*. The Royal Society of Chemistry publishing. Ukran. Chap. 22, PP.290 - 296.
- Durackova, Z. (2014). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In: Gvozđja´kova´ A (ed) *Mitochondrial medicine. Mitochondrial metabolism, diseases, diagnosis and therapy*. Springer, Amsterdam. doi:10.1007/978-1-4020-6714-3.
- El-Nekeety, A.A., El-Kady, A.A., Soliman, M.S., Hassan, N.S. & Abdel-Wahhab, M.A. (2009). Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9). doi: 10.1016/j.fct.2009.06.019.
- Emara AM et Draz EI (2007). Immunotoxicological study of one of the most common over-the-counter pyrethroid insecticide products in Egypt. *Inhalation Toxicology* 19(12): 9971009.
- Evert, R.F. & Zichhorn, S.E. (2013). *Raven Biology of plants*. Eighth edition. Edition Wilhem Hansen. Freeman and company. Chap. 18, P.454.
- Favier, A. E., Nève, J. & Faure, P. (1994). Trace Elements and Free Radicals in Oxidative Diseases, American Oil Chemists' Society Press, USA. P.1-3.
- Fetrow, C. W. & Avila, J. R. (1999). *Complementary & Alternative Medicines*. Springhouse: Pennsylvania. P. 24.
- Friedmen, W. (1996). Introduction to biology and evolution of the genitals. *international journal of plant*. P. 157.
- Friedmen, W. (1998). The evolution of double fertilization and endosperm, and historical perspective. *International Journal of Plant*. P 16.
- Freitag, H. & Maier-Stolte, M. (1989). The Ephedra-species of Forsskal: identity and typification. *Taxonomie*. PP.545–556.
- Ghanem, S. (2008). Antimicrobial Activity and Tentative Identification of Active Compounds from the Medicinal Ephedra alata Male Plant. *Jurnal of Taibah University Medical Siences*. Vol.3, pp. 7-15.
- Guoyi, M., Supriya, A. B., Yolande, M. D., Shilpa, G. L., Rangaswamy, N. et Dennis, R. F. (2007). Pharmacological Effects of Ephedrine Alkaloids on Human 1- and 2-Adrenergic Receptor Subtypes. *Journal of Pharmacology*. 322: pp. 214-221.

- Gutteridge, J.M.C. & Halliwell, B. (2010) Antioxidants: molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun* 393:561–564.
- Habig, W.J., Pabst, M.J. & Jacoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249: 7130-7139.
- Haj, M.D., Ezzaher, A., Neffati, F., Douki, W., Gaha L. & Najjar, M .F. (2012). Étude d'un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs : le malondialdéhyde. Elsevier Masson Societies American scientific . *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, (27): 153-158.
- Haze, S., (2002). Effects of fragrance inhalation on sympathetic activity in normal adults; *Japanese Journal of Pharmacology*; 90(3):247-53.
- Hegazi, G. et El-Lamey T. (2011). In vitro Production of Some Phenolic Compounds from *Ephedra alata* Decne. *J. Appl. Environ. Biology Science*. Vol, 1. N°8. PP.158-163.
- Hidayat, R., et Fatmawati. (2016). Anti-cancer activity of *Aquilaria malacensis* leaves on human cervical cancer cells. *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research*, 3(1), 46-49.
- Hill M. K., 2010. *Understanding Environmental Pollution*. Trid Edition, Cambridge University press. P 24.
- Hoffman, B. et Lefkowitz, R. (1996). Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. McGraw-Hill: New York. PP. 221–248.
- Hüsni, K. & Gerhard, B. (2010). *Essntial oils. Science, Technology, and Applications*. Chemical Rubber Company Presse. Taylor & Francis Group. PP.10.13.
- Hussein, S.A.M.; Barakat, H.H.; Nawar, M.A.M. & Willuhn, G (1997). Flavonoids from *Ephedra aphylla*. *Phytochemistry*. Vol. 45. N° : 8. PP. 1529–1532.
- Hyuga, S.; Shiraishi, M.; Hyuga, M.; Goda, Y. & Hanawa, T. (2011). *Ephedae herba*, a major component of maoto, inhibits the HGF-induced motility of human breast cancer MDA-MB-231 cells through suppression of c-Met tyrosine phosphorylation and c-Met expression. *Journal of Traditional and complementry Medicine complementary*. Vol. 28. PP. 128– 138.
- Iserin, P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*, 2^{ème} édition Larousse, France. P.97.

- Jaradat, N., Hussien, F. & Ali, A. (2015). Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Estimation of Total Flavonoids, Total Phenols and Antioxidant Activity of *Ephedra alata* Decne. *Material and Equipment Standard for Matériel. International Standard Serial Number: 2028-2508. Journal of Material and Environmental Science.* 6 (6) 1771-1778.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U. & Lee S.C. (2004). Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 52: 3389–3393.
- Ji, L. (1997). “GC-MS analysis of constituents of essential oils from stems of *Ephedra sinica* Stapf, *E. intermedia* Schrenk et C.A. Mey. and *E. equisetina* Bge. *Chinese Journal of Chinese Materia Medica;* 22(8):489-92, 512.
- Jones, D. (1999). *Ephedra (Ma-huang); Today and Yesterday: Traditional and Topical Aspects of its Nutritional and Clinical Applications.* Presented at AHPA Ephedra International Symposium, Arlington. PP.21-22.
- Jorgen, S. (2004), *Chemical pesticides, mode of action and toxicology,* Edition Chemical Rubber Company Press USA, Chap.1, P.2.
- Josefson, D. (1995). Herbal stimulant causes US deaths. *British Medical Journal.* vol. 312, PP. 1378–1379.
- Kaplowitz, N.T. & Okhtens, M. (1985). The regulation of the hepatic glutathione. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 25, 715-744.
- Kaplowitz N et Deleve. L.D. (2007). *Drug-Induced Liver Disease,* second edition, Informa Healthcare, USA. P. 738.
- Kmail, A., Lyoussi, B., Zaid, H. et Saad, B. (2017). In vitro Assessments of Cytotoxic and Cytostatic Effects of *Asparagus aphyllus*, *Crataegus aronia*, and *Ephedra alata* in Monocultures and Co-Cultures of Hepg 2 and THP-1-Derived Macrophages. *Pharmacognosy Communications Volume 5, Issue 3.* PP. 195-172.
- Keerthi, M., Prasanna, J., Aruna, M. et Rao, N. (2014). Review on polyphenols as nature's gift world. *Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences,* 3 (4): 445-455.
- Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N., Dossahoua, T. et Laurent, A. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature.* Vol. 6, N°2, pp 1 – 15.

- Konno, C., Mizuno, T. & Hikino, H. (1985). Isolation and hypoglycemic activity of Ephedrans A, B, C, D and E, glycans of Ephedra distachya herbs. *Planta Medica*. 51: 162–163.
- Kopple, J. D. & Massry, S. G. (2004). *Kopple and Massry's Nutritional Management of Renal Disease*. Lippincot Williams & Wilkins. Seconde Edition. P 424.
- Laarman, V. (2013). *Plantes et bien-être, Dossier Spécial phytothérapie, Santé Nature Innovation Edition*. Suisse, P3.
- Leguay, J.P. (1999). *La pollution au Moyen Age: dans le royaume de France et dans les grands fiefs*. Editions Jean-paul Gisserot Amazon France.p 45.
- Laher, I. (2014). *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Chap1, P.4-5.
- Leung, A. et Foster, S. (1996). *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*. John Wiley & Sons: New York. 3 : 64-67.
- Leung, A. (1999). *Ephedrine, Ephedra, Mahuang, Mahuanggen* What are They Presented at AHPA Ephedra International Symposium. Arlington, Virginia in USA. 5 : 53-56.
- Ligor, M., Olszowy, P. & Buszewski, B., (2011). Application of medical and analytical methods in Lyme borreliosis monitoring. *Publication Medicinal Central*. Mar; 402(7): 2233–2248.
- Limberger, R.P., Jacques, A.L.B. Schmitt, G.C. et Arbo, M.D. (2013). *Pharmacological Effects of Ephedrine*. *Natural Products*, PP. 1218- 1237.
- Litchfield, J.T. & Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 96: 99-113.
- Levin, G., Cogan, U. & Mokady, S. (1990). Riboflavin deficiency and the function and fluidity of rat erythrocyte membranes. *Journal of Nutrition*. 120 (8): 857–861.
- Marié, E. (1990). *Grand formulaires de la pharmacopée Chinoise*. Edition Paracelse. PP.58-59, 60, 72-73, 172, 290.
- Masella, B. A., Dibenedetto, R., Vari, R., Filesi, C. & Giovannimi, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione related enzymes. *The journal of Nutrition Biochemistry*. 16, 577-586.

- Masters, G. & Masters, R. (1992). Deltamethrin uses and environmental safety, *Reviews of environmental contamination and Toxicology*. Vol 124, By Springer Verlag, New York Incorporration. PP. 1-2.
- Matkowski, A. & Piotrowska, P. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 77(5): 346-353.
- Minisci, F. (1997). *Free Radicals in Biology and Environment*. Springer Science Business Media. Italy.P2.
- Mira, J.P. (2008). L'albumine endogen un pouvoire anti-oxydant majeurs. *Hôpital Cochin*. France, Paris. Elsevier Masson. P: 7-9.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D. et Widdop, B. (2011). *Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material*. Edition: Pharmaceutical press. USA (fourth edition). Chap. 16, PP. 258-259.
- Multigner, L. (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques & Santé*. Volume 4.
- Munoz, B. J., Arrillaga, I. & Segura, J. (2006). Essential oil variation within and among naturel populations of *Lavandulalotifolia* and its relation to their ecological areas, *Biochemical systematics and ecology*. PP. 1-10.
- Murray, M. (1995). Ephedra. In *The Healing Power of Herbs The Enlightened Person's Guide to the Wonders of Medicinal Plants*, 2nd edition. Prima Publishing. Chap. 3, PP.214.
- Murray, R. K., Kennelly, P. J., Botham, K. M., Bende, D. A., Roduell, V.W. & Weil, A. (2013). *Biochimie de harper*. Edition deboeck supérieure. Bruxelles .Chap. 53, PP. 704-710.
- Nawwar, M., El-Sissi, H.I. & Barakat, H.H. (1984). Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939
- Neal, M.J. (2012), *Medical Pharmacology at a Glance*, Seventh Edition, by John Wiley & Sons, Limited compapany. Chap 4, P14.
- Nollet, M.L. & Rathore, H.S. (2010). *Handbook of pesticides. Method of pesticide Residues Analysis*.CRC Press. USA. P 8, 424.
- Ozenda, P. (1991). *Flore et végétation du Sahara*. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3éme Ed.). P 662.
- Parejo, I; Viladomat, F; Bastida, J; Rosas-Romero, A. Flerlage, N. Burillo, J & Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and

- antioxydant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6882–90.
- Packer, L. & Glazer, A. N. (1990). *Methods in Enzymology Volume 186, Oxygen Radicals in Biological Systems, Part B ,Oxygen Radicals and Antioxidants*. Academic press. Incorporation. Chap.1, P.1.
 - Parker, M. & Wilice, M. (1994). Structure and function of Glutathione S Transferase. *Biochem Biophys. Acta*. 1205, 1-18.
 - P.D.A.U. willaya d'El Oued (1997).
 - Phinney, K.W., Ihara, T. et Sander, L.C. (2005). Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1077, pp. 90–97
 - Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, Vol. 4, pp. 25-39.
 - Prashant, T., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K. et Harleen, K. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review . *Internationale Pharmaceutica Scientia*.| Jan-March 2011. Vol 1.p104.
 - Price, R. (1996). Systematic of the genitals a review of morphological and molecular evidence. *International Journal of Plant Sciences*. 157: 40-49.
 - Reinier, J. O. & Leval, J. (2011). *Incontinences urinaires de l'homme*. Sprinsle Science. France Paris. Chap. 21, P. 225-227.
 - Robinson, S. H., (1990). Degradation of hemoglobin. 4th Edition. In *Williams Hematology* edition, New York. PP. 407 – 414.
 - Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D, et Panthong, A. (2003). Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 89 (1): 91-95. doi:10.1016/S0378-8741(03)00267-8.
 - Saad, B. Said, O. Greco, D. (2011). *Arab and Islamic Herbal Medicine: Traditional System, Ethics, Safety, Efficacy and Regulatory Issues*. Wiley-Blackwell John Wiley & Sons Incorporation. 9:24-25.
 - Sahreen, A., Khan, M. R. & Khan, R. A. (2010). Evaluatio of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, PP. 103, 122.
 - Saka, S., Bahi, A. & Aouacheri, W. (2011). L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats the effect of

- oxidative stress induced by lead acetate on the glutathione enzymatic system in rats. *Annales de Toxicologie Analytique*, 23(3): 139-145. doi: 10.1051/ata/2011123
- Sakamotos, S., Kudo, H. & Kawazaki, T. (1988). Effects of Chinese herbal medicine, Keshibukuryo-gan on the gonadal stem of rats. *Journal Ethnopharmacol*, pp.23-8.
 - Satyanarayana, U. et Chakrapani, J. (2013). *Biochemistry (with clinical concepts & as studies)*. Edition Elsevier. Chapitre 31, P. 638.
 - Savoleinen, V.V., Spichiger, R.E., Figeat, M. & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérée et tropicales*. Troisième édition. Ed. PRESSES POLYTECHNIQUE. P.82.
 - Schweglar J & Lucius R (2013), *Le corps humain: anatomie et physiologie*, 5eme édition, Maloine, Paris. P. 338-340.
 - Servili, M. & Montedoro, G. (2002). Contribution of phenolic compounds in virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*. PP. 104, 602–613.
 - Shabana, M.M. (1990). Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxinated rats. *Archiv fur Experimentelle Veterinar Medizin, USA*. 44: 389.
 - Shibamoto, T. (2002). Analytical methods for trace levels of reactive carbonyl compounds formed in lipid peroxidation systems. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 41: 12-25.
 - Sing, B., Saxena, A.K., Chandan, B.K., Anand, K.K., Suri, O.P., Surisatti, K.A., & Surisatti. (1998)- Hepatoprotective activity of verbenaquin on experimental liver damage in rodents. *Fitoterapia*. (69): 134-140.
 - Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela, R. Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Orlando Academic Press: 152-178.
 - Soltender D. (1989). *Phytotechnie générale. Les bases de la production végétale: le sol*. T1, 17e édition, Paris, pp 9-10 et 367-403.
 - Soni, M.G., Carabin, I.G., Griffiths, J.C. & Burdock, G.A. (2004). Safety of ephedra: lessons learned. *Toxicology Letters*, Vol. 150, pp. 97–110.

- Stevens E (2014), Medicinal Chemistry. The Modern Drug Discovery Process. Pearson Education edition. New York .Chap8, P 185.186.
- Stoytcheva, M. (2011), Pesticides in the Modern World. Effects of Pesticides Exposure, Edition Intech. Croatia. PP. 37-38.
- Su, X., Duan, J., Jian, Y., Shi, J. & Kakuda Y. (2006). Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 348-353.
- Timbrell, J.A. (2009). Principles of biochemical toxicology. Fourth edition. informa Healthcare USA, PP.123-125.
- Tirosh O (2015), Liver letabolisme and fatty liver disease, Taylor and francis group. Chemical Rubber Company press. London, New York. P.245.
- Tomlin, C. 1994. The Pesticide Manual A World Compendium 10eme édition., Incorporating the Agrochemicals Handbook. British Crop Protection Council et Royal Society of Chemistry, Thornton Heath. PP. 36-38.
- Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbe, C. & Guerrero J., (2006): Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*. 67: 984–987.
- Tron, I., Piquet, O. & Cohuet, S., (2001). Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Eds : ORS Bretagne, p. 9
- Yildirim, A., Mavi, A. & Kara, A.A., 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4083-4089.
- Ueli, A., Cecillia, M. et Donald, A., (1991). Flavonoids Released Naturally from Alfalfa Seeds Enhance Growth Rate of *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*. vol. 95, N° 3, PP. 797-803.
- Vallerand, A. (1993). Effects of ephedrine/xanthines on thermogenesis and cold tolerance. *International Journal Obesity* 17: S53–S56.
- Verbois, S. (2015). La phytothérapie: Une synthèse de référence illustrée pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes. Éditions Eyrolles France, Paris. Chap. 1, PP. 19-20.
- Vertuani, S., Angusti, A. & Manfredini, S. (2004). The antioxidants and prooxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*. 10: 1677-1694.

- Wang, Q., Yang, Y., Zhao, X., Zhu, B., Nan, P. & Zhong, Y. (2006). Chemical variation in the essential oil of *Ephedra sinica* from Northeastern China. *Food Chemistry*, Vol. 98, pp. 52–58.
- Weckbercker, G. et Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. Vol. 40(3): 257-264.
- Waite, G. & Dorough, W.H. (1977), *Fate of Pesticides in Large Animals*, Academic press INC, New York, Chap 1, P1.
- Weiss, R.F. (1988). *Herbal Medicine*. AB Arcanum: Avon. P. 84.
- Wong, W., Guo, D., Wang, X., Yin, Z., Xia, B. et Li, N., (2005). Study of cinnamic acid in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 43, 2005, p. 929-937.
- Yagi, K. (1976). Simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. (15), 212-216.
- Yildirim, A., Mavi, A. & Kara, A.A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4083-4089.
- Yuki, K., Shu, Z., Takayuki, O., Ken, T., Javzan, B., Chinbat, S., Hirotsushi, F. & Katsuko, K. (2009). Molecular Analysis and Chemical Evaluation of *Ephedra* Plants in Mongolia. *Biological and Pharmaceutical Bulletin Journals*. Vol 32 (7): PP.1235-1243.
- Zaacks, S., Klein, L., Tan, C. D, Rodriguez, E. R & Leikin, J. B. (1999). Hypersensitivity myocarditis associated with *Ephedra* use. *Journal of Clinical Toxicology*. 37: 485–489.
- Zang, D. & Hamauru, Y. (2003). Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of green, red and yellow bell peppers, *J. Food, Agric. Environ.* Vol. 1. PP. 22-27.
- Zhang, J., Zhu, W., Zheng, Y., Yang, J. 1. & Zhu, X. (2008). The antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides cyfluthrin and beta-cyfluthrin. *Reprod Toxicol* 25(4): 491-6.
- Zheng, E. & Navarro, V. (2016). Liver injury due to herbal and dietary supplements: A review of individual ingredients. *Clinical liver disease*. Vol. 7, P. 81.

Référence en arabe

- الهلالي سلام حسين 1988. النباتات الطبية والعطرية و السامة في الوطن العربي. المنظمة العربية للتنمية الزراعية. جامعة الدول العربية. الخرطوم. ص 38.
- حليس يوسف 2007. الموسوعة النباتية لمنطقة سوف. مطبعة الوليد. الوادي، الجزائر. ص 186-187.

Annexe

Annexe 1 : fiche questionnaire.**Informateur**

– Age : < 20 ; (20-30) ; (30-40) ; (40-50) ; (50-60) ; + de 60

– Sexe: Masculin Féminin

– Niveau académique: Néant Primaire Secondaire Universitaire

Matériel végétal:

– Nom vernaculaire :

– Nom scientifique:

– Plante seule Association possible (plantes)

:.....

– Partie utilisées: Tige Fleurs Fruits Graine Écorce
Rhizome Bulbe Feuilles Plante entière Autres combinaisons

:

– Forme d'emploi: Tisane Poudre Huiles essentielles Huiles grasses Extrait (teinture, solution, gélule) :.....

– Mode de préparation: Infusion Décoction Cataplasme Cru
Cuit Autres :

– Dose utilisée: - Pincée Poignée Cuillerée - Dose précise

Autres :.....

– Mode d'administration : Oral Massage Rinçage Badigeonnage
 Autres :

– Posologie: nombre de prise par jour. 1fois/jour 2fois/jour 3fois/jour
Autres :.....

- Durée d'utilisation (durée de traitement) : Un jour Une semaine Un mois
 Jusqu'à la guérison

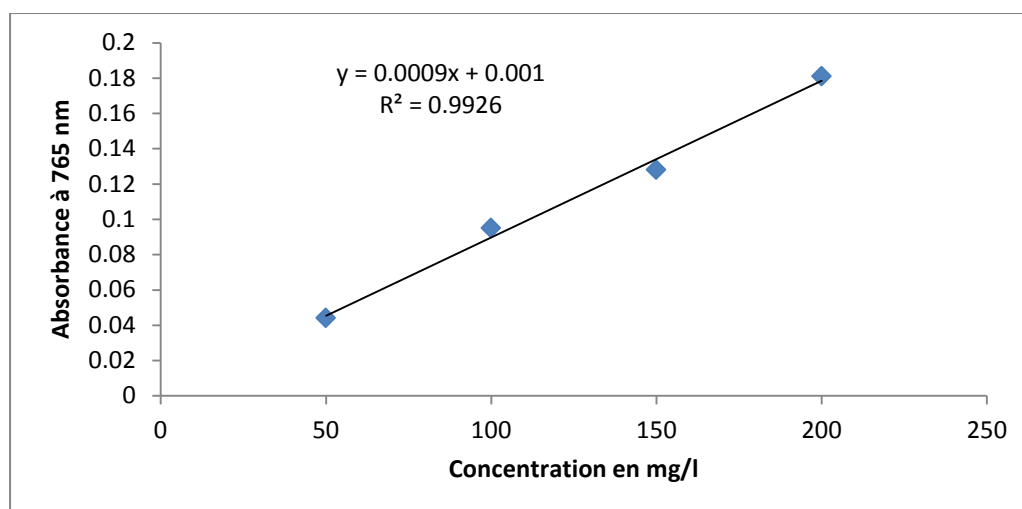
– Type de maladie:

– Résultats: Guérison Amélioration Inefficace

- Effets secondaires :

– Toxicité:

- Précaution d'emploi :.....

Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexe 3 : Méthodes d'analyses des paramètre biochimiques :

PRESENTATION

Réf.20042, (60 Tests)	Réf.20043, (100 Tests)	Réf.20043, (400 Tests)	Réf.20042, (200 Tests)
R1 x 1 x 60 ml	R1 x 1 x 100 ml	R1 x 8 x 50 ml	R1 x 2 x 100 ml
R2 x 20 x 3 ml (µg/µl)	R2 x 10 x 10 ml (µg/µl)	R2 x 8 x 50 ml (µg/µl)	R2 x 2 x 100 ml (µg/µl)

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase.

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



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

GOT: Transaminase glutamique oxaloacétique

MDH: Malate Déhydrogenase

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris PH 7.8 à 30°C	30 mmol/l
Solution	L- aspartate	200 mmol/l
Réactif 2	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	800 U/l
	MDH	600 U/l
	Oxoglutarate	12 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20042) ou 10 ml Réf (20043) de Tampon R1. Pour les Réf (20050) et (200492) reconstituer chaque R2 par un flacon R1. cette solution de travail est stable : 7 jours à 2-8°C. ; 24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm
Température.....25-30-37°C
Cuve.....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25, 30 ou 37°C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incuber 1 minute. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

GOT-ASAT

Méthode cinétique IFCC
sans phosphate de pyridoxal

CALCUL

à 340 nm $\Delta DO/\text{min} \times 1750 = \text{UI}$

LINEARITE

Si la $\Delta DO/\text{min}$ à 340 nm est supérieure à 0.15, répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	Jusqu'à 18 UI/l	Jusqu'à 22 UI/l	Jusqu'à 31 UI/l
Hommes	Jusqu'à 19 UI/l	Jusqu'à 25 UI/l	Jusqu'à 35 UI/l

REMARQUE

L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H; Bower and Cols. Clin. Chim Acta 70, (1976)
Bergmeyer H et Wahlefeld Clin. Chem 24, 58 (1978). minutes.

PRESENTATION

Réf. 20046, (50 Tests)	Réf. 20047, (100 Tests)	Réf. 20040, (450 Tests)	Réf. 200482, (220 Tests)
R1: 1 ± 85 ml	R1: 1 ± 110 ml	R1: 9 ± 50 ml	R1: 2 ± 110 ml
R2: 20 ± 3 ml (lyophil)	R2: 10 ± 10 ml (lyophil)	R2: 9 ± 50 ml (lyophil)	R2: 2 ± 110 ml (lyophil)

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



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

GPT: Transaminase Glutamique pyruvique

LDH: Lactate Dehydrogenase

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris PH 7.5 à 30°C	100 mmol/l
Solution Tampon	Alanine	500 mmol/l
Réactif 2	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	1200 U/l
	Oxoglutarate	15 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20046) ou 10 ml Réf (20047) de Tampon R1. Pour les Réf (20040) et (200482) reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1.

Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8°C.

24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm
 Température 25-30-37°C
 Cuve.....1 cm d'épaisseur
 Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

GPT-ALAT

Méthode cinétique (IFCC)
 sans phosphate de pyridoxal

solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25,30 ou 37 °C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incubé 1 minute. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

CALCUL

à 340 nm $\Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750 = \text{U/l}$

LINEARITE

Si la $\Delta\text{DO}/\text{min}$ à 340 nm est supérieure à 0,15 répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	jusqu'à 18 U/l	Jusqu'à 22 U/l	Jusqu'à 31 U/l
Hommes	jusqu'à 22 U/l	Jusqu'à 29 U/l	Jusqu'à 40 U/l

REMARQUE

L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H. Schaibe and Walefeld. Clin. Chem. 24 58 - 73 (1978).

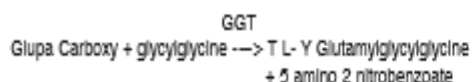
Bergmeyer and Horder Clin. Chem. Acta 105 147 F (1980).

PRESENTATION

Réf. 20021, (60 Tests) R1 : 1 x 65 ml R2 : 20 x 3 ml (lyoph)	Réf. 20022, (100 Tests) R1 : 1 x 110 ml R2 : 10 x 10 ml (lyoph)	Réf. 200222, (125 Tests) R1 : 1 x 140 ml R2 : 18 x 10 ml (lyoph)
--	---	--

PRINCIPE

Détermination cinétique de la Gamma Glutamyl transférase selon la réaction suivante:

**REACTIFS**

Réactif 1	Tampon Glycylglycine Solution tampon pH 7,9 à 30° C	150mmol/l
Réactif 2	Substrat Glupa Carboxy	6 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Prendre le substrat R2 par 3 ml (réf 20021) ou 10 ml (Réf 20022 et 200222) de tampon R1.

Le réactif de travail est stable 7 jours à 20-25°C
1 mois à +4°C

ECHANTILLON

Sérum non hémolysé

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde :405 nm (410)
Température :25, 30 ou 37° C
Cuve :1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25, 30 ou 37°)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et Incuber 1 minute. Mesurer l'augmentation de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

GAMMA GT

Méthode colorimétrique cinétique
(IFCC)

CALCUL

405 nm : U/l = DO/mn x 1190
410 nm : U/l = DO/mn x 1339

LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 500 U/l à 37°C.
Si l'activité est supérieure, répéter le test en diluant le sérum au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l.
Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Hommes	6 - 28 U/l	8 - 38 U/l	11 - 50
Femmes	4 - 18 U/l	5 - 25 U/l	7 - 32

NOTES

Plaamas contenant des Citrates, Oxalates ou de l'EDTA ne peuvent pas être utilisés dans ce test.

BIBLIOGRAPHIE

Lum G. and Gabino S.R. Clin. Chem. 18, 358 (1972)
Szasz G., Clin. Chem., 15, 124 (1969)

PRESENTATION

Réact. 20015, (50 Tests)	Réact. 20016, (100 Tests)
R1 : 20 x 3 ml	R1 : 10 x 10 ml
R2 : 1 x 7 ml	R2 : 1 x 11 ml

Réact. 20017, (120 Tests)	Réact. 20018, (250 Tests)
R1 : 4 x 30 ml	R1 : 5 x 50 ml
R2 : 2 x 7 ml	R2 : 2 x 14 ml

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline (PAL) selon la méthode recommandée par la société allemande de chimie clinique (DGKG)

PAL

nitro-4 phénylphosphate H₂O → nitro 4 phénol+ phosphate.

REACTIFS

R1 : Réactif tampon	
Tampon diéthanolamine (pH 9,8)	1 mol/l
Chlorure de magnésium	0,5 mmol/l
R2 : substrat	
Nitro 4 phénylphosphate	10 mmol/l

PREPARATION

Réactif de travail :

Réact. : 20015 R1..... 8 ml
R2.....0,3 ml

Réact. : 20016 R1.....10 ml
R2.....1 ml

Réact. : 20017 R1.....30 ml
R2.....8 ml

Réact. : 20018 R1.....50 ml
R2.....5 ml

STABILITE

Stabilité du réactif de travail:

- 15 - 25°C5 jours

- 2 - 8°C.....15 jours

PRELEVEMENT

Sérum, plasma recueilli sur héparine, non hémolysé.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde: 405 nm (Hg 400-Hg 420)

Température: 25°, 30° ou 37°C

Cuve: 1 cm d'épaisseur

Zéro de l'appareil: air ou eau distillée

Dans un tube à hémolyse introduire :	
Solution de travail	1 ml
Equilibrer à 25°, 30° ou 37°C	
Echantillon	20 µl

Mélanger et introduire dans une cuve thermostatée,

PHOSPHATASE ALCALINE

Détermination Cinétique

Méthode DGKC

attendre 1 minute puis mesurer l'augmentation moyenne de la D.O par minute pendant 1 à 3 minutes.

CALCUL

405 nmPAL (U/L) = ΔD.O/min x 2750

410 nmPAL (U/L) = ΔD.O/min x 2910

LINEARITE

Si la variation moyenne de D.O/min > 0,250 retrair le rest en diluant l'échantillon au 1/5 dans une solution de NaCl à 9g/l et multiplier le résultat par 5.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Enfants	Jusqu'à 400 U/L	Jusqu'à 500 U/L	Jusqu'à 650 U/L
Adultes	40-160 U/L	50-220 U/L	70-300 U/L

BIBLIOGRAPHIE

Hausamen T.U. et al. Clin. Chim. Acta. 35, 271-273 (1977).

REMARQUE

La mesure de l'activité enzymatique est meilleure dans les quatre heures qui suivent le prélèvement.



BILIRUBIN T&D

Bilirubine T & D

DMSO. Colorimétrique

Détermination quantitative de bilirubine

ND

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

La bilirubine est transformée en azobilrubine au moyen de l'acide sulfanilique diazolé, et se mesure par photométrie. Des deux fractions présentes dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre associée à l'albumine, seule la première réagit en milieu aqueux (bilirubine directe). La deuxième ne réagit que par solubilisation avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) (bilirubine indirecte). Dans la détermination de la bilirubine indirecte, on détermine également la directe, le résultat correspondant à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La bilirubine provient de la dégradation de l'hémoglobine. Elle est transportée depuis la rate vers le foie et est excrétée dans la bile. L'hyperbilirubinémie est le résultat d'une augmentation de la bilirubine dans le plasma. Les causes les plus probables de l'hyperbilirubinémie sont: La bilirubine totale (T): Augmentation de l'hémolyse, altérations génétiques, anémie néonatale, altérations d'erythropoïétines, présence de drogues. Bilirubine directe (D): Cholestase hépatique, altérations génétiques et hépatiques.

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

REACTIFS

R 1 (D)	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (ClH)	150 mmol/L
R 2 (T)	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (ClH)	50 mmol/L
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mol/L
R 3	Nitrite de sodium	29 mmol/L
Optionnel	BILIRUBIN CAL	Ref: 1002250

PRECAUTIONS

R1/R2/RT : Corrosif (C); R35: provoque des brûlures graves.
S26: En cas de contact avec les yeux, rincer à grande eau immédiatement, et rendez-vous chez un médecin

PREPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

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

Indice de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Développement de couleurs en R 2.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 555 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma sans hémolyse (séparé dès que possible des hématies). A l'abri de la lumière.
Stabilité de l'échantillon de par la présence d'hématies: 4 jours à 2-8°C ou 2 mois à -20°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 - Longueur d'ondes: 555 nm (530-580)
 - Cuvette: 1 cm d'éclairage
 - Température: 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	B. Totale	Blanc	B. Directe
R 1 (D) (mL)	—	—	1,5	1,5
R 2 (T) (mL)	1,5	1,5	—	—
R 3 (μL)	—	50	—	50
Echantillon ¹ / Calibreur (μL)	100	100	100	100

- Mélanger et incubé pendant exactement 6 minutes à 15-25°C.
- Lire l'absorption (A).

CALCULS

- Avec calibreur:

$$\frac{(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc Echantillon}}{(A) \text{ Calibreur} - (A) \text{ Blanc Calibreur}} \times \text{Calibreur Conc.} = \text{mg/dL de bilirubine}$$

- Avec facteur:

$$((A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc d'échantillon}) \times \text{Facteur}^* = \text{mg/dL bilirubine dans l'échantillon}$$

$$\text{Facteur} = \frac{\text{Concentration du Calibreur}}{(A) \text{ Calibreur} - (A) \text{ Blanc Calibreur}}$$

Facteur théorique: Bilirubine (T) = 19,1 ; Bilirubine (D) = 14
 Facteur de conversion: mg/dL x 17,1 = μmol/L

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Ref. 1002120 et 1002210). Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur. Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Bilirubine totale Jusqu'à 1,10 mg/dL = 18,81 μmol/L
 Bilirubine directe Jusqu'à 0,25 mg/dL = 4,27 μmol/L

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

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de (T) 0,099 mg/dL (D) 0,04 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 18 mg/dL.
 Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

Bilirubine T	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (mg/dL)	SD	Moyenne (mg/dL)	SD
	1,12	0,02	1,01	0,03
	5,36	0,12	5,28	0,12
	2,33	2,27	2,70	2,32
Bilirubine D	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (mg/dL)	SD	Moyenne (mg/dL)	SD
	0,64	0,01	0,68	0,02
	2,28	0,02	2,53	0,05
	1,91	1,10	2,51	1,95

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,015 A (T).
 1 mg/dL = 0,073 A (D).

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

Les résultats obtenus avec 50 échantillons pour la bilirubine D ont été les suivants: Coefficient de corrélation (r): 0,99

Equation de la courbe de régression: $y = 0,9933x + 0,0039$

Les résultats obtenus avec 50 échantillons pour la bilirubine T ont été les suivants: Coefficient de corrélation (r): 0,996

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,0884x + 0,0208$

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

INTERFERENCES

La présence d'hémolyse fait réduire la valeur en bilirubine^{1,2}. Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de la bilirubine^{3,4}.

REMARQUES

- Pour déterminer la bilirubine dans les néonataux, relever à la pipette 50 μL de l'échantillon. Multiplier le résultat obtenu par 2.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A et al. Bilirubine. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Young DG. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DG. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001044

Cont.	R 1 (D):	1 x 150 mL
	R 2 (T):	1 x 150 mL
	R 3:	1 x 10 mL





UREA-LQ

Urée-LQ

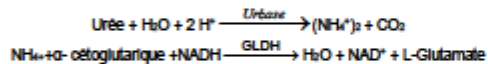
Uréease-GLDH. Cinétique. Liquide

Détermination quantitative de l'urée IVD

A conserver entre 2-8°C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

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



La baisse de la concentration du NADH est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillonnage¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

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

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

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

RÉACTIFS

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

PRÉPARATION

Réactif utilisé (RU): Mélanger 4 vol. R1 Tampon + 1 vol. R2 Substrat. Le (RU) est stable pendant 1 mois à 2-8°C ou 1 semaine à température ambiante (15-25°C).

CAL URÉE: Prêt à être utilisé.

CONSERVATION ET STABILITÉ

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

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

Signes de détérioration du réactif:

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

ÉQUIPEMENT SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 340 nm.
- Cuves appariées 1,0 cm d'éclairage.
- Équipement d'usage général pour laboratoire. (PHEM904-2)

ÉCHANTILLONS

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

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

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

PROCÉDURE

- Conditions d'essai:
Longueur d'onde: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C / 15-25°C
- Régler l'instrument à zéro dans l'eau distillée.
- Pipette dans une cuvette (PHEM904-2):

	Témoin	Standard	Echantillon
WR (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard (PHEM904-2) (μL)	—	10	—
Echantillon (μL)	—	—	10

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

CALCULS

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

$(A_1 - A_2) \text{ Étalon} - (A_1 - A_2) \text{ Blanc}$
l'échantillon

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

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

CONTRÔLE DE QUALITÉ

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

Si les valeurs de contrôle se trouvent en dehors de la gamme définie, veuillez vérifier l'instrument, le réactif et la calibration pour des problèmes.

Chaque laboratoire doit établir son propre système de contrôle de qualité et des actions correctives au cas où les contrôles n'atteignent pas les tolérances acceptables.

VALEURS DE RÉFÉRENCE^{4,5}

Sérum ou plasma:

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

Urine:

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

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

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

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

Si la concentration est plus élevée que la limite de linéarité, il faut diluer 1/2 de l'échantillon avec CINA 9 g/L et multiplier le résultat par 2.

Précision:

	Intra-essai (n=20)		Inter-essai (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	37,5	120	40,0	126
SD	1,05	0,92	1,06	2,07
CV (%)	2,79	0,77	2,65	1,65

Sensibilité: 1 mg/dL = 0,00180 A.

Exactitude: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT (y) n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus à l'aide de 50 échantillons sont les suivants:

Coefficient de corrélation (r^2): 0,98209.

Équation de régression $y = 1,0343x - 1,2105$.

Les résultats des caractéristiques de la performance dépendent de l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Il est recommandé d'utiliser l'héparine comme l'anticoagulant. Ne pas utiliser les sels d'ammonium ou le fluorure¹.

Une liste de médicaments et d'autres substances interférentes avec une détermination de l'urée a été signalée^{2,3}.

NOTES:

- CAL URÉE: Procéder soigneusement avec ce produit car il peut se contaminer facilement à cause de sa nature.
- Les articles de verrerie et l'eau distillée ne doivent pas contenir l'ammoniac et les sels d'ammonium¹.
- La calibration avec une solution aqueuse classique pourrait causer une erreur systématique au niveau des procédures automatiques. Dans ces cas, il est recommandé d'utiliser un calibrateur de sérum.
- Utiliser les extrémités de la pipette jetable pour sa dispense.
- SPINREACT dispose des guides d'utilisateur pour plusieurs analyseurs automatiques. Les instructions pour beaucoup d'entre eux sont disponibles sur demande.

BIBLIOGRAPHY

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz NW et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRÉSENTATION

Réf. 41040	Cont.	R1: 1 x 40 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 2 mL
Réf. 41042		R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 25 mL, CAL: 1 x 5 mL
Réf. 41041		R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 60 mL, CAL: 1 x 5 mL
Réf. 41043		R1: 1 x 480 mL, R2: 1 x 120 mL, CAL: 1 x 5 mL



CREATININE -J

Creatinine

Jaffé. Colorimetric - kinetic

Quantitative determination of creatinine**MD**

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

The assay is based on the reaction of creatinine with sodium picrate as described by Jaffé.

Creatinine reacts with alkaline picrate forming a red complex. The time interval chosen for measurements avoids interferences from other serum constituents.

The intensity of the color formed is proportional to the creatinine concentration in the sample¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Creatinine is the result of the degradation of the creatine, component of muscles; it can be transformed into ATP, which is a source of high energy for the cells. The creatinine production depends on the modification of the muscular mass, and it varies little and the levels usually are very stable.

Is excreted by the kidneys. With progressive renal insufficiency there is retention in blood of urea, creatinine and uric acid. Elevate creatinine level may be indicative of renal insufficiency^{1,4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Picric Reagent	Picric acid	17.5 mmol/L
R 2 Alkaline Reagent	Sodium hydroxide	0.29 mol/L

PRECAUTIONS

R1(Picric acid), R2(NaOH): Corrosive (C);R35:Causes severe burns. S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice. S37/39: Wear suitable gloves and eye/face protection. S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately.

PREPARATION

All the reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm \geq 1.80.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- MINDRAY BS-120 / BS-200E Autoanalyzer.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

- Serum or heparinized plasma¹.
- Creatinine stability: 24 hours at 2-8°C.
- Urine¹: Dilute sample 1/50 with distilled water. Mix. Multiply results by 50 (dilution factor).
- Creatinine stability: 7 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

Male 0,7 - 1,4 mg/dL \approx 61.8 - 123.7 μ mol/L

Female 0,6 - 1,1 mg/dL \approx 53.0 - 97.2 μ mol/L

Urine: 15-25 mg/Kg/24 h

Male 10 - 20 mg/Kg/24 h \approx 88 - 177 μ mol/Kg/24 h

Female 8 - 18 mg/Kg/24 h \approx 71 - 177 μ mol/Kg/24 h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION**PARAMETERS**

Test	CREA / CREA	R1	180 / 180
Nº	**	R2	180 / 180
Full Name	CREA / CREA	Sample volume	36 / 36
Standard Nº		R1 Blank	
Reac. Type	Fixed T / Fixed T	Mixed Rgt Blank	
PrL Wavelength	510 / 505	Linearity Range	0.20 mg/dL 15.00 mg/dL
Sec. Wavelength		Linearity Limit	*
Direction	Increase / Increase	Substrate Limit	*
Reac. Time	2_6 / 2_6	Factor	*
Incuba. Time		Prozone check	*
Units	mg/dL / mg/dL	q1	q2
Precision	0.01 / 0.01	q3	q4
		PC	Abs

CALIBRATION (Cal + Rgt Bk)

Rule	One-point Linear / Two-point Linear
Sensitivity	1 / 1
Replicates	2 / 2
Interval (days)	0 / 0
Difference Limit	
SD	
Blank Response	
Error Limit	
Correlation Coefficient	

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until 5 days. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.

QUALITY CONTROL

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Calibrator, SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

NOTES

1. Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

BIBLIOGRAPHY

1. Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref. MI1001111	Cont.	R1: 3 x 30 mL R2: 3 x 30 mL
----------------	-------	--------------------------------



PRESENTATION

Réact. 20015, (80 Tests)	Réact. 20016, (100 Tests)
R1 : 20 x 3 ml	R1 : 10 x 10 ml
R2 : 1 x 7 ml	R2 : 1 x 11 ml
Réact. 20017, (120 Tests)	Réact. 20018, (200 Tests)
R1 : 4 x 30 ml	R1 : 5 x 30 ml
R2 : 2 x 7 ml	R2 : 2 x 14 ml

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline (PAL) selon la méthode recommandée par la société allemande de chimie clinique (DGKC)

PAL

nitro-4 phénylphosphate H_2O \longrightarrow nitro-4 phénol+ phosphate.

REACTIFS

R1 : Réactif tampon	
Tampon diéthanolamine (pH 9,8)	1 mol/l
Chlorure de magnésium	0,5 mmol/l
R2 : substrat	
Nitro-4 phénylphosphate	10 mmol/l

PREPARATION

Réactif de travail :

Réact. : 20015	R1.....	8 ml
	R2.....	0,8 ml
Réact. : 20016	R1.....	10 ml
	R2.....	1 ml
Réact. : 20017	R1.....	30 ml
	R2.....	3 ml
Réact. : 20018	R1.....	50 ml
	R2.....	5 ml

STABILITE

Stabilité du réactif de travail:

- 15 - 25°C5 jours

- 2 - 8°C.....15 jours

PRELEVEMENT

Sérum, plasma recueilli sur héparine, non hémolysé.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde: 405 nm (Hg 400-Hg 420)
 Température: 25°, 30° ou 37°C
 Cuve: 1 cm d'épaisseur
 Zéro de l'appareil: air ou eau distillée

Dans un tube à hémolyse introduire :	
Solution de travail	1 ml
Equilibrer à 25°, 30° ou 37°C	
Echantillon	20 μ l

Mélanger et introduire dans une cuve thermostatée,

PHOSPHATASE ALCALINE

Détermination Cinétique

Méthode DGKC

attendre 1 minute puis mesurer l'augmentation moyenne de la D.O par minute pendant 1 à 3 minutes.

CALCUL

405 nmPAL (U/L) = $\Delta D.O/min \times 2750$

410 nmPAL (U/L) = $\Delta D.O/min \times 2910$

LINEARITE

Si la variation moyenne de D.O/min > 0,250 retirer le test en diluant l'échantillon au 1/5 dans une solution de NaCl à 9g/l et multiplier le résultat par 5.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Enfants	Jusqu'à 400 U/l	Jusqu'à 500 U/l	Jusqu'à 650 U/l
Adultes	40-160 U/l	50-220 U/l	70-300 U/l

BIBLIOGRAPHIE

Hausamen T.U. et al. Clin. Chim. Acta. 35, 271-273 (1977).

REMARQUE

La mesure de l'activité enzymatique est meilleure dans les quatre heures qui suivent le prélèvement.



CHOLESTEROL -LQ

Cholestérol-LQ

CHOD-POD. Liquide

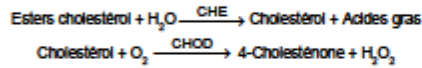
Détermination quantitative de cholestérol

IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, selon la réaction suivante :



$2 \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Phénol} + 4\text{-Aminophénazone} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinonémine} + 4\text{H}_2\text{O}$
L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé^{1, 2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le cholestérol est une substance grasse présente dans toutes les cellules de l'organisme. Le foie produit naturellement tout le cholestérol dont il a besoin pour former les membranes cellulaires et produire certaines hormones. La détermination du cholestérol est l'un des outils les plus importants pour diagnostiquer et classer les lipémies. L'augmentation du cholestérol est l'un des principaux facteurs de risque cardiovasculaire^{3, 4}. Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R	PIPES pH 6,9	90 mmol/L
	Phénol	26 mmol/L
	Cholestérol-estérase (CHE)	1 000 U/L
	Cholestérol-oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	650 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	0,4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL	Étalon primaire aqueux de Cholestérol 200 mg/dL. Contient Triton X-114 10-15%.	

PRÉCAUTIONS

CAL : H225- Liquide et vapeurs très inflammables. H318- Provoque des lésions oculaires graves. H412- Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PRÉPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITÉ

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

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du blanc à 505 ≈ 0,26.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 505 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma^{1, 2}. Stabilité de l'échantillon 7 jours à 2-8°C, et 3 mois si l'échantillon est congelé (-20°C).

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 505 nm (500-550)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C / 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuvette:

	Blanc	Étalon	Échantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1,2,3,4) (µL)	-	10	-
Échantillon (µL)	-	-	10

- Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37°C ou 10 min. à 15-25°C
- Lire l'absorbance (A) de l'étalon contre le Blanc du réactif. La couleur est stable au moins 60 minutes.

CALCULS

$\frac{(A) \text{Échantillon} - (A) \text{Blanc}}{(A) \text{Étalon} - (A) \text{Blanc}} \times 200 \text{ (Conc. Étalon)} = \text{mg/dL de cholestérol dans}$

l'échantillon
Facteur de conversion : mg/dL x 0,0258 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITÉ

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

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

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

VALEURS DE REFERENCE

Évaluation du risque^{5, 6}:

Moins de 200 mg/dL Normal
200-239 mg/dL Modéré
240 mg/dL ou plus Élevé

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

CARACTÉRISTIQUES DE LA METHODE

Plage de mesure: Depuis la limite de détection de 0,00 mg/dL, jusqu'à la limite de linéarité de 1000 mg/dL.

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

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	99	201	96	197
SD (mg/dL)	0,83	1,41	1,75	6,41
CV (%)	0,84	0,70	1,82	3,26

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0019 (A).

Exactitude: Les réactifs SPINREACT ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs comparables.

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99549.

Equation de la Courbe de régression: $y=0,911x + 2,624$.

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

INTERFÉRENCES

Il n'a pas été observé d'interférences avec l'hémoglobine jusqu'à 5 g/L et avec la bilirubine jusqu'à 10 mg/dL^{1, 2}.

Il a été rapporté que plusieurs drogues et autres substances interfèrent avec la détermination du cholestérol^{3, 4}.

REMARQUES

- CHOLESTEROL CAL : En raison de la nature du produit, il est recommandé de le traiter avec beaucoup de soin vu qu'il peut facilement contaminer.
- LCF (Lipid Clearing Factor) est intégré au réactif.
- La calibration avec l'étalon aqueux peut donner lieu à des erreurs systématiques dans les méthodes automatiques. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser des calibreurs sériés.
- Utiliser des embouts de pipette jetables et propres pour la dispensation.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Natto H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
- Melattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12); 2161-2165.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burris A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz NW et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRÉSENTATION

Ref: 41020		R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41022	Cont.	R: 2 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41021		R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41019		R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL





TRIGLYCERIDES

Triglycérides

GPO-POD. Enzymatique colorimétrique

Détermination quantitative de triglycérides

IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérolphosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-diphosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le GPO. Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge:



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé^{1,2,3}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les triglycérides sont des graisses qui fournissent à la cellule son énergie. Tout comme le cholestérol, ils sont transportés vers les cellules de l'organisme par les lipoprotéines du sang.

Un régime fort en graisses saturées ou en carbohydrates peut élever les niveaux de triglycérides.

Leur augmentation est relativement neutre. Diverses maladies, telles que certaines dysfonctions hépatiques (cirrhose, hépatite, obstruction biliaire) ou diabète mélicus, peuvent être associées à des hausses de triglycérides^{4,5,6}. Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
Tampon	p-Chlorophénol	2 mmol/L
R 2	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
Enzymes	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase(POD)	440 U/L
	4-Aminophénazone (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
TRIGLYCERIDES GAL	Patron primaire de détection de triglycérides	200 mg/dL

PREPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 et un flacon de tampon R 1.

Réf: 1001310 Réactif de travail (RT): Reconstituer (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans 10 mL de tampon R 1.

Refermer et agiter doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout. Stabilité du R: 6 semaine au réfrigérateur (2-8°C) ou une semaine à 15-25°C.

CONSERVATION ET STABILITE

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

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 505 nm $\geq 0,14$.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 505 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé ou EDTA¹. Stabilité de l'échantillon: 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 - Longueur d'ondes: 505 nm (490-550)
 - Cuvette: 1 cm d'éclairage
 - Température: 37°C/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Bianc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle (Remarque 1, 2) (µL)	—	10	—
Echantillon (µL)	—	—	10

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

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 200 (\text{modèle conc.}) = \text{mg/dL de triglycéride dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210). Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

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

VALEURS DE REFERENCE

Hommes: 40 - 160 mg/dL
Femmes: 35 - 135 mg/dL

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

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,000 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 2200 mg/dL.

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

Précision:

Moyenne (mg/dL)	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
103	0,41	0,39	103	3,62
219	0,93	0,43	217	3,59

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,00137 A.

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

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99760.

Equation de la Courbe de régression: $y=0,905x+10,77$.

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

INTERFERENCES

Aucune interférence n'a été relevée avec bilirubine jusqu'à 170 µmol/L et hémoglobine jusqu'à 10 g/L⁷.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui peuvent interférer lors de la détermination de la triglycérides^{4,5}.

REMARQUES

- TRIGLYCERIDES GAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de manipuler le produit avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé très facilement.
- Du LCF (Lipid Clearing Factor) est intégré au réactif.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Bucolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. Tryglycoerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St. Louis, Toronto, Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001310	R1: 1 x 50 mL, R2: 5 → 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001311	R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001312	R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001313	R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001314	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL





GLUCOSE -TR

Glucose-TR
 Trinder. GOD-POD

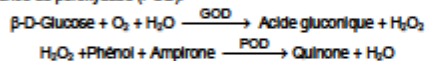
Détermination quantitative du glucose

IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit, se détache au moyen d'un accepteur chromo génique d'oxygène, de phénol-amprone en présence de peroxydase (POD):



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le glucose est la meilleure source d'énergie pour les cellules de l'organisme; l'insuline facilite l'entrée de glucose dans les cellules. Le diabète mellitus est une maladie qui se produit en cas d'hyperglycémie, provoquée par un déficit d'insuline^{1,3,4}. La diagnose clinique doit tenir compte de données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,4	92 mmol/L
	Phénol	0,3 mmol/L
R 2	Glucose oxydase (GOD)	15000 U/L
	Peroxydase (POD)	1000 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	2,6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Patron primaire de détection du glucose	100 mg/dL

PREPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un flacon de tampon R 1.

Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu. Stabilité: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

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

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

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 505 nm \geq 0,10.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 505 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma, sans hémolyse¹ ni LCR.

Le sérum doit être séparé dès que possible du caillot.

Stabilité: Le glucose dans le sérum ou le plasma est stable 3 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 505 nm (490 – 550)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle ¹ (µL)	–	10	–
Echantillon (µL)	–	–	10

- Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 37°C or 20 minutes à température ambiante (15-25°C).
- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 100 (\text{modèle conc.}) = \text{mg/dL de glucose dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 0,0555 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

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

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

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

VALEURS DE REFERENCE¹

Sérum ou plasma:

$$60 - 110 \text{ mg/dL} \quad \approx \quad 3,33 - 6,10 \text{ mmol/L}$$

LCR:

$$60 - 80 \% \text{ de la valeur en sang}$$

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

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0,04 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 500 mg/dL.

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

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	96,8	241	98,4	248
SD	0,81	1,43	1,55	3,73
CV (%)	0,83	0,59	1,58	1,50

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0036 A.

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

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99.

Equation de la Courbe de régression: y=1,0x + 0,12.

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

INTERFERENCES

Aucune interférence n'a été relevée avec: l'hémoglobine jusqu'à 4 g/L, la bilirubine jusqu'à 20 mg/L, la créatinine jusqu'à 100 mg/L, la galactose jusqu'à 1 g/L.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que des substances pouvant interférer dans la détermination de la glucose^{1,4}.

REMARQUES

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

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref:1001190		R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL.
Ref:1001191	Cont.	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL.
Ref:1001192		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL.





ALBUMINE

Albumine

Vert de bromocrésol. Colorimétrique

Détermination quantitative de l'albumine

IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

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

SIGNIFICATION CLINIQUE

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

Parmi ses multiples fonctions, on retiendra la nutrition, l'entretien de la pression oncotique et le transport des substances telles que la Ca²⁺, la bilirubine, les acides gras, les drogues et les stéroïdes.

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

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

REACTIFS

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

PREPARATION

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

CONSERVATION ET STABILITE

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

Indices de détérioration des réactifs:

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

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

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

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma sans hémolyse¹: Stabilité 1 mois à 2-8°C ou 1 semaine à 15-25°C.

PROCEDURE

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

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

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

CALCULS

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

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

CONTROLE DE QUALITE

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

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

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

VALEURS DE REFERENCE

3,5 à 5,0 g/dL¹.

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

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

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

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

Précision:

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

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

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

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r²): 0,99169.

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

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

INTERFERENCES

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

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

REMARQUES

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

BIBLIOGRAPHIE

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

PRESENTATION

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



IRON -FZ

Fer

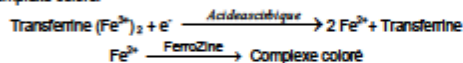
FerroZine. Colorimétrique

Détermination quantitative de fer**IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le fer se dissocie du complexe sérique fer-transferrine en milieu acide faible. Le fer libre est réduit en un ion ferreux au contact de l'acide ascorbique. Les ions ferreux en présence de FerroZine forment un complexe coloré:



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de Fe dans l'échantillon testé^{1, 2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le fer est le constituant base d'un grand nombre d'enzymes. La myoglobine, protéine musculaire, contient du fer, tout comme le fole. Le fer est nécessaire pour la production de l'hémoglobine, molécule qui transporte l'oxygène à l'intérieur des globules rouges. Un manque de fer entraîne un anémie ferropénique. On trouve des niveaux élevés de fer dans l'hémochromatose, la cirrhose, l'hépatite aigue et dans les concentrations élevées en transferrine. La variation de jour en jour est commune, chez les populations saines^{1, 3, 4}. Le diagnostic doit prendre en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	Tampou	Acétate pH 4,9	100 mmol/L
R 2	Réducteur	Acide ascorbique	99,7%
R 3	Couleur	FerroZine	40 mmol/L
IRON CAL	Patron	primaire de détection de fer 100 µg/dL	

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

- Réf: 1001247. Dissoudre (→) le contenu d'un tube de réducteur R 2 dans un flacon de tampon R 1.

Réformer et mélanger doucement jusqu'à la dissolution du contenu.

Stabilité: 3 mois à 2-8°C ou 1 mois à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

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

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du blanc à 562 nm $\geq 0,020$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 562 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 1).

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé.

Sans hémolyse. Séparer le plus tôt possible des hématies.

Stabilité de l'échantillon: Le fer est stable pendant 7 jours à 2-8°C¹.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 562 nm (530-590)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Placer dans une cuvette, à l'aide de la pipette:

	Bianc RT	Modèle	Bianc Echantillon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
R3 (gouttes)	1	1	-	1
Eau distillée (µL)	200	-	-	-
Modèle ⁵ (µL)	-	200	-	-
Echantillon (µL)	-	-	200	200

Mélanger et Incuber 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

- Lire l'absorbance (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon} - (A) \text{Bianc Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 100 (\text{modèle conc.}) = \mu\text{g/dL de fer}$$

Facteur de conversion: µg/dL x 0,179 = µmol/L

CONTROLE DE QUALITE

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

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

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

VALEURS DE REFERENCE⁵Hommes 65-175 µg/dL \approx 11,6-31,3 µmol/L (Remarque 4)Femmes 40-150 µg/dL \approx 7,16-26,85 µmol/L (Remarque 4)

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

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 1,85 µg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 1000 µg/dL.

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

Précision:

Moyenne (µg/dL)	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
102	0,88	0,86	1,07	1,18
190	1,31	0,69	1,93	0,81

Sensibilité analytique: 1 µg/dL = 0,0009 A.

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

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,987.

Equation de la Courbe de régression: $y=1,0052x - 2,3159$.

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

INTERFERENCES

Détails les échantillons hémolysés, car les hématies contiennent du fer qui peut donner des résultats positifs erronés^{1, 2}.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances qui peuvent interférer avec la détermination de fer^{3, 4}.

REMARQUES

- IRON CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec extrêmement d'attention, car il peut être contaminé facilement.
- Il est conseillé d'utiliser du matériel en plastique, pour un usage unique. Si vous utilisez du matériel en verre, immergez-le pendant 6 h dans du ClH dilué (20%, v/v), rincez à plusieurs reprises avec de l'eau distillée et sécher avant utilisation.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- Les valeurs de référence dépendent en grande partie de la méthode de test utilisée.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Perrotta G. Iron and iron-binding capacity. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 1063-1065.
- Itano M M D. Cap Serum Iron Survey 1978 (70): 516-522.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Réf: 1001247
Cont. R1: 4 x 50 mL, R2: 4 x 100 mg, R3: 2 x 10 mL, CAL: 1 x 10 mL





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

Détermination quantitative de protéines totales
 IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

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

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

SIGNIFICATION CLINIQUE

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

Leur détermination est utile pour détecter:

- l'hyperprotéinémie produite par hémococoncentration, déshydratation ou augmentation de la concentration des protéines spécifiques.

- L'hypo protéinémie par hémolyse due à une défaillance dans la synthèse protéique, à des pertes excessives (hémorragies) ou à un catabolisme protéique excessif^{4, 5}.

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

REACTIFS

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

PRECAUTION

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

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

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

Indices de détérioration des réactifs:

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

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

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

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé¹.

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

PROCEDURE

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

	Blanc	Etalon	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (Remarque 1,2,3) (μ L)	-	25	-
Echantillon (μ L)	-	-	25

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

CALCULS

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

CONTROLE DE QUALITE

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

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

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

VALEURS DE REFERENCE¹

Adultes: 6,6 - 8,3 g/dL

Nouveaux-nés: 5,2 - 9,1 g/dL

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

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

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

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

Précision:

	Intra-série (n= 20)	Inter-série (n= 20)
Moyenne (g/dL)	6,53	4,89
SD	0,01	0,01
CV (%)	0,21	0,24

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

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

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,97002

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

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

INTERFERENCES

Hémoglobine et lipémie^{1, 4}.

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

REMARQUES

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

BIBLIOGRAPHIE

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

PRESENTATION

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





CALCIUM-A III

Calcium

Arsenazo III. Colorimetric

Quantitative determination of calcium

IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Calcium with Arsenazo III (1,8-Dihydroxy-3,6-disulpho-2,7-naphthalene-bis (azo)-dibenzene arsonic acid), at neutral pH, yields a blue colored complex.

The intensity of the colour formed is proportional to the calcium concentration in the sample^{1,2,3}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Calcium is the most abundant and one of the most important minerals in the human body. Approximately 99% of body calcium is found in bones.

A decrease in albumin level causes a decrease in serum calcium. Low levels of calcium are found in hypoparathyroidism, pseudohypoparathyroidism, vitamin D deficiency, malnutrition and intestinal malabsorption.

Among causes of hypercalcemia are cancers, large intake of vitamin D, enhanced renal retention, osteoporosis, sarcoidosis, thyrotoxicosis, hyperparathyroidism^{1,6,7}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R	Imidazol Buffer pH 6.5	100 mmol/L
Arsenazo III	Arsenazo III	120 mmol/L

PRECAUTIONS

R: H360- May damage fertility or the unborn child.

Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

The reagent is ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations are prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 660 nm \geq 0.50.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPIN640 Autoanalyzer.
- General laboratory equipment (Note 1, 2).

SAMPLES

- Serum or plasma¹: Separated from cells as rapidly as possible. Blood anticoagulants with oxalate or EDTA are not acceptable since these chemicals will strongly chelate calcium.

- Urine¹: Collect 24 hour urine specimen in calcium free containers. The collecting bottles should contain 10 ml of diluted Nitric acid (50% v/v). Record the volume.

Dilute a sample 1/2 in distilled water. Mix. Multiply results by 2 (dilution factor).

Stability of the samples: Calcium is stable 10 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

Adults	8.5-10.5 mg/dL	\approx 2.1-2.6 mmol/L
Children	10 -12 mg/dL	\approx 2.5 - 3 mmol/L
Newborns	8 -13 mg/dL	\approx 2 - 3.25 mmol/L

Urine:

Adults	50 - 300 mg/24h	\approx 1.25 - 7.5 mmol/24h
Children	80 -160 mg/24h	\approx 2 - 4 mmol/24h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

BARCODED REAGENTS LOAD MUST BE PRECEDED OF A SPINREACT "DATABASE" COPY INTO THE ANALYZER SOFTWARE. IT IS AVAILABLE UNDER REQUEST TO SPINREACT.

SPIN640 APPLICATION

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	300	
Test	CA	Vol. R2		
Full Name	Calcium	Vol. R3		
Standard nº	1	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	3	Decimal	0.1	Slope
	1			
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL	Inter. 0
Vol. Sample Dec.				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction		
Increase				
P/L Wave.	660	Reagent Blank	10-11	
Sec. Wave.		React. Time	26-27	
JUDGEMENT CRITERIA				
Absorbance	-30000/30000	Un. Range	2.0-30.0	
Incre.Test		Un. Limit		
Decre.Test		Subs. Limit		
Prozone (Rate-Antigen)		Q1		
PC		Q2		
ABS		Q3		
		Q4		

The Calibration is stable until 28 days. After this period the Calibration must be performed again in order to obtain good results.

QUALITY CONTROL

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTRON H Calibrator, SPINTRON H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

NOTES

1. It is recommended to use disposable material. If glassware is used the material should be scrupulously cleaned with diluted 1/1 HNO₃ in water and then thoroughly rinsed with distilled water.
2. Most of the detergents and water softening products used in the laboratories contain chelating agents. A defective rinsing will invalidate the procedure.
3. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
4. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

BIBLIOGRAPHY

1. Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
2. Kessler G. et al. Clin Chem Vol 10, No 8 1964; 686-706.
3. Connerty H. V. et al. Am J Clin Path Vol 45, No 3 1996; 200-296.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
6. Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PACKAGING

Ref: MD1001065 Cont. R: 6 x 40 mL

